University of Birjand

Journal homepage:
https://escs.birjand.ac.ir

تنشهای محیطی در علوم زراعی
Environmental Stresses In Crop Sciences

Vol. 16, No. 4, pp. 1071-1087 (Winter 2024)

https://dx.doi.org/10.22077/ESCS.2023.5277.2133

Original article

Investigation of morphophysiological changes of barley (*Hordeum vulgare* L.) under drought stress in greenhouse conditions

M. Yazdi[1], A.R Bagheri[2*], N. Moshtaghi[2], A. Sharifi[3]

1. PhD student in Agricultural Biotechnology, Faculty of Agriculture, Ferdowsi University of Mashhad, Iran
2. Department of Biotechnology and Plant Breeding, Faculty of Agriculture, Ferdowsi University of Mashhad, Iran
3. Department of Ornamental Plants Biotechnology, Academic Center of Education, Culture and Research of Mashhad, Iran

Received 25 April 2022; Accepted 4 July 2022

Extended abstract

Introduction

Plants are exposed to various environmental stresses during growth and development under natural and agricultural conditions. Drought is one of the most severe abiotic stresses that greatly affects plant yield. Metabolic changes under stress cause the morphological and physiological changes in the plant which may eventually lead to reduced yield. Barley is one of the most important cereals which a large part of the human population in many parts of the world are dependent on it as a source of food and animal feed.

Materials and methods

In order to investigate the effects of drought stress on some morphological and physiological traits in barley as one of the most important crop, this experiment was carried out in the greenhouse of the agriculture faculty, Ferdowsi University of Mashhad in 2019 in a factorial based on a randomized complete block design with three replications. Experimental factors were included: different levels of drought stress including 100% of field capacity (control or no stress), 80, 60 and 40% of field capacity and two barley cultivars containing semi-sensitive (Fajr30) and drought tolerant (Dasht). First, the seeds of both cultivars were planted in trays filled with coco peat, perlite and sand, and after two weeks, the seedlings were transferred to pots filled with garden soil. The pots were watered daily and after one month (4 to 6 leaf stage) until the end of the growing season, they were subjected to drought stress treatments. During the vegetative stage, morphological traits such as plant height (from crown to end of plant), stem diameter, number of leaves, number of tillers, leaf area and number of stomata below and above the leaf were examined using common methods. Physiological traits including proline, soluble sugars, photosynthetic pigments and antioxidant enzymes (catalase and peroxidase) were also measured. Analysis of variance was performed using JMP statistical software version 8 and the mean of treatments was compared using LSD test at the level of 5%.

Results and discussion

The results of this experiment showed that the effect of cultivar and drought stress were significant for many of the studied traits. The highest plant height, stem diameter, number of leaves and tillers and leaf area index were observed in plants without stress (100% FC), which was significant compared to other stress level. Also, the comparison of the two cultivars showed that Dasht, as a drought tolerant cultivar,

* Corresponding author: Abdolreza Bagheri; E-Mail: abagheri@um.ac.ir

© 2024, The Author(s). Published by University of Birjand. This is an open-access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution License (https://creativecommons.org/licenses/by/4.0).

has more leaves and tillers but less leaf area and stomata than the semi-sensitive cultivar Fajr30. In other words, the tolerant cultivar produces more leaves but smaller under stress condition which finally reduces the leaf area compared to the sensitive cultivar. This can be a good solution for drought resistance through reduce evaporation from the leaf surface as well as shading. In addition, osmotic regulators such as proline and soluble sugars and the activity of antioxidant enzymes including catalase and peroxidase increased under drought stress and it was higher in tolerant cultivar. In fact, it seems that tolerant cultivar can tolerate drought stress through activating their immune system by producing osmoprotectant and increasing the activity of antioxidant enzymes.

Conclusion

In general, results showed that proline, soluble sugars and antioxidant enzymes play a role in the mechanism of stress tolerance and their metabolism is affected by drought stress. The results of this experiment suggest that the accumulation of these osmoprotectans and morphological changes can be part of the drought resistance mechanisms in the drought tolerant genotype of barley, which can ultimately be used in breeding programs to improve drought tolerance. In general, the results of this experiment showed that both barley cultivars responded to drought stress, but Dasht cultivar showed more tolerance in these conditions.

Keywords: Antioxidant, Field capacity, Osmotic regulators, Proline, Stress

تنش‌های محیطی در علوم زراعی
Environmental Stresses in Crop Sciences
جلد شانزدهم، شماره چهارم، زمستان ۱۴۰۲

https://dx.doi.org/10.22077/ESCS.2023.5277.2133

مقاله پژوهشی

بررسی تغییرات مورفوفیزیولوژیک گیاه جو (*Hordeum vulgare* L.) تحت تأثیر تنش خشکی در شرایط گلخانه‌ای

محبوبه یزدی[۱]، عبدالرضا باقری[۲*]، نسرین مشتاقی[۲]، احمد شریفی[۳]

۱. دانشجوی دکتری بیوتکنولوژی کشاورزی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد
۲. عضو هیئت‌علمی گروه بیوتکنولوژی و به نژادی گیاهی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد
۳. عضو هیئت‌علمی گروه پژوهشی بیوتکنولوژی گیاهان زینتی، جهاد دانشگاهی مشهد

مشخصات مقاله

واژه‌های کلیدی:
آنتی‌اکسیدانت
پرولین
تنش
تنظیم‌کننده‌های اسمزی
ظرفیت زراعی

تاریخ دریافت:
۱۴۰۱/۰۲/۰۵

تاریخ پذیرش:
۱۴۰۱/۰۴/۱۴

تاریخ انتشار:
زمستان ۱۴۰۲

۱۶(۴): ۱۰۷۱-۱۰۸۷

چکیده

به‌منظور بررسی اثر تنش خشکی بر برخی از صفات مورفولوژیک و فیزیولوژیک گیاه جو به‌عنوان یکی از محصولات مهم، سطوح مختلف تنش خشکی شامل ۱۰۰ درصد ظرفیت زراعی (شاهد یا بدون تنش)، ۸۰، ۶۰ و ۴۰ درصد ظرفیت زراعی و تأثیر آن‌ها بر دو رقم جوی نیمه حساس (فجر ۳۰) و متحمل به خشکی (دشت) در شرایط کنترل‌شده گلخانه موردبررسی قرار گرفت. نتایج این آزمایش نشان داد که اثر رقم و تنش خشکی برای بسیاری از صفات موردبررسی معنی‌دار بود. به‌طوری‌که بیشترین ارتفاع بوته، قطر ساقه، تعداد برگ و پنجه و شاخص سطح برگ در بوته‌های بدون تنش (۱۰۰ درصد ظرفیت زراعی) نسبت به سایر سطوح تنش معنی‌دار بود. همچنین مقایسه دو رقم نشان داد که رقم دشت به‌عنوان رقم متحمل به خشکی، تعداد برگ و پنجه بیشتر اما سطح برگ و تعداد روزنه کمتری نسبت به رقم نیمه‌حساس فجر ۳۰ دارد؛ به‌عبارت‌دیگر تحت شرایط تنش، رقم متحمل با وجود داشتن تعداد برگ بیشتر، برگ‌های کوچک‌تری تولید می‌کند که نهایتاً باعث کمتر شدن سطح برگ نسبت به رقم نیمه‌حساس (فجر ۳۰) می‌شود که این می‌تواند به‌عنوان یک راهکار مناسب جهت مقاومت به خشکی از طریق کاهش تلفات تبخیر از سطح برگ و همچنین سایه‌اندازی باشد. علاوه بر این میزان تنظیم‌کننده‌های اسمزی ازجمله پرولین و قندهای محلول و فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی ازجمله کاتالاز و پراکسیداز تحت تنش خشکی افزایش یافت و این افزایش در رقم متحمل نسبت به رقم نیمه‌حساس بیشتر بود. درواقع این‌طور به نظر می‌رسد که ارقام متحمل با فعال کردن سیستم دفاعی خود از طریق تولید مواد محافظت‌کننده اسمزی و افزایش فعالیت آنزیم‌های فوق باعث تحمل به تنش خشکی می‌شوند. به‌طورکلی، هر دو رقم جو به تنش خشکی پاسخ دادند اما رقم دشت در این شرایط تحمل بیشتری را نشان داد.

مقدمه

گیاهان در طول رشد و نمو در شرایط طبیعی و کشاورزی در معرض تنش‌های محیطی مختلف قرار می‌گیرند. در این میان، خشکی یکی از شدیدترین تنش‌های محیطی است که بر عملکرد گیاه بسیار تأثیرگذار است. حدود ۸۰ تا ۹۵ درصد وزن گیاه از آب تشکیل شده است که در فرایندهای فیزیولوژیکی مختلف ازجمله بسیاری از جنبه‌های رشد و نمو و متابولیسم گیاه نقش حیاتی دارد (Brodersen et al., 2019). جو (*Hordeum vulgare*) پنجمین محصول مهم جهان ازنظر سطح زیر کشت بعد از گندم، ذرت، برنج و سویا است (FAO, 2021). جو گیاهی چندمنظوره است که در تغذیه دام و انسان مورداستفاده قرار می‌گیرد و همچنین به‌عنوان مالت در صنایع غذایی و آشامیدنی فرآوری می‌شود (Arendt and Zannini, 2013). گیاه جو را می‌توان در طیف گسترده‌ای از اقلیم‌ها کشت کرد، بااین‌حال در بسیاری از این مناطق، تنش خشکی به‌عنوان یکی از مهم‌ترین موانع تولید وجود دارد (FAO, 2019). گرم شدن کره زمین و

* نگارنده پاسخگو: عبدالرضا باقری. پست الکترونیک: abagheri@um.ac.ir

تغییرات آب و هوایی میزان خشکی را افزایش خواهد داد و نهایتاً باعث کاهش میزان بهره‌وری محصولات کشاورزی خواهد شد (Sallam et al., 2019).

تنش خشکی می‌تواند در هر مرحله رشدی رخ دهد و به شرایط محیطی بستگی دارد؛ بنابراین ژنوتیپ‌های مختلف بایستی ازلحاظ تحمل به تنش خشکی در مراحل رشدی مختلف موردبررسی قرار بگیرند چون برخی از ژنوتیپ‌ها، خشکی را در مرحله جوانه‌زنی یا گیاهچه‌ای تحمل می‌کنند اما ممکن است در مرحله گلدهی به خشکی بسیار حساس باشند و یا برعکس (Sallam et al., 2019). درواقع مرحله رشدی، سن، نوع گونه گیاهی، شدت و مدت خشکی ازجمله عوامل کلیدی هستند که بر واکنش گیاه به خشکی تأثیر می‌گذارند (Gray and Brady, 2016). در حقیقت مکانیسم تحمل به خشکی در گیاهان مختلف متفاوت است؛ بنابراین گیاهان این توانایی را دارند که استفاده از منابع خود را کاهش دهند و رشد خود را برای مقابله با شرایط نامطلوب محیطی ازجمله خشکی تنظیم کنند (Bielach et al., 2017). وقتی گیاهان در معرض تنش خشکی قرار می‌گیرند، ازنظر فیزیولوژیک تغییر می‌کنند تا قادر به تحمل این تنش باشند (Vinocur and Altman, 2005). درواقع گیاهان متحمل به خشکی سعی می‌کنند در طول تنش میزان آب کمتری از دست بدهند و فعالیت فتوسنتزی کمتری داشته باشند تا بتوانند با تنش مقابله کنند. همچنین این گیاهان در طول تنش، قندهای محلول، پرولین، اسیدهای آمینه، کلروفیل و فعالیت‌های آنتی‌اکسیدانی آنزیمی و غیرآنزیمی خود را افزایش می‌دهند (Abid et al., 2016). در همین راستا، تحقیقی جهت بررسی میزان قندهای محلول و پرولین تحت تأثیر تنش خشکی در دو رقم متحمل (یوسف) و حساس (موروکو) در جو انجام شد. نتایج این آزمایش نشان داد که در شرایط تنش شدید (۱۰ درصد ظرفیت زراعی) رقم متحمل نسبت به رقم حساس میزان قند و پرولین بیشتری تولید کرده است که این امر باعث حفاظت غشای سلول در برابر تنش و در نتیجه سازگاری بهتر ژنوتیپ متحمل با شرایط خشکی شده است (Shabani et al., 2012). در آزمایشی دیگر بر روی گیاه جو، تغییرات مورفولوژیکی و فیزیولوژیکی در دو ژنوتیپ حساس (Baronesse) و متحمل (Otis) موردبررسی قرار گرفت. آزمایش‌های مورفوفیزیولوژیکی ازجمله اندازه‌گیری بیومس، میزان آب نسبی، مقدار پرولین و پارامترهای مرتبط با فتوسنتز نشان داد که هر دو ژنوتیپ به تنش خشکی پاسخ می‌دهند اما ژنوتیپ Otis تحمل بیشتری در این شرایط داشت (Harb et al., 2020).

زاهدی و همکاران (Zahedi et al., 2016) گزارش کردند که تنش خشکی در گیاه جو باعث افزایش معنی‌داری در میزان پرولین، پروتئین‌ها و فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی ازجمله کاتالاز، پراکسیداز، سوپراکسید دیسموتاز و آسکوربیک پراکسیداز شده است. درواقع طبق نتایج آن‌ها افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی تحت شرایط تنش خشکی به‌منظور کاهش اثرات مضر گونه‌های فعال اکسیژن (ROS) صورت گرفته است. گزارش‌های متعددی وجود دارد که نشان‌دهنده ارتباط بین افزایش میزان پرولین، قندهای محلول و فعالیت آنزیم‌های فتوسنتزی و تحمل به تنش خشکی در گیاهان مختلف ازجمله گندم دوروم (Naeemi et al., 2018)، کلزا (Omidi, 2010) و برنج (Kazerani et al., 2019; Dien et al., 2019) است. به‌عنوان‌مثال در پژوهشی تأثیر تنش خشکی بر عملکرد، میزان نسبی آب، پرولین، قندهای محلول و کلروفیل در سه رقم گندم نان (شهریار، چمران و مرودشت) و چهار سطح تنش خشکی در مراحل رشدی مختلف ازجمله شروع طویل شدن ساقه، تشکیل غلاف، پر شدن دانه و آبیاری کامل (تیمار شاهد) موردبررسی قرار گرفت (Keyvan, 2010). طبق نتایج آن‌ها با افزایش شدت خشکی، میزان نسبی آب و مقدار کلروفیل کل کاهش یافت اما میزان پرولین افزایش یافت. رقم چمران در تیمار تنش خشکی در مرحله شروع طویل شدن ساقه کمترین کاهش میزان نسبی آب و کلروفیل کل را نسبت به تیمار شاهد (آبیاری کامل) نشان داد. همچنین این رقم بیشترین تحمل تنش خشکی و پایداری عملکرد را نسبت به سایر ارقام داشت.

از آنجایی که صفات مورفوفیزیولوژیکی گیاه ازجمله پارامترهای مؤثر جهت سازگاری با تغییرات اقلیمی آینده هستند، ازاین‌رو انتخاب این صفات در برنامه‌های اصلاحی جهت بهبود تحمل به خشکی بسیار مهم است. علاوه بر این شناسایی ژن‌های کنترل‌کننده این تغییرات فیزیولوژیکی ممکن است منجر به بهبود ژنتیکی گیاه برای تحمل به تنش خشکی شود (Sallam et al., 2019). با توجه به اهمیت اقتصادی ویژه گیاه جو و تحمل این گیاه نسبت به تنش‌های مختلف و ارزش کاربردی این گیاه، بررسی برخی از خصوصیات فیزیولوژیک و مورفولوژیک این گیاه تحت شرایط تنش خشکی می‌تواند به امکان استفاده از این خصوصیات

به‌عنوان معیاری برای تحمل به خشکی در گیاه جو کمک نماید. ازاین‌رو، این تحقیق با هدف بررسی پارامترهای مورفولوژیک و فیزیولوژیک مهم مرتبط با تنش خشکی انجام شد.

مواد و روش‌ها

کشت گیاه و اعمال تنش خشکی

به‌منظور بررسی اثر تنش خشکی در گیاه جو، آزمایشی در گلخانه دانشکده کشاورزی دانشگاه فردوسی مشهد در سال ۱۳۹۸ به‌صورت آزمایش فاکتوریل در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی با سه تکرار انجام شد. بلوک‌بندی به جهت کاهش خطای تکرارها و افزایش دقت آزمایش انجام شد. فاکتور اول شامل دو رقم جو، نیمه حساس (فجر ۳۰) و متحمل به خشکی (دشت) و فاکتور دوم شامل ۴ سطح تنش (۴۰، ۶۰، ۸۰ و ۱۰۰ درصد ظرفیت زراعی) بودند. ابتدا بذرهای هر دو رقم در سینی‌های کشت پرشده با کوکوپیت، پرلیت و ماسه کشت شدند و پس از گذشت دو هفته نشاها به گلدان‌های پرشده با خاک باغچه منتقل شدند. گلدان‌ها روزانه آبیاری شدند و پس از گذشت یک ماه (مرحله ۴ تا ۶ برگی) تا انتهای دوره رشدی، تحت تیمارهای تنش خشکی قرار گرفتند. برای اعمال تنش خشکی از روش وزنی استفاده شد بدین ترتیب که ابتدا درصد رطوبت در نقطه ظرفیت زراعی مزرعه تعیین شد. سپس با توجه به سطح تنش خشکی و وزن خاک خشک هر گلدان، میزان آب لازم برای رسیدن به درصد نهایی از ظرفیت زراعی مزرعه برای هر تیمار محاسبه شد.

صفات مورفولوژیک ازجمله ارتفاع بوته (از محل طوقه تا انتهای بوته)، قطر ساقه، تعداد برگ، تعداد پنجه، سطح برگ، سطح ویژه برگ با استفاده از روش‌های رایج موردبررسی قرار گرفت. به‌منظور اندازه‌گیری سطح برگ، برگ‌ها از محل اتصال به ساقه جدا و از آن‌ها عکس‌برداری شد سپس با استفاده از نرم‌افزار Digimizer سطح برگ آن‌ها تعیین شد. برای محاسبه سطح ویژه برگ، برگ‌هایی که سطح برگ آن‌ها اندازه‌گیری شده بود به مدت ۴۸ ساعت در دمای C 70º قرار گرفتند تا خشک شوند. از نسبت سطح برگ (برحسب سانتی‌متر مربع) به وزن برگ (برحسب میلی‌گرم)، سطح ویژه برگ محاسبه شد.

میزان آب نسبی در برگ‌های کاملاً جوان توسعه‌یافته با استفاده از فرمول زیر اندازه‌گیری شد (Smart and Bingham, 1974).

$$RWC = [(\text{وزن خشک} - \text{وزن تورژسانس}) / (\text{وزن خشک} - \text{وزن تر})] \times 100 \quad [1]$$

برای شمارش تعداد روزنه‌ها از تکنیک لاک ناخن استفاده شد. بدین‌صورت که ابتدا سطح برگ با استفاده از لاک ناخن بی‌رنگ پوشش داده شد. پس از خشک شدن لایه براق، با استفاده از چسب نواری شفاف، اپیدرم سطح برگ جدا و روی لام ثابت شد. مشاهده روزنه‌ها با استفاده از میکروسکوپ نوری و عکس‌برداری از روزنه‌ها توسط نرم‌افزار Dino capture انجام شد.

برای تعیین مقدار پرولین برگ‌ها از روش باتس و همکاران (Bates et al., 1973) استفاده شد. غلظت قندهای محلول بر اساس روش دوبیس و همکاران (Dubois et al., 1956) اندازه‌گیری شد.

برای اندازه‌گیری رنگ‌دانه‌های موجود در برگ از اتانول ۹۵ درصد استفاده شد. بدین منظور ۳۰ میلی‌گرم بافت برگ در یک میلی‌لیتر اتانول ۹۵ درصد با استفاده از هموژنایزر یکنواخت شده و به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند. نمونه‌ها به مدت ۵ دقیقه با ۳۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفیوژ و سپس میزان جذب محلول رویی در سه طول‌موج ۶۶۴، ۶۴۹ و ۴۷۰ نانومتر با استفاده از دستگاه نانودراپ تعیین و میزان رنگ‌دانه‌های موجود با استفاده از معادلات زیر محاسبه شد (Lichtenthaler, 1987):

$$Ch_a = (13.36 \times A_{664}) - (5.19 \times A_{649}) \quad [2]$$

$$Ch_b = (27.43 \times A_{649}) - (8.12 \times A_{664}) \quad [3]$$

$$C_{(x+c)} = (1000 \times A_{470} - 2.13 \times Ch_a - 97.63 \times Chb) / 209 \quad [4]$$

برای استخراج عصاره آنزیمی از بافر فسفات پتاسیم ۰/۱ مولار با pH=7 حاوی EDTA یک میلی‌مولار استفاده شد. بدین منظور ۳۰ میلی‌گرم بافت برگ تازه در ازت مایع پودر شد و یک میلی‌لیتر از بافر فوق به آن اضافه شد. مواد نامحلول توسط سانتریفیوژ یخچال‌دار با ۱۲۰۰۰ دور در دقیقه به مدت ۲۰ دقیقه در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد جدا شد. از محلول رویی جهت سنجش میزان فعالیت آنزیمی استفاده شد.

فعالیت آنزیم کاتالاز بر اساس روش ولیکووا و همکاران (Velikova et al., 2000) و از طریق اندازه‌گیری میزان کاهش جذب ناشی از تجزیه سوبسترای پراکسید هیدروژن ارزیابی شد.

فعالیت آنزیم پراکسیداز با استفاده از روش سرینیواس و همکاران (Srinivas et al., 1999) اندازه‌گیری شد.
آنالیز آماری داده‌ها: تمام آزمایش‌ها در سه تکرار انجام شد. تجزیه واریانس داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار آماری JMP نسخه ۸ و مقایسه میانگین تیمارها با استفاده از آزمون LSD در سطح پنج درصد انجام شد. رسم نمودارها از طریق نرم‌افزار Excel انجام شد.

نتایج و بحث

تأثیر تنش خشکی بر صفات مورفولوژیکی گیاه جو

بررسی تأثیر سطوح مختلف تنش خشکی (۴۰، ۶۰، ۸۰ و ۱۰۰ درصد ظرفیت زراعی) بر پارامترهای مورفولوژیک نشان داد که کمترین ارتفاع بوته یعنی ۶/۷ سانتی‌متر در بیشترین سطح تنش خشکی (۴۰ درصد ظرفیت زراعی) و در رقم دشت مشاهده شد که نسبت به تیمار شاهد اختلاف معنی‌داری را نشان داد (جدول ۱ و ۲). تحقیقات انجام‌شده نیز بیانگر تأثیر زیاد تنش خشکی بر ارتفاع بوته گیاه جو است (Bakhshi Khaniki et al., 2007; Samarah et al., 2009; Istanbuli et al., 2020). مشخص شده است که تنش خشکی یک عامل محدودکننده بسیار مهم در مراحل اولیه رشد و استقرار گیاه است که هم رشد طولی و همچنین رشد عرضی[1] را تحت تأثیر قرار می‌دهد (Jaleel et al., 2009). یکی دیگر از پارامترهای موردبررسی در این آزمایش، اندازه‌گیری شاخص سطح برگ بود.

مقایسه این شاخص در سطوح مختلف تنش خشکی نشان داد که با افزایش شدت تنش از سطح برگ بوته‌های جو کاسته می‌شود، به‌طوری‌که بوته‌های رشد یافته در شرایط بدون تنش (۱۰۰ درصد ظرفیت زراعی) بیشترین شاخص سطح برگ (۵۲/۶ سانتی‌متر مربع در رقم فجر ۳۰ و ۳۷/۶ سانتی‌متر مربع در رقم دشت) را داشتند و کمترین آن مربوط به شرایط تنش شدید یعنی ۴۰ درصد ظرفیت زراعی (۳۰/۱ سانتی‌متر مربع در رقم فجر ۳۰ و ۲۶/۱ سانتی‌متر مربع در رقم دشت) بود (جدول ۲).

جدول ۱. میانگین مربعات صفات موردمطالعه.

Table 1. Mean squares of the studied traits

S.O.V	منابع تغییرات	درجه آزادی df	ارتفاع بوته Plant height	قطر ساقه Stem diameter	تعداد برگ Leaf number	تعداد پنجه Tiller number	سطح برگ Leaf area	سطح ویژه برگ Specific leaf area
Replication	تکرار	2	0.103^{ns}	0.022^{ns}	2.37^{ns}	4.66^{ns}	12.3^{ns}	9.2^{ns}
Stress (S)	تنش	3	87.23^{**}	0.891^{**}	187.48^{**}	9.7^{*}	314.85^{**}	308.22^{*}
Cultivar (C)	رقم	1	1284.8^{**}	2.961^{**}	975.37^{**}	117.04^{**}	1069.06^{**}	50.19^{ns}
C×S	رقم× تنش	3	10.17^{**}	0.016^{ns}	19.37^{ns}	4.37^{ns}	59.87^{ns}	53.7^{ns}
Error	خطا	14	0.657	0.047	16.99	1.8	18.37	40.67
C.V%	ضریب تغییرات٪		*4.56*	*6.33*	*14.15*	*15.87*	*11.3*	*6.85*

جدول ۱. ادامه

Table 1- Continued

S.O.V	منابع تغییرات	درجه آزادی df	تعداد روزنه سطح‌رویی برگ Number of stomata in the leaf upper surface	تعداد روزنه سطح زیرین برگ Number of stomata in the leaf lower surface	میزان آب نسبی Relative water content	میزان پرولین Amount of proline	میزان قندهای محلول Amount of soluble sugars
Replication	تکرار	2	81.79^{*}	5.54^{ns}	267.59*	0.0016^{ns}	0.035^{ns}
Stress (S)	تنش	1	104.27^{*}	59.44^{*}	71.11^{ns}	0.05^{**}	3.68^{**}
Cultivar (C)	رقم	3	3220.16^{**}	1837.5^{**}	67.13^{ns}	0.01^{*}	0.543^{ns}
C×S	رقم× تنش	3	18.94^{ns}	64.94^{*}	63.02^{ns}	0.0071^{*}	0.708^{ns}
Error	خطا	14	15.6	9.68	42.17	0.0014	0.308
C.V%	ضریب تغییرات٪		*10.84*	*9.33*	*8.83*	*23.98*	*29.67*

[1] Expansion growth

Table 1. Continued **جدول ۱. ادامه**

S.O.V	منابع تغییرات	درجه آزادی df	کلروفیل a Chlorophyll a	کلروفیل b Chlorophyll b	کارتنوئید Carotenoid	آنزیم کاتالاز Catalase enzyme	آنزیم پراکسیداز Peroxidase enzyme
Replication	تکرار	2	0.0081^{ns}	0.109^{ns}	0.00049^{ns}	0.00014^{ns}	0.0096^{ns}
Stress (S)	تنش	1	0.452^{ns}	0.103^{ns}	0.0343^{ns}	0.00086^{**}	0.061^{*}
Cultivar (C)	رقم	3	8.02^{**}	0.181^{ns}	0.506^{**}	0.000096^{ns}	0.091^{*}
C×S	رقم× تنش	3	3.003^{**}	0.305^{ns}	0.166^{**}	0.000090^{ns}	0.055^{*}
Error	خطا	14	0.268	0.137	0.0177	0.00015	0.016
C.V%	ضریب تغییرات٪		*8.72*	*15.88*	*11.39*	*25.51*	*21.96*

ns، * و ** به ترتیب عدم معنی‌داری و معنی‌داری در سطح ۵ و یک درصد است.

ns, * and ** are not significant. significant at the statistical level of 5% and 1% respectively.

جدول ۲. تأثیر رقم و تیمار تنش خشکی بر صفات مورفولوژیک گیاه جو

Table 2. The effect of cultivar and drought stress on morphological traits of barley.

رقم cultivar	تنش خشکی Drought stress	ارتفاع بوته Plant height	قطر ساقه Stem diameter	تعداد برگ Leaf number	تعداد پنجه Tiller number
		cm	mm		
فجر ۳۰ Fajr30	100%FC	27.9^{a}	4.3^{a}	28^{cd}	7^{cd}
	80%FC	28.03^{a}	3.7^{b}	24.3^{de}	7^{cd}
	60%FC	26.7^{a}	3.7^{b}	18.6^{e}	5^{d}
	40%FC	17.5^{b}	3.2^{cd}	20^{e}	6^{d}
دشت Dasht	100%FC	11.7^{cd}	3.5^{bc}	44.6^{a}	13.3^{a}
	80%FC	12.6^{c}	3.02^{de}	37^{b}	10.3^{b}
	60%FC	10.6^{d}	3.03^{de}	32.3^{bc}	10.3^{b}
	40%FC	6.7^{e}	2.7e	28^{cd}	8.6^{bc}
LSD		*1.32*	*0.36*	*6.74*	*2.54*

Table 2. Continued **جدول ۲. ادامه**

رقم cultivar	تنش خشکی Drought stress	تعداد روزنه سطح رویی برگ Number of stomata in the leaf upper surface	تعداد روزنه سطح زیرین برگ Number of stomata in the leaf lower surface	میزان آب نسبی Relative water content	سطح برگ Leaf area	سطح ویژه برگ Specific leaf area
		----------per 0.5 mm^2---------			cm^2	
فجر ۳۰ Fajr30	100%FC	45.6^{b}	44^{ab}	79.25^{a}	52.6^{a}	102.4^{a}
	80%FC	43.3^{b}	39.3^{b}	68.86^{a}	49.3^{a}	102.6^{a}
	60%FC	47.6^{ab}	44.6^{a}	69.1^{a}	46.2^{a}	85.6^{c}
	40%FC	55.3^{a}	40.3^{ab}	70.2^{a}	30.1^{c}	87.2^{c}
دشت Dasht	100%FC	20^{d}	17^{e}	76^{a}	37.6^{b}	99.4^{ab}
	80%FC	24^{cd}	23^{d}	81.1^{a}	32.5^{bc}	91.4^{bc}
	60%FC	26.6^{cd}	30^{c}	70.7^{a}	28.5^{c}	85.4^{c}
	40%FC	28.6^{c}	28.3^{c}	73.05^{a}	26.1^{c}	90^{bc}
LSD		8.45	5.24	14.51	7.26	10.49

FC: ظرفیت زراعی.

* اعداد با حروف مشترک در هر ستون دارای اختلاف معنی‌دار ($P<0.05$) با استفاده از آزمون LSD نمی‌باشند.

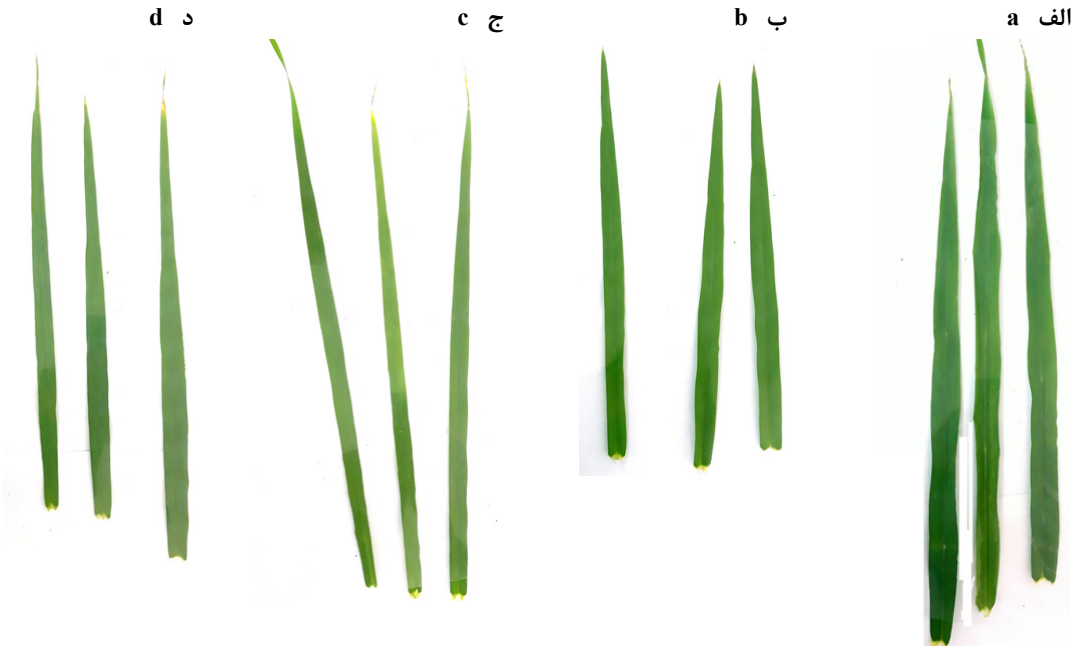
FC: Field capacity

*Numbers followed by the same letters in each column are not significantly difference ($P<0.05$) using LSD test

در آزمایشی که به‌منظور بررسی اثر تنش خشکی بر برخی از پارامترهای مورفولوژیک گیاه جو انجام شده است، تیمار تنش خشکی باعث تأثیر منفی در رشد گیاه جو ازجمله شاخص سطح برگ شده است (Hafez and Seleiman,

2017). برخی از محققان گزارش کرده‌اند که اثر منفی تنش آب بر بسته شدن روزنه‌ها و میزان فتوسنتز منجر به کاهش سطح برگ می‌شود و این می‌تواند دلیل اصلی کاهش سطح برگ در شرایط تنش شدید خشکی باشد (Ghotbi-Ravandi et al., 2014).

نتایج تجزیه واریانس داده‌های این آزمایش نشان داد که اثر متقابل رقم و سطح تنش خشکی بر صفاتی ازجمله قطر ساقه، تعداد برگ و پنجه تأثیری نداشته است اما هرکدام از این عوامل به‌تنهایی باعث اختلاف معنی‌داری در صفات فوق شدند (جدول ۱). طبق نتایج این آزمایش، بوته‌های رقم فجر ۳۰ در شرایط بدون تنش خشکی (۱۰۰ درصد ظرفیت زراعی) بیشترین قطر ساقه را داشتند اما بیشترین تعداد برگ و پنجه در بوته‌های رقم دشت که تحت تنش خشکی نبودند، مشاهده شد که نسبت به سایر تیمارها تفاوت معنی‌داری داشتند (جدول ۲). درواقع رقم دشت باوجود داشتن تعداد برگ بیشتر، برگ‌های کوچک‌تری تولید می‌کند که نهایتاً باعث کمتر شدن سطح برگ نسبت به رقم نیمه حساس (فجر ۳۰) می‌شود (شکل ۱).



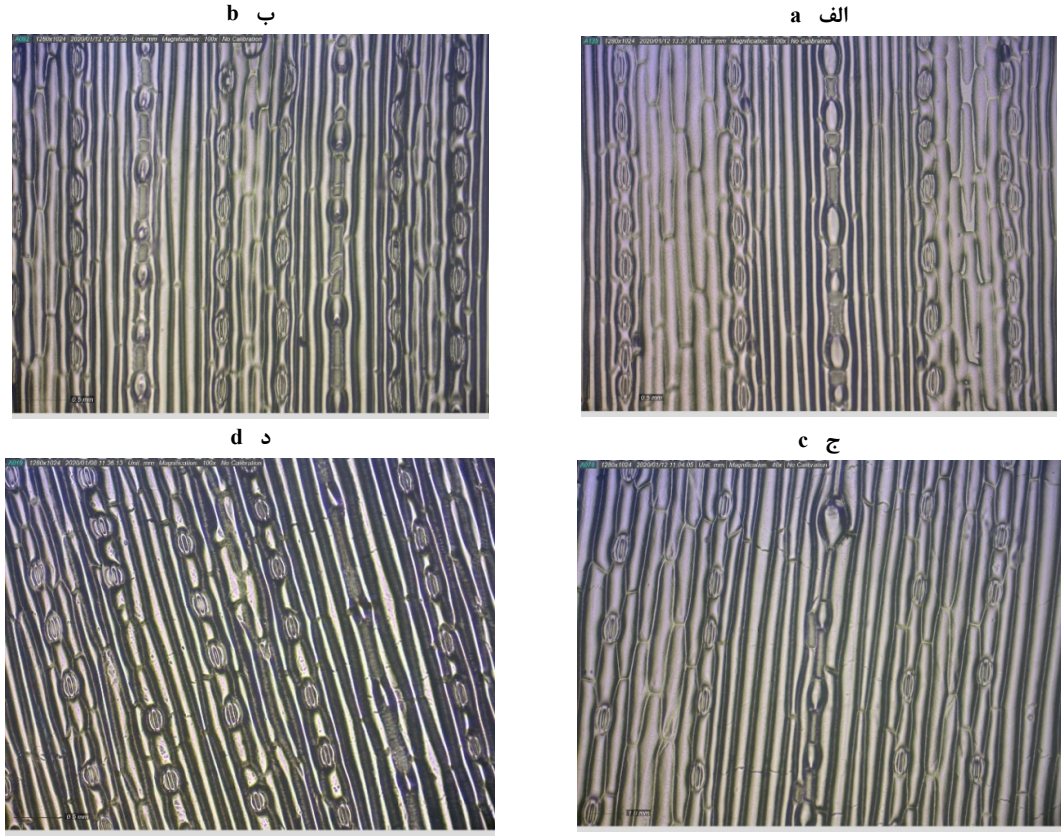
شکل ۱. مقایسه سطح برگ (الف) رقم فجر ۳۰ تحت شرایط بدون تنش، (ب) رقم فجر ۳۰ تحت شرایط تنش شدید (۴۰ درصد ظرفیت زراعی)، (ج) رقم دشت تحت شرایط بدون تنش، (د) رقم دشت تحت شرایط تنش شدید (۴۰ درصد ظرفیت زراعی).

Fig. 1. Comparison of leaf area (a) Fajr 30 cultivar under non-stress conditions, (b) Fajr 30 cultivar under severe stress conditions (40% of field capacity), (c) Dasht cultivar under non-stress conditions, (d) Dasht cultivar under severe stress conditions (40% of field capacity).

در این آزمایش همچنین تعداد روزنه در سطح رویی و زیرین برگ‌ها اندازه‌گیری شد. کمترین تعداد روزنه در سطح زیرین برگ را رقم دشت در شرایط بدون تنش داشت که نسبت به سایر تیمارها تفاوت معنی‌داری داشت (جدول ۱ و ۲). مطالعات مختلفی نشان دادند که ارتباط زیادی بین تحمل به خشکی و هدایت و تراکم روزنه‌ای وجود دارد. درواقع کاهش تعداد روزنه‌ها سبب کاهش تلفات تبخیر از سطح برگ می‌شود (Kumar Joshi and Nayak, 2010)؛ به‌عبارت‌دیگر گیاه وقتی در معرض تنش خشکی قرار می‌گیرد با تغییراتی ازجمله بستن روزنه‌ها و همچنین کاهش سطح برگ، سنتز پروتئین و کلروفیل را به حداقل می‌رساند تا فرایند فتوسنتز کاهش پیدا کند (Jaleel et al., 2009). به‌عنوان‌مثال در تحقیقی، هدایت روزنه‌ای در دو رقم متحمل و حساس به خشکی در گیاه جو مورد مقایسه قرار گرفت. گیاهان متحمل به خشکی به‌طور معنی‌داری هدایت روزنه‌ای کمتری نسبت به گیاهان حساس به خشکی نشان دادند. آن‌ها نتیجه‌گیری کردند که احتمالاً ارقام متحمل در مقایسه با ارقام حساس تراکم روزنه‌ای کمتری دارند و همین امر سبب تحمل به خشکی این ارقام شده است (Harb et al., 2020). این نتیجه‌گیری با نتایج این آزمایش مطابقت دارد و رقم دشت

که رقم متحمل به خشکی است، کمترین تعداد روزنه را در هر دو سطح بالایی و پایینی برگ دارد.

برخلاف روزنه سطح زیرین برگ، برهمکنش رقم و سطح تنش تأثیری در تعداد روزنه‌ها در سطح رویی برگ نداشتند اما رقم و تنش هرکدام به‌تنهایی این پارامتر را تحت تأثیر قرار دادند (جدول ۱)، به‌طوری‌که در هر دو رقم بیشترین تعداد روزنه در سطح رویی برگ در شدیدترین سطح تنش (۴۰ درصد ظرفیت زراعی) مشاهده شد که نسبت به شرایط بدون تنش تفاوت معنی‌داری داشتند (شکل ۲). روحانی و همکاران (Rouhani et al., 2015) با بررسی ابعاد و تراکم روزنه در گیاه جو در شرایط خشکی نشان دادند که همبستگی منفی بین تعداد و اندازه روزنه‌ها وجود دارد به‌طوری‌که تنش خشکی به‌طور معنی‌داری باعث افزایش تعداد روزنه‌ها در سطح برگ شد. ازاین‌رو ابعاد و تعداد روزنه‌ها ازجمله عواملی هستند که تحت تأثیر تنش خشکی قرار می‌گیرند. درواقع گیاه هنگام مواجه با تنش شدید، با کاهش اندازه روزنه‌های خود و افزایش فشار روزنه‌ای از هدر رفت آب به‌صورت تعرق جلوگیری می‌کند و از طرفی با زیاد کردن روزنه‌های خود در واحد سطح برگ، میزان ورود دی‌اکسید کربن را در حد مطلوبی حفظ می‌کند (Darabi et al., 2011).



شکل ۲. تعداد روزنه سطح رویی برگ (الف) رقم فجر ۳۰ تحت شرایط بدون تنش، (ب) رقم فجر ۳۰ تحت شرایط تنش شدید (۴۰ درصد ظرفیت زراعی)، (ج) رقم دشت تحت شرایط بدون تنش، (د) رقم دشت تحت شرایط تنش شدید (۴۰ درصد ظرفیت زراعی).

Fig. 2. Number of stomata in the leaf upper surface (a) Fajr 30 cultivar under non- stress conditions, (b) Fajr 30 cultivar under severe stress conditions (40% of field capacity), (c) Dasht cultivar under non- stress conditions, (d) Dasht cultivar under stress conditions Severe (40% of field capacity).

تأثیر تنش خشکی بر میزان پرولین و قندهای محلول

بین سطوح مختلف تنش خشکی ازنظر میزان تنظیم‌کننده‌های اسمزی مانند پرولین و قندهای محلول تفاوت قابل‌توجهی مشاهده شد. به‌طوری‌که بیشترین مقدار تجمع پرولین (۰/۳۰۱ میلی‌گرم به ازای هر گرم وزن تر برگ) در رقم فجر و سطح تنش خشکی ۴۰ درصد ظرفیت زراعی مشاهده شد که اختلاف معنی‌داری با تیمار بدون تنش (۱۰۰ درصد ظرفیت زراعی) داشت (جدول ۱ و ۳). همچنین تغییر

رنگ مخلوط واکنش به‌وضوح در پلیت قابل‌مشاهده بود. به‌طوری‌که رنگ مخلوط واکنش در نمونه‌های تحت تیمار تنش شدید که دارای بیشترین میزان پرولین بودند، قرمز تیره و در نمونه‌های شاهد که هیچ تنشی ندیدند و میزان پرولین کمتری داشتند، قرمز روشن‌تری بود (شکل ۳). پاسخ گیاهان به تنش اسمزی با تجمع موادی ازجمله پرولین، پروتئین و قند در سیتوزول است که از این طریق به حفظ تعادل اسمزی بین سیتوزول با واکوئل و محیط خارجی کمک می‌کند. این امر از سلول در برابر آسیب‌ها محافظت می‌کند و فشار تورژسانس را حفظ می‌کند (Abdel-Motagally and El-Zohri, 2018). گزارش‌های متعددی از تجمع پرولین در گیاهان تحت تنش خشکی در گیاهان زراعی مختلف ازجمله گندم (Qaseem et al., 2019)، برنج (Dien et al., 2019) و ذرت (Anjorin et al., 2016) وجود دارد. در مطالعه‌ای که بر روی گیاه جو انجام شد به این نتیجه رسیدند که تنش خشکی باعث افزایش در میزان پرولین و قندهای محلول در برگ گیاه جو وحشی (H. maritimum) و زراعی (H. vulgare) نسبت به گیاهان شاهد شده است. نتایج آن‌ها نشان داد که خشکی به‌شدت غلظت پرولین را مخصوصاً در گیاه جو وحشی نسبت به جو زراعی افزایش می‌دهد. علاوه بر این، در شرایط خشکی افزایش پرولین نسبت به قندهای محلول بیشتر است؛ بنابراین نقش پرولین در فعال کردن تنظیم اسمزی در مقایسه با قندهای محلول مهم‌تر است. درواقع تجمع پرولین به‌عنوان یک راهکار سازشی در گیاهان جهت محدود کردن اثرات خشکی است (Mejri et al., 2016).

جدول ۳. تأثیر رقم و تیمار تنش خشکی بر میزان پرولین و قندهای محلول موجود در برگ گیاه جو

Table 3. The effect of cultivar and drought stress treatment on proline and soluble sugars in barley leaves

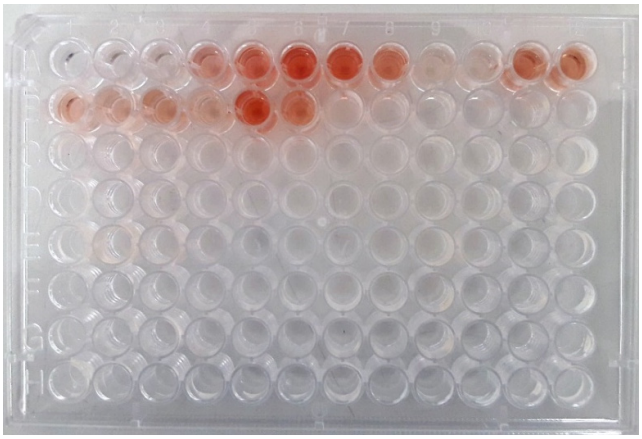
رقم Cultivar	تنش خشکی Drought stress	پرولین Proline	قندهای محلول Soluble sugars
		--- mg g^{-1} leaf fresh weight ---	
فجر ۳۰ Fajr30	100%FC	0.038^{e}	0.55^{d}
	80%FC	0.046^{e}	1.57^{c}
	60%FC	0.156^{cd}	3.04^{a}
	40%FC	0.301^{a}	1.71^{bc}
دشت Dasht	100%FC	0.101^{de}	1.37^{cd}
	80%FC	0.154^{cd}	1.56^{c}
	60%FC	0.208^{bc}	2.52^{ab}
	40%FC	0.247^{ab}	2.63^{a}
LSD		*0.064*	*0.906*

FC: ظرفیت زراعی

* اعداد با حروف مشترک در هر ستون دارای اختلاف معنی‌دار (P<0.05) با استفاده از آزمون LSD نمی‌باشند.

FC: Field capacity

* Numbers followed by the same letters in each column are not significantly difference (P <0.05) using LSD test.



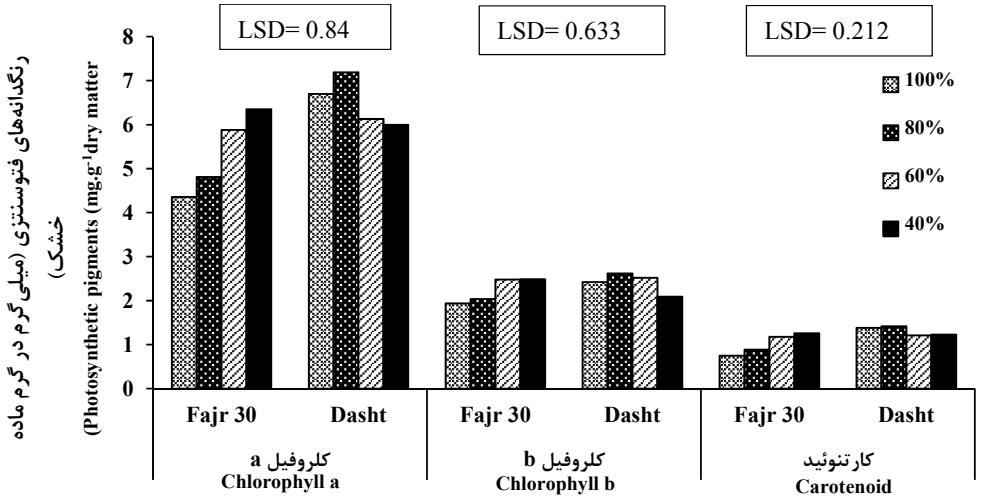
شکل ۳. تغییر رنگ مخلوط واکنش در اندازه‌گیری میزان پرولین. ردیف اول چاهک شماره ۱ آب به‌عنوان کنترل منفی و چاهک شماره ۲ تا ۶ رقت‌های مختلف از استاندارد پرولین به ترتیب ۰/۱، ۱، ۱۰، ۲۰ و ۳۰ میلی‌گرم در لیتر. چاهک شماره ۷ تا ۱۰ به ترتیب نمونه‌های تحت تیمار ۴۰، ۶۰، ۸۰ و ۱۰۰ درصد ظرفیت زراعی. سایر چاهک‌ها تکرارهای دیگر تیمارها است.

Fig. 3. Color change of the reaction mixture in measuring the amount of proline. The first row of well No. 1 water as negative control and well No. 2 to 6 different dilutions of the proline standard are 0.1, 1, 10, 20 and 30 mg g^{-1}, respectively. Wells 7 to 10, respectively, treated samples of 40, 60, 80 and 100% of field capacity. Other wells are repetitions of other treatments.

نتایج حاصل از تجزیه واریانس میزان قندهای محلول نشان داد که در رقم دشت با افزایش شدت تنش میزان قندهای محلول نیز افزایش یافت به‌طوری‌که تفاوت معنی‌داری بین تیمار شاهد و تیمار ۴۰ درصد ظرفیت زراعی وجود داشت؛ اما در رابطه با رقم فجر ۳۰ با افزایش سطح تنش تا ۶۰ درصد ظرفیت زراعی میزان قندها افزایش یافت اما پس‌ازآن و در ۴۰ درصد تنش خشکی میزان آن‌ها به‌طور معنی‌داری کاهش یافت که اختلاف معنی‌داری را با تیمار شاهد نشان داد (جدول ۱). فروغ و همکاران (Farooq et al., 2009) دلیل این امر را این‌گونه بیان کردند که تحت شرایط تنش شدید سرعت فتوسنتز کاهش می‌یابد و در متابولیسم کربوهیدرات‌ها اختلال ایجاد می‌شود.

تأثیر تنش خشکی بر میزان رنگ‌دانه‌های فتوسنتزی

بررسی تغییرات رنگ‌دانه‌های فتوسنتزی در پاسخ به تنش خشکی نشان داد که بیشترین مقدار کلروفیل a و کاروتنوئید در رقم دشت (متحمل به خشکی) و در سطح تنش ۸۰ درصد ظرفیت زراعی وجود دارد که نسبت به شرایط بدون خشکی (شاهد) تفاوت معنی‌داری را نشان نداد (جدول ۱ و شکل ۴). در آزمایشی که به‌منظور ارزیابی میزان کلروفیل و پارامترهای فلورسنت به‌عنوان شاخص تحمل به خشکی در گیاه جو انجام شد آن‌ها نیز همین نتیجه را گزارش کردند. نتایج آن‌ها نشان داد که در ژنوتیپ‌های حساس به خشکی اجزای فتوسنتز می‌توانند آسیب ببینند اما ژنوتیپ‌های متحمل به خشکی، سازگاری خوبی برای کاهش یا جلوگیری از آسیب‌های ناشی از تنش خشکی از خود نشان می‌دهند. آن‌ها پیشنهاد کردند که تفاوت‌های ژنتیکی در واکنش اجزای فتوسنتز به خشکی وجود دارد و در ژنوتیپ‌های متحمل، اجزای فتوسنتز تحمل بالاتری نسبت به تنش دارند (Li et al., 2006). در تحقیقی که به همین منظور بر روی گیاه برنج در شرایط تنش خشکی انجام شد، ارقام متحمل به خشکی میزان کلروفیل بالاتری داشتند (Sikuku et al., 2010).



شکل ۴. تأثیر رقم (فجر ۳۰ و دشت) و تیمار تنش خشکی (۴۰، ۶۰، ۸۰ و ۱۰۰ درصد ظرفیت زراعی) بر مقدار کلروفیل a (میلی‌گرم در گرم ماده خشک)، کلروفیل b (میلی‌گرم در گرم ماده خشک) و کارتنوئید در گیاه جو. اعداد با حروف مشترک دارای اختلاف معنی‌دار در سطح ۵ درصد با استفاده از آزمون LSD نمی‌باشند.

Fig. 4. The effect of cultivar (Fajr and Dasht) and drought stress treatment (40, 60, 80 and 100% of field capacity) on the amount of chlorophyll a (mg g^{-1} dry matter), chlorophyll b (mg g^{-1} dry matter) and carotenoids in Barley. Numbers with same letters do not have a significant difference at the 5% level using the LSD test.

علاوه بر این نتایج این آزمایش نشان داد که میزان هر سه رنگ‌دانه در رقم دشت با افزایش شدت تنش تا ۸۰ درصد ظرفیت زراعی افزایش و سپس کاهش می‌یابد (شکل ۴). کاهش مقدار کلروفیل در اثر تنش خشکی در گیاهان دیگر ازجمله برنج (Kamarudin et al., 2018)، ذرت (Chen et al., 2016) و جو (Cai et al., 2020) گزارش شده است. کلروفیل به‌عنوان رنگ‌دانه فتوسنتزی در جذب نور دخالت دارد و نقش مهمی را در فتوسنتز گیاه ایفا می‌کند. از آنجایی

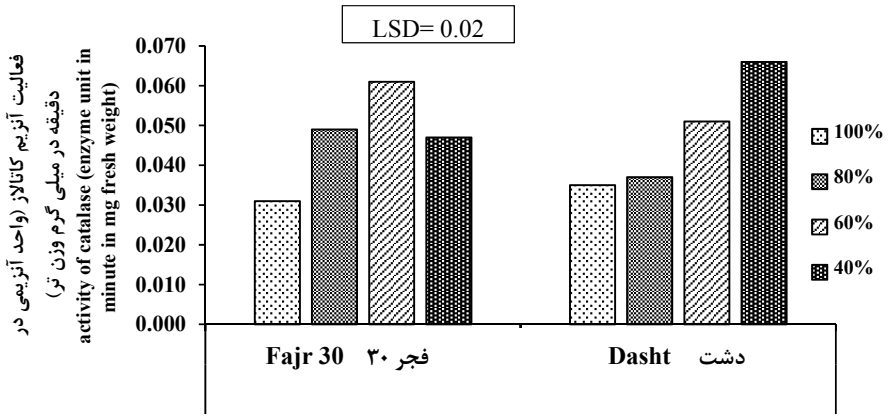
که تنش خشکی می‌تواند تجزیه کلروفیل را سرعت ببخشد، اندازه‌گیری میزان کلروفیل یکی از مهم‌ترین کمیت‌های مورداستفاده جهت سنجش شدت تنش خشکی است (Ying et al., 2015). ازاین‌رو یکی از دلایل کاهش میزان رنگ‌دانه‌های فتوسنتزی تجزیه آن‌ها تحت شرایط تنش خشکی است.

برخلاف رقم دشت میزان هر سه رنگ‌دانه فوق در رقم نیمه حساس فجر ۳۰ با افزایش شدت خشکی افزایش یافت، به‌طوری‌که تفاوت معنی‌داری با تیمار شاهد داشتند (شکل ۴). برزوئی و همکاران (Borzooei et al., 2006) گزارش کردند که در گندم مقدار کلروفیل برگ در رقم حساس به خشکی با افزایش تنش خشکی افزایش پیدا کرده است. آن‌ها این‌گونه اظهار داشتند که رقم حساس با استفاده از مکانیسم‌های اجتناب از تنش ازجمله کاهش سطح برگ و میزان RWC بالاتر، میزان کلروفیل بیشتری در واحد سطح برگ دارند. درواقع به علت کاهش سطح برگ، رنگ‌دانه‌های فتوسنتزی در سطح کمتری از برگ‌ها تجمع پیدا می‌کنند و به همین علت میزان کلروفیل بیشتری در رقم حساس به خشکی وجود دارد.

تأثیر تنش خشکی بر میزان فعالیت آنزیم کاتالاز و پراکسیداز

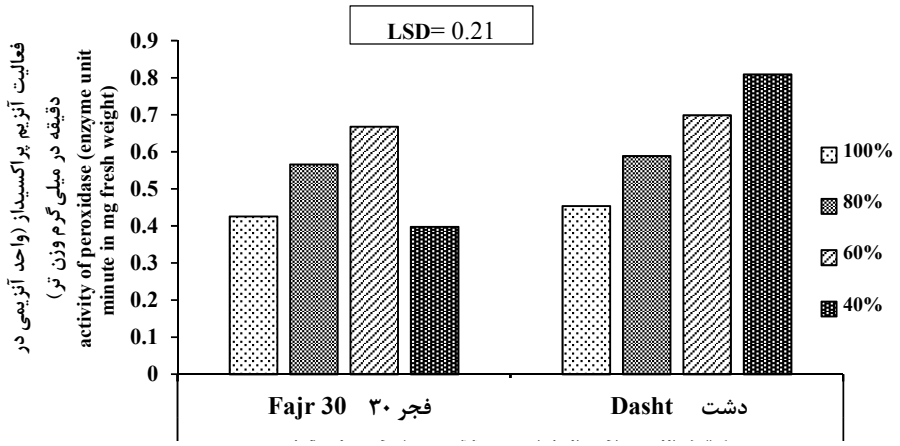
بررسی تغییرات آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی در طول اعمال دوره تنش خشکی نشان داد که بوته‌های رقم متحمل به خشکی، دشت بیشترین فعالیت آنزیم کاتالاز و پراکسیداز را نسبت به رقم نیمه حساس فجر ۳۰ داشتند (شکل ۵ و ۶). بیشترین فعالیت آنزیم پراکسیداز (۰/۸۰۹ واحد آنزیمی در دقیقه در میلی‌گرم وزن تر) در رقم دشت و در شدیدترین سطح تنش یعنی ۴۰ درصد ظرفیت زراعی مشاهده شد که تفاوت معنی‌داری با تیمار شاهد داشت (شکل ۶). بررسی‌ها نشان داده است که تنش خشکی سبب افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی در گیاهان مختلف می‌شود (Yang et al., 2015; Kazerani et al., 2019; Khodabin et al., 2020). افزایش فعالیت این آنزیم‌ها را می‌توان به بالا بودن سیستم دفاعی گیاه مرتبط دانست. علاوه بر این، آن‌ها دارای ویژگی‌هایی هستند که سبب بهبود مقاومت گیاه در برابر آسیب‌های اکسیداتیو و بیماری‌ها می‌شوند (Hafez et al., 2012). در تحقیقی تأثیر کمبود آب بر فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی و عملکرد گیاه جو موردبررسی قرار گرفت. طبق نتایج این آزمایش، بیشترین فعالیت این آنزیم‌ها ازجمله کاتالاز و پراکسیداز در شرایط تنش شدید (۳۵ درصد ظرفیت زراعی) مشاهده شد (Movludi et al., 2014).

همچنین در این آزمایش، تنش خشکی ابتدا باعث افزایش و سپس کاهش میزان فعالیت هر دو آنزیم فوق در رقم فجر ۳۰ شد (شکل ۵ و ۶). در بین سطوح تنش موردبررسی، بیشترین فعالیت آنزیم کاتالاز (۰/۶۰۱ واحد آنزیمی در دقیقه در میلی‌گرم وزن تر) و پراکسیداز (۰/۶۶۸ واحد آنزیمی در دقیقه در میلی‌گرم وزن تر) در سطح تنش ۶۰ درصد ظرفیت زراعی مشاهده شد و در سطح تنش شدیدتر (۴۰ درصد ظرفیت زراعی) فعالیت هر دو آنزیم کاهش یافت (شکل ۵ و ۶). احمدی و همکاران (Ahmadi et al., 2022) نیز گزارش کردند که تنش خشکی متوسط (۷۰ درصد ظرفیت زراعی) باعث افزایش فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز هم در ارقام متحمل و همچنین ارقام حساس به خشکی در گیاه کلزا (Brassica napus) شد اما با افزایش شدت تنش خشکی (۴۰ درصد ظرفیت زراعی) میزان فعالیت این آنزیم در ارقام متحمل افزایش اما در ارقام حساس کاهش یافت. آن‌ها اعلام کردند که کاهش فعالیت آنزیم ممکن است به دلیل تغییر در اتصال زیرواحدهای آنزیمی، جلوگیری از سنتز آنزیم‌ها، تجزیه آن‌ها توسط پروتئازهای پراکسی‌زوم و یا غیرفعال شدن نوری (photo-inactivation) باشد. علاوه بر این مقایسه‌ای که بین دو رقم صورت گرفت نشان داد که در شرایط بدون تنش (۱۰۰ درصد ظرفیت زراعی) اختلافی بین دو رقم وجود ندارد اما با افزایش شدت تنش افزایش قابل‌توجهی در میزان فعالیت آنزیم پراکسیداز در رقم دشت مشاهده شد که نسبت به رقم فجر ۳۰ اختلاف معنی‌داری داشت (جدول ۱). خان و همکاران (Khan et al., 2019) در بررسی تأثیر تنش خشکی بر صفات مورفوفیزیولوژیک ارقام حساس و متحمل کلزا به این نتیجه رسیدند که تحت شرایط رشدی نرمال و بدون تنش هر دو رقم فعالیت آنزیمی مشابهی داشتند اما در شرایط تنش خشکی فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی ازجمله کاتالاز، پراکسیداز و سوپراکسید دیسموتاز در رقم متحمل به‌طور معنی‌داری بیشتر از رقم حساس بود.



شکل ۵. تأثیر رقم (فجر ۳۰ و دشت) و تیمار تنش خشکی (۴۰، ۶۰، ۸۰ و ۱۰۰ درصد ظرفیت زراعی) بر فعالیت آنزیم کاتالاز (واحد آنزیمی در دقیقه در میلی‌گرم وزن تر) در برگ گیاه جو. اعداد با حروف مشترک دارای اختلاف معنی‌دار در سطح ۵ درصد با استفاده از آزمون LSD نیست.

Fig. 5. The effect of cultivar (Fajr 30 and Dasht) and drought stress treatment (40, 60, 80 and 100% of field capacity) on the activity of catalase (enzyme unit in minute in mg fresh weight) and peroxidase (enzyme unit in mg dry weight) in leaves of Barley plant. Numbers with same letters do not have a significant difference at the 5% level using the LSD test.



شکل ۶. تأثیر رقم (فجر ۳۰ و دشت) و تیمار تنش خشکی (۴۰، ۶۰، ۸۰ و ۱۰۰ درصد ظرفیت زراعی) بر فعالیت آنزیم پراکسیداز (واحد آنزیمی در دقیقه در میلی‌گرم وزن تر) در برگ گیاه جو. اعداد با حروف مشترک دارای اختلاف معنی‌دار در سطح ۵ درصد با استفاده از آزمون LSD نیست.

Fig. 6. The effect of cultivar (Fajr 30 and Dasht) and drought stress treatment (40, 60, 80 and 100% of field capacity) on the activity of peroxidase (enzyme unit minute in mg fresh weight) in leaves of Barley plant. Numbers with same letters do not have a significant difference at the 5% level using the LSD test.

به‌طورکلی نتایج آزمایش ما نشان داد که میزان فعالیت این آنزیم‌ها در رقم متحمل به خشکی دشت نسبت به رقم نیمه حساس به خشکی فجر ۳۰ بیشتر بود که این نیز نشان‌دهنده قابلیت بالای این رقم در تحمل شرایط تنش خشکی است. افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی باعث محافظت گیاه در برابر شرایط تنش آبی می‌شود و به‌عنوان یک شاخص حیاتی جهت مقاومت در برابر تنش آب در نظر گرفته می‌شود (Noctor et al., 2014). فعالیت زیاد این آنزیم‌ها می‌تواند اثرات مضر گونه‌های فعال اکسیژن را در گیاهان خنثی کند. به نظر می‌رسد گونه‌های فعال اکسیژن، نقش مهمی در ایجاد مرگ موضعی در سلول‌های گیاهی دارند و به‌عنوان یک سیگنال قابل‌انتشار برای القای ژن‌های آنتی‌اکسیدانی و همچنین ژن‌های مرتبط با بیماری‌زایی در بافت‌های گیاهی شناخته می‌شوند (Hafez et al., 2012).

نتیجه‌گیری نهایی

تنش خشکی به‌عنوان یکی از مهم‌ترین فاکتورهای محدودکننده تولیدات کشاورزی با تأثیر جدی بر روی عملکرد محصول است. در پاسخ به تنش خشکی، گیاهان مکانیسم‌های پاسخ به خشکی خود را فعال می‌کنند که ازجمله آن‌ها می‌توان به تغییرات ساختاری و مورفولوژیکی، بیان ژن‌های مقاومت به خشکی، سنتز هورمون‌ها و مواد تنظیم‌کننده اسمزی اشاره کرد. ازاین‌رو برای درک بهتر مکانیسم‌های مقاومت به خشکی در گیاه جو به‌عنوان یک گیاه استراتژیک، در این تحقیق به بررسی خصوصیات مورفولوژیک و فیزیولوژیک گیاه جو تحت تنش خشکی پرداخته شد. نتایج نشان داد که تحت شرایط تنش خشکی، تفاوت‌های مورفولوژیک و فیزیولوژیک بین دو رقم وجود دارد. به‌طوری‌که رقم متحمل (دشت) تعداد برگ و پنجه بیشتر اما سطح برگ و تعداد روزنه کمتر و همچنین میزان پرولین، قندهای محلول و آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانت بیشتری نسبت به رقم نیمه حساس (فجر ۳۰) داشت. نتایج این آزمایش پیشنهاد می‌کند که تجمع اسمولیت‌های فوق و تغییرات مورفولوژیکی می‌تواند به‌عنوان بخشی از مکانیسم‌های مقاومت به خشکی در ژنوتیپ متحمل به خشکی در گیاه جو باشد که درنهایت می‌تواند در برنامه‌های اصلاحی برای بهبود تحمل به تنش خشکی مورداستفاده قرار بگیرد.

منابع

Abdel-Motagally, F.M.F., El-Zohri, M., 2018. Improvement of wheat yield grown under drought stress by boron foliar application at different growth stages. Journal of the Saudi Society of Agricultural Sciences. 17, 178-185. https://doi.org/10.1016/j.jssas.2016.03.005.

Abid, M., Tian, Z., Ata-Ul-Karim, S.T., Cui, Y., Liu, Y., Zahoor, R., Jiang, D., Dai, T., 2016. Nitrogen nutrition improves the potential of wheat (*Triticum aestivum* l.) to alleviate the eects of drought stress during vegetative growth periods. Frontiers in Plant Science 7, 981. https://doi.org/10.3389/fpls.2016.00981

Ahmadi, H., Abbasi, A., Taleei, A., Mohammadi, V., Pueyo, J.J., 2022. Antioxidant response and calcium-dependent protein kinases involvement in canola (*Brassica napus* L.) Tolerance to Drought. Agronomy. 12, 125. https://doi.org/10.3390/agronomy12010125

Anjorin, F.B., Adejumo, S.A., Agboola, L., Samuel, Y.D., 2016. Proline, soluble sugar, leaf starch and relative water contents of four maize varieties in response to different watering regimes. Cercetari Agronomice in Moldova. 3, 51-62. https://doi.org/10.1515/cerce-2016-0025

Arendt, E.K., Zannini, E., 2013. Barley. In: Arendt, E.K., Zannini, E. (eds.), Cereal Grains for the Food and Beverage Industries. Woodhead Publishing, PP. 155-201.

Bakhshi Khaniki, G., Fatahi, F., Yazdchi, S., 2007. Drought effects of morphologic traits of 10 barley varieties in osko area, eastern azarbaijan province. Pajouhesh-Va-Sazandegi. 20, 108-114. [In Persian].

Bates, L.S., Waldren, R.P., Teare, I.D., 1973. Rapid determination of free proline for water stress studies. Plant and Soil. 39, 205-207. https://doi.org/10.1007/BF00018060

Bielach, A., Hrtyan, M., Tognetti, V.B., 2017. Plants under stress: involvement of auxin and cytokinin. International Journal of Molecular Sciences.18,1427. https://doi.org/10.3390/ijms18071427

Borzooei, A., Khazaie, H.R., Shariari, F., 2006. The impact of post anthesis drought stress on physiologycal characteristics and antioxidant enzymes in different wheat cultivars. Journal of Agricultural Science and Technology. 20, 65-75. [In Persian].

Brersen, C.R., Roddy, A.B., Wason, J.W., McElrone, A.J., 2019. Functional status of xylem through time. Annual Review of Plant Biology. 70, 407-433. https://doi.org/10.1146/annurev-arplant-050718-100455

Cai, K., Chen, X., Han, Z., Wu, X., Zhang, S., Li, Q., Zeng, F., 2020. Screening of worldwide barley collection for drought tolerance: the assessment of various physiological measures as the selection criteria. Frontiers in Plant Science. 11, 1159. https://doi.org/10.3389/fpls.2020.01159

Chen, D., Wang, S., Cao, B., Cao, D., Leng, G., Li, H., Deng, X., 2016. Genotypic variation in growth and physiological response to drought stress and re-watering reveals the critical role

of recovery in drought adaptation in maize seedlings. Frontiers in Plant Science 6, 1241. https://doi.org/10.3389/fpls.2015.01241

Darabi, M., Dashti, F., Gholami, M., Mosadeghi, M., Mirfattah. M., 2011. Effects of drought stress on yield and some morphological and physiological characteristics of tareh Irani (*Allium ampeloperasum* Tareh Group). Iranian Journal of Horticultural Science. 42, 95-103. [In Persian].

Dien, D. C., Mochizuki, T., Yamakawa, T., 2019. Effect of various drought stresses and subsequent recovery on proline, total soluble sugar and starch metabolisms in Rice (*Oryza sativa* L.) varieties. Plant Production Science. 22, 530-545. https://doi.org/10.1080/1343943X.2019.1647787

Dubois, D., Gilleres, K.A., Hamilton, J. K. 1956. Colorimetric method for determination of sugars and related substances. Analytical Chemistry. 28, 350-356. https://doi.org/10.1021/ac60111a017

FAO. 2021. FAOSTAT-Production/Crops. Retrieved March 3, 2021, from: http://www.fao.org/faostat/en/data/QC

Farooq, M., Wahid, A., Kobayashi, N., Fujita, D., Basra, S., 2009. Plant drought stress: effects, mechanisms and management. In: Lichtfouse, E., Navarrete, M., Debaeke, P., Veronique, S., Alberola, C. (eds.), Sustainable agriculture. Springer, Dordrecht, PP. 153-188

Ghotbi-Ravandi, A.A., Shahbazi, M., Shariati, M., Mulo, P., 2014. Effects of mild and severe drought stress on photosynthetic efficiency in tolerant and susceptible barley (*Hordeum vulgare* L.) genotypes. Journal of Agronomy and Crop Science. 200, 403-415. https://doi.org/10.1111/jac.12062

Gray, S.B., Brady, S.M., 2016. Plant developmental responses to climate change. Developmental biology. 419, 64-77. https://doi.org/10.1016/j.ydbio.2016.07.023.

Hafez, E.M., Seleiman, M.F., 2017. Response of barley quality traits, yield and antioxidant enzymes to water-stress and chemical inducers. International Journal of Plant Production. 1, 477-490. https://doi.org/10.22069/IJPP.2017.3712

Hafez, Y.M., Bacso, R., Kiraly, Z., Kunstler, A., Kiraly, L., 2012. Up-regulation of antioxidants in tobacco by low concentrations of H_2O_2 suppresses necrotic disease symptoms. Phytopathology Journal. 102, 848-856. https://doi.org/10.1094/PHYTO-01-12-0012-R

Harb, A., Simpson, C., Guo, W., Govindan, G., Kakani, V.G., Sunkar, R., 2020. The effect of drought on transcriptome and hormonal profiles in barley genotypes with contrasting drought tolerance. Frontiers in Plant Science. 11, 618491. https://doi.org/10.3389/fpls.2020.618491

Istanbuli, T., Baum, M., Touchan, H., Hamwieh, A., 2020. Evaluation of morpho physiological traits under drought stress conditions in barley (*Hordeum vulgare* L.). Photosynthetica. 58, 1059-1067. https://doi.org/10.32615/ps.2020.041

Jaleel, C.A., Manivannan, P., Wahid, A., Farooq, M., Al-Juburi, H.J., Somasundaram, R., Panneerselvam, R., 2009. Drought stress in plants: a review on morphological characteristics and pigments composition. International Journal of Agriculture and Biology. 11, 100-105.

Kamarudin, Z.S., Yusop, M.R., Tengku Muda Mohamed, M., Ismail, M.R., Harun, A.R., 2018. Growth performance and antioxidant enzyme activities of advanced mutant rice genotypes under drought stress condition. Agronomy. 8, 279. https://doi.org/10.3390/agronomy8120279

Kazerani, B., Navabpour, S., Sabouri, H., Ramezanpour, S.S., Zaynali Nezhad, K., Eskandari, A., 2019. Evaluation of proline content and enzymatic defense mechanism in response to drought stress in rice. Iranian journal of Plant Physiology. 9, 2749-2757. http://doi.org/10.30495/IJPP.2019.664580

Keyvan, S., 2010. The effects of drought stress on yield, relative water content, proline, soluble carbohydrates and chlorophyll of bread wheat cultivars. Journal of Animal and Plant Sciences. 8, 1051-1060.

Khan, M.N., Zhang, J., Luo, T., Liu, J., Ni, F., Rizwan, M., Hu, L., 2019. Morpho-physiological and biochemical responses of tolerant and sensitive rapeseed cultivars to drought stress during early seedling growth stage. Acta Physiologiae Plantarum. 41, 1-13. https://doi.org/10.1007/s11738-019-2812-2.

Khodabin, G., Tahmasebi□Sarvestani, Z., Rad, A.H.S., Modarres□Sanavy, S.A.M., 2020. Effect of drought stress on certain morphological and physiological characteristics of a resistant and a sensitive

canola cultivar. Chemistry & Biodiversity. 17, e1900399.https://doi.org/10.1002/cbdv.201900399

Kumar Joshi, R., Nayak, S., 2010. Gene pyramiding-A broad spectrum technique for developing durable stress resistance in crops. Biotechnology and Molecular Biology Reviews. 5, 51–60.

Li, R.H., Guo, P.G., Michael, B., Stefania, G., Salvatore, C., 2006. Evaluation of chlorophyll content and fluorescence parameters as indicators of drought tolerance in barley. Agricultural Sciences in China. 5, 751-757. https://doi.org/10.1016/S1671-927(06)60120-X

Lichtenthaler, H.K., 1987. Chlorophylls and carotenoids: pigments of photosynthetic membranes. Methods in Enzymology. 148, 350–382. https://doi.org/10.1016/0076-6879(87)48036-1

Mejri, M., Siddique, K. H., Saif, T., Abdelly, C., Hessini, K., 2016. Comparative effect of drought duration on growth, photosynthesis, water relations, and solute accumulation in wild and cultivated barley species. Journal of Plant Nutrition and Soil Science. 179, 327-335. https://doi.org/10.1002/jpln.201500547

Movludi, A., Ebadi, A., Jahanbakhsh, S., Davari, M., Parmoon, G., 2014. The effect of water deficit and nitrogen on the antioxidant enzymes' activity and quantum yield of barley (*Hordeum vulgare* L.). Notulae Botanicae Horti Agrobotanici Cluj-Napoca .42, 398-404. https://doi.org/10.15835/nbha4229340

Naeemi, T., Fahmideh, L., Fakheri, B., 2018. The impact of drought stress on antioxidant enzymes activities, containing of proline and carbohydrate in some genotypes of durum wheat (*Triticum turgidu* l.) at seedling stage. Journal of Crop Breeding. 10, 22-31. [In Persian].

Noctor, G., Mhamdi, A., Foyer, C., 2014. Roles of reactive oxygen metabolism in drought: not so cut and dried. Plant Physiology. 164, 1636-1648. https://doi.org/10.1104/pp.113.233478

Omidi, H., 2010. Changes of proline content and activity of antioxidative enzymes in two canola genotype under drought stress. American Journal of Plant Physiology. 5, 338-349. https://doi.org/10.3923/ajpp.2010.338.349

Qaseem, M. F., Qureshi, R., Shaheen, H., 2019. Effects of pre-anthesis drought, heat and their combination on the growth, yield and physiology of diverse wheat (*Triticum aestivum* L.) genotypes varying in sensitivity to heat and drought stress. Scientific Reports. 9, 1-12. https://doi.org/10.1038/s41598-019-43477-z

Rouhani, L., Zamani, M.J., Fotovat, R., 2015. Variation in stomatal size and density of barley genotypes under drought stress and normal conditions. Journal of Plant Research (Iranian Journal of Biology) 28, 986-994. [In Persian].

Sallam, A., Alqudah, A.M., Dawood, M.F., Baenziger, P.S., Borner, A., 2019. Drought stress tolerance in wheat and barley: advances in physiology, breeding and genetics research. International Journal of Molecular Sciences. 20, 31-37. https://doi.org/10.3390/ijms20133137

Samarah, N.H., Alqudah, A.M., Amayreh, J.A., McAndrews, G.M., 2009. The effect of late□ terminal drought stress on yield components of four barley cultivars. Journal of Agronomy and Crop Science. 195, 427-441. https://doi.org/10.1111/j.1439-037X.2009.00387.x

Seed and Plant Research Improvement Institute., 2015. Introduction of crop cultivars. Agricultural Research Education and Extention Organization 1-231. [In Persian].

Shabani, Z., Akbari, G.H., KhoshKholgh Sima., N.A., 2012. Effect of terminal drought stress on proline and soluble carbohydrate accumulation in sensitive and tolerant barley genotypes.p. 1-12. Proceedings of the 12th Iranian Crop Sciences Congress. 4 Sep. 2012. Karaj, Iran.

Sikuku, P.A., Netondo G.W., Onyango J.C., Musyimi D.M., 2010. Chlorophyll fluorescence, protein and chlorophyll content of three nerica rainfed rice varieties under varying irrigation regimes. ARPN Journal of Agricultural and Biological Science. 5, 19-25.

Smart, R.E., Bingham G.E., 1974. Rapid estimates of relative water content. Plant Physiology. 53, 258–260. https://doi.org/10.1104/pp.53.2.258

Srinivas, N.D., Rashmi K.R., Raghavarao K.S.M.S., 1999. Extraction and purification of a plant peroxidase by aqueous two-phase extraction coupled with gel filtration. Process Biochemistry. 35, 43–48. https://doi.org/10.1016/S0032-9592(99)00030-8

Velikova, V., Yordanov, I., Edreva, A., 2000. Oxidative stress and some antioxidant systems

in acid rain-treated bean plants: protective roles of exogenous polyamines. Plant Science. 151, 59-66. https://doi.org/10.1016/S0168-9452(99)00197-1

Vinocur, B., Altman, A., 2005. Recent advances in engineering plant tolerance to abiotic stress: Achievements and limitations. Current Opinion in Biotechnology .16 12,3–132. https://doi.org/10.1016/j.copbio.2005.02.001

Yang, S., Deng, X., 2015. Effects of drought stress on antioxidant enzymes in seedlings of different wheat genotypes. Pakistan Journal of Botany. 47, 49-56.

Ying, Y.Q., Song, L.L., Jacobs, D.F., Mei, L., Liu, P., Jin, S.H., Wu, J.S., 2015. Physiological response to drought stress in Camptotheca acuminata seedlings from two provenances. Frontiers in Plant Science. 6, 361. https://doi.org/10.3389/fpls.2015.00361

Zahedi, M. B., Razi, H., Saed-Moucheshi, A., 2016. Evaluation of antioxidant enzymes, lipid peroxidation and proline content as selection criteria for grain yield under water deficit stress in barley. Journal of Applied Biological Sciences. 10, 71-78.