مقاله پژوهشی

نشریه علمی تحقیقات مرتع و بیابان ایران
جلد ۲۹ شماره ۳، صفحه ۴۵۰-۴۳۴، (۱۴۰۱)

شناسه دیجیتال (DOI): 10.22092/ijrdr.2022.127636
شناسه دیجیتال (DOR): 20.1001.1.17350875.1401.29.3.8.3

بررسی خصوصیات فیزیولوژیکی جمعیت‌های علف باغ (Dactylis glomerata) تحت رژیم‌های متفاوت رطوبتی

علی وثوق[۱]، علی اشرف جعفری[۲*]، عزت کرمی[۳]، رضا طالبی[۳] و هوشمند صفری[۴]

۱- دانشجوی دکترای ژنتیک و به‌نژادی گیاهی، گروه زراعت و اصلاح نباتات، واحد سنندج، دانشگاه آزاد اسلامی، سنندج، ایران

۲*- نویسنده مسئول، استاد، بخش تحقیقات مرتع، مؤسسه تحقیقات جنگلها و مراتع کشور، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، تهران، ایران

پست‌الکترونیک: aajafari@rifr-ac.ir

۳-استادیار، گروه زراعت و اصلاح نباتات، واحد سنندج، دانشگاه آزاد اسلامی، سنندج، ایران

۴- استادیار، بخش تحقیقات جنگل‌ها و مراتع، مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی استان کرمانشاه، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، کرمانشاه، ایران

تاریخ دریافت: ۱۴۰۱/۰۲/۳۰ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۱/۰۵/۰۲

چکیده

علف باغ (*Dactylis glomerata*) نقش مهمی در احیاء مراتع و ایجاد چراگاه و تولید علوفه دارد، ازاین‌رو برای ارزیابی عملکرد شاخساره و خصوصیات فیزیولوژیکی، ۱۲ جمعیت علف باغ در سه شرایط متفاوت رطوبتی (تیمار ۹۰ درصد، ۷۰ درصد و ۵۰ درصد ظرفیت زراعی در طول فصل رشد) به‌صورت گلدانی در قالب طرح کاملاً تصادفی با ۳ تکرار کشت و صفات وزن شاخساره، محتوای کلروفیل، کاروتنوئید، پروتئین، پرولین، کاتالاز، پراکسیداز و سوپراکسید دیسموتاز ارزیابی شدند. نتایج تجزیه واریانس تنوع معنی‌داری را برای صفات در بین جمعیت‌ها نشان داد. جمعیت‌های کرج برای کلروفیل a و کل، زنجان برای کلروفیل b و کاروتنوئید، امریکا برای پراکسیداز و کاتالاز، بانک‌ژن برای سوپراکسید دیسموتاز، مرند برای پروتئین محلول، کرج و زنجان برای پرولین برتر بودند و جمعیت‌های ملایر، امریکا، بانک‌ژن و کرج بیشترین وزن شاخساره را داشتند. بیشترین وزن شاخساره و محتوای کلروفیل در سطح رطوبتی ۹۰ درصد ظرفیت زراعی مشاهده شد که با افزایش شدت تنش به‌صورت معنی‌داری کاهش یافتند. بیشترین میزان کاروتنوئید و پراکسیداز در سطح رطوبتی ۷۰ درصد مشاهده شد و با افزایش تنش کاهش معنی‌دار داشتند و در نهایت کمترین محتوای آنزیم‌های سوپراکسید دیسموتاز، کاتالاز و محتوای پرولین و پروتئین محلول در سطح ۹۰ درصد ظرفیت زراعی مشاهده شد که با افزایش شدت تنش به‌طور معنی‌داری افزایش یافتند. جمعیت‌ها بر اساس تجزیه خوشه‌ای در ۳ گروه متمایز قرار گرفتند. گروه اول شامل پنج جمعیت بود که وزن شاخساره خشک و خصوصیات فیزیولوژیکی برتری داشتند. گروه دوم شامل شش جمعیت بود که نسبت به گروه قبل در رده دوم قرار گرفتند و در نهایت گروه سوم دارای یک جمعیت بود که تظاهر ضعیفی نشان داد. در مجموع با توجه به بررسی‌های آماری روی صفات مورد بررسی، جمعیت‌های بانک‌ژن، مرند، زنجان، کرج، امریکا و ملایر در شرایط متفاوت رطوبتی برتر بودند و به‌عنوان مواد ژنتیکی مناسب برای احیای مراتع یا برنامه‌های اصلاحی معرفی شدند.

واژه‌های کلیدی: علف باغ، تنش خشکی، فتوسنتز، آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان، پرولین، تجزیه خوشه‌ای.

مقدمه

گراس‌ها از مهمترین گیاهان علوفه‌ای و مرتعی هستند که به لحاظ تولید علوفه، حفاظت و جلوگیری از فرسایش خاک اهمیت زیادی دارند (Casler & Duncan, 2003). علف باغ با نام علمی *Dactylis glomerata* L. به دلیل تمایل به رشد در مناطق سایه‌دار مانند باغ‌ها به نام علف باغ (Orchardgrass) شناخته شده است ولی در نواحی اروپایی به علت شکل گل‌آذین پامرغی به نام Cocksfoot شناخته می‌شود (Last *et al*., 2013). اهمیت اقتصادی و زراعی علف باغ بیشتر برای ایجاد چراگاه طبیعی و تولید علوفه می‌باشد و در کشت مخلوط با سایر گرامینه‌های مرتعی در احیا و اصلاح مراتع مورد استفاده قرار می‌گیرد (Alizadeh & Jafari, 2010)، هرچند این گیاه به چرای دام حساس است اما ویژگی‌های کیفیت علوفه آن در اثر چرا تغییر نمی‌کند (Saedi *et al*., 2017). بر همین اساس در مراتع مرغوب بیشتر رشد می‌کند، یا به عبارت دیگر اگر علف باغ جزء گونه‌های غالب مرتع باشد آن مرتع مرغوب بوده و در مراتع تخریب‌شده کمتر دیده می‌شود. با توجه به مقاومت کم آن در مقابل خشکی معمولا در مناطقی با بارندگی بالا بیشتر وجود دارد و عمدتاً در مراتع مرغوب تیپ گون – داکتیلیس تشکیل می‌دهد (Manning, 1997).

از نظر گیاه‌شناسی، گیاهی چند ساله با ارتفاع ۲۰ تا ۱۴۰ سانتی‌متر با برگ‌های سبز خاکستری به طول ۲۰ تا ۵۰ سانتی‌متر و عرض آن تا ۱/۵ سانتی‌متر است. گل‌آذین آن مثلثی پرزدار متمایز به طول ۱۰ تا ۵۰ سانتی‌متر به رنگ سبز تا قرمز مایل به ارغوانی است. در هنگام رسیدن، بذر به رنگ خاکستری مایل به قهوه‌ای کم رنگ است. سنبلچه‌ها ۵ تا ۹ میلی‌متر طول دارند و معمولاً شامل دو تا پنج گل هستند. دارای یک پایه ساقه مسطح مشخص است که آن را از بسیاری از علف‌های دیگر متمایز می‌کند (Hubbard, 1992). این گیاه در آسیا، اروپا و نواحی مدیترانه‌ای پراکنش وسیعی دارد (Calzada & Connel, 2005). مناسب مناطق سردسیری و در مناطق معتدله کشور و در سطح گسترده‌ای از مراتع کشور مانند استان‌های شمالی و رشته‌کوه‌های البرز و زاگرس می‌روید (Mobayen, 1980) و برای گلدهی نیاز به بهاره‌سازی دارد. دارای خودناسازگاری گامتوفیتی است و گرده‌افشانی آن از طریق باد انجام می‌شود، انتخاب طبیعی و روند سازگاری منجر به دارا بودن دامنه وسیع جغرافیایی و تغییرات مورفولوژیکی در آن شده است (Last *et al*., 2013). نمونه‌های وحشی این گیاه بصورت خودرو در مراتع رشد می‌کند و برای تولید علوفه و تغذیه چهارپایان در نواحی مدیترانه‌ای و مناطق نیمه‌خشک مورد استفاده قرار می‌گیرد. باوجوداین، ارقام اهلی شده و زراعی آن نیز معرفی شده‌اند (Calzada & Connell, 2005; Santen & Sleper, 1996). این گونه را می‌توان هم به صورت مخلوط با لگوم‌ها و هم به صورت خالص کشت کرد (Klass *et al*., 2011). در سال‌های اخیر ارزیابی تنوع ژنتیکی گونه‌های مختلف گراس‌ها برای عملکرد علوفه و بذر در مناطق معتدل کشور انجام شده است و جمعیت‌های برتر از گونه‌های مختلف معرفی شده‌اند (Jafari, 2016). بر همین اساس در ارزیابی ۳۶ جمعیت علف باغ، تنوع معنی‌داری برای عملکرد و کیفیت علوفه گزارش شد و جمعیت‌های کرج، زنجان و قزوین به عنوان ارقام ترکیبی در شرایط آب و هوایی استان کرمانشاه معرفی شدند (Farshadfar, 2017). در تحقیق دیگری در ارزیابی مزرعه‌ای ۲۵ جمعیت علف باغ در شرایط تبریز، جمعیت‌های شاهرود و اصفهان به‌عنوان دو جمعیت برتر از نظر عملکرد بذر و علوفه معرفی گردیدند (Saburi Azar *et al*., 2022). تنش خشکی یکی از فاکتورهای مهم است که بر روی صفات مورفولوژیکی، بیوشیمیایی و فیزیولوژیکی تأثیر می‌گذارد و منجر به کاهش تولید در گیاهان می‌گردد (Havrlentová *et al*., 2021). بر این اساس شناسایی و گزینش صفات فیزیولوژیکی روش قابل اعتمادی برای افزایش عملکرد در شرایط تنش خشکی است (Khadka *et al*., 2020). ازجمله شاخص‌های فیزیولوژیکی تحمل خشکی، دوام فتوسنتز و حفظ غلظت کلروفیل تحت شرایط تنش خشکی است که به ثبات فتوسنتز در این شرایط کمک می‌کند (Krause & Weiss 1991). کاهش کلروفیل در اثر تداوم تنش خشکی احتمالاً

به‌دلیل کاهش در پروتئین‌های غشاء تیلاکوئید، افزایش در فعالیت آنزیم کلروفیلاز و پراکسیداز و اختلال در فعالیت آنزیم‌های مسئول سنتز کلروفیل در نتیجه تجزیه کلروفیل می‌باشد (Silva *et al*., 2007). علاوه‌براین، رنگدانه کاروتنوئید یکی از عوامل مهم ایجاد مقاومت در برابر تنش‌های محیطی است که باعث حذف رادیکال‌های آزاد اکسیژن می‌شود و آن را به عنوان آنتی‌اکسیدان غیر آنزیمی می‌شناسند (Sarvajeet & Narendra 2010). پـرولین یکی از مهمترین اسید آمینه‌هایی است که در گیاهان تحت تأثیر تنش خشکی تجمع می‌یابد (Staden *et al*., 1999). در شرایط تنش خشکی، پرولین در حفظ قابلیت اسمزی، حذف رادیکال‌های آزاد و ROS، حفاظت ماکرومولکول‌ها از دناتوره شدن و تنظیم pH سلولی نقش دارد. همچنین پرولین به عنوان منبع نیتروژن و کربن برای گیاهان تحت تنش شدید عمل می‌کند و تحمل گیاه را در برابر تنش افزایش می‌دهد (Amini *et al*., 2015)، بر همین اساس افزایش پرولین در اثر تنش خشکی در گراس‌ها نیز عمومیت دارد (Ebrahimiyan *et al*., 2013). بااین‌حال گزارش شده است که نمی‌توان افزایش پرولین در برخی گراس‌ها را به عنوان شاخصی از مقاومت به خشکی به حساب آورد، بلکه این افزایش شاخص خوبی از قدرت تنش خشکی است که بر گیاه اعمال شده است (Bokhari & Trent, 1985). از سوی دیگر، بسیاری از محققان بر این باورند که افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی در شرایط نامساعد محیطی از ایجاد تنش اکسیداتیو در سلول پیش‌گیری کرده و باعث تجزیه پراکسید هیدروژن تولید شده در سلول‌ها می‌شود و به این شکل آسیب به بیومولکول‌های حیاتی و اختلالات متابولیسمی کاهش می‌یابد (Esfandiari *et al*., 2007). بر همین اساس بررسی تأثیر تنش خشکی بر فعالیت آنتی‌اکسیدان‌های دو گونه گراس *Agrostis stolonifera* و*Festuca arundinacea* نشان داده که میزان فعالیت آنزیم‌های پراکسیداز، سوپراکسید دیسموتاز و کاتالاز در گیاهان تحت تنش در مقایسه با گیاهان شاهد افزایش یافته است و بیان شده که تیمار خشکی با تقویت سیستم آنتی‌اکسیدانی، تحمل به خشکی را در هر دو گونه چمن افزایش داده است (Amiri Nasab *et al*., 2015). به هر حال گزارش شده است که فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان با توجه به نوع آنزیم و ژنوتیپ گیاه پاسخ‌های مختلفی به تنش خشکی نشان می‌دهند (Tarkesh Esfahani *et al*., 2015) و نتایج تحقیقات نشان داده که تنش خشکی باعث بالا رفتن فعالیت آنزیم کاتالاز، در ارقام مختلف گندم شده است و ارقام مقاوم دارای میزان کاتالاز بیشتری نسبت به ارقام حساس هستند (Renu & Devarshi 2007). با توجه به اینکه خشکی یکی از مهمترین عوامل محدود کننده عملکرد گیاهان زراعی به‌شمار می‌آید و از آنجایی که در ایران کشت گرامینه‌های مرتعی در مراتع به صورت دیم انجام می‌شود، بنابراین شناخت ویژگی‌های فیزیولوژیکی ایجاد شده در محیط تنش خشکی، می‌تواند ما را در شناخت ژنوتیپ‌های مقاوم به خشکی یاری کند. در این پژوهش اثر تنش خشکی بر فعالیت برخی آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی و خصوصیات فیزیولوژیک برای تعیین نقش این آنزیم‌ها در کاهش خسارت اکسیداتیو ناشی از تنش خشکی بررسی شد.

مواد و روش‌ها

مواد گیاهی مورد استفاده در این پژوهش شامل تعداد ۱۲ جمعیت علف باغ (*Dactylis glomerata*) بود. نمونه‌های گیاهی مورد مطالعه از بین ۳۶ جمعیت که قبلاً در ایستگاه تحقیقات اسلام‌آبادغرب ارزیابی شده بودند (Farshadfar, 2017) انتخاب شدند. ۳۶ جمعیت مورد مطالعه به دو گروه ۶ جمعیتی که گروه اول دارای عملکرد بیشتر از متوسط عملکرد تمام جمعیت‌ها (جمعیت‌های G2، G3، G8، G12، G14 و G20) و گروه دوم دارای عملکرد کمتر از متوسط عملکرد تمام جمعیت‌ها (۱/۵ تن در هکتار) بودند (جمعیت‌های G4، G6، G10، G22 G24 و G30) انتخاب شد. جمعیت‌ها در اسفندماه ۱۳۹۹ در مرکز آموزش و تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی استان کرمانشاه در سه شرایط متفاوت رطوبتی بصورت کشت گلدانی به روش وزنی در قالب طرح کاملا تصادفی با ۳ تکرار ارزیابی شدند. در ابتدا خاک سه گلدان به

مدت ۷۲ ساعت در آون دمای ۷۰ درجه سانتی‌گراد خشک و توزین شد. گلدان‌های مورد استفاده گنجایش ۴ کیلوگرم خاک با قطر دهانه ۲۰ و ارتفاع ۳۰ سانتی‌متر را داشتند. در مرحله بعد به خاک گلدان‌ها آب اضافه شد تا به ظرفیت زراعی برسد و توزین شود و از این طریق میزان آب لازم برای قرار گرفتن خاک گلدان در ظرفیت زراعی محاسبه شد، بر همین اساس سه تیمار ظرفیت مزرعه‌ای ۹۰، ۷۰ و ۵۰ درصد ظرفیت زراعی محاسبه و آبیاری برای هر تیمار بر اساس میزان ظرفیت زراعی با استفاده از استوانه مدرج یک لیتری انجام شد (Mahdinezhad & Shahi, 2020). آبیاری هر ۴ روز یکبار و براساس کاهش آب از دست رفته گلدان‌ها انجام شد. کشت گلدان‌ها در شرایط گلخانه و در اسفندماه انجام شد و پس از اعمال تیمارها به مدت ۳ ماه وزن تر گیاهان هر گلدان با ترازوی حساس توزین شد و بعد آنها را در فویل پیچیده و به‌مدت ۲۴ ساعت در آون با درجه حرارت ۷۰ درجه سانتیگراد گذاشته و بعد وزن خشک آنها بر حسب گرم در گلدان اندازه‌گیری گردید. از نمونه‌های برگی برای اندازه‌گیری خصوصیات فیزیولوژیکی نمونه‌برداری شد و به‌شرح زیر به اندازه‌گیری خصوصیات فیزیولوژیکی اقدام شد.

صفات فیزیولوژیک

برای اندازه‌گیری محتوای کلروفیل و کاروتنوئید از روش Lichtenthaler و Welburn (۱۹۸۳) استفاده شد و با دستگاه الایزا (Bio Tek Powerwave XS2) در طول موج‌های ۶۶۳، ۶۴۶ و ۴۷۰ نانومتر قرائت انجام گردید و با روابط زیر میزان کلروفیل a، کلروفیل b، کلروفیل کل و کاروتنوئید برحسب میلی‌گرم بر گرم وزن تر محاسبه شد (Ranjbar *et al*., 2021).

Chlorophyll a = 12.21 (A_{663}) – 2.81 (A_{646})

Chlorophyll b = 20.13 (A_{646}) – 5.1 (A_{663})

Chlorophyll Total = Chl a + Chl b

Cartenoid = (1000 A_{470} – 3.27 [Chl a] – 104 [Chl b]/227

برای تعیین غلظت پروتئین از روش (Bradford, 1976) استفاده شد و از معرف بلو به عنوان شاهد استفاده شد. میزان جذب نوری آن در طول موج ۵۹۵ نانومتر قرائت شد. برای اندازه‌گیری غلظت پرولین از روش (Bates *et al*., 1973) استفاده و در طول موج ۵۲۰ نانومتر قرائت انجام شد، با توجه به مقادیر جذب نوری و غلظت‌های محلول ذخیره، منحنی استاندارد رسم شد و پرولین محاسبه گردید.

برای اندازه‌گیری فعالیت آنتی‌اکسیدان‌ها و پروتئین‌های محلول، ابتدا عصاره‌گیری به روش Ramachandra و همکاران (۲۰۰۴) انجام شد. آنگاه برای اندازه‌گیری سرعت فعالیت آنزیم پراکسیداز (POD) از روش Chance و Maehly (۱۹۹۵) استفاده و در طول موج ۴۷۰ نانومتر میزان جذب آن خوانده شد و بر حسب واحد بر میلی‌گرم پروتئین محاسبه گردید.

برای اندازه‌گیری سرعت فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز (SOD) از روش Beauchamp و Fridovich (۱۹۷۱) استفاده شد. اندازه‌گیری بر اساس توانایی آنزیم SOD در متوقف کردن احیاء فتوشیمیایی نیتروبلوتترازولیوم (NBT) توسط رادیکال‌های سوپراکسید در حضور ریبوفلاوین در نور انجام شد. سپس جذب نوری آن در طول موج ۵۶۰ نانومتر قرائت شد و بر حسب واحد بر میلی‌گرم پروتئین محاسبه گردید.

اندازه‌گیری فعالیت آنزیم کاتالاز به کمک روش Sinha (۱۹۷۲) انجام شد. در این روش از واکنش کاهشی دی‌کرومات پتاسیم محلول در اسیداستیک به کرومیک‌استات و تشکیل پرکرومیک‌اسید سبز رنگ در حضور هیدروژن‌پراکسید و حرارت استفاده و در طول موج جذبی ۵۷۰ نانومتر قرائت شد و بر حسب واحد بر میلی‌گرم پروتئین محاسبه گردید.

محاسبات آماری

تجزیه آماری داده‌ها با نرم‌افزار آماری Minitab16 انجام شد. ابتدا شرط نرمال بودن داده‌ها با آزمون کولموگروف–اسمیرنوف و همگنی واریانس داده‌ها به وسیله

آزمون لون آزمایش شد. با توجه به نرمال بودن داده‌ها و همگن بودن واریانس‌ها، هیچگونه تبدیلی بر روی داده‌ها انجام نشد. در مقایسه میانگین تیمارها از آزمون چند دامنه‌ای دانکن استفاده شد. تجزیه خوشه‌ای با استفاده از میانگین کلیه صفات انجام شد.

نتایج

نتایج تجزیه واریانس (جدول ۱) نشان داد که در بین جمعیت‌ها برای عملکرد شاخساره و کلیه خصوصیات فیزیولوژیکی تفاوت معنی‌دار در سطح ۱٪ وجود داشت، همچنین اثر سطوح متفاوت رطوبتی نیز برای تمام صفات در سطح ۱ درصد معنی‌دار شد. از سوی دیگر، اثر متقابل جمعیت در سطوح متفاوت رطوبتی بجز عملکرد شاخساره، کلروفیل b و کاروتنوئید برای بقیه صفات در سطوح ۵ و ۱ درصد معنی‌دار گردید. میزان ضریب تغییرات آزمایش نیز بین ۲/۲۴ تا ۹/۷۰ درصد بود (جدول ۱).

بیشترین وزن شاخساره با ۳/۳۵ و ۳/۳۷ گرم در گلدان به ترتیب در جمعیت‌های امریکا G14 و ملایر G20 بدست آمد. کمترین عملکرد شاخساره با ۲/۲۰ گرم در گلدان در جمعیت ساری G30 مشاهده شد (جدول ۳). نتایج مقایسه میانگین وزن شاخساره در سطوح متفاوت رطوبتی (جدول ۲) نشان داد که وزن شاخساره خشک در شاهد و تنش رطوبتی متوسط و شدید به ترتیب ۳/۴۲، ۲/۳۲ و ۱/۲۲ گرم در گلدان بود.

رنگ‌دانه‌های فتوسنتزی

نتایج مقایسه میانگین جمعیت‌ها برای شاخص‌های فتوسنتزی با روش دانکن در سطح ۵ درصد نشان داد که بیشترین میزان کلروفیل a به جمعیت کرج G12 با ۲۰/۴۵ میلی‌گرم بر گرم اختصاص داشت که با جمعیت‌های G2، G8، G14 و G30 تفاوت معنی‌داری نشان نداد، در مقابل کمترین میزان کلروفیلa به جمعیت قزوین G4 با میانگین ۱۵/۱۵ میلی‌گرم بر گرم اختصاص داشت که با جمعیت‌های G6، G10 و G22 تفاوت معنی‌داری نشان نداد. برای کلروفیلb جمعیت زنجان G8 با ۶/۳۳ میلی‌گرم بر گرم بیشترین میزان را داشت که با جمعیت‌های G2، G3، G12 و G30 تفاوت معنی‌داری نشان نداد، در مقابل کمترین میزان کلروفیلb به جمعیت قزوین G4 با میانگین ۳/۸۳ میلی‌گرم بر گرم اختصاص داشت که با جمعیت‌های G6، G10، G20 و G24 تفاوت معنی‌داری نشان نداد. بیشترین میزان کلروفیل کل به جمعیت کرج G12 با ۲۶/۳۸ میلی‌گرم بر گرم اختصاص داشت که با جمعیت‌های G2، G8، G14 و G30 تفاوت معنی‌داری نشان نداد، در مقابل کمترین میزان کلروفیل کل به جمعیت قزوین G4 با میانگین ۱۸/۹۸ میلی‌گرم بر گرم اختصاص داشت که با جمعیت‌های G6، G2 و G22 تفاوت معنی‌داری نشان نداد. در مورد کاروتنوئید نیز جمعیت زنجان G8 با ۶/۲۳ میلی‌گرم بر گرم بیشترین میزان را داشت که با جمعیت‌های G10 و G14 تفاوت معنی‌داری نشان نداد. کمترین میزان کاروتنوئید به جمعیت اردبیل G6 با میانگین ۳/۸۲ میلی‌گرم بر گرم اختصاص داشت که با دیگر جمعیت‌ها تفاوت معنی‌داری نشان داد (جدول ۳). نتایج مقایسه میانگین رنگ‌دانه‌های فتوسنتزی در سطوح متفاوت رطوبتی نشان داد که بیشترین مقادیر کلروفیل a، b و کلروفیل کل در آبیاری ۹۰ درصد ظرفیت زراعی به ترتیب با میانگین‌های ۱۹/۰۱، ۵/۴۲ و ۲۴/۴۴ میلی‌گرم بر گرم بدست آمد و با آبیاری ۷۰ و ۵۰ درصد ظرفیت زراعی تفاوت معنی‌دار داشتند. کمترین مقادیر کلروفیل a و b و کلروفیل کل در آبیاری ۵۰ درصد ظرفیت زراعی به ترتیب با میانگین‌های ۱۷/۰۸، ۴/۷۸ و ۲۱/۸۶ میلی‌گرم بر گرم اختصاص داشت که در مورد کلروفیل a با آبیاری ۷۰ درصد ظرفیت زراعی تفاوت معنی‌داری نداشت اما برای کلروفیلb و کلروفیل کل با دیگر سطوح تفاوت معنی‌دار نشان داد (جدول۲). در مورد کاروتنوئید این روند متفاوت بود، بدین شرح که بیشترین میزان کاروتنوئید در آبیاری ۷۰ درصد ظرفیت زراعی با میانگین ۵/۳۷ میلی‌گرم بر گرم مشاهده شد که با دیگر سطوح آبیاری تفاوت معنی‌داری نشان داد و از سوی دیگر کمترین میزان کاروتنوئید برای آبیاری ۵۰ درصد با میانگین ۴/۷۷

میلی‌گرم بر گرم مشاهده شد که با آبیاری ۹۰ درصد ظرفیت زراعی تفاوت معنی‌داری نداشت (جدول ۲). همانطور قبلاً بیان شد نتایج تجزیه واریانس نشان داد که اثر متقابل جمعیت در تنش خشکی برای کلروفیل a در سطح احتمال ۱ درصد معنی‌دار شد، به همین دلیل مقایسه میانگین اثر متقابل جمعیت در تنش خشکی برای کلروفیل a در جدول ۴ آورده شد. نتایج نشان داد که جمعیت‌های G2، G8، G12 و G14 در هر سه سطوح رطوبتی دارای بیشترین غلظت بود. جمعیت‌های G20 و G30 در تیمار شاهد دارای میانگین کلروفیل a بیشتری بودند ولی با افزایش تنش مقدار کلروفیل a در آنها بصورت معنی‌داری کاهش یافت. جمعیت‌های ذکرشده که در شرایط تنش درصد کلروفیل a بیشتری داشتند عملکرد شاخساره آنها نیز بیشتر بود.

محتوای پروتئین محلول و پرولین

بیشترین میزان پروتئین به جمعیت مرند G3 با میانگین ۰/۸۷۶ میلی‌گرم بر گرم اختصاص داشت و با دیگر جمعیت‌ها تفاوت آن معنی‌دار بود و کمترین میزان پروتئین محلول به جمعیت اردبیل G6 با میانگین ۰/۵۶۲ میلی‌گرم بر گرم اختصاص داشت که با جمعیت G20 تفاوت معنی‌داری نداشت. بیشترین میزان پرولین به جمعیت‌های کرج G12 و زنجان G8 به ترتیب با میانگین ۰/۵۷۵ و ۰/۵۶۰ میلی‌گرم بر گرم اختصاص داشت و با دیگر جمعیت‌ها تفاوت معنی‌دار داشتند و کمترین میزان پرولین به جمعیت روسیه G24 با میانگین ۰/۳۱۰ میلی‌گرم بر گرم اختصاص داشت که با جمعیت‌های G20 و G22 تفاوت معنی‌داری نداشت (جدول ۳). نتایج مقایسه میانگین صفات پروتئین محلول و پرولین در سطوح متفاوت رطوبتی نشان داد که با افزایش میزان تنش روند افزایشی برای غلظت پرولین و پروتئین محلول برگ مشاهده شد، این افزایش از لحاظ آماری معنی‌دار بود، به این شرح که بیشترین میزان پروتئین و پرولین به ترتیب با میانگین‌های ۰/۷۸۰ و ۰/۴۴۰ در شرایط تنش شدید ۵۰ درصد ظرفیت زراعی مشاهده شد که با دیگر سطوح تفاوت معنی‌دار نشان داد و کمترین میزان پروتئین محلول و پرولین به ترتیب با میانگین‌های ۰/۶۹۰ و ۰/۳۷۰ در تیمار شاهد (۹۰ درصد ظرفیت زراعی) مشاهده شد و با دیگر سطوح تفاوت معنی‌داری داشتند. اثر متقابل جمعیت در تنش خشکی برای غلظت پروتئین و پرولین در سطح احتمال ۱ درصد معنی‌دار شد، به همین دلیل مقایسه میانگین اثر متقابل جمعیت در تنش خشکی در جدول ۴ آورده شده است. نتایج نشان داد که جمعیت‌های G2، G3، G12 و G14 در هر سه سطوح رطوبتی دارای بیشترین غلظت پروتئین محلول بودند. این جمعیت‌ها که در شرایط تنش درصد پروتئین محلول بیشتری داشتند عملکرد شاخساره آنها نیز بیشتر بود. مقایسه میانگین اثر متقابل جمعیت در تنش خشکی برای محتوای پرولین نشان داد که روند افزایش پرولین در همه جمعیت‌ها یکسان نبود. جمعیت‌های G2، G3، G8 و G12 در شرایط تنش غلظت پرولین بیشتری داشتند و عملکرد شاخساره آنها نیز بیشتر بود. باوجوداین، برخی جمعیت‌ها مثل G14 و G20 اگرچه پرولین کمتری داشتند ولی وزن شاخساره آنها بیشتر بود (جدول ۴).

فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی

مقایسه میانگین جمعیت‌های علف باغ برای آنزیم پراکسیداز نشان داد که جمعیت امریکا G14 با متوسط ۱۱۶۷/۱ واحد بر میلی‌گرم پروتئین بیشترین مقدار را داشت و با دیگر جمعیت‌ها تفاوت معنی‌داری در سطح احتمال ۵ درصد نشان داد. کمترین میزان پراکسیداز به جمعیت اردبیل G6 با متوسط ۵۰۷/۸ واحد بر میلی‌گرم پروتئین اختصاص داشت که با دیگر جمعیت‌ها تفاوت معنی‌دار نشان داد (جدول ۳). بیشترین فعالیت سوپراکسید دیسموتاز در جمعیت بانک ژن G2 با میانگین ۲/۹۶ واحد بر میلی‌گرم پروتئین مشاهده شد که با جمعیت G14 تفاوت معنی‌داری در سطح ۵ درصد نداشت. کمترین فعالیت سوپراکسید دیسموتاز به جمعیت روسیه G24 با متوسط ۱/۷۹ واحد بر میلی‌گرم پروتئین اختصاص داشت که با جمعیت ملایر G20 تفاوت معنی‌دار نشان نداد (جدول ۳). بیشترین میزان کاتالاز با میانگین ۲۸۷۲/۵ واحد بر میلی‌گرم پروتئین در جمعیت امریکا G14 بدست آمد که با دیگر جمعیت‌ها تفاوت معنی‌داری در سطح ۵ درصد نشان داد، در

مقابل جمعیت قرقیزستان G22 کمترین میزان کاتالاز را با متوسط ۱۳۲۰/۷ واحد بر میلی‌گرم پروتئین داشت که با دیگر جمعیت‌ها تفاوت معنی‌دار نشان داد (جدول ۳). نتایج مقایسه میانگین فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی در سطوح متفاوت رطوبتی نشان داد که با افزایش میزان تنش روند افزایشی برای آنزیم‌های سوپراکسید دیسموتاز و کاتالاز مشاهده شد که این افزایش معنی‌دار بود، به این شرح که بیشترین میزان سوپراکسید دیسموتاز و کاتالاز به ترتیب با میانگین‌های ۲/۶۶ و ۲۹۸۰/۷ واحد بر میلی‌گرم پروتئین در شرایط تنش شدید ۵۰ درصدی مشاهده شد که با دیگر سطوح تفاوت معنی‌دار نشان داد و کمترین میزان آنزیم‌های سوپراکسید دیسموتاز و کاتالاز به ترتیب با میانگین‌های ۱/۹۳ و ۱۰۱۱/۲ واحد بر میلی‌گرم پروتئین در سطح آبیاری ۹۰ درصدی مشاهده شد که با دیگر سطوح تفاوت معنی‌داری داشت. بنابراین برای این دو آنزیم میزان فعالیت آنها با افزایش شدت تنش به طور معنی‌داری افزایش یافت (جدول ۲).

در آنزیم پراکسیداز روند متفاوتی وجود داشت، به این شرح که بیشترین فعالیت آنزیم پراکسیداز در تنش ملایم ۷۰ درصد ظرفیت زراعی با میانگین ۱۰۴۳/۹ واحد بر میلی‌گرم پروتئین مشاهده شد که با دیگر سطوح تفاوت معنی‌داری داشت و کمترین میزان پراکسیداز در تنش شدید ۵۰ درصد ظرفیت زراعی با میانگین ۶۰۹/۵ واحد بر میلی‌گرم پروتئین وجود داشت که با دیگر سطوح تفاوت معنی‌دار نشان داد. در نهایت در تیمار شاهد ۹۰ درصد ظرفیت زراعی میزان فعالیت پراکسیداز در حد متوسط بود. بنابراین با افزایش تنش ملایم در ۷۰ درصد ظرفیت زراعی میزان پراکسیداز افزایش یافت، در ادامه با افزایش شدت تنش در ۵۰ درصد ظرفیت زراعی از میزان پراکسیداز کاسته شد (جدول ۲). اثر متقابل جمعیت در تنش خشکی برای هر سه آنزیم آنتی‌اکسیدان در سطح احتمال ۱ درصد معنی‌دار بود (جدول ۵). از لحاظ آنزیم پراکسیداز جمعیت‌های G2، G3 و G14 در هر سه سطوح رطوبتی فعالیت آنزیم پراکسیداز بیشتری داشتند و بیشترین فعالیت آنها در تنش متوسط بود. در بین آنها جمعیت امریکا G14 که میزان فعالیت آنزیم پراکسیداز در شرایط تنش بیشتر بود عملکرد شاخساره بیشتری هم داشت. در حالی که در برخی جمعیت‌ها مانند زنجان G8 در تیمار تنش متوسط دارای میانگین پراکسیداز بیشتری بود ولی با افزایش تنش فعالیت آنزیم کاهش یافت و عملکرد شاخساره متوسطی از خود نشان داد. از لحاظ آنزیم کاتالاز واکنش جمعیت‌ها نسبت به تنش خشکی متفاوت بود، جمعیت‌های G2،G3، G8 و G14 در هر سه سطوح رطوبتی دارای فعالیت آنزیم کاتالاز بیشتری بودند و عملکرد شاخساره آنها در حد متوسط به بالا بود. از لحاظ آنزیم سوپراکسید دیسموتاز واکنش جمعیت‌ها نسبت به تنش خشکی متفاوت بود، جمعیت‌های G14، G2 و G8 در هر سه سطوح رطوبتی دارای فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز بیشتری بودند و در بین آنها جمعیت امریکا G14 عملکرد شاخساره بیشتری هم داشت. در حالی که در برخی جمعیت‌ها مانند کرج G12 در آبیاری ۹۰ درصد ظرفیت زراعی دارای غلظت کاتالاز کمتری بود ولی با افزایش تنش خشکی غلظت آنزیم مذکور افزایش یافت و موجب شد تا عملکرد شاخساره نسبت به سایر جمعیت ها افزایش یابد.

گروه‌بندی جمعیت‌ها بر اساس خصوصیات فیزیولوژیکی

جمعیت‌های مورد بررسی براساس خصوصیات فیزیولوژیکی با روش UPGMA در فاصله اقلیدوسی ۳/۷۴ در سه گروه متمایز قرار گرفتند (شکل ۱). گروه اول شامل جمعیت‌های بانک ژن G2، مرند G3، زنجان G8، کرج G12 و امریکا G14 بودند. این جمعیت‌ها علاوه بر وزن شاخساره خشک از لحاظ خصوصیات فیزیولوژیکی نیز در رده جمعیت‌های برتر قرار داشتند. گروه دوم شامل جمعیت‌های قزوین G4، اردبیل G6، بیجار G10، ملایر G20، قرقیزستان G22 و روسیه G24 بودند که در این گروه غیر از جمعیت ملایر G20، بقیه میانگین عملکرد ماده خشک و فعالیت فیزیولوژیکی کمتری نسبت به گروه اول نشان دادند. در نهایت گروه سوم دارای فقط یک جمعیت ساری G30 بود که کمترین عملکرد ماده خشک و کمترین درصد پرولین را داشت.

جدول ۱- تجزیه واریانس وزن خشک شاخساره و خصوصیات فیزیولوژیکی در ۱۲ جمعیت علف باغ در شرایط متفاوت رطوبتی در گلخانه

Table 1- Analysis of variance of aerial dry matter yield, physiological traits in 12 populations of *D. glomerata* in three irrigations levels in greenhouse condition

منابع تغییرات Source	درجه آزادی DF	وزن خشک DM weight	کلروفیلa Chl. a	کلروفیلb Chl. b	کلروفیل کل Chl. total	کاروتنوئید carotenoids	پروتئین Protein	پرولین Proline	کاتالاز Catalase	پراکسیداز peroxidase	سوپراکسیددیسموتاز SOD
جمعیت Population (P)	11	10.59*	35.55**	11.123**	84.16**	6.113**	4.307**	7.280**	207.34**	40.82**	1.669**
تنش خشکی Drougth stress (D)	2	11.86**	36.79**	3.813**	63.73**	3.589**	6.696**	5.724**	3600.94**	173.15**	4.830**
جمعیت در تنش P × D	22	0.45 ns	2.91**	0.247 ns	3.23*	0.176 ns	0.116**	0.447**	51.67**	4.24**	0.102**
خطا Error	72	0.04	1.11	0.243	1.64	0.122	0.027	0.076	1.78	0.13	0.027
ضریب تغییرات CV%		6.66	5.89	9.70	5.57	6.98	2.24	7.79	6.36	4.33	7.17

ns، * و **: به ترتیب غیرمعنی‌دار، معنی‌دار در سطح احتمال ۵ درصد و ۱ درصد

ns, * and ** are, respectively, non-significant and significant at 5 and 1 % probability levels

جدول ۲- مقایسه میانگین کل وزن خشک شاخساره و صفات فیزیولوژیکی جمعیت‌های علف باغ در سطوح متفاوت رطوبتی

Table 2- Means comparison of aerial dry matter yield and physiological traits in of populations of *D. glomerata* in tress levels of drought stress

سطح رطوبت Drougth stress	وزن خشک شاخساره DM Weight g/p	کلروفیلa Chl. a mg g^{-1}FW	کلروفیلb Chl. b mg g^{-1}FW	کلروفیل کل Total Chl. mg g^{-1}FW	کاروتنوئید Carotenoid mg g^{-1}FW	پروتئین Protein mg g-1FW	پرولین Proline mg g-1FW	کاتالاز Catalase U/mg protein	پراکسیداز Peroxidase U/mg.protein	سوپراکسیددیسموتاز SOD U/mg.protein
۹۰ درصد ظرفیت زراعی 90% FC	3.42 a	19.01 a	5.42 a	24.44 a	4.88 b	0.690 c	0.370 c	1011.2 c	879.0 b	1.93 c
۷۰ درصد ظرفیت زراعی 70% FC	2.32 b	17.53 b	5.05 b	22.59 b	5.37 a	0.740 b	0.410 b	2298.6 b	1043.9 a	2.28 b
۵۰ درصد ظرفیت زراعی 50% FC	1.22 c	17.08 b	4.78 c	21.86 c	4.77 b	0.780 a	0.440 a	2980.7 a	609.5 c	2.66 a

میانگین‌هایی که در هر ستون دارای حروف (غیر) مشترک می‌باشند براساس آزمون دانکن در سطح ۵٪ تفاوت معنی‌داری با هم دارند.

Means followed by the same letter in the columns have no significant differences at 5% probability by Duncan’s test.

جدول ۳- مقایسه میانگین وزن خشک شاخساره و خصوصیات فیزیولوژیکی در ۱۲ جمعیت از گونه علف باغ

Table 3- Means comparison of aerial dry matter yield and physiological traits in 12 populations of *D.glomerata*

جمعیت Pop.	منشأ origin	وزن خشک شاخساره DM weight g/pot	کلروفیل a Chl. a mg g^{-1}FW	کلروفیل b Chl. b mg g^{-1}FW	کلروفیل کل Total Chl. mg g^{-1}FW	کاروتنوئید Carotenoid mg g^{-1}FW	پروتئین Protein mg g^{-1}F/W	پرولین Proline mg g^{-1}FW	کاتالاز catalase U/mg.protein	پراکسیداز Peroxidase U/mg.protein	سوپراکسید دیسموتاز SOD U/mg.protein
G2	بانک ژن GeneBank	3.23 ab	19.41 ab	6.23 a	25.64 a	5.29 d	0.805 b	0.465 b	2628.2 b	1038.9 a	2.96 a
G3	مرند Marand	3.05 b	19.09 b	6.19 a	25.28 a	5.61 cd	0.876 a	0.427 c	2587.7 b	1024.1 a	2.78 bc
G4	قزوین Qazvin	2.57 c	15.15 e	3.83 c	18.98 c	4.22 e	0.732 e	0.367 de	2006.3 e	604.1 d	1.96 ef
G6	اردبیل Ardebil	3.04 b	16.06d	3.85 c	19.90 bc	3.82 f	0.652 g	0.367 de	1915.2 e	507.8 e	2.03 e
G8	زنجان Zanjan	3.09 b	19.98 ab	6.33 a	26.31 a	6.23 a	0.754 d	0.568 a	2392.7 c	1059.6 a	2.63 cd
G10	بیجار Bijar	2.94 b	16.21d	3.89 c	20.10 bc	4.35 e	0.673 f	0.384 d	1573.5 g	624.6 d	1.98 ef
G12	کرج Karaj	3.19 ab	20.45 a	5.93 a	26.38 a	5.63 cd	0.780 c	0.575 a	2184.3 d	915.7 b	2.51 d
G14	امریکا USA	3.35 a	19.81 ab	6.26 a	26.07 a	6.00 ab	0.770 cd	0.415 c	2872.5 a	1167.1 a	2.88 ab
G20	ملایر Malayer	3.37 a	16.57 cd	3.90 c	20.46 b	4.28 e	0.654 g	0.320 fg	1646.3 fg	807.0 c	1.83 fg
G22	قرقیزستان Kırgızistan	2.90 b	15.56 de	4.47 b	20.03 bc	4.57 e	0.688 f	0.326 fg	1320.7 h	767.9 c	2.04 e
G24	روسیه Russia	2.97 b	16.67 c	4.34 bc	21.01 b	4.35 e	0.676 f	0.310 g	1716.4 f	658.5 d	1.79 g
G30	ساری Sari	2.20 d	19.54 ab	5.81 a	25.35 a	5.74 bc	0.771 cd	0.346 ef	2317.8 c	954.3 b	2.11 e

میانگین‌هایی که در هر ستون دارای حروف (غیر) مشترک می‌باشند براساس آزمون دانکن در سطح ۵٪ تفاوت معنی‌داری با هم دارند.

Means followed by the same letter in the columns have no significant differences at 5% probability by Duncan’s test.

جدول ۴- مقایسه میانگین اثر متقابل جمعیت در تنش خشکی برای کلروفیل a، پروتئین و پرولین در ۱۲ جمعیت علف باغ در سه سطوح رطوبتی

Table 4- Means comparison of interactive effect of drought stress and populations on chlorophyll a, protein and proline in *D.glomerata*

جمعیت Pop.	منشأ origin	کلروفیل a chlorophyll a 90%FC	70%FC	50%FC	پروتئین protein 90%FC	70%FC	50%FC	پرولین proline 90%FC	70%FC	50%FC
		mg g^{-1}FW			mg g^{-1}FW			mg g^{-1}FW		
G2	بانک‌ژن GeneBank	20.02ab	19.42b	18.80ab	0.760ab	0.820b	0.840b	0.380cd	0.470b	0.550ab
G3	مرند Marand	19.54b	19.31b	18.42b	0.790a	0.910a	0.940a	0.390bc	0.410bc	0.480bc
G4	قزوین Qazvin	15.19d	15.18d	15.09d	0.710c	0.730cd	0.760cd	0.350e	0.370cd	0.380cd
G6	اردبیل Ardebil	16.27d	16.11cd	15.79c	0.620f	0.630f	0.710de	0.350de	0.370cd	0.380cd
G8	زنجان Zanjan	20.28ab	20.12a	19.54a	0.710c	0.760c	0.800bc	0.420b	0.630a	0.660a
G10	بیجار Bijar	17.57c	15.39d	15.68cd	0.620ef	0.690de	0.700e	0.330ef	0.350cd	0.470bc
G12	کرج Karaj	22.08a	20.06ab	19.22a	0.730bc	0.780bc	0.830b	0.540a	0.570a	0.610a
G14	امریکا USA	21.24a	19.42b	18.77ab	0.750b	0.770c	0.800bc	0.390bc	0.420bc	0.440c
G20	ملایر Malayer	20.47a	14.79d	14.44d	0.590f	0.650ef	0.720de	0.310fg	0.320d	0.330d
G22	قرقیزستان Kırgızistan	17.60c	14.89d	14.17d	0.660de	0.680de	0.720de	0.300fg	0.320d	0.350d
G24	روسیه Russia	16.74cd	16.70c	16.59bd	0.660d	0.660ef	0.710de	0.300g	0.31d	0.330d
G30	ساری Sari	21.17a	18.99b	18.46b	0.730bc	0.770c	0.810bc	0.320f	0.350cd	0.370cd
میانگین	Mean	19.01	17.53	17.08	0.694	0.738	0.778	0.365	0.408	0.446

میانگین‌هایی که در هر ستون دارای حروف (غیر) مشترک می‌باشند براساس آزمون دانکن در سطح ۵٪ تفاوت معنی‌داری با هم دارند.

Means followed by the same letter in the columns have no significant differences at 5% probability by Duncans's test.

جدول ۵- مقایسه میانگین اثر متقابل جمعیت در تنش خشکی برای آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی در ۱۲ جمعیت علف باغ در سه سطوح رطوبتی

Table 5- Means comparison of interactive effect of drought stress and populations on antioxidant enzymes in *D.glomerata*

جمعیت Pop.	منشأ origin	پراکسیداز Peroxidase 90%FC	70%FC	50%FC	کاتالاز Catalase 90%FC	70%FC	50%FC	سوپراکسید دیسموتاز Superoxide dismutase 90%FC	70%FC	50%FC
		U/mg.protein			U/mg.protein			U/mg.protein		
G2	بانک ژن GeneBank	1172b	1182cd	761b	1091.6b	3255ab	3537.8ab	2.76a	2.86a	3.26a
G3	مرند Marand	1100bc	1279bc	692cd	1455.4a	3087bc	3220b	2.54a	2.77a	3.02ab
G4	قزوین Qazvin	652g	727f	432i	698.8d	2578d	2742cd	1.79bc	2.00de	2.07c
G6	اردبیل Ardebil	359h	693f	470h	862cd	2170e	2713cd	1.83bc	2.05de	2.22c
G8	زنجان Zanjan	969.0de	1503.2a	706.4c	956.7bc	3031bc	3190b	2.06b	2.61ab	3.23a
G10	بیجار Bijar	594.6g	795.3f	483.9gh	959bc	1394f	2366d	1.66c	2.07d	2.21c
G12	کرج Karaj	1007cd	1081de	657d	1423a	2225e	2904cd	1.74c	2.57b	3.22a
G14	امریکا USA	1333a	1358ab	809a	1471a	3452a	3694a	2.50a	2.81a	3.35a
G20	ملایر Malayer	864ef	948e	607e	696d	1386f	2856cd	1.53cd	1.65e	2.32c
G22	قرقیزستان Kırgızistan	843f	945.3e	515.4g	452.6e	760g	2749cd	1.61cd	2.06d	2.45bc
G24	روسیه Russia	655g	758f	561f	1041bc	1376f	2731cd	1.34d	1.81de	2.21c
G30	ساری Sari	993cd	1253bc	615e	1024bc	2869c	3060bc	1.79bc	2.16c	2.37c
میانگین	Mean	878.9	1043.9	609.7	1011.1	2298.5	2980,6	1.93	2.29	2.66

میانگین‌هایی که در هر ستون دارای حروف (غیر) مشترک می‌باشند براساس آزمون دانکن در سطح ۵٪ تفاوت معنی‌داری با هم دارند.

Means followed by the same letter in the columns have no significant differences at 5% probability by Duncan’s test

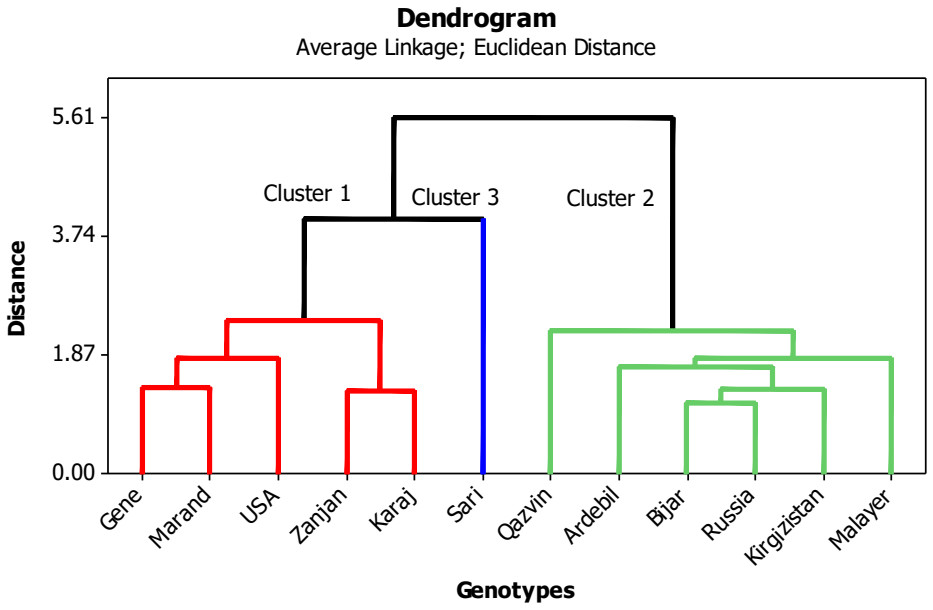
جدول ۶- تعداد خوشه‌ها، تعداد جمعیت در هر خوشه و میانگین صفات مورد مطالعه در هر یک از خوشه‌ها

Table 6- Number of groups, number of populations and average of studied traits in each group

صفات	Trait	واحد Unit	میانگین مربعات MS	میانگین صفات		
				گروه ۱ Group1 (n=5)	گروه ۲ Group2 (n=6)	گروه ۳ Group3 (n=1)
وزن خشک شاخساره	DM weight	g/p	0.41**	3.18 a	2.97 a	2.20 b
کروفیل a	Chl. a	mg g^{-1}FW	20.29**	19.75 a	16.04 b	19.54 a
کروفیل b	Chl. b	mg g^{-1}FW	6.53**	6.19 a	4.05 b	5.81 a
کلروفیل کل	Total Chl.	mg g^{-1}FW	3.31**	25.94 a	20.08 b	25.35 a
کاروتنوئید	Carotenoid	mg g^{-1}FW	49.88**	5.75 a	4.27 b	5.74 a
پروتئین	Protein	mg g^{-1}FW	2.01**	0.80 a	0.68 b	0.77 a
پرولین	Proline	mg g^{-1}FW	3.06**	0.49 a	0.35 b	0.35 b
کاتالاز	Catalase	U/mg.protein	98.12**	2533.1a	1696.4 b	2317.8 a
پراکسیداز	Peroxidase	U/mg.protein	20.29**	1041.1 a	661.6 b	954.3 a
سوپراکسید دیسموتاز	SOD	U/mg.protein	0.92**	2.75 a	1.94 c	2.11 b

**: معنی‌دار در سطح احتمال ۱٪. میانگین خوشه‌ها در هر ردیف که دارای حروف (غیر) مشترک می‌باشند تفاوت معنی‌داری با هم دارند.

**= Significant at 1% probability levels. The mean of clusters in each row with (non) common letters have a significant different



شکل ۱- دندروگرام تجزیه خوشه‌ای جمعیت‌های علف باغ بر اساس وزن ماده خشک و خصوصیات فیزیولوژیکی

Figure 1- Dendrogram obtained from cluster analysis *D. glomerata* populations using DM yield and physiological traits

بحث

معنی‌دارشدن تفاوت بیشتر صفات نشان‌دهنده تنوع بالا در بین جمعیت‌هاست (Jafari *et al.*, 2003)، در این تحقیق نیز تنوع بالایی در بین جمعیت‌ها برای صفات مورد بررسی مشاهده شد، همچنین واکنش فیزیولوژیکی متفاوت برای جمعیت‌ها در سطوح مختلف تنش مشاهده شد. بر همین اساس نتایج تحقیقات بر روی خویشاوندان وحشی گندم (جنس *Aegilops*) نشان داده است که تنش خشکی بر رنگ‌دانه‌های فتوسنتزی تأثیر داشته و سبب کاهش آنها شده است، همچنین کاهش کلروفیل b نسبت به کلروفیل a بیشتر متأثر از شرایط تنش بود (Ahmadi *et al.*, 2018) که با نتایج این تحقیق مطابقت داشت. اصولاً در تنش‌های ضعیف دلیل افزایش رنگ‌دانه‌ها، رشد آهسته سلول‌ها برای سنتز کلروفیل گزارش شده است (Wang & Huang, 2004)، اما تنش خشکی شدید به دلیل القای تنش اکسیداتیو و ایجاد رادیکال‌های آزاد اکسیژن سبب صدمه به ساختار کلروپلاست، اکسیداسیون کلروفیل و کاهش میزان کلروفیل و به‌دنبال آن کاهش فتوسنتز می‌شود (Anjum *et al.*, 2011). از سوی دیگر، رنگدانه کاروتنوئید باعث حذف رادیکال‌های آزاد اکسیژن شده و موجب افزایش مقاومت به خشکی در گیاه می‌شود (Sarvajeet & Narendra 2010)، در این تحقیق مشاهده شد که میزان کاروتنوئید در تنش متوسط افزایش یافت و بنظر می‌رسد می‌تواند سازوکاری برای افزایش مقاومت گیاه به خشکی باشد. غلظت محتوای پروتئین و پرولین با افزایش شدت تنش به طور معنی‌داری افزایش یافت. در شرایط تنش خشکی، گیاه به منظور ادامه جذب آب، از طریق تجمع ترکیبات اسمزی ازجمله پرولین قابلیت اسمزی خود را کاهش می‌دهد و به‌همین دلیل در شرایط تنش خشکی غلظت پرولین افزایش می‌یابد (Mafakheri *et al.*, 2010; Staden *et al.*, 1999; Rajinder, 1987; Farooq *et al.*, 2009). اگرچه افزایش پرولین در اثر تنش خشکی در گراس‌ها نیز عمومیت دارد. بااین‌حال، بعضی از گزارش‌ها بیان کرده‌اند که تجمع پرولین در گیاه در واکنش به تنش است و به مقاومت گیاه مربوط نیست (De-Lacerda *et al.*, 2003). برای نمونه، با وجود افزایش پرولین در برخی گراس‌ها، نمی‌توان این تجمع را شاخصی از مقاومت به خشکی به حساب آورد، بلکه این افزایش شاخص خوبی از قدرت تنش خشکی است که بر گیاه اعمال شده است (Bokhari & Trent, 1985). آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان با توجه به نوع آنزیم و ژنوتیپ گیاه پاسخ‌های مختلفی به تنش خشکی نشان می‌دهند و بر همین اساس مشاهده شده است که در گونه *Lollium perenne* فعالیت آنزیم کاتالاز تحت تنش خشکی در گیاه افزایش یافته، در حالی که فعالیت آنزیم پراکسیداز تغییر مهم آماری نشان نداده است (Tarkesh Esfahani *et al.*, 2015). در این تحقیق نیز افزایش فعالیت کاتالاز مشاهده شد اما برای پراکسیداز روند متفاوتی وجود داشت.

مشاهده شد که بین غلظت رنگدانه‌ها و آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی ارتباط معکوس وجود داشت که این ارتباط معکوس در دیگر گزارش‌ها نیز مشاهده شده است و بیان شده که کاهش کلروفیل در اثر تداوم تنش خشکی ناشی از افزایش در فعالیت آنزیم کلروفیلاز و پراکسیداز و اختلال در فعالیت آنزیم‌های مسئول سنتز کلروفیل و در نتیجه تجزیه کلروفیل است (Silva *et al.*, 2007)، همچنین گزارش شده است که افزایش شدت تنش، میزان فعالیت آنتی‌اکسیدانهای آنزیمی را افزایش می‌دهد (Renu & Devarshi 2007; Sarvajeet & Narendra 2010) که منطبق با نتایج ارائه شده در این تحقیق است.

برای رسیدن به جمعیت‌های مطلوب، برای استفاده به عنوان والدین تلاقی‌ها، گروه‌ها و جمعیت‌هایی انتخاب می‌شوند که دارای بیشترین فاصله ژنتیکی و کمترین میزان تشابه باشند ولی بایستی از نظر زمان گرده‌افشانی همپوشانی داشته باشند (Ebrahimiyan *et al.*, 2013). در این مطالعه بیشترین معیار فاصله ژنتیکی بین جمعیت‌های خوشه‌های ۱ و ۲ با فاصله ژنتیکی ۵/۴۶ بود. البته تجزیه خوشه‌ای روش مناسبی برای اندازه‌گیری و تعیین فواصل ژنتیکی، دوری یا نزدیکی خویشاوندی بین ژنوتیپ‌ها می‌باشد. جمعیت‌های گروه‌های متفاوت که دارای بیشترین فاصله ژنتیکی نسبت به

یکدیگر هستند، می‌توانند برای انتخاب والدین تلاقی و نیز توسعه ارقام ترکیبی مورد استفاده قرار گیرند.

اگرچه ایران خاستگاه اصلی برخی از مهمترین گیاهان علوفه‌ای جهان است، ولی تحقیقات روی اصلاح ژنتیکی گیاهان علوفه‌ای و مرتعی ازجمله علف باغ اندک است. ازاین‌رو بررسی خصوصیات فیزیولوژیکی علف باغ در کنار عملکرد بالا ازجمله اهداف اصلاحی برای تولید واریته‌های مقاوم به خشکی می‌باشد. در بین جمعیت‌های مورد بررسی برای وزن شاخساره و صفات فیزیولوژیکی تنوع معنی‌داری مشاهده شد. وجود تنوع بالا نویدبخش کارایی روش‌های انتخاب برای اصلاح و ایجاد ارقام متحمل به خشکی می‌باشد. در علف باغ بدلیل ماهیت دگرگشن بودن این گیاه روش اصلاحی ایجاد واریته‌های ترکیبی مرسوم است. در این راستا، شناسایی اجزای واریته ترکیبی که دارای عملکرد مناسب بوده و از سویی بین آنها از نظر سازوکارهای فیزیولوژیک تنوع کافی وجود داشته باشد از اهمیت ویژه‌ای برخوردار است. در مجموع جمعیت‌های بانک‌ژن G2، مرند G3، زنجان G8، کرج G12، امریکا G14 و ملایر G20 با توجه به بررسی‌های آماری انجام شده بر روی صفات مورد بررسی در شرایط متفاوت رطوبتی برتر بودند و به‌عنوان مواد ژنتیکی مناسب برای احیای مراتع یا برنامه‌های اصلاحی معرفی شدند. یادآوری می‌شود که اکسشن‌های برتر در این تحقیق با نتایج تحقیقات قبلی (Farshadfar, 2017) منطبق است و قابل معرفی برای شرایط آب و هوایی استان کرمانشاه و مناطق مشابه می‌باشد.

منابع مورد استفاده

– Ahmadi, J., Pour-Aboughadareh., A., Fabtiki Ourang., S., Mehrabi., A. A. and Siddique. K. H. M., 2018. Wild relatives of wheat: *Aegilops–Triticum* accessions disclose differential antioxidative and physiological responses to water stress. Acta Physiologiae Plantarum, 40: 90.

– Alizadeh, M. A. and Jafari, A. A., 2010. The effect of cold treatment on germination characteristics and vegetative traits in five ecotypes of *Dactylis glomerata* in germinator and greenhouse. Iranian journal of Range and Desert Reseach, 17(1): 115-126. (In Persian with English summary).

– Amini, S., Ghobadi., C. and Yamchi. A., 2015. Proline accumulation and osmotic stress: an overview of P5CS gene in plants. Journal of Plant Molecular Breeding, 3: 44-55.

– Amiri Nasab, K., Ghasemnezhad, M., Zakizadeh, H. and Hassan Biglouei, MH., 2015. Effect of Drought Pre- conditioning on Antioxidant enzymes activity and reducing drought stress damage in two turfgrass species, creeping bentgrass and tall fescue Iranian Journal of Horticultural Science 45(4): 429-440. (In Persian with English summary).

– Anjum, S. A., Xie., X. Y., Wang., L. C., Saleem., M. F., Man., C. and Lei. W., 2011. Morphological, physiological and biochemical responses of plants to drought stress. African Journal of Agricultural Research, 6(9): 2026-2032.

– Bates L., Waldren., R. and Teare. I., 1973. Rapid determination of free proline for water-stress studies. Plant and Soil, 39: 205-207.

– Beauchamp. C. and Fridovich. I., 1971. Superoxide dismutase: improved assays and an assay applicable to acrylamide gels. Analytical biochemistry, 44: 276-287.

– Bokhari, U. G. and Trent, J. D., 1985. Proline concentrations in water stressed grasses. Journal of Rangeland Management, 38: 37-38.

– Bradford, M. M., 1976. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantites of protein utilizing the principles of protein dyebinding. Analytical Biochemistry, 72: 248-254.

– Calzada, R.T. and Connell, M.A., 2005. Genetic diversity of drought responsive genes in populations of the desert forage *Dactylis glomerata*. Plant Science, 168 :1327–1335.

– Casler, M. D. and Duncan, R. R., 2003. Turfgrass: Biology, Genetics and Breeding. John Wiley & Sons, Inc. 367 p.

– Chance, B., and Maehly. A.C., 1995. Assay of catalase and peroxidase. PP. 764-765 In: Culowic, S. P. and Kaplan N. O., (eds). Methods in enzymology Volume. 2. Academic Press. Inc. New York.

– De-Lacerda, C. F., Cambraia, J., Oliva, M. A., Ruiz, H. A. and Prisco, J. T., 2003. Solute accumulation and distribution during shoot and leaf development in two sorghum genotypes under salt stress. Environmental and Experimental Botany, 49:107–120.

– Ebrahimiyan, M., Majidi, M. M. and Mirlohi, A. F., 2013. Genotypic variation and selection of traits related to forage yield in tall fescue under irrigated and drought stress environments. Grass and Forage

contents in three chickpea cultivars. Australian journal of crop science, 4(8):580–585.
– Mahdinezhad, N. and Shahi, H., 2020. The Expression Effects of Drought Stress on Growth and Physiological Characteristics of Wild and Agronomy Wheat Genotypes. Journal of Agronomy and Plant Breeding, 15(1): 63-83. (In Persian with English summary).
– Manning, R., 1997. Grassland: History, Biology, Politics, and Promise of the American Prairie. Penguin Books, New York, 320 p.
– Mobayen, S., 1980. Iranian plants, flora of vascular plants (Vol. 1). University of Tehran Press. Issue 1500. Tehran, Iran (In Persian).
– Rajinder, S. D., 1987. Glutathione status and protein synthesis during drought and subsequent dehydration in *Torula rulis*. Plant Physiology, 83: 816-819.
– Ramachandra Reddy, A., Chaitanya, K. V., Jutur, P. P. and Sumithra, K., 2004. Differential antioxidative responses to water stress among five mulberry (*Morus alba* L.) cultivars. Environmental and experimental botany, 52(1): 33-42.
– Ranjbar, S., Ghobadi, M. E. and M.Ghobadi., 2021. Influence of dust deposition and light intensity on yield and some agro-physiologic characteristics of chickpea (*Cicer arietinum* L.) in dry conditions. Iranian Journal of Pulses Research 12(2): 69-84. (In Persian with English summary).
– Renu, K. C. and Devarshi, S., 2007. Acclimation to drought stress generates oxidative stress tolerance in drought-resistant than susceptible wheat cultivar under field conditions. Environmental and Experimental Botany, 60: 276–283.
– Saburi Azar, S., Nouraein, M. and Mohammadi, R., 2022. Evaluation of variation in *Dactylis glomerata* L. Populations in terms of yield and related traits under climatic conditions of Tabriz. Iranian Journal of Rangelands and Forests Plant Breeding and Genetic Research 29(2): 317-298. (In Persian with English summary).
– Saedi, K., Ghasriani, F., Jafari, A. A. and Fayaz, M., 2017. Effects of harvesting intensities on some vegetative and generative characteristics of *Dactylis glomerata* L. in Saral rangelands, Kurdistan Province. Iranian journal of Range and Desert Reseach, 24(3): 676-684. (In Persian with English summary).
– Santen, E. V. and Sleper, D. A., 1996. Orchardgrass. P. 503-534. In Moser, L.E. *et al*. Cool-season forage grasses. Ame Soc. Agron. Crop Sci Soc. Ame. Soil Sci Soc. Ame. AMA/CSSA/SSSA. Madison, WI (USA). 841 p.
– Sarvajeet. S. G. and Narendra, T., 2010. Reactive Science, 68(1): 59-71.
– Esfandiari, E., Shekari., F. and Esfandiari, M., 2007. The effect of salt stress on antioxidant enzymes' activity and lipid peroxidation on the wheat seedling. Notulae Botanicae Horti Agrobotanici Cluj-Napoca, 35(1): 48-56.
– Farooq, M., Wahid, A., Kobayashi, N. D., Fujita and, M. and Basra, A., 2009. Plant drought stress: effects, mechanisms and management. Sustainable Development, 29: 185-212.
– Farshadfar, M., 2017. Diversity and Relationships of Yield and Quality Traits in Cocksfoot (*Dactylis glomerata* L.) Genotypes. Journal of Rangeland Science, 7(3): 210-219.
– Havrlentová, M., Kraic, J., Gregusová, V. and Kovácsová, B., 2021. Drought stress in cereals – A review. Agriculture (Poľnohospodárstvo), 67(2): 47 – 60.
– Hubbard, C. E., 1992. Grasses. Penguin Book, New York. 480p.
– Jafari, A. A., Bashirzadeh, A., Heidari Sharifabad, H. 2003. Evaluation of seed yield and seed yield components in 29 accessions of cocksfoot (*Dactylis glomerata*). Iranian Journal of Rangelands and Forests Plant Breeding and Genetic Research. 10 (1): 91- 129. (In Persian with English summary).
– Jafari, A. A., 2016. Challenges of grasses seed production for rehabilitation of rangelands and cultivation in low efficient dryland farming of Iran. Ianian Journal of Seed Science and Research, 3(3): 117-132. (In Persian with English summary).
– Khadka, K., Earl, H. J., Raizada, M. N. and Navabi, A., 2020. A Physio-Morphological Trait-Based Approach for Breeding Drought Tolerant Wheat. Frontiers in Plant Science, 11(715): 1-26.
– Klass, M., Yang, B., Bosch, M., Thorogood, D., Manzanares, C., Armstead, I. P., Franklin, F. C. H., and Barth, S., 2011. Progress towards elucidang the mechanisms of self incompatibility in the grasses: further insight from studies in lolium. Annals Botany, 108: 677-685.
– Krause, G. H., and Weiss., E., 1991. Chlorophyll fluorescence and photosynthesis: the basics. Annual Review Plant Physiology, 42: 313–349.
– Last, L., Widmer, F., Fjellstad, W., Stoyanova, S. and Kolliker, R., 2013. Genetic diversity of natural orchardgrass (*Dactylis glomerata* L.) populations in three regions in Europe. BMC Genetics., 14: 102.
– Lichtenthaler, H. and Wellburn, A. R., 1983. Determinations of total carotenoids and chlorophylls a and b of leaf extracts in different solvents. Biochemical Society Transactions, 11: 591-592.
– Mafakheri, A., Siosemardeh, A., Bahramnejad, B., Struik, P. C. and Sohrabi. Y., 2010. Effect of drought stress on yield, proline and chlorophyll

– Tarkesh Esfahani, F., Shabani, L. and Sabz Alian, M. R., 2014. Effect of drought stress Antioxidant enzyme activity in *Lollium perenne*, Second National Conference on Applied Research in Agricultural Sciences, Code AFPICONF02_421, Tehran, Iran.
– Wang, Z. and Huang, B., 2004. Physiological recovery of Kentucky bluegrass from simultaneous drought and heat stress. Crop Science, 44: 1729–1736.
oxygen species and antioxidant machinery in a biotic stress tolerance in crop plants. Plant Physiol. and Biochem., 3: 1-22.
– Silva, M. A., Jifon, J. L., Silva, J. A. G. and Sharma, V., 2007. Use of physiological parameters as fast tools to screen for drought tolerance in sugarcane. Brazilian Journal of Plant Physiology, 19: 193-201.
– Sinha, A. K., 1972. Colorimetric assay of catalase. Analytical biochemistry, 47: 389-394.
– Staden, J., Hare, P. D. and Cress, W. A., 1999. Proline synthesis and degradation a model system for elucidating stress-related signal transduction. Journal of Experimental Botany, 50: 413-434.

Investigation of physiological traits of cocksfoot *(Dactylis glomerata)* populations under water deficit regimes

A. Vosough[1], A. A. Jafari[2*], E. Karami[3], R. Talebi[3] and H. Safari[4]

1- Ph.D. Student of Genetics and Plant Breeding, Department of Agronomy and plant breeding, Sanandaj Branch, Islamic Azad University, Sanandaj, Iran
2*- Corresponding author, Professor, Rangeland Research Division, Research Institute of Forests and Rangelands, Agricultural Research Education and Extension Organization (AREEO), Iran, E:mail: aajafari@rifr-ac.ir
3- Assistant Professor, Department of Agronomy and plant breeding, Sanandaj Branch, Islamic Azad University, Sanandaj, Iran
4- Assistant Professor of Forests and Rangelands Research Department, Kermanshah Agricultural and Natural Resources Research and Education Center, Agricultural Research, Education and Extension Organization (AREEO), Kermanshah, Iran

Received: 05/20/2022 Accepted: 07/24/2022

Abstract

Cocksfoot (Dactylis glomerata L.) plays a role in reviving rangelands and creating pastures and fodder production. Therefore, to evaluate forage yield and physiological characteristics, 12 populations of cocksfoot in three water deficit regimes (90%, 70%, and 50% of field capacity (FC) during the growing season) were studied using a factorial experiment based on a completely randomized design with three replications in a pot experiment. Forage yield, chlorophyll content, carotenoids, protein, proline, catalase, peroxidase, and superoxide dismutase were measured. The results obtained from the analysis of variance showed a significant difference in the studied traits. The populations of Karaj for chlorophyll a and total chlorophyll, Zanjan for chlorophyll b and carotenoids, the USA for peroxidase and catalase, Gene Bank for superoxide dismutase, Marand for soluble protein, Karaj and Zanjan for proline were superior. Malayer, USA, Gene Bank, and Karaj had the highest values for shoot weight. The highest shoot weight and chlorophyll content were observed at the moisture level of 90% FC, which decreased significantly with increasing stress intensity. The highest amount of carotenoids and peroxidase was observed at 70% FC, significantly decreased with increasing stress. Finally, the lowest superoxide dismutase, catalase, soluble proline, and protein content were observed at 90% FC, which increased significantly with increasing stress intensity. Populations were divided into three distinct groups based on cluster analysis. The first group consisted of five populations with dry shoot weight and superior physiological characteristics. The second group consisted of six populations, which were in second place compared to the previous group, and finally, the third group had a population that showed weak performance. It was concluded that G2 (Gene Bank), G3 (Marand), G8 (Zanjan), G12 (Karaj), G14 (USA), and G20 (Malayer) were superior in different moisture conditions and as suitable genetic material for rangeland restoration and breeding improved varieties.

Keywords: Orchard grass, drought stress, photosynthesis, antioxidant enzyme, proline, cluster analysis.