مجله علوم گیاهان زراعی ایران
دوره ۴۱، شماره ۱، ۱۳۸۹ (۶۵-۵۷)

بررسی و مقایسه گونه‌های مختلف جوهای بومی ایران از نظر میزان کلروفیل، کاروتنوئید، پروتئین و آنزیم

امین ابراهیمی[1]*، محمدرضا نقوی[2] و منیژه سبکدست[3]
۱، ۲، ۳، دانشجوی کارشناسی ارشد، استاد و مربی پردیس کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه تهران
(تاریخ دریافت: ۸۷/۸/۱۵-تاریخ تصویب: ۸۸/۴/۲۱)

چکیده

به منظور بررسی و مقایسه میزان کلروفیل، کاروتنوئید، پروتئین و آنزیم در گونه‌های مختلف جو، آزمایشی تحت شرایط گلخانه، با ۳ تکرار در قالب طرح کاملا تصادفی، در سال ۱۳۸۷ در گلخانه گروه زراعت و اصلاح نباتات دانشگاه تهران اجرا شد. مواد گیاهی در این آزمایش شامل ۴۹ ژنوتیپ جو بومی ایران از ۵ گونه شامل *H. vulgare*، *H. spontaneum*، *H. marinum*، *H. murinum*، *H. bulbosume* بود. گونه‌ها و ژنوتیپ‌های داخل گونه‌ها از لحاظ صفات مورد بررسی تنوع بسیار معنی داری نشان دادند. در تمامی گونه‌ها همبستگی بسیار معنی‌دار و مثبتی بین میزان کلروفیل a، کلروفیل b، کلروفیل کل، کاروتنوئید وجود داشت. در دو گونه *H. marinum* و *H. bulbosum* بین میزان آنزیم پراکسیداز و پروتئین همبستگی معنی‌دار و منفی وجود داشت و در گونه *H. bulbosume* بین میزان آنزیم پراکسیداز و پلی فنول اکسیداز همبستگی مثبت و معنی‌داری دیده شد. تجزیه به مولفه‌های اصلی ۷ متغیر اولیه را در قالب دو متغیر جدید (دو مولفه) گروه‌بندی نمود که در مجموع این دو مولفه ۷۸ درصد از تغییرات کل را توجیه کردند. بطوریکه مولفه اول با تخصیص۵۷ درصد از تغییرات کل عمدتاً توجیه کننده صفات کلروفیل a، کلروفیل b، کلروفیل کل و میزان کاروتنوئید بود. در حالی که متغیر دوم با ۲۱ درصد از تغییرات عمدتاً توجیه‌کننده میزان پروتئین، آنزیم پراکسیداز و پلی فنول اکسیداز بود. نتایج این تحقیق نشان داد که گونه‌های مختلف جو و همچنین ژنوتیپ‌های مختلف یک گونه از لحاظ صفات فیزیولوژیکی مورد بررسی با همدیگر تفاوت دارند این صفات در گونه‌های وحشی (به غیر از میزان پروتئین) از مقادیر بیشتری برخوردار می‌باشند. بنابراین به کمک روش‌های اصلاح کلاسیک و تلاقی بین برخی از این گونه‌ها که قابل تلاقی می‌باشند می‌توان این صفات را در ارقام زراعی بهبود داد.

واژه‌های کلیدی: پراکسیداز، پلی فنول اکسیداز، کلروفیل و کاروتنوئید، گونه‌های جو.

مقدمه

جو گیاهی خودگرده‌افشان از خانواده غلات[1]، از جنس *Hordeum* و گونه *vulgare* یا *sativum* است و به طور کلی دارای گونه‌های مختلف با سطوح پلوئیدی ۲n=۴۲، ۲n=۲۸ و ۲n=۱۴ می‌باشد. جو به علت تنوع ژنتیکی یکی از گیاهانی است که در شرایط کاملا متفاوت آب و هوایی رشد کرده و دارای ارقامی می باشد که نسبت به شرایط مختلف سازگاری دارند. در گذشته، به علت کشت ارقام بومی در مناطق مختلف، تنوع در جمعیت گیاهان در مناطق جغرافیایی به مقدار زیادی وجود داشت، ولی به تازگی به علت استفاده از ارقام

1. *Poaceae*

* نویسنده مسئول: امین ابراهیمی تلفن: ۰۲۶۱-۲۲۴۶۰۷۴ E-mail: aminebrahimi63@yahoo.com

اصلاح شده و یکنواختی ژنتیکی، ارقام مختلف گیاهان در معرض انقراض قرار گرفته‌اند. لذا، بررسی و شناسایی تنوع برای صفات مورد نظر در گیاهان در برنامه‌ریزی اصلاحی و استفاده از دامنه ژنتیکی متنوع در انتقال ژن اهمیت فراوانی دارد (Omidbakhsh fard, 2005).

تنش خشکی باعث بروز دامنه وسیعی از واکنش‌ها در گیاهان، از تغییر بیان ژن و متابولیسم سلول تا تغییر در سرعت رشد و عملکرد می‌شوند (Schmitz et al., 2008). در شرایط تنش خشکی افزایش میزان گونه‌های فعال اکسیژن موجب خسارت به اساسی‌ترین ماکرومولکول‌های سلول نظیر پروتئین‌ها، چربی‌ها، اسیدهای نوکلئیک و رنگدانه‌ها می‌گردد (Enferad et al., 2004; Jabari et al., 2006). برخی سیستم‌های آنزیمی نقش مهمی در پاکسازی سلول از این گونه‌های فعال اکسیژن بر عهده دارند (Bowler et al., 1992; Chowdhury & Choudhuri, 1985). در این میان بیشترین نقش برعهده آنزیم‌هایی چون پراکسیداز، کاتالاز و پلی فنول اکسیداز می‌باشد (Dat et al., 1998; Jagtab & Bharagava, 1995; Zhang & Kirkham, 1994).

کلروفیل‌ها از جمله ماکرو مولکول‌هایی هستند که در شرایط تنش آسیب می‌بینند. مهمترین رنگدانه جذب‌کننده نور در غشاءهای تیلاکوئیدی کلروفیل‌ها می‌باشند. علاوه بر کلروفیل‌ها غشاءهای تیلاکوئیدی دارای رنگدانه‌های جذب نور ثانویه (رنگدانه‌های فرعی) یعنی کارتنوئیدها هستند. رنگدانه‌های کارتنوئیدی نور را در طول موجی جذب می‌کنند که توسط کلروفیل‌ها جذب نمی‌شوند و بنابراین گیرنده‌های نوری مکمل هستند (Hopkins, 1999).

پراکسیداز یک اکسیدوردوکتاز می‌باشدکه در پراکسی‌زوم‌ها قرار دارد و دارای یک هم نوع b به عنوان گروه پروستتیک می‌باشد که اکسیداسیون ترکیبات پروتون‌دهنده را با H_2O_2 کاتالیز می‌کند و در نتیجه باعث تجزیه H_2O_2 می‌گردد (Hsan, 2008; Ito et al., 1991; Mohapatra et al., 2008). پراکسیدازها آیزوزایم‌های مختلفی دارند که هر کدام از آنها وظایف مختلفی را بر عهده دارند، مانند مقاومت به خشکی، گرما، شوری، عوامل بیماریزا (Mika & Sabine, 2003; Mittal & Dubey, 1991; Upadhyaya et al., 2007)، توسعه سلولی و بیوسنتز دیواره سلولی، سمزدایی، طویل شدن(Mac Adam et al., 1999; Mihaly et al., 2004)، تمایز ساختار دیواره سلولی و پاسخ به استرس‌ها (Caruso et al., 1999; Jiang & Huang, 2001; Singh et al., 1999). پراکسیدازها در حقیقت زنجیره های تک پلی پپتیدی با وزن مولکولی بین ۲۸ تا ۶۰ کیلو دالتون هستند (Yamasaki et al., 2008).

پلی فنول اکسیدازها هم آنزیم‌هایی هستند که تقریبا تمام وظائف پراکسیدازها از قبیل حفاظت در مقابل بیماری‌ها و تنش‌ها و حشرات گیاهخوار را دارند. این آنزیم‌ها توسط ژن‌های هسته‌ای کد می‌شوند و بعداً به تیلاکوئید و کلروپلاست انتقال می‌یابند (Singh et al., 1999).

پلی‌فنول اکسیدازها در اکسیداسیون فنل‌ها به کئینون‌ها و تشکیل لیگنین در سلول‌های گیاهی نقش موثری دارند. در ارتباط با امکان موثر بودن فعالیت اکسیداسیون آنزیم‌های فنول اکسیداز در واکنش‌های دفاعی گیاه از جمله واکنش فوق حساسیت (HR) برخی تحقیقات نشان‌دهنده این است که آنزیم‌هایی مانند پلی‌فنول اکسیداز ممکن است در فعالیت‌های دفاعی و HR در مقابل ویروس‌ها، باکتری‌ها و قارچ‌ها دخالت داشته باشد. این آنزیم همچنین در واکنش‌های قهوه‌ای شدن بافت زخمی و تشکیل سدهای دفاعی در مقابل بیمارگرها دخالت دارد (Mohammadi & Kazemi, 2002).

در تحقیقی نشان داده شد که تفاوت بسیار معنی داری بین ارقام جو مورد بررسی بعد از مایه زنی از لحاظ میزان پروتئین و پراکسیداز وجود دارد (Potpour et al., 2000). همچنین در تحقیق دیگر نشان دادند که بین ارقام گندم مورد مطالعه در شرایط تنش خشکی تفاوت بسیار معنی‌داری از لحاظ کلروفیل a و b، کلروفیل کل و پراکسیداز وجود دارد. همچنین آنها نشان دادند که تفاوت معنی‌داری بین ارقام مورد مطالعه از لحاظ صفات نامبرده در شرایط عادی نیز وجود دارد. البته این تفاوت‌ها در ارقام تراریخته نیز گزارش شده است. آنها عنوان کردند که در شرایط تنش خشکی رابطه معنی‌داری بین میزان پراکسیداز و کلروفیل کل و b وجود ندارد (Jabari et al., 2006). در مطالعات قبلی

نشان داده شد که تفاوت معنی‌داری بین ارقام کلزای تراریخت و شاهد از لحاظ صفات پروتئین، کلروفیل a، b و کارتنوئید در مراحل مختلف رشد وجود دارد (Jalali et al., 2004). در بررسی دیگر نیز نشان داده شدکه همبستگی بسیار بالا و معنی‌داری بین کلروفیل a و b وکلروفیل کل وجود دارد (Enferad et al., 2004).

با توجه به نقش بسیار مهم این دو آنزیم (پراکسیداز و پلی فنول اکسیداز) در مقاومت به انواع تنش‌های گرمایی، شوری، خشکی، سرما، بیماری‌ها و همچنین نقش مهم محتوای کلروفیل و کارتنوئیدی در مواجه گیاه با انواع تنش‌های مذکور، این پژوهش با هدف بررسی تنوع ژنتیکی بین و داخل گونه‌ها و رابطه یا همبستگی بین پارامترهای نامبرده شده در بین ارقام وحشی وزراعی جو انجام شد.

مواد و روش‌ها

مواد گیاهی

این آزمایش در سال ۱۳۸۷ در گلخانه گروه زراعت و اصلاح نباتات دانشگاه تهران انجام شد. در این آزمایش از ۴۹ ژنوتیپ جو بومی (جدول۱) که تعداد ۱۶ ژنوتیپ از موسسه اصلاح و نهال بذر کرج تهیه و ۳۳ ژنوتیپ از نقاط مختلف ایران جمع‌آوری شده بودند، استفاده گردید. این ۴۹ ژنوتیپ از ۵ گونه مختلف *H. vulgare*، *H. spontaneum*، *H. marinum*، *H. murinum* و *H. bulbosume* بودند (از هر گونه تعدا ۱۰ ژنوتیپ و در گونه *H. bulbosume* تعداد ۹ ژنوتیپ استفاده شد). برای این منظور و برای جلوگیری از آلودگی بذور، قبل از کشت، بذور با آب ژاول ۱۰٪ ضدعفونی شدند و از هر ژنوتیپ تعداد ۵ بذر در ۳ تکرار در گلدان کشت گردید. سپس در مرحله مناسب (۳ هفته پس از کاشت) از برگ‌های بالای گیاهان نمونه‌برداری شد وپس از قرار دادن نمونه‌ها در ازت مایع برای استخراج عصاره مورد نظر به آزمایشگاه منتقل گردیدند.

اندازه‌گیری محتوای کلروفیل و کارتنوئید

برای این منظور از روش تغییر یافته Arnon (1949) استفاده شد. بدین ترتیب که ۰/۵ گرم از هر نمونه برگ را در ۵ میلی لیتر استن ۸۰٪ هموژن گردید و بعد از انجام سانتریفوژ با دور ۱۳۰۰۰ در دقیقه و دمای ۴ درجه سانتیگراد به مدت ۱۵ دقیقه مایع روئی برداشته شد و حجم آن با استن به ۱۰ میلی‌لیتر رسانده شد. سپس میزان جذب نور با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر(shimadzu uv۱۸۰) و در طول موج‌های ۴۸۰، ۵۱۰، ۶۴۵ و ۶۶۳ نانومتر تعیین گردید و غلظت کلروفیل a، b و مجموع آنها و کارتنوئید از طریق روابط زیر بدست آمد:

= گرم بافت / میلی‌گرم کلروفیل a
۱۲/۷ (A۶۶۳) – ۲/۶۹ (A۶۴۵) × V/۱۰۰۰ × W

= گرم بافت / میلی‌گرم کلروفیل b
۲۲/۹ (A ۶۴۵) – ۴/۶۹ (A ۶۶۳) × V/۱۰۰۰ × W

= گرم بافت / میلی‌گرم کلروفیل کل
۲۰/۲ (A ۶۴۵) + ۸/۰۲ (A ۶۶۳) × V/۱۰۰۰ × W

= گرم بافت / میلی‌گرم کارتنوئید
۷/۶ (A ۴۸۰) – ۱۴/۹ (A ۵۱۰) × V /۱۰۰۰ × W

در روابط بالا V حجم نهایی نمونه استخراج شده و W وزن تر نمونه است.

سنجش پروتئین کل محلول

پس از پایان نمونه برداری، از هر نمونه یک گرم برگ در یک میلی‌لیتر بافر سدیم فسفات ۵۰ میلی‌مول (pH=۷/۰) در هاون در دمای ۴ درجه سانتیگراد عصاره‌گیری شد. سپس عصاره‌های حاصله، در لوله‌های اپندورف ۱/۵ میلی‌لیتر در سانتریفوژ در دمای ۴ درجه سانتیگراد در ۱۳۰۰۰ دور در دقیقه در به مدت ۱۰ دقیقه ساتریفوژ شده و محلول رویی جمع‌آوری و بلافاصله در لوله‌های اپندورف در دمای ۲۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند (Bradford, 1976).

جهت تعیین پروتئین کل محلول نمونه‌ها، نیاز به یک پروتئین استاندارد و سپس تعیین معادله خط رگرسیون آن می‌باشد، بدین منظور از روش برادفورد (Bradford, 1976) استفاده شد. برای این منظور پروتئین‌های استانداردی با غلظت‌های ۱/۵۶، ۳/۱۲۵، ۶/۲۵، ۱۲/۵، ۲۵، ۵۰، ۶۰، ۷۰μgm^{-1} تهیه شده و میزان جذب نور در نمونه‌ها با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتری در طول موج ۵۹۵ نانومتر مورد

جدول ۱- اسامی گونه‌های مطالعه شده در این تحقیق و منشا جمع‌آوری آنها
(از هرگونه تعداد ۱۰ ژنوتیپ اما درگونه *H. bulbosume* تعداد ۹ ژنوتیپ بررسی شد).

گونه / خاستگاه	*H. vulgare*	*H. murinum*	*H. bulbosume*	*H. marinum*	*H. spontaneum*
۱	مازندران	لرستان	سنقر	کرج	بیستون
۲	فارس	بوشهر	یاسوج	ارومیه	شیراز
۳	اصفهان	خوزستان	کهکیلویه	سنقر	الشتر
۴	چهار محال	گرگان	سمیرم	سمیرم	خوزستان
۵	قم	اردبیل	فارس	لرستان	همدان
۶	لرستان	همدان	کرمانشاه	گلستان	اصفهان
۷	کهکیلویه	کرج	کرج	قزوین	شهر کرد
۸	کرج	سقز	یاسوج	کهکیلویه	ایلام
۹	بجنورد	شیراز	قزوین	فارس	بجنورد
۱۰	اراک	اراک	------	الیگودرز	قزوین

سنجش قرار گرفت. با استفاده از داده‌های به دست آمده در این مرحله معادله خط رگرسیونی محاسبه و منحنی مربوطه ترسیم گردید. آلبومین‌های نمونه سرم گاوی به عنوان پروتئین استاندارد به کار برده شد. پس از تعیین معادله خط رگرسیون برحسب نمونه، مقادیر ۵ تا ۱۰ میکرولیتر از عصاره‌های گیاهی به ۳ میلی‌لیتر برادفورد اضافه کرده و مقادیر جذب در ۵۹۵ نانومتر با استفاده از اسپکتروفتومتر به دست آمد. برای هر نمونه ۳ تکرار در نظر گرفته و میانگین آنها در معادله خط رگرسیون حاصله قرار داده شدند و سرانجام مقدار پروتئین کل محلول نمونه‌ها محاسبه شد. معادله خط رگرسیون بدست آمده y=۰/۰۸۹۶+۰/۰۲۳۱x بود (Potpour et al., 2000).

سنجش فعالیت ویژه آنزیم

سنجش فعالیت پراکسیداز به روش Jennings et al. (1969) به شرح زیر انجام شد: ۲ میلی‌لیتر مخلوط واکنش شامل ۲۵ میلی‌مول بافر سیترات فسفات (pH = ۵/۴)، ۴۰۰ میکروگرم پروتئین محلول و ۲۰ میکرولیتر گایاکول (دهنده الکترون) ۲۰۰ میلی‌مول بود. با اضافه نمودن ۱۰ میکرولیتر پراکسید هیدروژن ۳۰ درصد (حجم به حجم) به عنوان پذیرنده الکترون، واکنش در کیووتهای کوارتز آغاز شد که بلافاصله افزایش جذب در ۴۷۵ نانومتر و دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۶۰ ثانیه به وسیله اسپکتروفتومتر اندازه‌گیری شد. برای هر نمونه ۳ تکرار در نظر گرفته شد و بر اساس میانگین آنها تغییرات جذب در دقیقه بر حسب میلی‌گرم پروتئین محاسبه و نمودارهای مربوطه تقسیم شدند. آزمایش‌ها در کل ۳ بار تکرار شدند.

ارزیابی میزان فعالیت انزیم پلی فنول اکسیداز

برای این منظور از روش Singh et al. (1999) استفاده شد. بدین ترتیب که ابتدا ۲ میلی‌لیتر مخلوط واکنش شامل مقداری از عصاره نمونه که دارای ۴۰ میکروگرم پروتئین باشد، ۲۰ میکرولیتر محلول پرولین و مقدار کافی بافر سیترات فسفات ۲۵ میلی‌مول طوری که حجم نهایی ۲ میلی‌لیتر باشد در یک لوله آزمایش کوچک کاملاً مخلوط و این مخلوط به مدت ۲ دقیقه به وسیله ورتکس هوادهی شد. سپس دستگاه اسپکتروفتومتر با استفاده از این مخلوط صفر گردید. دستگاه با طول موج ۵۱۵ نانومتر، زمان یک دقیقه، فواصل زمانی ۱۰ ثانیه و جذب نور تنظیم گردید. سپس ۴۰ میکرولیتر محلول پیروکتکول ۱۰۰ میلی‌مولار به مخلوط فوق اضافه کرده و سریعاً مخلوط نموده و بلافاصله تغییرات جذب نور با فواصل ۱۰ ثانیه و به مدت ۱ دقیقه اندازه‌گیری شد. فعالیت آنزیم بر اساس تغییرات جذب نور (ناشی از واکنش آنزیم با سوبسترا) در دقیقه در میلی‌گرم پروتئین عصاره گیاه تعیین شد.

تجزیه و تحلیل داده‌ها

به منظور تعیین وجود تفاوت در بین و داخل گونه‌های جو ابتدا تجزیه واریانس یک طرفه انجام شد، بطوریکه گونه‌ها به عنوان تیمار و ژنوتیپ‌های داخل هر

گونه به عنوان تکرار در نظر گرفته شد. همچنین به منظور مقایسه ژنوتیپ‌های داخل هر گونه تجزیه واریانس برای هرگونه بطور جداگانه نیز صورت گرفت تا تفاوت بین ژنوتیپ‌ها در داخل هر گونه نیز مشخص گردد. سپس برای تعیین تنوع داخل هر گونه میزان میانگین و انحراف معیار برای هر گونه مشخص گردید. از طرفی به منظور تعیین ارتباط بین صفات، همبستگی پیرسون بین صفات در داخل هر گونه به طور جداگانه انجام گردید. همچنین از تجزیه به مولفه‌های اصلی استفاده شد (Sneath & Sokal, 1973) و وضعیت پراکنش ژنوتیپ‌های مختلف در پلات دو بعدی حاصل از دو مولفه اول تعیین شد. تمامی این تجزیه‌ها با استفاده از نرم‌افزار SPSS (نسخه ۱۰/۰) انجام شد.

نتایج و بحث

همانطور که از جدول تجزیه واریانس مشخص است (جدول۲) تفاوت بسیار معنی‌داری بین گونه‌ها در تمام صفات بررسی شده به غیر از میزان پروتئین وجود دارد. همچنین بین ژنوتیپ‌های داخل یک گونه اعم از وحشی و زراعی از لحاظ تمام صفات اندازه‌گیری شده حتی میزان پروتئین تفاوت بسیار معنی‌داری وجود دارد. جدول۳ نشان می‌دهد که مقادیر اندازه‌گیری شده صفات کلروفیل a و b و کل، کارتنوئید، پلی‌فنول‌اکسیداز و پراکسیداز، در ارقام بومی *H. marinum*، *H. murinum* و *H. bulbosume* بیشتر از رقم زراعی *H. vulgare* است. بنابراین این امکان وجود دارد تا در برنامه‌های اصلاحی از ارقام وحشی جهت انتقال صفات مطلوب (مقاومت به خشکی، شوری، آفات و بیماری) به نمونه‌های زراعی و یا بومی استفاده نمود. در حالی که رقم زراعی *H. vulgare* دارای مقادیر بیشتری از پروتئین نسبت به رقم *H. spontaneum* بود. جدول ۳ و انحراف معیار اندازه‌گیری شده نشان می‌دهد که ژنوتیپ‌های داخل گونه *H. vulgare* در مورد صفات کلروفیل a، b، کلروفیل کل و پروتئین دارای بیشترین مقدار بودند. همچنین در مورد صفات میزان کاروتنوئید، پراکسیداز و پلی‌فنول اکسیداز به ترتیب ژنوتیپ‌ها در داخل گونه‌های *H. bulbosume*، *H. spontaneum* و *H. marinum* دارای بیشترین مقادیر اندازه‌گیری شده بودند.

نشان داده شده که تفاوت بسیار معنی‌داری بین ارقام جو مورد بررسی بعد از مایه‌زنی از لحاظ میزان پروتئین و پراکسیداز وجود دارد(Potpour et al., 2000). در یک تحقیق نشان داده شد که بین ارقام گندم مورد مطالعه در شرایط تنش خشکی تفاوت بسیار معنی‌داری از لحاظ کلروفیل a، b، کل و پراکسیداز وجود دارد. همچنین تفاوت معنی‌داری بین ارقام مورد مطالعه از لحاظ صفات نامبرده در شرایط عادی نیز وجود دارد. البته این تفاوت‌ها در ارقام تراریخته نیز گزارش شده است (Jabari et al., 2006). چنانکه مطالعات قبلی نشان داد که تفاوت معنی‌داری بین ارقام کلزای تراریخت و شاهد از لحاظ صفات پروتئین، کلروفیل a، b و کارتنوئید در مراحل مختلف رشد وجود دارد (Jalali et al., 2004).

نتایج جدول همبستگی (جدول ۴) نشان می‌دهد که در تمامی گونه‌های مورد بررسی همبستگی مثبت و معنی‌دار بالایی بین کلروفیل a، b، کلروفیل کل و کاروتنوئید وجود دارد. که این نتیجه با نتایج تحقیقات قبلی که عنوان کردند همبستگی بسیار بالا و معنی‌داری بین کلروفیل a و b و کلروفیل کل وجود دارد همخوانی داشت (Enferad et al., 2004).

در گونه‌های *H. marinum* و *H. bulbosume* همبستگی منفی معنی‌داری بین آنزیم پراکسیداز و پروتئین بدست آمد که بیانگر این است که با افزایش پراکسیداز میزان پروتئین در این دو گونه کاهش می‌یابد. همچنین در *H. bulbosume* همبستگی مثبت و معنی‌داری بین دو آنزیم پراکسیداز و پلی فنول اکسیداز دیده شد، در حالیکه هیچ رابطه‌ای بین میزان آنزیم‌ها و محتوای کلروفیل و کارتنوئیدی یافت نشد. نتایج این تحقیق با نتایج تحقیقات قبلی که گزارش نمودند در شرایط تنش خشکی رابطه معنی‌داری بین میزان پراکسیداز و کلروفیل کل و کلروفیل b وجود ندارد، همخوانی داشت (Jabari et al., 2006).

به منظور گروه‌بندی ژنوتیپ‌ها و ارزیابی میزان تنوع و پراکنش ژنوتیپ‌ها بر اساس صفات و شاخص‌های مورد مطالعه از نمودار بای پلات بر اساس تجزیه به مولفه‌های اصلی استفاده می‌شود. به منظور تجزیه و تحلیل بهتر نتایج از تجزیه به مولفه‌های اصلی استفاده شد. هدف از این تجزیه ایجاد متغیرهای جدید (مولفه‌های اصلی)

جدول ۲- تجزیه واریانس یک طر فه برای کل گونه‌های جو و همچنین برای هر گونه به طور جداگانه

Source of variation	df	میانگین مربعات						
		کلروفیلa گرم بافت/ میلی گرم	کلروفیلb گرم بافت/ میلی‌گرم	کلروفیل کل گرم بافت/ میلی‌گرم	کاروتنوئید گرم بافت/ میلی‌گرم	پروتئین میلی‌لیتر/ میلی‌گرم	پراکسیداز میلی‌گرم/دقیقه/نانومتر	پلی فنول اکسیداز میلی‌گرم/دقیقه/نانومتر
Between species	۴	۰/۰۷۶**	۰/۰۱۴۸**	۰/۱۵۶**	۰/۰۱۳۳**	۷۴/۷۳	۰/۰۰۱۱**	۰/۰۰۲۳**
Error	۴۴	۰/۰۱۲	۰/۰۰۰۲	۰/۰۰۲۴	۰/۰۰۰۲	۴۴/۱	۰/۰۰۰۰۱	۰/۰۰۰۴
Within species:								
H. vulgare	۹	۰/۰۸۷**	۰/۰۱۶**	۰/۱۷۶**	۰/۰۰۸۶**	۳۱**	۰/۰۰۰۶**	۰/۰۰۹۳**
H. spontaneum	۹	۰/۰۳۶**	۰/۰۰۷**	۰/۰۷۶**	۰/۰۰۵۳**	۸/۶۵**	۰/۰۰۲۵**	۰/۰۱۶**
H. marinum	۹	۰/۰۶۰**	۰/۰۰۸**	۰/۱۰۹**	۰/۰۰۲۹**	۱۵/۹۳**	۰/۰۰۱۱**	۰/۰۲۶**
H. bulbosume	۸	۰/۰۳۴**	۰/۰۰۹**	۰/۰۷۵**	۰/۰۰۸۷**	۱۴/۶**	۰/۰۰۰۴**	۰/۰۱۹**
H. murinum	۹	۰/۰۵۲**	۰/۰۱۰**	۰/۱۰۷**	۰/۰۰۹۲**	۱۹/۲۶**	۰/۰۰۰۷**	۰/۰۱۳**

** معنی‌دار در سطح احتمال ۱ درصد.

جدول ۳- میانگین و انحراف معیار صفات در داخل هر گونه

	کلروفیل a	کلروفیل b	کلروفیل کل	کاروتنوئید	پروتئین	پراکسیداز	پلی فنول اکسیداز
H. vulgare	۰/۲۷۵±۰/۱۶۶(bc)	./۱۲۵±۰/۰۷۲(bc)	۰/۴۰±./۲۳۷(bc)	./۱۳۳۸ ±۰/۰۵۳(b)	۶۹/۰۳±۹/۸۴(a)	۰/۰۱۸±/۰۱۴۰(b)	۰/۱۰۷±۰/۰۵۴(c)
H. spontaneum	۰/۱۰۸ ± ۰/۱۹۸c	۰/۰۷۹±۰/۰۴۸(c)	۰/۲۷۷±۰/۱۵۵(c)	۰/۰۸۰±۰/۰۴۱ (c)	۶۶/۸۵±۱/۷۲(a)	۰/۰۲۸±۰/۰۲۸(ab)	۰/۱ ۲۱ ±۰/۰۷۳ (ab)
H. marinum	۰/۳۵۴±۰/۱۴۰(b)	۰/۱۵۲±۰/۰۵۰(b)	۰/۵۱۰±۰/۱۸۸(b)	./۱۵۳ ±۰/۰۳۲(b)	۶۵/۱۷±۲/۲۸(a)	۰/۰۳۴±۰/۰۱۸(a)	۰/۲۵۷ ±۰/۰۹۳(a)
H. bulbosume	۰/۴۸۳±۰/۱۱۰(a)	۰/۲۱۳±/۰۵۴(a)	۰/۶۹۹ ±۰/۱۶۱(a)	۰/۲۳۳±۰/۰۵۵(a)	۶۵/۳۸±۱/۴۷(a)	۰/۰۲۲±۰/۰۱۱(b)	۰/۱۵۵ ±۰/۰۷۹ (bc)
H. murinum	۰/۳۱۱±۰/۱۲۹(bc)	۰/۱۳۹±۰/۰۵۷(b)	۰/۴۵±۰/۱۸۶(bc)	۰/۱۴۸±۰/۰۵۴(b)	۶۶/۳۳±۲/۹۰(a)	۰/۰۱۸±۰/۰۱۵(b)	۰/۱۹۵ ±۰/۰۶۶(ab)

حروف مشابه در هر ستون بیانگر عدم اختلاف معنی‌دار است.

مستقل با یافتن ترکیباتی از متغیرهای اولیه می‌باشد. عدم همبستگی متغیرهای جدید مفید بوده و بیانگر توجیه داده‌ها از جنبه‌های متفاوت می‌باشد (Tabaei-Aghdaei et al., 2007). تجزیه به مولفه‌های اصلی ۷ متغیر اولیه را در قالب دو متغیر جدید (دو مولفه) گروه بندی نمود که در مجموع این دو مولفه ۷۸ درصد از تغییرات کل را توجیه می نمودند. بطوریکه مولفه اول با تخصیص ۵۷ درصد از تغییرات کل عمدتاً توجیه کننده صفات کلروفیل a، کلروفیل b، کلروفیل کل و میزان کاروتنوئید می باشند. در حالی که متغیر دوم با ۲۱ درصد از تغییرات عمدتا توجیه کننده میزان پروتئین، آنزیم پراکسیداز و پلی فنول اکسیداز بود.

جدول ۴- همبستگی ساده پیرسون بین صفات مختلف به تفکیک در هرگونه
(فقط صفاتی که همبستگی معنی‌دار نشان داده بودند آورده شده‌اند.)

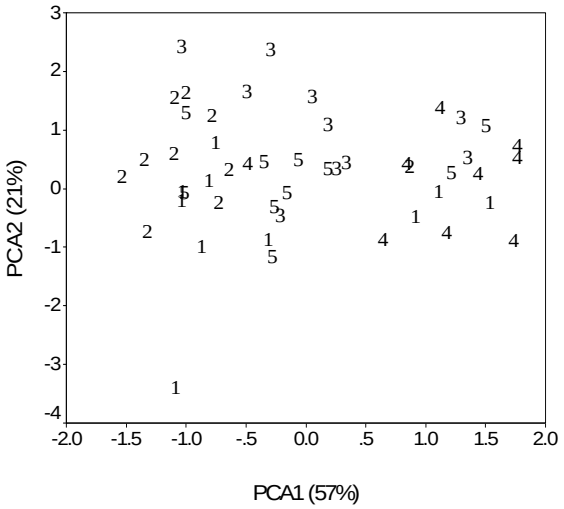
Species	Character	X_1	X_2	X_3	X_4	X_5	X_6	X_7
H. vulgare	X2	۰/۹۷**						
	X3	۰/۹۹**	۰/۹۸**					
	X4	۰/۹۳**	۰/۹۸**	۰/۹۵**				
H. spontaneum	X2	۰/۹۸**						
	X3	۰/۹۹**	۰/۹۹**					
	X4	۰/۹۷**	۰/۹۸**	۰/۹۷**				
H. marinum	X2	۰/۹۳**						
	X3	۰/۹۹**	۰/۹۶**					
	X4	۰/۹۶**	۰/۹۲**	۰/۹۶**				
	X5						-۰/۷۲*	
H. bulbosume	X2	۰/۹۳**						
	X3	۰/۹۹**	۰/۹۷**					
	X4	۰/۹۴**	۰/۹۲**	۰/۹۵**				
	X5						-۰/۷۳*	
	X6							۰/۷۰*
H. murinum	X2	۰/۹۹**						
	X3	۰/۹۹**	۰/۹۹**					
	X4	۰/۹۹**	۰/۹۸**	۰/۹۹**				

**، * به ترتیب معنی‌دار در سطح احتمال ۱ و ۵ درصد.

X_1، X_2، X_3، X_4، X_5، X_6 و X_7 به ترتیب بیانگر کلروفیل a، کلروفیل b، کلروفیل کل، کاروتنوئید، پروتئین، پراکسیداز و پلی فنل اکسیداز است.

با توجه به سهم بیشتر مولفه اول در میزان تغییرات کل، این مولفه قادر به گزینش ژنوتیپ‌هایی با مقادیر بیشتری از کلروفیل a، کلروفیل b، کلروفیل کل و میزان کارتنوئید خواهد بود که در حقیقت منجر به انتخاب ژنوتیپ‌هایی با پتانسیل عملکرد بالاتر خواهد شد.

نمایش‌پلات دو بعدی بر اساس این دو مولفه (شکل۱) اگرچه بیانگر تشابه بیشتر بین برخی از ژنوتیپ‌های گونه‌های مختلف می‌باشد، ولی در مجموع نشان می‌دهد که گونه‌های مختلف از لحاظ دو مولفه قابل تفکیک از همدیگر نمی باشند.



شکل ۱- نمایش پلات دو بعدی حاصل از تجزیه به مولفه‌های اصلی برای ۷ صفت مورد بررسی. اعداد ۱، ۲، ۳، ۴ و ۵ به ترتیب بیانگر گونه‌های *H. vulgare*، *H. spontaneum*، *H. marinum*، *H. bulbosume* و *H. murinum* است.

میزان کلروفیل در گیاهان یکی از فاکتورهای مهم حفظ ظرفیت فتوسنتزی است(Jiang & Huang, 2001). بین میزان کلروفیل و عملکرد همبستگی مثبتی وجود دارد (Si-o-semardeh, 2003) که نشان‌دهنده اهمیت حفظ میزان مطلوب این رنگیزه برای تولید عملکرد بالا می‌باشد. در شرایط تنش خشکی و شوری (Frank & Kiraly, 1962) آفات و بیماری (Stahmann & Demorest, 1973) میزان آنزیم‌های پراکسیداز و پلی‌فنول اکسیداز افزایش معنی‌داری خواهد یافت و ارقامی که دارای مقادیر بیشتری از این آنزیم‌ها باشند مقاومت بیشتری به آفات و بیماری از خود نشان می‌دهند (Frank & Kiraly, 1962).

جدول ۵- نتایج تجزیه به مولفه‌های اصلی روی ۷ صفت مختلف

	PC1	PC2
مقدار ویژه	۳/۹۹	۱/۴۳
درصد واریانس	۵۷	۲۱
درصد واریانس تجمعی	۵۷	۷۸
بردار ویژه		
کلروفیل a	۰/۹۸	۰/۰۱۱
کلروفیل b	۰/۹۹	۰/۰۱۳
کلروفیل کل	۰/۹۹	۰/۰۰۴
کاروتنوئید	۰/۹۶	-۰/۰۴
پروتئین	-۰/۲۹	۰/۶۰
پراکسیداز	۰/۰۶	۰/۶۸
پلی فنول اکسیداز	-۰/۱۱	۰/۷۹

در مجموع نتایج این تحقیق نشان داد که گونه‌های مختلف جو و همچنین ژنوتیپ‌های مختلف یک گونه از لحاظ صفات فیزیولوژیکی مورد بررسی با همدیگر تفاوت دارند و برخی از این صفات (پلی فنول اکسیداز، پراکسیداز در جدول۳) در گونه‌های وحشی از مقادیر بیشتری برخوردارمی‌باشند. ژنوتیپ‌های متعلق به گونه *H.vulgare* در مورد صفات کلروفیل a، b، کلروفیل کل و پروتئین دارای بیشترین مقدار بودند. همچنین در مورد صفات میزان کاروتنوئید، پراکسیداز و پلی فنول اکسیداز به ترتیب ژنوتیپ‌های متعلق به گونه‌های *H. bulbosume*، *H. Spontaneum* و *H. marinum* دارای بیشترین مقادیر اندازه‌گیری شده بودند.

بنابراین به نظر می‌رسد به کمک روش‌های اصلاح کلاسیک و تلاقی بین گونه‌های وحش با اهلی که قابل تلاقی می‌باشند می‌توان این صفات را در ارقام زراعی بهبود داد. همچنین از آنجائی که برخی از این صفات دارای همبستگی معنی‌دار بالایی با همدیگر می‌باشند، می‌توان از روش‌های انتخاب غیرمستقیم نیز در جهت بهبود صفات منتقل شده نیز می‌توان بهره برد (Pickering et al., 1998).

REFERENCES

1. Arnon, D. T. (1949). Copper enzymes in isolation chloroplast phenoloxidase in *Beta vulgaris*. *Plant Physol*, 24, 1-15.
2. Bowler, C., Van Montagu, M. & Lenz, D. (1992). Superoxide dismutase and biosensor approach for monitoring polyphenol oxidase (PPO) activity of stress tolerance. *Ann Rev Plant Physiol*, 43, 83-116.
3. Bradford, M. (1976). A rapid & sensitive method for the quantitation of micro gram quantities of protein utilizing the principle of protein dye binding. *Analyt Biochem*, 72, 248-254.
4. Caruso, C., Chilosi, G., Caporale, C., Leonardo, L., Bertini, L., Mago, P. & Buonocore, V. (1999). Induction of pathogenesis related protein in germinating wheat seeds infected with *fusarium culmorum*. *Plant Science*, 140, 87-97.
5. Chowdhury, S. R. & Choudhuri, M. A. (1985). Hydrogen proxide metabolism as an index of water stress tolerance in jute. *Physiol Plant*, 65, 503-507.
6. Dat, J. F., Lopez-Delgado, H., Foyer, C. H. & Scott, I. M. (1998). Parallel changes in H_2O_2 and catalase during thermo tolerance induced by salicylic acid or heat acclimation in mustard seedling. *Plant Physiol*, 116, 1150-1157.
7. Enferad, A., Poustini, K., Majnoun Hosseini, N., Taleei, A. & Khajeh-Ahmad-Attari, A. (2004). Physiological responses of Rapseed(*Brassica napus* L.) varieties to salinity stress in Vegetative Growth Phase. *Journal of Science and Technology of Agriculture and Natural Resources*, 4(7), 103-114. (In Farsi).
8. Frank, G. L. & Kiraly, Z. (1962). Role of phenolic compound in the physiology of plant diseases and disease. *Z*, 44,105-150.
9. Hopkins, W. G. (1999). *Introduction to plant physiology*. New York, John Wiley.
10. Hsan Güngör, S. (2008). The effect of heavy metals on peroxidase from Jerusalem artichoke (*Helianthus tuberous L.*). *African Journal of Biotechnology*, 7 (13), 2248-2253.
11. Ito, H., Nobutusugu, H. & Ohbayashi, A. (1991). Purification and characterization of peroxidase. *Agric Biol Chem*, 55, 2445-2454.
12. Jabari, F., Ahmadi, A., Poustini, K. & ALizadeh, H. (2006). Relationship between some antioxidant enzymes activities and cell memberane and chlorophyll stability in drought- tolerant and succetible wheat cultivars. *Iranian Journal of Agricultural Sciences*, 2(37), 307-316. (In Farsi).
13. Jagtab, V. & Bharagava, S. (1995). Variation in antioxidant metabolism of drought tolerant and susceptible varieties of *Sorghum biocolor*. Exposed to high light, low water and high temperature stress. *J Plant Physiol*, 145, 195-197.
14. Jalali Javaran, M., Hashemzadeh, H. & Mousavi, A. (2004). Qualitative and quantitative variation in protein, chlorophyll and cartenoid contents in *Brassica napus* transformed by antisense Glutamine synthetase. *Journal of Science and Technology of Agriculture and Natural Resourses*, 2(8), 107-120. (In Farsi).
15. Jennings, P. H., Brannaman, B. L. & Zscheile, F. P. (1969). peroxidase and polyphenoloxidase activity associated with *helminthosporium* left spot of maize. *Phytopathology*, 59, 963-967.
16. Jiang, Y. & Huang, N. (2001). Drough and heat stress injury to two cool-season turfgrasses in relation to antioxidant metabolism and lipid peroxidase. *Crop Sci*, 41, 436-442.
17. Mac Adam, J. W., Nelson, C. J. & Sharp, R. E. (1992). Peroxidase activity in leaf elongation zone of tall fescue. *Plant Physol*, 99,827-878.
18. Mihaly, K., Emma, B., Ian, W. B., Laura, H., Philip, J. & Tony, A. K. (2004). An N-terminal peptide extension results in efficient expression, but not secretion, of a synthetic horseradish peroxidase gene in transgenic *Tobacco*. *Annals of Botany*, 93, 303-318.
19. Mika, A. & Sabine L. U. (2003). Properties of guaiacol peroxidase activities isolated from corn root plasma membranes. *Plant Physol*, 132, 1489–1498
20. Mittal, K. & Dubey, R. S. (1991). Behaviour of peroxidase in rice: chang in enzyme activity and isoforms in relation to salt tolerance. *J Physol Biochem*, 29, 31-40.
21. Mohammadi, M. & Kazemi, H. (2002). Changesin peroxidase and polyphenol oxidase activities in susceptible and resistance wheat heads inoculated with *fusarium graminearum* and induced resistance. *Plant Sci*, 162, 491-498.
22. Mohapatra, D., Frias, M., Oliveira, R. & Kerry, J. (2008). Development and validation of a model to predict enzymaticactivity during storage of cultivated *mushrooms* (*Agaricus bisporus spp*.). *J Food Engin*, 86, 39-48.
23. Okey, E. N., Duncan, E. J., Sirju-charran, G. & Sreenivasan, T. N. (1997). *Phytophthora* cancer resistance in cacao: role of peroxidase, polyphenol oxidase and phenylalanine ammonia–lyase. *J Phytopathol*, 145, 295-299.

24. Omidbakhshfard, M. A. Naghavi, M. R., Mardi, M., Bihamta, M. R., Kazemi, M. & Pirseyedi, S. M. (2009). Study of genetic diversity in durum wheat by SSR markers. *Iranian Journal of Field Crop Science*, 40, 75-83.
25. Pickering, R. A., Steffenson, B. J. & Hill, A. M. (1998). Association of leaf rust and powdery mildew resistance in recombinant derived from a *Hordeum vulgar×Hordeum bulbosume* hybrid. *Plant Breeding*, 117, 83-84.
26. Potpour, M., Mohammadi, M., Torabi, M. & Sharifi-tehrani, A. (2000). Peroxidase specific activity pattern in resistant and susceptible barley inoculated with *Erysiphe graminis* f.sp. *hordei*, the causal agent of Powdery Mildew disease. *Iranian Journal of Agricultural Sciences*, 2(31), 415-426. (In Farsi).
27. Reddy, A. R., Chaitanya, K. V. & Vivekanadan, M. V. (2004). Drought-induced responses of photosynthesis and antioxidant metabolism in higher plants. *J Plant Physiol*, 161, 1189-1202.
28. Schmitz, G., Sullivan, M. & Hatfield, R. (2008). Three polyphenol oxidases from Red clover (*Trifolium pratense*) differ in enzymatic activities and activation properties. *J Agric Food Chem*, 56, 272–280.
29. Singh, N., Singh, R., Kulwinder, K. & Singh, H. (1999). Studies of the physico-chemical properties and polyphenoloxidase activity in seeds from hybrid sunower (*Helianthus annuus*) varieties grown in India. *Food Chemistry*, 66, 241-247.
30. Si-o-semardeh, A. (2003). *Physiological of growth and yield of wheat cultivar related to drought resistance*, Ph. D. dissertation, University of Tehran, Iran.
31. Sneath, Pb. & Sokal, R. (1973). *Numerical Taxonomiy*. (Eds. Freeman WH, Co., Sanferancisco. USA).
32. Stahmann, M. A. & Demorest, D. M. (1973). *Changes in enzyme of host pathogen with special reference to peroxidase interaction*. 405-422.
33. Tabaei-Aghdaei, S., Babaei, A., Khoshkhoy, M., Kamkar, J., Rezaee, M. B., Assareh, M. H. & Naghavi, M. R. (2007). Morphological and oil content variations amongst Damask rose (*Rosa damascene* Mill.) landraces from different regions of Iran. *Scientia Horticulturae*, 113, 44–48.
34. Upadhyaya, H., Khan, M. H. & Panda, S. K. (2007). Hydrogen peroxide induse oxidative stress in detached leaves of oryza *sativa l*. *Plant Physol*, 33 (1-2), 83-95.
35. Yamasaki, Y., Konno, H. & Noda, K. (2008). Polyphenol oxidase from wheat bran is a serpin. *Acta Biochemical Polonica*, 55, 325-328.
36. Zhang, J. & Kirkham, M. B. (1994). Drought-stress-induced changes activities of superoxide dismutase, catalase and proxidase in wheat species. *Plant Cell Physiol*, 35, 785-791.