

غربال گیاهچه‌های جو مقاوم به تنش اسمزی

حسینعلی رامشینی، سید علی پیغمبری، علی اکبر شاه نجات بوشهری، منصور امیددی، کرسنتین نیومن، پاتریک شوایزر^۱

چکیده

جو (*Hordeum vulgare L.*) یک گیاه مدل برای پژوهش‌های ژنتیکی و فیزیولوژیکی بوده و سازگاری بالایی به شرایط مختلف نشان می‌دهد. تنش خشکی در مرحله گیاهچه‌ای باعث جلوگیری از استقرار مناسب گیاه می‌شود. می‌توان از صفات مورفولوژیک و فیزیولوژیک برای گروه‌بندی ژنوتیپ‌های مقاوم و حساس استفاده کرد. هدف این آزمایش شناسایی ژنوتیپ‌های مقاوم و حساس به تنش اسمزی از بین ۹ ژنوتیپ جو ایرانی و اروپائی بود. از پلی اتیلن گلیکول (PEG) برای شبیه سازی شرایط تنش در اتاقک رشد استفاده شد و ژنوتیپ‌ها در دو شرایط تنش و بدون تنش کشت شدند. پژمردگی برگ در فاصله‌های زمانی ۳، ۶، ۹ و ۱۲ روز پس از آغاز تنش یادداشت شد. محتوای نسبی آب برگ (RWC) و تعدادی از صفات مورفولوژیک به ترتیب ۷ و ۱۴ روز پس از آغاز تنش اندازه‌گیری شدند. تفاوت بسیار معنی‌داری بین دو شرایط تنش و بدون تنش و بین ژنوتیپ‌ها مشاهده شد. برای همه صفات بجز سطح زیر منحنی پیشرفت درصد پژمردگی، ضریب حساسیت محاسبه شد. از بین ژنوتیپ‌های مورد بررسی در این آزمایش دو ژنوتیپ نیوتانس و ارکتوم به ترتیب جز حساس‌ترین ژنوتیپ‌ها و ژنوتیپ‌های Dari-83-6 و L.527 به ترتیب به عنوان مقاوم‌ترین ژنوتیپ‌ها در مرحله گیاهچه شناسایی شدند. ژنوتیپ EC-79-10 اگرچه از نظر صفات مورفولوژیک گیاهچه در گروه ژنوتیپ‌های مقاوم جای می‌گیرد، اما در پایان آزمایش، درصد پژمردگی آن به طور معنی‌داری از ژنوتیپ‌های مقاوم فاصله داشته و نیمه حساس است.

واژه‌های کلیدی: پلی اتیلن گلیکول (PEG)، تنش اسمزی، جو، صفات مورفولوژیک، گیاهچه.

مقدمه

است تنش خشکی در تمام مراحل رشد گیاه امکان‌پذیر است. این تنش در مرحله گیاهچه‌ای باعث جلوگیری از استقرار گیاه می‌شود. می‌توان برای گروه‌بندی ژنوتیپ‌ها در مرحله گیاهچه به ژنوتیپ‌های مقاوم و حساس از صفات مورفولوژیک مانند وزن ریشه و ساقه استفاده کرد. صفات مورفولوژیک و فیزیولوژیک گیاهچه در عملکرد گیاه در شرایط خشک موثر است و سامانه ریشه و ساقه بر رشد و توسعه گیاهچه تاثیر می‌گذارد (۳۲). کم شدن رشد برگ همواره به عنوان اولین پاسخ گیاه به تنش خشکی در نظر گرفته شده است. رشد برگ نتیجه گسترش برگشت ناپذیر دیواره سلولی تعداد زیادی از سلول‌های تولید شده در تقسیم سلولی است. کاهش رشد برگ در نتیجه تنش خشکی به

جو (*Hordeum vulgare L.*) یک گیاه مدل برای پژوهش‌های ژنتیکی و فیزیولوژیکی بوده و سازگاری بالایی به شرایط مختلف نشان می‌دهد (۱۱). این گیاه دارای مقاومت نسبی به تنش خشکی بوده (۲۳) و در کشور ما از اهمیت خاصی برخوردار است. تنش خشکی به عنوان یکی از مهمترین تنش‌ها و عامل اصلی کاهش عملکرد در نظر گرفته می‌شود و با احتمال زیاد کاهش عملکرد به خاطر تنش خشکی از مجموع کاهش عملکرد به خاطر همه تنش‌های دیگر بیشتر است (۲، ۱۸). پاسخ گیاهان به تنش‌های غیرزیستی محور اصلی بسیاری از پژوهش‌های فیزیولوژیکی بوده است (۱). در مناطقی که بارندگی کم

دلیل کاهش در گسترش دیواره سلولی رخ می‌دهد هر چند کاهش سرعت تقسیم سلولی نیز در کاهش رشد تاثیر دارد (۲۰). کاهش رشد برگ در اثر تنش خشکی را می‌توان پاسخ گیاه برای سازگاری با محیط در نظر گرفت چرا که با کاهش رشد و توسعه برگ سطح تبخیر و تعرق گیاه پایین آمده و بقای گیاه در شرایط خشک طولانی‌تر می‌شود. کاهش رشد برگ در مرحله گیاهچه نامطلوب است زیرا مشخص شده رشد سریع گیاهچه و گسترش سریع برگ‌ها به بیشتر شدن عملکرد در پایان فصل رشد کمک می‌کند (۸). می‌توان شرایط خشکی را که به صورت واقعی در مزرعه اتفاق می‌افتد در اتاقک رشد شبیه سازی کرد. برای کاهش یکنواخت پتانسیل آب در اطراف ریشه گیاه می‌توان از پلی اتیلن گلیکول ۶۰۰۰^۱ (PEG 6000) که یک اسملیت^۱ است و گیاه آن را جذب نمی‌کند، استفاده کرد. آزمایش‌هایی که پژوهشگران مختلف در گذشته انجام داده‌اند نشان داده که پلی اتیلن گلیکول ماده مناسبی برای شبیه‌سازی تنش خشکی است و تاثیر خشکی و پلی اتیلن گلیکول بر گیاهچه‌ها یکسان بوده است (۱۰، ۳۳). تاثیر تنش اسمزی شبیه سازی شده با PEG بر صفات مورفولوژیک مانند طول ریشه و ساقه و وزن تر و خشک ریشه و ساقه در تعداد زیادی از پژوهش‌های گذشته بررسی شده است (۵، ۲۲، ۲۷). تنش اسمزی رشد گیاهچه را تحت تاثیر قرار می‌دهد، به طوری که با افزایش غلظت PEG، در وزن تر و خشک گیاهچه‌ها کاهش دیده می‌شود (۲۴). بنابراین می‌توان از این صفات برای غربال ژنوتیپ‌ها استفاده کرد. از صفت محتوای نسبی آب برگ نیز برای غربال ژنوتیپ‌ها برای مقاومت به تنش خشکی استفاده می‌شود (۱، ۲۵، ۲۹). در آزمایشی که بایومی و همکاران (۵) بر روی ۹ ژنوتیپ گندم نان انجام دادند اثر PEG در دو غلظت ۱۵ و ۲۵ درصد بر صفات مورفولوژیک گیاهچه مانند طول و وزن ریشه و ساقه معنی‌دار بود. آکسو و همکاران (۲۲) اثر PEG در پتانسیل‌های ۲-، ۴-، ۶- و ۸- را در ۳ ژنوتیپ نخود بررسی کردند. آنها نشان دادند که با افزایش میزان تنش تفاوت معنی‌داری برای صفات مورفولوژیک گیاهچه نسبت به شرایط کنترل ایجاد شد. همچنین بین ژنوتیپ‌ها تفاوت

معنی‌داری از این نظر مشاهده کردند. سایبرژانوف و همکاران (۲۷) تاثیر تنش PEG با غلظت ۱۵ درصد را در ذرت بررسی کردند. آنها در آزمایش خود میزان رشد برگ را قبل از تنش و بعد از تنش با دقت بالا اندازه‌گیری کرده و به این نتیجه رسیدند که رشد برگ پس از تنش کاهش معنی‌داری نسبت به شرایط بدون تنش نشان داده و به صفر رسید ولی به مرور زمان مجدداً رشد برگ از سر گرفته شد و از صفر فاصله معنی‌دار پیدا کرد، اگرچه هنوز با شرایط بدون تنش به طور معنی‌داری تفاوت داشت. صفات مربوط به میزان آب برگ به ویژه محتوای نسبی آب برگ^۱ (RWC)، میزان کمبود آب را در برگ در شرایط تنش نشان می‌دهد. به خاطر اینکه RWC با حجم سلول ارتباط دارد، زمانی که این صفت در برگ اندازه‌گیری می‌شود به خوبی تعادل بین میزان آب فراهم شده برای برگ و میزان تبخیر و تعرق را نمایان می‌سازد. بنابراین این صفت کارآئی بالایی برای استفاده در برنامه اصلاح گیاهان برای مقاومت به خشکی دارد (۲۹). برتری این صفت به محتوای کل آب برگ این است که علاوه بر مقدار آب برگ، تنظیم اسمزی برگ نیز بر آن تاثیر دارد. بنابراین این صفت همزمان بیانگر میزان آب برگ و تنظیم اسمزی است (۱۱). به علاوه می‌توان از درصد پژمردگی برای ارزیابی ژنوتیپ‌ها برای مقاومت به خشکی استفاده کرد (۱، ۱۳، ۱۶، ۲۸). در پژوهشی که آبراهام و همکاران (۱) برای بررسی مقاومت به تنش در یک گیاه چمنی انجام دادند، رتبه‌بندی پژمردگی از صفر تا ۹ انجام گرفت. آنها به گیاه سالم رتبه صفر و به گیاه با پژمردگی کامل رتبه ۹ دادند. در مطالعه ای که شائو و همکاران (۲۸) انجام دادند چندین QTL^۱ برای این صفت گزارش کردند.

هدف این آزمایش شناسایی ژنوتیپ‌های مقاوم و حساس جو به تنش اسمزی در مرحله گیاهچه از بین ۹ ژنوتیپ ایرانی و اروپایی بود.

مواد و روش‌ها

مواد گیاهی

تعداد ۹ ژنوتیپ جو با نام‌های Dari_83_6، L527،

1 - Poly Ethylene Glycol 6000 (PEG 6000)
4- Quantitative Trait Loci

2- Osmolyte

3- Relative Water Content (RWC)

دمای ۲۲ و ۲۰ درجه سانتیگراد به ترتیب برای روز و شب و شرایط نوری ۱۶ ساعت روشنایی و ۸ ساعت تاریکی به مدت ۵ روز قرار داده شدند. پس از ۵ روز محلول ظرفها تعویض شد. برای شرایط بدون تنش محلول هو گلند ۱۰۰ درصد و برای شرایط تنش محلول هو گلند ۱۰۰ درصد که دارای ۱۵ درصد (حجم/وزن) پلی اتیلن گلیکول بود، جایگزین محلول قبلی شد. پلی اتیلن گلیکول با غلظت ۱۵ درصد (۱۵۰ گرم در ۱ لیتر آب) در دمای ۲۰ درجه سانتیگراد پتانسیل اسمزی برابر ۳/۲۵- بار را شبیه سازی می کند.

اندازه گیری ها

پس از شروع تنش هر ۳ روز یک بار تا روز دوازدهم درصد پژمردگی برگ برای ۱۵ گیاهچه هر واحد آزمایشی برای گیاهان شرایط تنش یادداشت شد. برای صفت پژمردگی از مقیاس رتبه ای ۱ (سالم) تا ۵ (مرده) استفاده شد. در روز هفتم پس از شروع تنش حدود ۰/۲۵ گرم از قسمت میانی برگها به صورت قطعه های ۲ سانتی متری جداسازی شده و وزن آن به عنوان وزن تر^۵ (FW) یادداشت شد. برگهای بریده شده به مدت ۴ ساعت در آب مقطر در دمای اتاق قرار داده شده و سپس وزن شدند تا وزن تورژسانس^۶ (TW) به دست آید. در پایان نمونه های برگی در دمای ۶۵ درجه سانتیگراد به مدت ۴۸ ساعت قرار داده شدند و وزن خشک^۷ (DW) اندازه گیری شد. آنگاه بر اساس روش تئولات و همکاران (۲۹) و از معادله ۱ محتوای نسبی آب برگ (RWC) محاسبه شد.

$$RWC = \frac{(FW - DW)}{(TW - DW)} \quad (1)$$

دو هفته پس از آغاز تنش، گیاهچه ها از ظرفهای محلول غذایی خارج شدند. صفات طول ریشه، طول ساقه، وزن تر ریشه و ساقه برای گیاهان برداشت شده اندازه گیری شد. به خاطر اینکه ریشه گیاهان در شرایط تنش در محیط دارای PEG بود و ممکن بود بقایای PEG بر وزن خشک آنها تاثیر بگذارد، بنابراین ریشه این گیاهان ابتدا با آب مقطر ولرم شستشو داده شد. نمونه های ریشه و ساقه به مدت

Dari_81_3، Ec_79_10، بلبل، Dari_82_9، ماکوئی، نیوتانس^۱ و ارکتوم^۲ استفاده شدند. سه ژنوتیپ L.527 (شش ردیفه، بهاره)، ماکوئی (شش ردیفه، زمستانه) و Ec_79_10 (شش ردیفه، زمستانه) از موسسه اصلاح نهال و بذر تهیه شدند که پتانسیل عملکرد بالایی دارند و کشت آنها در اراضی آبی توصیه می شود. ژنوتیپ های Dari_83_6 (دور ردیفه، اختیاری^۳)، Dari_81_3 (دور ردیفه، متمایل به زمستانه)، بلبل (دو ردیفه، زمستانه) و Dari_82_9 (دو ردیفه، متمایل به بهاره) از موسسه تحقیقات دیم کشور واحد مراغه تهیه شدند که برای کشت دیم مناسب هستند. دو ژنوتیپ نیوتانس و ارکتوم دو ردیفه و زمستانه بودند و منشأ بریتانیایی داشتند. برای بررسی مقاومت گیاهچه ها به تنش خشکی ابتدا گیاهچه های ۳ روزه تهیه شدند، به این ترتیب که تعداد ۶۰ بذر بر روی کاغذ صافی قرار داده شد. سپس یک کاغذ دیگر بر روی کاغذ اول قرار داده شده و دو کاغذ به همراه بذرهایی که بین آنها قرار داشتند به صورت لوله درآمده و درون ظرف آب مقطر قرار گرفتند. پس از ۳ روز گیاهچه های هم اندازه و یکنواخت، انتخاب شدند و به ظرف های دارای محلول غذایی هو گلند^۴ (۱۵) ۵۰ درصد منتقل شدند. بر روی هر ظرف یک ورقه آلومینیوم قرار گرفت که بر روی آن سوراخ هایی وجود داشت که ریشه گیاهچه ها در آن سوراخ ها جای می گرفت. هر ظرف شامل ۴ قسمت مساوی بود که هر قسمت به عنوان یک واحد آزمایشی در نظر گرفته شد. هر واحد آزمایشی شامل ۱۵ گیاهچه بود. برای صفت محتوای نسبی آب برگ (اندازه گیری شده برای هر دو شرایط تنش و بدون تنش در روز هفتم پس از آغاز تنش) و صفات مورفولوژیک گیاهچه که پس از دو هفته اندازه گیری شدند، آزمایش به صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار بود. برای صفات مرتبط با درصد پژمردگی که در زمان های مختلف (۳، ۶، ۹، ۱۲ روز پس از آغاز تنش) و تنها برای شرایط تنش در یک واحد آزمایشی یادداشت شد، تجزیه به صورت طرح کرت های خرد شده در زمان در قالب طرح پایه کاملاً تصادفی انجام گرفت. در این تجزیه ژنوتیپ عامل اصلی و زمان عامل فرعی بود. گیاهچه ها در اتاقک رشد با

1- Nutans
5- Fresh Weight (FW)

2- Erectum
6- Turgid Weight

3- Facultative
7- Dry Weight

4- Hoagland Nutrient Solution

منحنی پیشرفت درصد پژمردگی) برای همه ژنوتیپ‌ها شاخص حساسیت (۱۲) طبق معادله ۳ محاسبه شد.

$$SSI = \frac{\left(1 - \left(\frac{y_s}{y_n}\right)\right)}{SI} \quad (3)$$

که در آن y_s مقدار هر صفت در شرایط تنش و y_n مقدار آن در شرایط بدون تنش است. SI شاخص حساسیت برای هر صفت است که از معادله ۴ به دست آمد.

$$SI = 1 - \left(\frac{\bar{y}_s}{\bar{y}_n}\right) \quad (4)$$

که در آن \bar{y}_s مقدار میانگین صفت در شرایط تنش و \bar{y}_n مقدار میانگین صفت در شرایط بدون تنش است. در نهایت برای کاهش ابعاد داده‌ها و گروه‌بندی ژنوتیپ‌ها بر اساس پاسخ آنها به تنش با در نظر گرفتن تمام صفات اندازه‌گیری شده از تجزیه مولفه‌های اصلی (PCA) استفاده شد.

نتایج و بحث

درجه پژمردگی برگ می‌تواند بیان‌کننده مقاومت به تنش خشکی باشد و ژنوتیپ‌های مقاوم و حساس پس از قرار گرفتن در شرایط تنش درجه متفاوتی از پژمردگی را نشان می‌دهند (۱، ۱۳، ۱۶، ۲۸). در این آزمایش درصد پژمردگی برگ ۳، ۶، ۹ و ۱۲ روز پس از آغاز تنش اندازه‌گیری شد. رتبه بندی در ۵ سطح انجام گرفت، رتبه ۱ برای گیاهی با برگ‌های شاداب و رتبه ۵ برای گیاه مرده در نظر گرفته شد (جدول ۱). داده‌های این صفت در قالب طرح کرت‌های خرد شده در زمان تجزیه شدند. نتایج نشان داد که عامل اصلی (ژنوتیپ) و عامل فرعی (زمان) و اثر متقابل آنها در سطح ۱ درصد معنی‌دار بود. وجود اثر متقابل معنی‌دار بین ژنوتیپ و زمان نشان می‌دهد که پاسخ ژنوتیپ‌ها به تنش در طی زمان یکسان نبوده است. شکل ۱ پاسخ هر ژنوتیپ را به تنش بر اساس درصد پژمردگی نشان می‌دهد. درصد پژمردگی ژنوتیپ‌ها پس از ۳ روز تفاوت چندانی با همدیگر نداشت ولی در روزهای ششم، نهم و

۲۴ ساعت در ۹۰ درجه سانتیگراد قرار داده شدند و وزن خشک ریشه و ساقه محاسبه شد.

تجزیه داده‌ها

برای بررسی‌های آماری میزان پژمردگی، از میانگین درصد پژمردگی استفاده شد (جدول ۱). برای مثال اگر در روز سوم پس از آغاز تنش در تکرار اول و در مورد ژنوتیپ ماکوئی از ۱۵ گیاهچه مورد بررسی ۱۳ گیاه با رتبه ۱ و ۲ گیاه با رتبه ۲ بود، درصد پژمردگی به صورت زیر محاسبه می‌شد

$$\text{درصد پژمردگی} = \frac{((2/5 \times 13) + (17/5 \times 2))}{(2 + 13)} = 4/5$$

درصد پژمردگی در هر ۳ روز در نمونه‌های آزمایشی اندازه‌گیری شد و داده‌ها تنها برای این صفت در قالب طرح کرت‌های خرد شده در زمان با طرح پایه کاملاً تصادفی با استفاده از نرم‌افزار SAS^۱ تجزیه شدند. به این ترتیب که ژنوتیپ‌ها به عنوان کرت‌های اصلی و دفعات یادداشت درصد پژمردگی به عنوان کرت‌های فرعی در نظر گرفته شدند. برای دیگر صفات، طرح آزمایشی به صورت آزمایش فاکتوریل (عامل شرایط با دو سطح و عامل ژنوتیپ با ۹ سطح) بود که در قالب طرح کاملاً تصادفی با ۳ تکرار اجرا شد. برای تجزیه واریانس، آزمون نرمال بودن پراکنش خطاهای آزمایشی برای تمام صفات انجام شد و تنها در مورد صفت RWC توزیع خطاها نرمال نبود که با تبدیل زاویه‌ای^۲ نرمال شد. به دلیل اینکه منحنی پاسخ ژنوتیپ‌ها متفاوت بود (بنا بر معنی دار شدن اثر متقابل ژنوتیپ در زمان در تجزیه واریانس درصد پژمردگی) برای استفاده از تمام داده‌های به دست آمده در ۱۲ روز، سطح زیر منحنی (۲۱) برای هر ژنوتیپ و هر تکرار بر اساس معادله ۲ محاسبه شد (شکل ۳).

$$AUWPC = \sum_{i=1}^n (t_i - t_{i-1}) \frac{(wp_i + wp_{i-1})}{2} \quad (2)$$

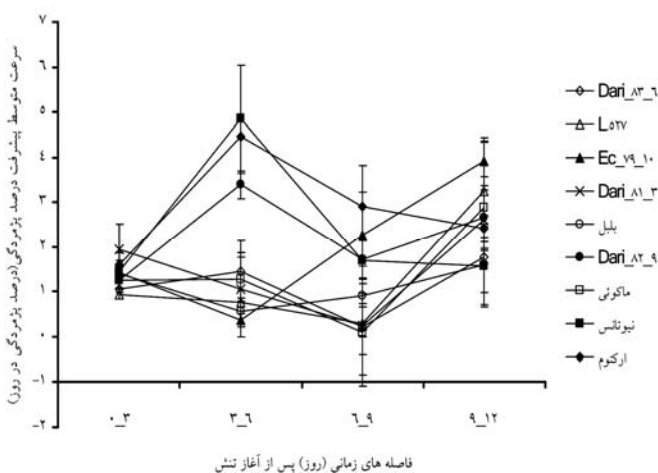
که در آن AUWPC^۳ سطح زیر منحنی پیشرفت درصد پژمردگی، n تعداد دفعات یادداشت برداری درصد پژمردگی، t_i زمان i ام و wp_i درصد پژمردگی در زمان i ام است. در مورد تمام صفات بجز صفت AUWPC (سطح زیر

تاریخته تولید کردند. آنها که از مقیاس صفر (برگ سالم) تا ۹ (برگ مرده) برای اندازه گیری پژمردگی استفاده کردند در نهایت مشاهده کردند که بین گیاهان تاریخته (مقاوم) و گیاهان شاهد (حساس) تفاوت معنی داری (تفاوت ۳ واحدی در رتبه پژمردگی) از نظر این صفت وجود داشت. در آزمایشی که آبراهام و همکاران (۱) بر روی گیاه چمن یکساله انجام دادند و از مقیاس صفر (برگ سالم) تا ۹ (برگ مرده) استفاده کردند بین ژنوتیپ‌های مقاوم و حساس تفاوت معنی دار ۲/۵ واحدی را برای پژمردگی گزارش کردند. برای بررسی روند پژمردگی در ژنوتیپ‌ها، سرعت متوسط پژمردگی محاسبه شد. به طوری که در هر فاصله زمانی (مثلاً صفر تا ۳ روز پس از آغاز تنش) افزایش در مقدار درصد پژمردگی به فاصله زمانی (۳ روز) تقسیم شد. سرعت محاسبه شده در واقع شیب خط در شکل ۱ بود. شکل ۲ سرعت پژمردگی را برای هر ژنوتیپ نشان می‌دهد. تجزیه واریانس برای داده‌های سرعت نیز در قالب طرح کرت‌های خرد شده در زمان انجام گرفت که در آن ژنوتیپ‌ها به عنوان کرت‌های اصلی و زمان به عنوان کرت‌های فرعی در نظر گرفته شدند. تفاوت بین ژنوتیپ‌ها و زمان‌های مختلف معنی دار بود. به طوری که در مجموع سرعت پژمردگی در ژنوتیپ‌های نیوتانس، ارکتوم و Dari_82_9 به طور معنی داری بیشتر از ژنوتیپ‌های Dari_83_6، L.527 و بلبل بود. از طرفی سرعت پژمردگی در فاصله زمانی ۳ تا ۶ روز

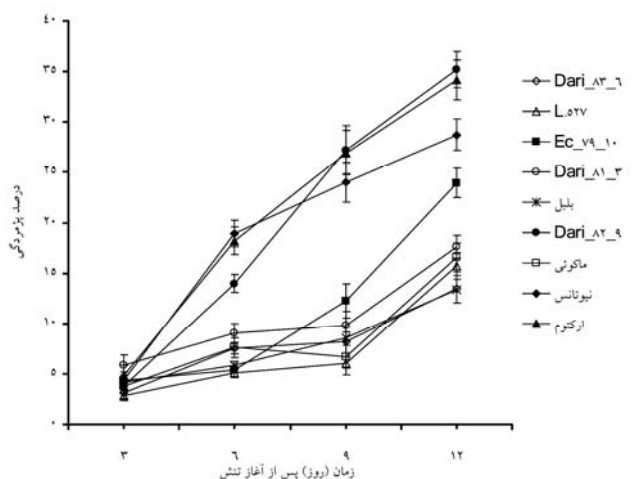
جدول ۱: نحوه تبدیل رتبه پژمردگی به درصد پژمردگی که به صورت میانگین ۱۵ بوته برای هر واحد آزمایشی محاسبه شد.

درصد پژمردگی	رتبه	میانگین درصد پژمردگی
از ۰ تا ۵	۱	۲/۵
از ۵ تا ۳۰	۲	۱۷/۵
از ۳۰ تا ۶۰	۳	۴۵
از ۶۰ تا ۹۰	۴	۷۵
از ۹۰ تا ۱۰۰	۵	۹۵

دوازدهم پس از آغاز تنش تفاوت‌ها معنی دار بود. بر اساس این نتایج ژنوتیپ‌های ارکتوم، Dari_82_9 و نیوتانس دارای بیشترین میانگین درصد پژمردگی (به ترتیب دارای ۲۱، ۲۰ و ۱۹ درصد) در طول ۱۲ روز و ژنوتیپ‌های L.527، بلبل و Dari_83_6 دارای کمترین میانگین درصد پژمردگی (به ترتیب دارای ۷، ۸ و ۸ درصد) بودند. همچنین با گذشت زمان میانگین درصد پژمردگی از ۴ درصد در روز سوم به ۲۲ درصد در روز دوازدهم رسید. پس از ۱۲ روز بیشترین میانگین درصد پژمردگی برای ژنوتیپ Dari_82_9 به میزان ۳۵ درصد (رتبه ۳) و کمترین میانگین درصد پژمردگی برای ژنوتیپ بلبل به میزان ۱۳ درصد (رتبه ۲) اندازه گیری شد که تفاوت آنها معنی دار بود. فو و همکاران (۱۳) ژن HVA1 را که یک ژن شناخته شده در جو بوده و قادر به القای مقاومت به خشکی در دیگر گیاهان مانند برنج است، به یک گونه از خانواده گندمیان منتقل کرده و تعداد زیادی گیاه



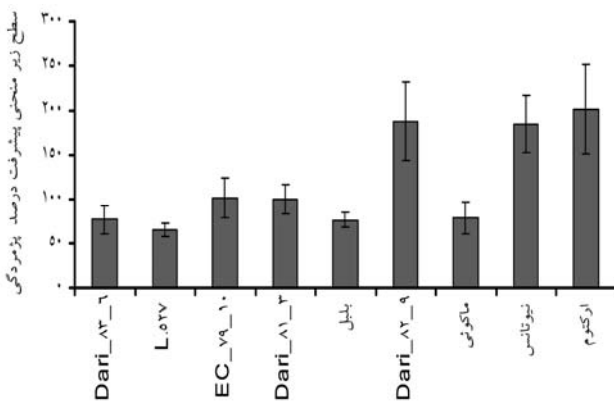
شکل ۲: سرعت پژمردگی برای ۹ ژنوتیپ در فاصله‌های زمانی مختلف پس از آغاز تنش محاسبه شده است. سرعت‌ها میانگین سه تکرار هستند و خطای استاندارد برای هر میانگین مشخص شده است.



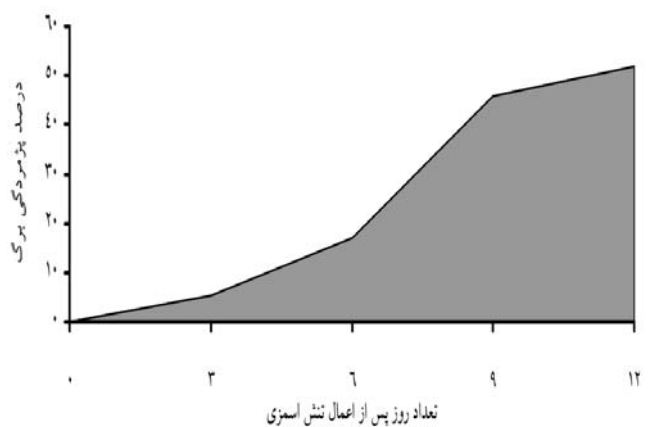
شکل ۱: درصد پژمردگی ژنوتیپ‌ها در زمان‌های مختلف پس از آغاز تنش. داده‌ها برای ۳ تکرار میانگین گرفته شده‌اند. برای هر میانگین مقدار خطای استاندارد مشخص شده است.

(۲ درصد در روز) به طور معنی‌داری بیشتر از فاصله زمانی ۶ تا ۹ روز (۱/۱۴ درصد در روز) بود. اگرچه در تجزیه واریانس احتمال اثر متقابل بین ژنوتیپ و زمان حدود ۰/۱ بوده و معنی‌دار نبود، اما تجزیه واریانس جداگانه سرعت پژمردگی در فاصله زمانی ۳ تا ۶ روز نشان داد که تفاوت بسیار معنی‌داری بین ژنوتیپ‌ها در این مرحله وجود دارد. در واقع تفاوت بین ژنوتیپ‌های حساس و مقاوم در همین مرحله آشکار می‌شود. در مراحل بعدی تفاوتی بین سرعت پژمردگی بین ژنوتیپ‌ها وجود نداشت، اما چون در مرحله ۳ تا ۶ روز سرعت پژمردگی متفاوت بود، میزان تجمع آن به همان نسبت در ژنوتیپ‌های حساس بیشتر بود. روند سرعت پژمردگی در طی زمان نشان می‌دهد که سرعت پژمردگی در فاصله ۳ تا ۶ روز زیاد بوده، در فاصله زمانی ۶ تا ۹ روز کاهش محسوسی داشته و دوباره در فاصله ۹ تا ۱۲ روز افزایش یافته است. این روند را می‌توان چنین توضیح داد که در فاصله ۳ تا ۶ روز گیاه تحت تاثیر تنش آب خود را به سرعت از دست می‌دهد. اما پس از آن در فاصله زمانی بین ۶ تا ۹ روز به دلیل به کار انداختن ساز و کارهای مقاومت، تحمل خود را بالا برده و از تداوم پژمردگی تا آنجا که در توان دارد جلوگیری می‌کند، اما مجدداً در زمان ۹ تا ۱۲ روز به دلیل ادامه تنش، سازوکارهای ذکر شده توانایی مقابله با تنش را نداشته و پژمردگی افزایش یافته است. سایبرژانوف و همکاران (۲۷) در آزمایشی تاثیر تنش PEG (۱۵ درصد وزن/وزن) را بر رشد برگ (میکرومتر بر دقیقه) بررسی کردند و نتیجه‌ای را شبیه این روند در کوتاه مدت گرفتند. به

این ترتیب که پس از آغاز تنش رشد برگ به طور معنی‌داری کاهش پیدا کرده و به صفر رسید و به مدت ۵ دقیقه سرعت رشد برگ صفر بود ولی پس از این زمان مجدداً سرعت رشد بالا رفته و به طور معنی‌داری از صفر فاصله گرفت. در آزمایشی که کاروسو و همکاران (۱۰) انجام دادند این روند را در بلند مدت گزارش کردند. آنها که از غلظت ۵ درصد PEG در مورد یک گونه درختی بید استفاده کردند پس از آغاز تنش تا روز پنجم پتانسیل آب برگ کاهش یافت اما در فاصله ۵ تا ۲۰ روز پتانسیل آب برگ ثابت بوده و سپس کاهش نشان داد. بر اساس سطح زیر منحنی پیشرفت درصد پژمردگی ژنوتیپ‌های ارکتوم، نیوتانس و Dari_82_9 حساس‌تر از دیگر ژنوتیپ‌ها بودند (شکل ۴). بین ژنوتیپ‌ها و شرایط تفاوت معنی‌داری از نظر محتوای نسبی آب برگ وجود داشت (جدول ۲). بیشترین درصد کاهش در RWC در این آزمایش که ۷ روز پس از اعمال تنش اندازه‌گیری شد، برای ژنوتیپ نیوتانس (۱۷ درصد) و کمترین میزان کاهش برای ژنوتیپ‌های Dari_83_6 و L.527 به میزان ۶ درصد بود. در آزمایشی که بهار گاو و همکاران (۷) بر روی ژنوتیپ‌های مقاوم و حساس سورگوم انجام دادند زمانی که از غلظت ۱۵ درصد PEG استفاده کردند پس از ۳ روز بین ژنوتیپ‌ها از نظر محتوای نسبی آب برگ تفاوتی وجود نداشت. در حالی که افزایش غلظت PEG به ۲۰ درصد باعث کاهش RWC در ژنوتیپ‌های حساس شده و تفاوت بین ژنوتیپ‌های مقاوم و حساس در این غلظت معنی‌دار بود. بنابراین ممکن است



شکل ۴ - سطح زیر منحنی پیشرفت درصد پژمردگی برای ۹ ژنوتیپ جو مورد مطالعه در این آزمایش. مقدار خطای استاندارد هر میانگین برای ستون‌ها مشخص شده است.



شکل ۳ - سطح زیر منحنی برای هر ژنوتیپ در زمان‌های مختلف پس از شروع تنش اسمزی

جدول ۲- نتایج تجزیه واریانس برای صفات اندازه‌گیری شده در گیاهچه‌های ۹ ژنوتیپ (میانگین مربعات). تجزیه به صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی انجام شده است.

منبع تغییرات	درجه آزادی	طول ریشه	طول ساقه	وزن تر ریشه	وزن تر ساقه	وزن خشک ریشه	وزن خشک ساقه	محتوای نسبی آب برگ
شرایط	۱	۱۶۲۳**	۱۶۶۰**	۱/۸۷**	۱۰/۸۸**	۰/۰۰۷**	۰/۰۲۸**	۰/۶۱**
ژنوتیپ	۸	۳۶**	۱۰/۲*	۰/۰۳۶**	۰/۰۹**	۰/۰۰۱**	۰/۰۱۳**	۰/۰۱۴**
شرایط × ژنوتیپ	۸	۱۷/۵**	۱۰*	۰/۰۲۶**	۰/۱۳**	۰/۰۰۰۸**	۰/۰۰۱۳**	۰/۰۰۶**
خطا	۳۶	۲/۷	۴/۳	۰/۰۰۱	۰/۰۲	۰/۰۰۰۰۱	۰/۰۰۰۰۴	۰/۰۰۲

نظر صفات مورفولوژیک تفاوت معنی‌دار وجود داشته و می‌توان از این صفات برای جداسازی ژنوتیپ‌های مقاوم و حساس استفاده کرد. در این آزمایش تفاوت بین ژنوتیپ‌ها برای این صفات نشان می‌دهد که بین ژنوتیپ‌ها از نظر ژنتیکی تفاوت وجود دارد. وجود اثر متقابل معنی‌دار بین ژنوتیپ و شرایط نشان می‌دهد که واکنش ژنوتیپ‌ها به تنش از نظر این صفات یکسان نیست و بعضی از ژنوتیپ‌ها بیشتر از دیگر ژنوتیپ‌ها تحت تاثیر تنش قرار می‌گیرند. بر همین اساس برای غربال ژنوتیپ‌ها برای مقاومت به خشکی نمی‌توان تنها بر اساس صفات اندازه‌گیری شده در شرایط تنش دآوری کرد. گیاهانی که از نظر ژنتیکی اندام کوچکتر دارند، به دلیل دارا بودن برگ‌های کوچکتر، دیرتر از گیاهانی که بزرگتر هستند آب از دست داده و پژمرده می‌شوند (۳). تفاوت معنی‌دار بین ژنوتیپ‌ها از نظر بسیاری از صفات در شرایط بدون تنش نشان می‌دهد که ژنوتیپ‌ها حتی در صورت نبودن تنش دارای مورفولوژی متفاوتی هستند و برای پیدا کردن ژنوتیپ‌های مقاوم و حساس بهتر است شاخص حساسیت محاسبه شود. در مورد صفات اندازه‌گیری شده در این آزمایش مقدار حساسیت صفات مرتبط با ریشه بیشتر از حساسیت صفات مرتبط با ساقه بود. به عنوان مثال حساسیت طول ریشه و ساقه به ترتیب برابر ۰/۵۴ و ۰/۳۶ بود. این یافته‌ها با نتایج لندجوا و همکاران (۱۹) همخوانی دارد. آنها که از غلظت ۱۲ درصد PEG استفاده کردند با اندازه‌گیری صفات مورفولوژیک گیاهچه‌های ۸ روزه میزان حساسیت طول ریشه و ساقه را به ترتیب برابر ۲۳ و ۱۸ درصد گزارش کردند. دلیل پایین‌تر بودن میزان حساسیت در آزمایش آنها را می‌توان به پایین‌تر بودن غلظت PEG و کوتاه‌تر بودن زمان تنش نسبت داد. بابو و همکاران (۳) عکس این نتیجه را در مورد گیاه برنج

بتوان با غلظت کمتر PEG، با افزایش زمان تنش بین ژنوتیپ‌ها تفاوت دید. این در حالی است که بابو و همکاران (۳) که از کشت گلدانی استفاده کردند ۲۱ روز پس از قطع آبیاری بین ژنوتیپ‌های برنج ترا ریخته شده با ژن HVA1 (مقاوم) و گیاهان شاهد (حساس) از نظر RWC تفاوت معنی‌دار پیدا کردند. طولانی بودن این زمان را می‌توان این گونه توجیه کرد که در این حالت تا مدت زیادی خاک دارای آب کافی برای گیاه بوده و بنابراین تنش دیرتر بر گیاه تاثیر می‌گذارد. تاثیر تنش اسمزی بر تمام صفات مورفولوژیک معنی‌دار بود. این نتایج نشان می‌دهد که تنش سرعت رشد برگ و ریشه را کاهش داده است. میزان پتانسیل اسمزی به کار گرفته شده در این آزمایش ۳/۲۵- بار بود. لو و همکاران (۲۰) با به کار بردن تنش اسمزی برابر ۴- بار پس از ۳ روز مشاهده کردند که طول برگ‌ها به دو سوم طول آنها در شرایط بدون تنش کاهش یافت. آنها نشان دادند که کاهش طول برگ نتیجه کاهش در تقسیم سلولی و کاهش در اندازه نهایی سلول بود. این کاهش ۱۲ ساعت پس از آغاز تنش نسبت به شرایط نرمال معنی‌دار بود. کاهش سطح برگ و پژمردگی در نتیجه تنش و کاهش پتانسیل آب برگ همگی در کاهش سرعت و کارآئی فتوسنتز تاثیر دارند. با کاهش سرعت فتوسنتز، ماده خشک کمتری ساخته می‌شود. نتایج تجزیه واریانس (جدول ۲) نشان می‌دهد که تنش بر همه صفات مورفولوژیک اندازه‌گیری شده در این آزمایش اثر معنی‌دار داشته است. تاثیر معنی‌دار تنش اسمزی بر صفات مورفولوژیک گیاهچه توسط توکل و همکاران (۳۰)، آکسو و همکاران (۲۲) و رئوف و همکاران (۲۶) نیز گزارش شده است. به طوری که توکل و همکاران نشان دادند که در شرایط تنش ۵- بار شبیه سازی شده با PEG بین ژنوتیپ‌های مقاوم و حساس گندم از

که ژن HVA1 (ژنی که در مراحل پایانی تشکیل جنین در جو بیان می‌شود و بیان آن در گیاهان تراریخته برنج باعث افزایش مقاومت به خشکی می‌شود.) جو به آن منتقل شده بود، گزارش کردند. در آزمایش آنها حساسیت ساقه بیشتر از حساسیت ریشه بود. دلیل این تفاوت را می‌توان چنین توضیح داد که در آزمایش ذکر شده گیاهان درون گلدان با عمق ۳۱ سانتیمتر کشت داده شدند و تنش اسمزی با قطع آبیاری انجام شد. بنابراین پس از به پایان رسیدن رطوبت در اطراف ریشه، گیاه برای جذب بیشتر رطوبت شروع به توسعه ریشه کرده و سعی در جذب آب از تمام نقاط گلدان دارد که باعث افزایش وزن خشک ریشه می‌شود (۵، ۶). در حالی که در این آزمایش ریشه در محلول غذایی قرار داشت و گیاه به رطوبت دسترسی کامل داشته و در این حالت جذب رطوبت مهم بود که گیاه بایستی با ساز و کارهای دیگر از قبیل کاهش پتانسیل آب سلول‌های ریشه، آب بیشتری از محیط اطراف جذب کند. در این آزمایش برای تمام صفات به جز AWWPC شاخص حساسیت محاسبه شد. صفت AWWPC نیز خود به عنوان حساسیت در نظر گرفته شد (زیرا نشان‌دهنده درصد پژمردگی است). برای اینکه در انتخاب ژنوتیپ‌های مقاوم و حساس از تمام صفات استفاده شود از تجزیه مولفه‌های اصلی برای خلاصه کردن داده‌ها در نمودار دو بعدی استفاده شد (شکل ۵). دو مولفه اول ۸۹/۵ درصد تغییرات را در بر داشتند (جدول ۳). ضرایب هر صفت در مولفه اول و دوم به صورت بردار در شکل نشان داده شده تا تاثیر هر صفت در مولفه‌ها و رتبه بندی ژنوتیپ‌ها از نظر آن صفت مشخص شود. صفات مختلف در این شکل با علامت اختصاری مشخص شده‌اند که صفات مربوط به آنها به این شرح است: AWWPC: سطح زیر منحنی پیشرفت درصد پژمردگی، RWC: محتوای نسبی آب برگ، FSW: وزن تر ساقه، DSW: وزن خشک ساقه، SL: طول ساقه، DRW: وزن خشک ریشه، FRW: وزن تر ریشه و RL: طول ریشه. در این تجزیه مولفه اول حساسیت

عمومی را نشان می‌دهد و مولفه دوم حساسیت صفات برگ و ریشه را از یکدیگر جداسازی کرده است. استفاده از تجزیه مولفه‌های اصلی به منظور کاهش ابعاد داده‌ها و گروه‌بندی ژنوتیپ‌ها برای شناسایی ژنوتیپ‌های مقاوم و حساس در گذشته نیز گزارش شده است. در آزمایشی که گل‌آبادی و همکاران (۱۴) در مورد بررسی مقاومت به خشکی جمعیت‌های در حال تفرق گندم دوروم انجام دادند پس از محاسبه شاخص‌های مقاومت و حساسیت از PCA استفاده کردند که مولفه‌های اول و دوم به طور متوسط در مجموع ۹۶ درصد تغییرات را در بر می‌گرفتند. آنها در نهایت بر اساس این روش ژنوتیپ‌ها را به مقاوم و حساس گروه‌بندی کردند. زهاریوا و همکاران (۳۱) مقاومت به خشکی را در توده‌های وحشی گندم با بررسی صفات مورفوفیزیولوژیکی بررسی کردند و برای کاهش ابعاد داده‌ها و گروه‌بندی ژنوتیپ‌ها از تجزیه مولفه‌های اصلی استفاده کردند که دو مولفه اول ۷۷ درصد تغییرات را در بر داشتند. دو ژنوتیپ نیوتانس و ارکتوم که منشا اروپایی داشتند به عنوان ژنوتیپ‌های حساستر و ژنوتیپ‌های L.527 و Dari_83_6 و Ec_79_10 به عنوان ژنوتیپ‌های مقاوم‌تر از نظر صفات مرتبط با ساقه در شکل ۵ مشخص هستند. ژنوتیپ Dari_82_9 از نظر صفات مرتبط با ریشه ممکن است مقاوم‌تر از L.527 و Dari_83_6 و Ec_79_10 باشد اما از نظر صفات مرتبط با ساقه حساس‌تر است. از نظر وزن خشک ساقه و ریشه ۳ ژنوتیپ L.527 و Dari_83_6 و Ec_79_10 به طور میانگین به ترتیب ۵۷ و ۱۴ درصد نسبت به شرایط تنش کاهش نشان دادند در حالی که این کاهش برای ژنوتیپ‌های نیوتانس و ارکتوم به طور میانگین به ترتیب ۷۰ و ۴۱ درصد بود که نشان‌دهنده تفاوت در مقاومت این دو گروه از ژنوتیپ‌ها است.

در مجموع تخمین زده می‌شود با در نظر گرفتن سامانه‌های زراعی مختلف تنش‌های غیر زیستی عملکرد را در شرایط تنش به کمتر از نصف آن در شرایط ایده‌آل

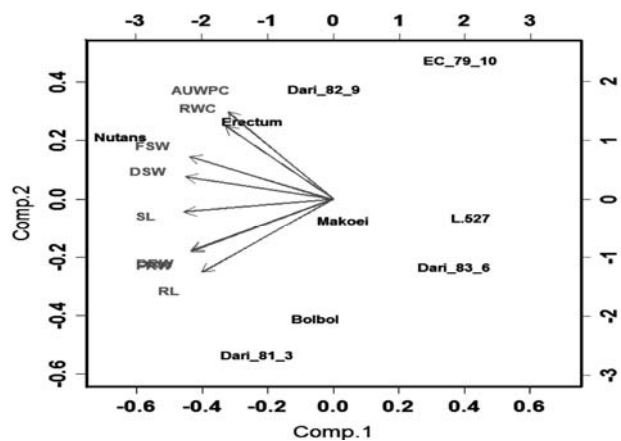
جدول ۳ - مقادیر ویژه ماتریس همبستگی و میزان واریانس توصیف شده توسط هر یک از ۲ مولفه اصلی.

مولفه اصلی	مقدار ویژه	نسبت از واریانس کل	نسبت تجمعی از واریانس کل
مولفه اصلی ۱	۵/۸	۰/۷۲۹	۰/۷۲۹
مولفه اصلی ۲	۱/۳	۰/۱۶۶	۰/۸۹۵

و گیاه شروع به پژمرده شدن می‌کند. زمان به کار انداختن این ساز و کارها برای ژنوتیپ‌های مقاوم و حساس کم و بیش یکسان بود، اما پاسخ ابتدائی گیاه به تنش و میزان پژمردگی در ابتدای تنش بین ژنوتیپ‌ها تفاوت زیادی داشت. همین تفاوت، ژنوتیپ‌های مقاوم و حساس را در انتهای مرحله تنش از هم جدا می‌کند. به طوری که می‌توان گفت همه ژنوتیپ‌ها پاسخ دیرنگام به تنش را در خود دارند و از آن بهره می‌برند، اما پاسخ زود هنگام تنها در پاره‌ای از ژنوتیپ‌ها وجود دارد. این تفاوت‌ها خود را در میزان وزن خشک ساقه و محتوای نسبی آب برگ نیز نشان می‌دهند. در پایان می‌توان از بین ژنوتیپ‌های استفاده شده در این آزمایش دو ژنوتیپ نیوتانس و ارکتوم را به ترتیب جز حساس‌ترین ژنوتیپ‌ها و ژنوتیپ‌های Dari-83-6 و L.527 را به ترتیب به عنوان مقاوم‌ترین ژنوتیپ‌ها در مرحله گیاهچه معرفی کرد. ژنوتیپ EC-79-10 اگرچه از نظر صفات مورفولوژیک گیاهچه در گروه ژنوتیپ‌های مقاوم جای می‌گیرد، اما در پایان آزمایش درصد پژمردگی آن به طور معنی‌داری از ژنوتیپ‌های مقاوم فاصله داشته و نیمه حساس است (شکل ۱). این نتایج تا حدی با واکنش این ژنوتیپ‌ها در مرحله بلوغ همخوانی دارد. به طوری که ژنوتیپ Dari-83-6 در موسسه تحقیقات دیم توسعه داده شده و به عنوان ژنوتیپ مقاوم شناخته می‌شود. ژنوتیپ EC-79-10 برای کشت در اراضی آبی مناسب است. دو ژنوتیپ نیوتانس و ارکتوم در شرایط بسیار مناسب از نظر میزان آب در بریتانیا کشت می‌شوند که نمی‌توان انتظار داشت جزء ژنوتیپ‌های مقاوم به خشکی باشند. نتایج این آزمایش می‌تواند برای گزینش ژنوتیپ‌ها برای بررسی بیان ژن‌ها در پاسخ به خشکی و همچنین انتخاب والد‌ها برای تهیه جمعیت و پیدا کردن مکان‌های ژنی مرتبط با صفات کمی استفاده شود.

قدردانی

نگارندگان این مقاله از آقایان مهندس احمد یوسفی (موسسه اصلاح نهال و بذر) و مهندس یوسف انصاری (موسسه تحقیقات دیم کشور) برای در اختیار گذاشتن نمونه‌های بذر جو ایرانی، قدردانی می‌کنند.



شکل ۵: نتایج حاصل از تجزیه مولفه‌های اصلی برای ۹ صفت مختلف. برای همه صفات به جز سطح زیر منحنی یشرفت درصد پژمردگی شاخص حساسیت محاسبه شد. بردارها در این شکل نشان‌دهنده ضرایب بردارهای ویژه برای دو مولفه اول هستند.

برسانند (۹). بخش‌های زیادی از ایران دارای شرایط آب و هوایی خشک و نیمه خشک است. جو یکی از گیاهان زراعی اصلی است که در این نواحی کشت می‌شود، زیرا با شرایط ذکر شده سازگاری یافته است. مقاومت در مرحله گیاهچه به خشکی از این نظر اهمیت دارد که گیاه با وجود تنش خشکی، استقرار خوبی در مزرعه خواهد داشت. استقرار خوب و پوشش سریع سطح خاک به گیاه نه تنها در مبارزه با علف‌های هرز کمک می‌کند بلکه به دلیل سطح برگ کافی بیشترین استفاده را از نور در ابتدای فصل رشد خواهد داشت. گیاهانی که در مرحله گیاهچه استقرار خوبی در مزرعه داشته باشند در پایان فصل رشد نیز از عملکرد قابل قبولی برخوردار هستند (۸). بایومی و همکاران (۵) نشان دادند که بین مقاومت در مرحله گیاهچه و مقاومت در گیاه بالغ همبستگی وجود دارد، بنابراین می‌توان از مرحله گیاهچه برای غربال تعداد زیادی از ژنوتیپ‌ها پیش از آزمایش آنها در مزرعه استفاده کرد (۵). اگر چه میزان تنش استفاده شده در این آزمایش متوسط بود (۴، ۱۷) اما دوره زمانی تنش طولانی بود (تا ۱۴ روز) و شبیه شرایطی بود که به طور معمول در مزرعه اتفاق می‌افتد. نتایج این آزمایش نشان داد که گیاه پس از مواجه شدن با تنش و پژمردگی ابتدائی، با به کار انداختن ساز و کارهای مقاومت تا روز نهم پس از آغاز تنش تا حدود زیادی از پژمردگی بیشتر جلوگیری می‌کند اما پس از آن، کارآئی ساز و کارهای ذکر شده کاهش یافته

منابع

- 1-Abraham, E. M., B. Huang, S. A. Bonos, and W. A. Meyer. 2004. Evaluation of Drought Resistance for Texas Bluegrass, Kentucky Bluegrass, and Their Hybrids. *Crop Science* 44:1746–1753.
- 2-Andjelkovic, V., and R. Thompson. 2006. Changes in gene expression in maize kernel in response to water and salt stress. *Plant Cell Reports* 25:71-79.
- 3-Babu, R. C., J. Zhang, A. Blum, T.-H. D. Ho, R. Wu, and H. T. Nguyen. 2004. HVA1, a LEA gene from barley confers dehydration tolerance in transgenic rice (*Oryza sativa L.*) via cell membrane protection. *Plant Science* 166:855–862.
- 4-Bandurska, H., and A. Stroinski. 2005. The effect of salicylic acid on barley response to water deficit. *Acta Physiologiae Plantarum* 27:379-386.
- 5-Bayoumi, T. Y., M. H. Eid, and E. M. Metwali. 2008. Application of physiological and biochemical indices as a screening technique for drought tolerance in wheat genotypes. *African Journal of Biotechnology* 7:2341-2352.
- 6-Berg, L. v. d., and Y. J. Zeng. 2006. Response of South African indigenous grass species to drought stress induced by polyethylene glycol (PEG) 6000. *South African Journal of Botany* 72:284 – 286.
- 7-Bhargava, S., and S. Paranjpe. 2004. Genotypic variation in the photosynthetic competence of Sorghum bicolor seedlings subjected to polyethylene glycol-mediated drought stress. *J Plant Physiol* 161:125-9.
- 8-Blum, A. 1988. Plant breeding for stress environments. CRC Press:1-223.
- 9-Boyer.JS. 1982. Plant productivity and environment. *Science* 218:443–8.
- 10-Carusio, A., F. Chefdor, S. Carpin, C. Depierreux, F. M. Delmotte, G. Kahlem, and D. Morabito. 2008. Physiological characterization and identification of genes differentially expressed in response to drought induced by PEG 6000 in *Populus canadensis* leaves. *Journal of Plant Physiology* 165:932-941.
- 11-Diab, A. A., B. Teulat-Merah, D. This, N. Z. Ozturk, D. Benschler, and M. E. Sorrells. 2004. Identification of drought-inducible genes and differentially expressed sequence tags in barley. *Theor Appl Genet* 109:1417-25.
- 12-Fischer, R., and M. R. 1978. Drought resistance in spring wheat cultivars. I. Grain yield responses. *Aust. J. Agric. Res.* 29:897-912.
- 13-Fu, D. L., B. R. Huang, Y. M. Xiao, S. Muthukrishnan, and G. H. Liang. 2007. Overexpression of barley hva1 gene in creeping bentgrass for improving drought tolerance. *Plant Cell Reports* 26:467-477.
- 14-Golabadi, M., A. Arzani, and S. A. M. M. Maibody. 2006. Assessment of Drought Tolerance in Segregating Populations in Durum Wheat. *African Journal of Agricultural Research* 1:162-171.
- 15-Hoagland, D., and A. D. 1950. The water-culture method for growing plants without soil. *California Agricultural Experiment Station Circular* 347.
- 16-Kimurto, P. K., M. G. Kinyua, R. Birechl, P. C. Korir, E. M. Njoka, and P. N. Njau. 2005. Root and shoot characteristics as selection criteria for drought tolerance in bread wheat (*Triticum aestivum L.*) at seedling stage under tropical environment. *Discovery and Innovation* 17:74-84.
- 17-Kocheva, K., and G. Georgiev. 2003. Evaluation of the Reaction of Two Contrasting Barley (*Hordeum vulgare L.*) Cultivars in Response to Osmotic Stress with PEG 6000. *Bulg. J. Plant Physiol.*:290–294.
- 18-Kramer, P. J. 1980. Drought, stress and origin of adaptation In *Adaptation of Plants to Water and High Temperature Stress*. John Wiley and Sons:7-20.
- 19-Landjeva, S., K. Neumann, U. Lohwasser, and A. Borner. 2008. Molecular mapping of genomic regions associated with wheat seedling growth under osmotic stress. *Biologia Plantarum* 52 259-266.
- 20-Lu, Z., and P. M. Neumann. 1998. Water-stressed maize, barley and rice seedlings show species diversity in mechanisms of leaf growth inhibition. *Journal of Experimental botany* 49:1945-1952.
- 21-Marroni, M. V., S. L. H. Viljanen-Rollinson, R. C. Butler, and Y. Deng. 2006. Fungicide Timing for the Control of *Septoria tritici* Blotch of Wheat. *New Zealand Plant Protection* 59:160-165.
- 22-Okcu, G., M. D. Kaya, and M. Atak. 2005. Effects of Salt and Drought Stresses on Germination and Seedling Growth of Pea (*Pisum sativum L.*). *Turk J Agric For* 29:237-242.
- 23-Ozturk, Z. N., V. Talame, M. Deyholos, C. B. Michalowski, D. W. Galbraith, N. Gozukirmizi, R. Tuberosa, and H. J. Bohnert. 2002. Monitoring large-scale changes in transcript abundance in drought- and salt-stressed barley. *Plant Mol Biol* 48:551-73.
- 24-Panda, S. K., and M. H. Khan. 2004. Changes in growth and superoxide dismutase activity in *Hydrilla verticillata L.* under abiotic stress. *Braz. J. Plant Physiol* 16:115-118.
- 25-Rampino, P., S. Pataleo, C. Gerardi, G. Mita, and C. Perrotta. 2006. Drought stress response in wheat: physiological and molecular analysis of resistant and sensitive genotypes. *Plant, Cell and Environment* 29:2143–2152.
- 26-Rauf, M., M. Munir, M. u. Hassan, M. Ahmad, and M. Afzal. 2007. Performance of wheat genotypes under osmotic stress at germination and early seedling growth stage. *African Journal of Biotechnology* 6:971-975.
- 27-Sabirzhanova, I. B., B. E. Sabirzhanov, A. Chemeris, D. S. Veselov, and G. R. Kudoyarov. 2005. Fast changes in expression of expansin gene and leaf extensibility in osmotically stressed maize plants. *Plant Physiology and*

- Biochemistry 43 419–422.
- 28-Shao-Xia, Z., T. Feng, Z. Zuo-Feng, F. Yong-Cai, W. Xiang-Kun, and S. Chuan-Qing. 2006. Identification of Quantitative Trait Loci Controlling Drought Tolerance at Seedling Stage in Chinese Dongxiang Common Wild Rice (*Oryza rufijlogon* Griff.). *Acla Genetics Sinicu* 33:551-558.
- 29-Teulat, B., N. Zoumarou-Wallis, B. Rotter, M. B. Salem, H. Bahri, and D. This. 2003. QTL for relative water content in field-grown barley and their stability across Mediterranean environments. *Theor Appl Genet* 108:181–188.
- 30-Tvakol, E., and H. Pakniyat. 2007. Evaluation of some Drought Resistance Criteria at Seedling Stage in Wheat (*Triticum aestivum* L.) Cultivars. *Pakistan Journal of Biological Sciences* 10:1113-1117.
- 31-Zaharieva, M., E. Gaulin, M. Havaux, E. Acevedo, and P. Monneveux. 2001. Drought and Heat Responses in the Wild Wheat Relative *Aegilops geniculata* Roth: Potential Interest for Wheat Improvement. *Crop Sci* 41:1321–1329
- 32-Zheng, B., L. Yang, C. Mao, Y. Huang, and P. Wu. 2008. Comparison of QTLs for rice seedling morphology under different water supply conditions. *J. Genet. Genomics* 35:473-484.
- 33-Zheng, J., J. F. Zhaol, Y. Z. Tao, J. H. Wang, Y. J. Liu, J. J. Fu, Y. Jin, P. Gao, J. P. Zhang, Y. F. Bai, and G. Y. Wang. 2004. Isolation and analysis of water stress induced genes in maize seedlings by subtractive PCR and cDNA macroarray. *Plant Molecular Biology* 55:807-823.

The screening of tolerant barley seedlings to osmotic stress

H. Ramshini¹, S.A. Peighambari¹, A. A. Boushehri¹,
M. Omid¹, C. Newman², P. Schvizer²

Abstract

Barley (*Hordeum vulgare L.*) is a model plant for genetical and physiological studies and has a high adaptability to different conditions. At seedling stage drought stress prevents the suitable establishment of plant. It is possible to categorize the genotypes into resistant and sensitive genotypes using physiological and morphological traits. The objective of this study was to identify resistant and sensitive genotypes to osmotic stress among 9 Iranian and European genotypes. Poly ethylene glycol (PEG) was used for simulating the drought stress at chamber. Genotypes were cultured at control and stress conditions. The leaf wilting percentage was recorded 3, 6, 9 and 12 days after PEG application. RWC and some morphological traits were 7 and 14 days after PEG treatment, respectively. The results showed a highly significant difference between two growth conditions. The differences among genotypes were significant. For all traits except the area under wilting progress curve, the sensitive index was calculated. The results showed that Nutans and Erectum are the most sensitive and Dari_83_6 and L.527 are the most tolerant genotypes to osmotic stress at seedling stage. Although EC_79_10 can be considered as tolerant based on the seedling morphological traits but it showed a significantly higher wilting than tolerant genotypes and so will be grouped as semi tolerant.

Key words: Barley, morphological traits, osmotic stress, poly ethylene glycol, seedling.