مجله علوم گیاهان زراعی ایران
دوره ۴۳، شماره ۴، ۱۳۹۱ (۵۸۸-۵۷۳)

اثر تنش خشکی بر تبادلات گازی، پروتئین های محلول برگ و میزان کلروفیل در اکوتیپهای گندم سرداری

عادل سی و سه مرده[1*]، معصومه خالوندی[2]، بهمن بهرام نژاد[3] و ابراهیم روحی[4]
۱، ۲، ۳، دانشیار ، دانشجوی سابق کارشناسی ارشد، استادیار دانشگاه کردستان، ۴، استادیار مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی استان کردستان
(تاریخ دریافت: ۹۰/۱۰/۲۸ – تاریخ تصویب: ۹۱/۵/۳)

چکیده

به منظور مقایسه واکنش اکوتیپهای گندم سرداری به تنش خشکی ابتدا از نقاط مختلف استان کردستان ۱۲ خوشه گندم بومی سرداری برداشت گردید و در سال اول هر خوشه در یک خط کشت شد. در سال دوم آزمایشی به صورت کرتهای خرد شده در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی به اجرا درآمد، که در آن فاکتور اصلی شامل تیمارهای آبیاری و تنش خشکی و فاکتور فرعی شامل ۱۲ اکوتیپ گندم سرداری بود. در سال بعد نمونه های گندم برداشت شده مجدداً در شرایط شاهد و تنش کشت شده و میزان عملکرد و شاخص حساسیت به تنش اکوتیپها (SSI) تعیین گردید. نتایج نشان داد که اثر تنش خشکی بر میزان فتوسنتز، سرعت کاهش آب از برگ، محتوای پروتئین، میزان کلروفیل، هدایت مزوفیلی، کارایی مصرف آب فتوسنتزی و میزان CO_2 زیر روزنه‌ای برگ معنی دار بود و تفاوتهای معنی داری بین اکوتیپها از لحاظ این صفات وجود داشت. براساس نتایج این تحقیق تحت تنش خشکی اکوتیپهای با سرعت فتوسنتز بیشتر دارای میزان تعرق بالاتری بودند. این اکوتیپها هدایت مزوفیلی بالاتر و شاخص حساسیت به تنش خشکی پایینتری داشتند. میزان پروتئین محلول کل در اثر تنش خشکی در تمام اکوتیپها کاهش یافت، که مطابق با الگوی باندهای پروتئینی حاصل از ژل الکتروفورز بود. براساس نتایج این آزمایش تحت تنش خشکی برخی پروتئین های جدید سنتز شدند که با الگوی فتوسنتزی اکوتیپها تحت تنش مرتبط بود.

واژه های کلیدی: اکوتیپ های گندم، باندهای پروتئینی، تعرق، هدایت مزوفیلی

مقدمه

گندم یکی از مهم ترین محصولات زراعی از لحاظ سطح زیر کشت و میزان تولید در جهان بوده و در گستره وسیعی از نواحی پر باران تا نیمه خشک کشت می شود، در این مناطق که بارندگی کم و توزیع آن از سالی به سال دیگر متغیر است عملکرد دانه نیز در سالهای متوالی نوسانات فراوانی نشان می دهد (Ahmadi & Siosemardeh, 2005). این نوسانات ناشی از کاهش رطوبت خاک در مراحل مختلف رشد است. چنانچه در هر مرحله‌ای از رشد آب مورد نیاز به میزان مطلوب فراهم نشود آب درون بافت‌ها و سلول‌های گیاهی به اندازه‌ای کاهش می‌یابد که روند رشد دچار رکود شود (Bakhshi Khaniki & Fattahi, 2007). کاهش آب در بافتهای گیاهی سبب کاهش رشد، بسته شدن روزنه ها،کاهش فتوسنتز، تخریب پروتئین ها و تغییر در فرآیندهای فیزیولوژیکی می گردد (Ahmadi & Siosemardeh, 2005). در میان فرآیندهای فیزیولوژیکی، فتوسنتز یکی از اساسی

* نویسنده مسئول: عادل سی و سه مرده تلفن: ۰۹۱۸۳۷۱۰۲۳۶ E-mail:a33@uok.ac.ir

ترین آنها در رشد محسوب شده و تداوم آن تحت شرایط تنش اهمیت اساسی در تولید دارد (Roohi & Siosemardeh, 2008). فتوسنتز در هر مرحله از رشد گیاه می تواند بر پتانسیل عملکرد تاثیر داشته باشد، اگر چه شدت این تاثیر ممکن است در مراحل مختلف رشد متفاوت باشد (Ahmadi & Baker, 2000). عوامل محدود کننده فتوسنتز در شرایط تنش به دو دسته عوامل روزنه ای و عوامل غیر روزنه‌ای تقسیم می شود (Siosemardeh et al., 2006). به نظر می رسد که بسته شدن روزنه ها و کاهش غلظت CO_2 زیر روزنه ای متعاقب آن در اثر تنش خشکی مهم ترین دلیل کاهش سرعت فتوسنتز برگها باشد (Mafakheri et al., 2010). عوامل غیر روزنه ای فرآوری کربن را از طریق اثر مستقیم کمبود آب بر روی فرایندهای بیوشیمیایی محدود می کنند (Siosemardeh et al., 2006)، لذا بخشی از کاهش فعالیتهای فتوسنتزی در طول تنش خشکی را می توان به محدودیت فرآیندهای متابولیکی غیر روزنه ای نسبت داد (Lawlor & Cornic, 2002). محدودیتهای متابولیکی فتوسنتزی غیر روزنه ای تحت تنش ممکن است بواسطه کاهش غلظت کلروفیل در این شرایط باشد (Siosemardeh, 2003)، بنابراین حفظ غلظت کلروفیل به ثبات فتوسنتز در شرایط تنش کمک می کند (Jaefari et al., 2006). در ارزیابی سرعت فتوسنتز تنوع قابل ملاحظه ای بین ژنوتیپهای گندم در شرایط تنش و بدون تنش مشاهده گردید که بیانگر کاهش فتوسنتز به میزان ۳۶٪ در شرایط دیم نسبت به شرایط آبی بود (Roohi & Siosemardeh, 2008).

یکی از رهیافتهای درک توانایی گیاهان در تحمل به تنش های محیطی، شناسایی تغییرات القا شده در الگوی پروتئینی آنها در صورت قرار گرفتن در معرض تنش است، با این اندیشه که سازش به تنش، ناشی از تغییر بیان ژن است (Maighani & Ebrahimzadeh, 2003). تغییر پذیری پروتئینها یک واکنش اجتناب ناپذیر از پاسخ گیاهان به تنش محیطی است که به خوبی به شرایط محیطی سازگار شده اند (Vierstra, 1993; Hieng et al., 2004). آنزیم روبیسکو که مهم ترین پروتئین گیاهی می باشد از این قاعده مستثنی نبوده و تحت تنش تغییر می یابد. این آنزیم شامل ۸ زیر واحد بزرگ (LSU)[1] و ۸ زیر واحد کوچک (SSU)[2] است. وزن مولکولی زیر واحد بزرگ در حدود ۵۵ کیلو دالتن و زیر واحد کوچک بین ۱۲ تا ۱۴ کیلو دالتن می باشد (Mansorifar et al., 2005). بیشتر تحقیقات انجام شده نشان می دهند که مقدار و فعالیت روبیسکو قابلیت آسیمیلاسیون کربن را در شرایط تنش خشکی محدود می‌کند (Jabari et al., 2009). تحقیقات اندکی در رابطه با تغییرات این آنزیم و نیز روند فتوسنتز در ارقام مختلف گندم و بویژه توده های گندم بومی کشور انجام شده است.

منطقه شمال غرب کشور دارای تنوع قابل ملاحظه ای از لحاظ اکوتیپهای گندم سرداری می باشد که بیش از ۹۰ درصد سطح زیر کشت گندم دیم این منطقه را تشکیل می دهد (Siosemardeh et al., 2012). لذا هدف از این تحقیق بررسی تبادلات گازی، الگوی باندی پروتئین های محلول برگ بویژه آنزیم روبیسکو، میزان کلروفیل و سرعت کاهش آب از برگ در شرایط آبیاری مطلوب و تنش خشکی در اکوتیپهای گندم سرداری می باشد. در این رابطه بررسی و گزینش اکوتیپهای گندم دیم سرداری با توجه به صفات فیزیولوژیکی آنها می تواند به عنوان پتانسیل ارزشمندی از مقاومت به خشکی مورد توجه قرار گیرد.

مواد و روش ها

به منظور انجام این تحقیق سه آزمایش جداگانه به اجرا درآمد. در آزمایش اول، ۱۲ تک خوشه گندم از مزارع زیر کشت گندم بومی سرداری در ۱۲ منطقه استان کردستان در تابستان ۱۳۸۶ جمع آوری و در پاییز همان سال به منظور تکثیر نمونه ها هر خوشه در یک خط کشت گردید. مشخصات طول و عرض جغرافیایی، ارتفاع از سطح دریا و نام محل جغرافیایی جمع آوری نمونه ها در جدول ۱ ذکر شده است. در این آزمایش خوشه های برداشت شده از مناطق مختلف استان در آبان ۱۳۸۶ در یک قطعه زمین زراعی از اراضی ایستگاه تحقیقات دیم مرکز تحقیقات کشاورزی

1. Large subunit of Rubisco
2. Small subunits of Rubisco

کردستان واقع در قاملو قروه با مختصات ′۱۴ °۴۷ شرقی و ′۲۳ °۳۵ شمالی و ارتفاع ۱۷۶۰ متر از سطح دریا کشت شد. هر خوشه در یک خط یک متری کشت شد و فاصله خطوط ۰/۵ متر در نظر گرفته شد. هدف از آزمایش اول فقط تکثیر اکوتیپها به منظور جمع آوری بذر جهت آزمایشهای بعدی بود. در تابستان ۱۳۸۷ بذور هر یک از دوازده ردیف برداشت و در قالب آزمایش دوم در آبان ۱۳۸۷ به صورت کرتهای خرد شده در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی در سه تکرار کشت شدند. فاکتور اصلی شامل تیمارهای آبیاری و فاکتور فرعی شامل اکوتیپهای سرداری بود. هر کرت فرعی شامل ۵ خط یک متری با فاصله خطوط ۲۰ سانتی متر و تراکم ۲۵۰ بذر در مترمربع بود. در تیمار آبیاری در مراحل کاشت، پنجه زنی، ساقه رفتن، خوشه رفتن و پرشدن دانه آبیاری انجام شد و تیمار تنش خشکی به غیر از بارندگی هیچگونه آبی به صورت آبیاری دریافت نکرد. در آزمایش دوم صفات فیزیولوژیک شامل سرعت فتوسنتز، غلظت CO_2 زیر روزنه ای، هدایت مزوفیلی، سرعت تعرق، کارایی مصرف آب فتوسنتزی، سرعت کاهش آب از برگ، میزان SPAD کلروفیل، غلظت پروتئین محلول برگ پرچم و الگوی الکتروفورز باندهای پروتئین برگ به شرح زیر ارزیابی شد.

اندازه گیری تبادلات گازی

به‌منظور اندازه گیری سرعت فتوسنتز در واحد سطح برگ ($\mu mol\ CO_2\ m^{-2}\ s^{-1}$)، میزان تعرق ($m^{-2}s^{-1}$ mmol) و غلظت CO_2 زیر روزنه ای ($\mu molmol^{-1}$) از دستگاه IRGA مدل LCA4 استفاده شد. تمامی اندازه گیری‌ها در مرحله گلدهی در ساعت ۱۲-۱۰ صبح در شدت نور معادل ۱۴۰۰-۱۲۰۰ میکرومول فوتون بر متر مربع در ثانیه انجام گرفت. به این منظور در هر تیمار با قرار دادن قسمت میانی برگ پرچم به مدت یک دقیقه در درون محفظه مخصوص تبادل گازی اعداد دستگاه ثبت گردید. هدایت مزوفیلی ($mmol\ m^{-2}s^{-1}$) از تقسیم کردن میزان فتوسنتز در واحد سطح برگ به غلظت CO_2 زیر روزنه ای بدست آمد (Ahmadi & Siosemardeh, 2005). بمنظور تعیین کارایی مصرف آب فتوسنتزی ($\mu mol\ CO_2\ mol^{-1}$) میزان فتوسنتز بر تعرق تقسیم شد (Ratnayaka & Kincaid, 2005).

سرعت کاهش آب از برگ

بمنظور تعیین سرعت کاهش آب از برگ (RWL)[1] ، ۱۰ برگ از هر واهد آزمایشی در مرحله گلدهی برداشت شده و بلافاصله در کیسه های پلاستیکی به آزمایشگاه منتقل و وزن تر آنها اندازه گیری شد. سپس این نمونه ها به مدت ۲ ساعت در دمای ۳۰ درجه سانتی گراد قرار داده شدند و مجدداً توزین گردیدند. پس از آن در آون خشک شده و وزن خشک تعیین گردید. سرعت کاهش آب از برگ بر حسب گرم آب از دست رفته در ساعت به ازاء هر گرم وزن خشک نهایی برگ از طریق رابطه زیر محاسبه شد. در این رابطه w_1 ، w_2 و w_3 بترتیب وزن تر اولیه برگ، وزن تر برگ بعد از دو ساعت قرار گرفتن در دمای ۳۰ درجه سانتیگراد و وزن خشک برگ است. t_1 و t_2 نیز زمان بر حسب ساعت از توزین اولیه تا توزین برگ پژمرده است (Valentovic et al., 2006).

$$RWL = ((W_1-W_2)/W_3)/ (t_1-t_2)$$

برآورد کلروفیل

به منظور اندازه‌گیری میزان کلروفیل برگ از دستگاه کلروفیل متر دستی SPAD-502, Minolta استفاده شد. به این منظور در اوایل گلدهی، عدد دستگاه در سه قسمت برگ پرچم (انتها، وسط و پایین) در هر بوته در تمامی تیمارهای مورد بررسی ثبت گردید و میانگین این سه عدد به عنوان میزان SPAD کلروفیل برگ پرچم در نظر گرفته شد.

استخراج پروتئین محلول برگ

به منظور استخراج پروتئین محلول برگ پرچم یک گرم بافت تر نمونه های برگ پرچم با ۵ میلی لیتر بافر تریس- HCl ۰/۰۵ مولار با pH=۷/۵ و ۱۰٪ گلیسرول در دمای ۴-۰ درجه سانتیگراد بخوبی ساییده شد. محلول حاصل به مدت ۲۵ دقیقه با سرعت ۱۰۰۰۰ دور در دقیقه، با استفاده از سانتریفیوژ یخچالدار در دمای ۴ درجه سانتیگراد، سانتریفیوژ گردید. سپس محلول رویی برای سنجش غلظت پروتئین محلول با استفاده از روش Bradford (1976) و به کمک آلبومن سرم گاوی به عنوان استاندارد مورد استفاده قرار گرفت. غلظت

1. Rate of Water Loss

پروئتین در طول موج ۵۹۵ نانومتر بوسیله اسپکتروفتومتر تعیین شد.

انجام الکتروفورز با تکنیک DS-PAGE

جهت انجام الکتروفورز پروتئین برگ پرچم اکوتیپ‌های مورد آزمایش از تکنیک SDS-PAGE به روش Laemmli (1970) استفاده گردید. با استفاده از این تکنیک، الکتروفورز عصاره های پروتئینی در اکوتیپهای مورد بررسی تحت تیمار آبیاری و تنش خشکی صورت گرفت و تغییرات زیرواحدهای پروتئینی آنزیم روبیسکو و ظهور و یا تضعیف سایر باندها پروتئینی مورد ارزیابی قرار گرفت.

با توجه به ابعاد کوچک کرتها در آزمایش دوم، در آزمایش فوق عملکرد برآورد نشد و به منظور افزایش دقت، آزمایش سوم با ابعاد کرت مناسب و با استفاده از بذور حاصل از آزمایش دوم جهت برآورد عملکرد در شرایط شاهد و تنش خشکی به اجرا در آمد. آزمایش سوم به صورت کرتهای خرد شده در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی در سه تکرار در سال زراعی ۸۹-۱۳۸۸ انجام شد، در این آزمایش علاوه بر ۱۲ اکوتیپ سرداری، رقم گندم آذر۲ نیز به عنوان شاهد در کرت های فرعی با تراکم ۲۵۰ بذر در مترمربع مورد استفاده قرار گرفت. هر کرت فرعی شامل ۵ خط ۵ متری با فاصله خطوط ۲۰ سانتیمتر در نظر گرفته شد و تیمار آبیاری و دیم به عنوان کرت اصلی در نظر گرفته شدند. روند آبیاری در آزمایش سوم همانند آزمایش دوم بود و میزان بارندگی و دما در طی سال های زراعی ۸۸-۱۳۸۷ و ۸۹ – ۱۳۸۸ در جدول ۲ نشان داده شده است.

در آزمایش سوم در مرحله رسیدگی پس از حذف حاشیه، ۴ مترمربع از هر واحد آزمایشی برداشت گردید و شاخص حساسیت به تنش (SSI) با توجه به رابطه زیر محاسبه شد (Fischer & Maurer, 1978). در این رابطه Yp و Ys بترتیب عملکرد هر اکوتیپ در شرایط شاهد و تنش و $\bar{Y}p$ و $\bar{Y}s$نیز بترتیب متوسط عملکرد کلیه اکوتیپها در شرایط شاهد و تنش می باشد.

$$SSI = (1- (Ys / Yp)) / (1-(\bar{Y}s / \bar{Y}p))$$

در پایان داده ها با استفاده از نرم افزار آماری SAS تجزیه شده و میانگینها نیز از طریق روش مقایسه میانگین حداقل اختلاف معنی‌دار (LSD) در سطح ۵ درصد مقایسه شدند. شکلها با استفاده از نرم‌افزار Excel تهیه شدند.

جدول ۱- مختصات جغرافیایی محل جمع آوری اکوتیپها، میزان عملکرد تحت شرایط آبیاری مطلوب و تنش خشکی و شاخص حساسیت به تنش اکوتیپهای مورد بررسی.

شماره اکوتیپ	نام محل جغرافیایی اکوتیپ	ارتفاع از سطح دریا (متر)	عرض جغرافیایی	طول جغرافیایی	عملکرد (گرم در مترمربع)		شاخص حساسیت به تنش (SSI)
					آبیاری	تنش خشکی	
۱	تازه آباد	۲۳۰۰	۳۵°۲۰′	۴۶°۰۵′	۳۳۶/۸	۲۵۰/۱	۰/۶۹
۲	سی وسه مرده	۲۱۰۰	۳۵°۳۰′	۴۷°۲۵′	۳۳۷/۱	۲۳۰/۷	۰/۵۶
۳	باغچه مریم	۲۲۰۰	۳۵°۲۵′	۴۷°۱۰′	۳۳۳/۰	۱۷۵/۴	۰/۸۳
۴	گاودره	۲۰۵۰	۳۵°۳۰′	۴۶°۵۰′	۲۸۰/۷	۷۶/۱	۱/۲۷
۵	کلاتی	۱۷۰۰	۳۵°۱۸′	۴۶°۴۲′	۴۱۸/۴	۱۹۰/۴	۰/۹۴
۶	تلوار	۱۸۰۰	۳۵°۲۰′	۴۷°۲۵′	۳۸۴/۶	۲۰۰/۰	۰/۸۳
۷	آویهنگ	۱۷۰۰	۳۵°۱۵′	۴۶°۴۰′	۳۹۳/۳	۱۱۷/۸	۱/۲۲
۸	بهاربند	۲۲۰۰	۳۵°۳۵′	۴۶°۴۵′	۴۰۴/۷	۲۲۹/۷	۰/۷۶
۹	خوشاب	۱۶۰۰	۳۵°۲۰′	۴۶°۴۵′	۴۰۵/۳	۱۲۵/۳	۱/۲۱
۱۰	تودار	۱۸۵۰	۳۵°۲۵′	۴۶°۵۰′	۴۸۰/۶	۱۴۷/۶	۱/۲۱
۱۱	فطره زمین	۲۰۰۰	۳۵°۲۰′	۴۶°۴۰′	۴۱۱/۸	۹۵/۰	۱/۳۳
۱۲	صوفیان	۱۴۵۰	۳۵°۲۵′	۴۶°۵۵′	۳۵۰/۳	۱۲۶/۳	۱/۱۱
۱۳	آذر ۲	-----	-----	-----	۳۳۶/۲	۱۷۳/۲	۰/۸۵
متوسط					۳۷۴/۸	۱۶۰/۹	۰/۹۹
LSD						۲۱/۵	۰/۰۶

جدول ۲- متوسط دما و بارندگی در طی سالهای زراعی ۸۸-۱۳۸۷ و ۸۹-۱۳۸۸ در منطقه اجرای آزمایش (شهرستان قروه)

سال زراعی		مهر	آبان	آذر	دی	بهمن	اسفند	فروردین	اردیبهشت	خرداد	تیر
۱۳۸۷-۸۸	متوسط دما	۱۶/۸	۶/۷	۲/۳	-۰/۴	۱/۷	۵/۱	۶/۴	۱۳/۳	۱۹/۰	۲۴/۲
	بارندگی (mm)	۰	۱۱۵/۷	۱۱/۷	۳۰/۱	۴۹/۷	۲۱/۷	۶۳/۹	۴۴/۶	۴/۳	۰/۶
۱۳۸۸-۸۹	متوسط دما	۱۴/۶	۸/۸	۱/۹	۵/۸	۲/۷	۹/۱	۹/۶	۱۳/۹	۲۰/۹	۲۵/۹
	بارندگی(mm)	۷/۰	۹۱/۲	۲۹/۵	۴/۲	۶۹/۲	۴۴/۳	۹۴/۶	۸۷/۱	۱/۶	۰

جدول۳. نتایج تجزیه واریانس عملکرد ۱۲ اکوتیپ گندم سرداری و رقم گندم آذر۲.

منابع تغییرات	درجه آزادی	میانگین مربعات (MS)
		عملکرد
تکرار	۲	۴۹۳۰
تنش رطوبتی	۱	۵۴۹۶۵۰**
اشتباهa	۲	۱۰۱۸
اکوتیپ	۱۲	۲۹۴۰*
تنش *اکوتیپ	۱۲	۵۱۳۰**
اشتباه b	۴۸	۱۵۶۰
ضریب تغییرات		۱۶/۸

نتایج و بحث

عملکرد

نتایج آزمایش سوم در این تحقیق نشان داد که تنش خشکی عملکرد اکوتیپها را به طور معنی داری کاهش داد (جداول ۱ و ۳). معنی دار بودن اثر متقابل اکوتیپ در تنش خشکی در این آزمایش نیز نشان می دهد که نمود عملکرد ژنوتیپها از محیط آبیاری به تیمار تنش خشکی تغییر می کند. تحت شرایط مطلوب اکوتیپهای شماره ۱۰، ۵، ۱۱، ۹ و ۸ دارای بیشترین عملکرد بودند، اما در شرایط تنش اکوتیپهای شماره ۱، ۲، ۸، ۶ و ۵ بیشترین عملکرد را نشان دادند (جدول ۱). این تغییرات را می توان تا حدی ناشی از این حقیقت دانست که صفات مطلوب برای یک محیط خاص از جمله شرایط آبیاری ممکن است در شرایط محیطی دیگری مانند محیط تحت تنش نامطلوب باشد (Van Ginkel et al., 1998). براساس نتایج این تحقیق اکوتیپهای شماره ۲، ۱، ۸، ۳، ۶ و ۵ دارای SSI کمتری در مقایسه با سایر اکوتیپها بودند و می توان از آنها به عنوان ژنوتیپهای مقاوم به خشکی یاد کرد. در کل با توجه به بومی بودن اکوتیپهای سرداری و ارتفاع ساقه زیاد این اکوتیپها پتانسیل عملکرد آنها در شرایط آبیاری پایین بوده و به طور متوسط ۳۷۴/۸ گرم بر مترمربع بود، که سازگاری آنها را فقط برای کشت دیم در شرایط تنش نشان می دهد. نکته جالب توجه آن است که در هر دو شرایط آبیاری و تنش خشکی اکوتیپهای با عملکرد بیشتر از رقم گندم دیم آذر۲ یافت شدند، که تنوع قابل توجه موجود در گندم سرداری را برای گزینش ژنوتیپهای متحمل به تنش نشان می دهد.

تبادلات گازی برگ

در تحقیق حاضر صفات فیزیولوژیکی اکوتیپهای مورد بررسی در آزمایش دوم تعیین گردید. نتایج نشان داد که اعمال تنش خشکی تاثیر معنی داری بر سرعت فتوسنتز در مرحله گلدهی داشت (جدول ۴) و میزان آن را از ۷/۲۰ به ۴/۰۰ میکرومول CO_2 بر مترمربع سطح برگ در ثانیه کاهش داد (شکل ۱). چنین اثری از تنش قبلاً نیز گزارش شده است (Stiller et al., 2005; Ratnayaka & Kincaid, 2005). بیشترین میزان فتوسنتز در شرایط آبیاری به اکوتیپهای تازه آباد و آویهنگ و در شرایط تنش به اکوتیپهای بهاربند و تلوار تعلق داشت. در کل تنوع زیادی از لحاظ سرعت فتوسنتز در اکوتیپهای مختلف مشاهده شد که به واسطه

باز نگه داشتن روزنه ها و کارایی مزوفیل در استفاده از CO_2 با وجود کاهش محتوای آب برگ در شرایط تنش رطوبتی است. رابطه مثبت و معنی دار سرعت فتوسنتز با میزان تعرق، غلظت کلروفیل و هدایت مزوفیلی بویژه در شرایط تنش موید این موضوع است (جداول ۵ و ۶).

باز نگه داشتن روزنه ها از یک طرف باعث کاهش آب برگ و از طرف دیگر باعث افزایش فتوسنتز می شود و تعادل این دو، روند رشد تحت تنش را کنترل می‌کند (Roohi & Siosemardeh, 2008).

جدول۴- نتایج تجزیه واریانس صفات مورد بررسی در مرحله گلدهی در ۱۲ اکوتیپ گندم سرداری

منابع تغییرات	درجه آزادی	میانگین مربعات (MS)							
		سرعت فتوسنتز	غلظت CO_2 زیر روزنه ای	هدایت مزوفیلی	سرعت تعرق	کارایی مصرف آب فتوسنتزی	سرعت کاهش آب از برگ	SPADکلروفیل	پروتئین محلول برگ
تکرار	۲	۲۶/۴	۴/۷۹	۳/۴۰	۱/۲	۴/۶۴	۰/۰۰۷	۲/۴۲	۰/۱۱
تنش رطوبتی	۱	۱۷۸/۹**	۳۲۵۶**	۱۲/۶**	۱/۹ ۳^{ns}	۳۸**	۰/۱۱**	۲۱۹/۸**	۱۵/۹**
اشتباه**a**	۲	۷/۰۹	۴/۵۳	۱/۰۷	۰/۵۸	۳/۲۰	۰/۰۰۴	۰/۹۰۸	۰/۱۴
اکوتیپ	۱۱	۱۶/۵*	۲۹۸۲**	۲۱/۲*	۱۱۶/۸**	۵۱^{ns}	۰/۰۴۱^{ns}	۱۷/۴*	۰/۷۹**
تنش *اکوتیپ	۱۱	۱۱/۴^{ns}	۱۰۷۱**	۱/۷۶^{ns}	۲۸/ ۱^{ns}	۱۱۲/۲*	۰/۰۵۲*	۱۱/۲^{ns}	۰/۲۸۱**
اشتباه **b**	۴۴	۷/۲۸	۱۳۷/۸	۱۰/۳۹	۴۱/۷	۵۰/۵۵	۰/۰۲۶	۶/۸۵	۰/۰۶
ضریب تغییرات		۱۹/۹۸	۰/۴۳	۱۰/۲۳	۲۶/۷۸	۱۲/۹۷	۵/۳۹	۵/۳۹	۱/۱۶

^{ns}، * و ** به ترتیب عدم اختلاف معنی دار، معنی دار در سطح ۵ و ۱ درصد می باشد.

جدول ۵- ضرایب همبستگی ساده بین صفات مورد بررسی در شرایط آبیاری

	غلظت CO_2 زیر روزنه ای	غلظت پروتئین	SPAD کلروفیل	سرعت کاهش آب از برگ	سرعت تعرق	کارایی مصرف آب فتوسنتزی	هدایت مزوفیلی	سرعت فتوسنتز	عملکرد دانه
غلظت CO_2زیر روزنه ای	۱/۰۰								
غلظت پروتئین	۰/۴۴**	۱/۰۰							
SPAD کلروفیل	-۰/۰۰۴^{ns}	-۰/۱۳^{ns}	۱/۰۰						
سرعت کاهش آب از برگ	-۰/۰۰۴^{ns}	۰/۵۱**	-۰/۰۱^{ns}	۱/۰۰					
سرعت تعرق	۰/۰۲^{ns}	۰/۰۱^{ns}	۰/۱۴^{ns}	۰/۰۸^{ns}	۱/۰۰				
کارایی مصرف آب فتوسنتزی	۰/۲۷^{ns}	-۰/۲۲^{ns}	-۰/۰۶^{ns}	-۰/۰۴^{ns}	-۰/۱۶^{ns}	۱/۰۰			
هدایت مزوفیلی	-۰/۰۰۸^{ns}	-۰/۱۳^{ns}	۰/۰۱^{ns}	-۰/۰۴^{ns}	۰/۶۲**	۰/۳۸*	۱/۰۰		
سرعت فتوسنتز	-۰/۰۱^{ns}	-۰/۰۱^{ns}	-۰/۱۸^{ns}	۰/۰۴^{ns}	۰/۳۵*	۰/۳۲*	۰/۷۴**	۱/۰۰	
عملکرد دانه	-۰/۱۱^{ns}	-۰/۳۹*	۰/۳۴*	-۰/۴۲*	۰/۱۰^{ns}	-۰/۱۳^{ns}	۰/۱۲^{ns}	-۰/۰۶^{ns}	۱/۰۰

^{ns}، * و ** به ترتیب عدم اختلاف معنی دار، معنی دار در سطح ۵ و ۱ درصد می باشد.

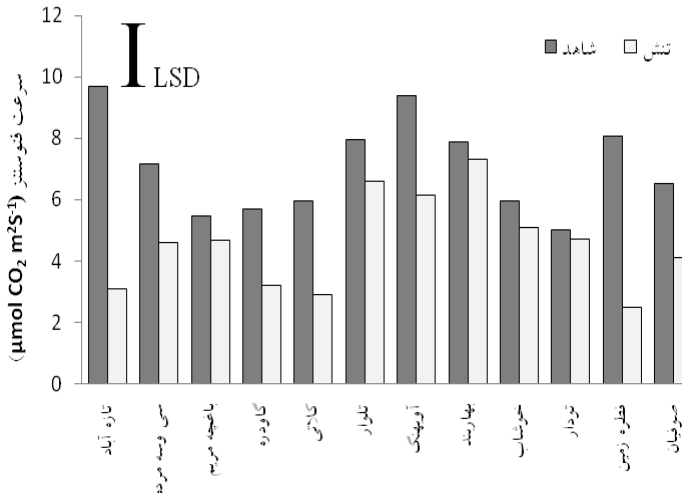
اعمال تنش خشکی باعث افزایش غلظت CO_2 زیر روزنه‌ای در کلیه اکوتیپها شد (شکل ۲). تجمع CO_2 در حفره زیر روزنه ای در شرایط تنش نشان‌دهنده عدم توانایی کلروپلاست سلولهای مزوفیل در فرآوری CO_2 وارد شده به برگ علی‌رغم عبور آن از مقاومت روزنه‌ای است (Lima et al., 2002) که بیانگر اُفت هدایت مزوفیلی و کارآیی کربوکسیلاسیون در شرایط تنش می باشد (Roohi & Siosemardeh, 2008). در این آزمایش

هدایت مزوفیلی در شرایط دیم به طور متوسط ۴۶ مترمربع بر ثانیه رسید (شکل ۳).
درصد کاهش یافت و از ۱۸/۵۳ به ۹/۹۹ میلی مول بر

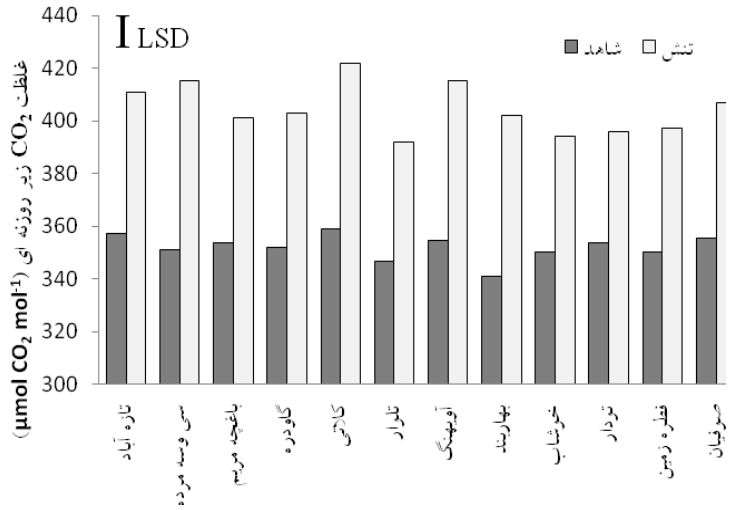
جدول ۶- ضرایب همبستگی ساده بین صفات مورد بررسی در شرایط تنش خشکی

	غلظت CO_2 زیر روزنه ای	غلظت پروتئین	SPAD کلروفیل	سرعت کاهش آب از برگ	سرعت تعرق	کارایی مصرف آب فتوسنتزی	هدایت مزوفیلی	سرعت فتوسنتز	عملکرد دانه	SSI
غلظت CO_2 زیر روزنه ای	۱/۰۰									
غلظت پروتئین	۰/۲۵ ns	۱/۰۰								
SPAD کلروفیل	۰/۲۴ ns	۰/۵۲۹**	۱/۰۰							
سرعت کاهش آب از برگ	-۰/۱۷ ns	-۰/۷۱**	۰/۰۷ ns	۱/۰۰						
سرعت تعرق	۰/۲۵ ns	۰/۱۶ ns	۰/۹۹**	۰/۰۶ ns	۱/۰۰					
کارایی مصرف آب فتوسنتزی	-۰/۲۴ ns	-۰/۳ ns	۰/۱۵ ns	۰/۴۲**	۰/۱۴ ns	۱/۰۰				
هدایت مزوفیلی	-۰/۳۴*	-۰/۲۲ ns	۰/۲۴ ns	-۰/۲۰ ns	۰/۲۰ ns	۰/۴۲**	۱/۰۰			
سرعت فتوسنتز	-۰/۲۵ ns	۰/۶۲**	/۸۰** ۰	۰/۳۸*	۰/۷۹**	۰/۳۸۷*	۰/۳۸*	۱/۰۰		
عملکرد دانه	۰/۲۱ ns	۰/۲۶ ns	-۰/۲۴ ns	-۰/۰۸ns	۰/۵۱**	-۰/۰۲ ns	۰/۲۸ ns	۰/۲۸ ns	۱/۰۰	
SSI	-۰/۳۳*	-۰/۳۵*	۰/۳۱ ns	-۰/۰۲ ns	-۰/۳۹*	۰/۱۰ ns	-۰/۱۵ ns	-۰/۱۷ ns	-۰/۹۳**	۱/۰۰

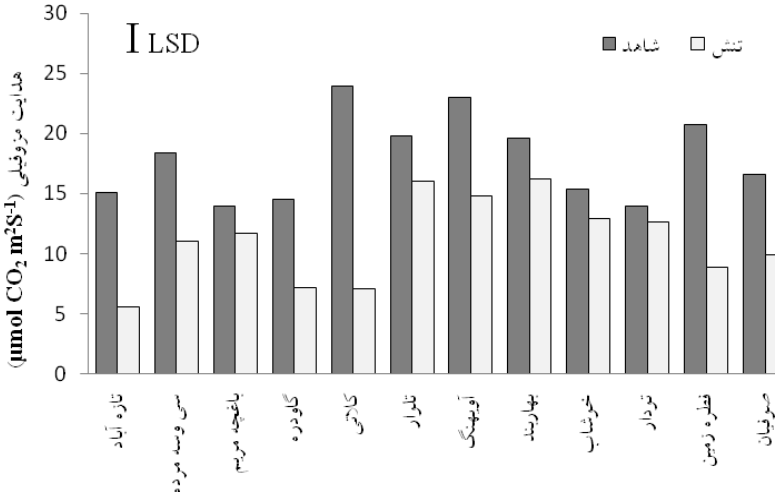
ns، * و ** به ترتیب عدم اختلاف معنی دار، معنی دار در سطح ۵ و ۱ درصد می باشد.



شکل ۱- تغییرات سرعت فتوسنتز در ۱۲ اکوتیپ گندم سرداری جمع آوری شده از مناطق مختلف کشت دیم استان کردستان.



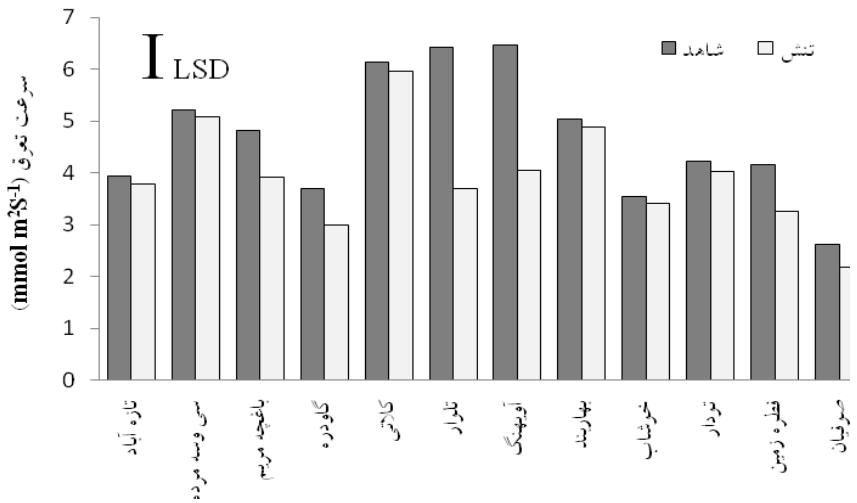
شکل ۲- تغییرات غلظت CO_2 زیر روزنه‌ای در ۱۲ اکوتیپ گندم سرداری جمع آوری شده از مناطق مختلف کشت دیم استان کردستان.



شکل ۳- تغییرات میزان هدایت مزوفیلی در ۱۲ اکوتیپ گندم سرداری جمع آوری شده از مناطق مختلف کشت دیم استان کردستان.

از جمله عوامل موثر بر کاهش هدایت مزوفیلی در شرایط تنش خشکی کاهش میزان کلروفیل و کاهش غلظت پروتئین محلول در این شرایط می‌باشند (Jabari et al., 2009). البته گزارشهایی نیز وجود دارد که افزایش هدایت مزوفیلی با کاهش ضخامت برگ مرتبط است و میزان کلروفیل در کلروپلاستها تاثیری بر هدایت مزوفیلی نداشته است (Evans et al., 1994). در شرایط تنش اکوتیپهای بهاربند و تلوار دارای بالاترین میزان هدایت مزوفیلی بودند، این دو اکوتیپ در همین شرایط بالاترین سرعت فتوسنتز را نیز دارا بودند، بنابراین می توان گفت که عامل اصلی کنترل کننده سرعت فتوسنتز در اکوتیپهای مورد بررسی در شرایط تنش میزان هدایت مزوفیلی می باشد. همبستگی مثبت و معنی دار بین سرعت فتوسنتز با هدایت مزوفیلی در شرایط آبیاری ($r= ۰/۷۴^{**}$) و تنش خشکی ($r = ۰/۳۸^{*}$) بیانگر آن است که اکوتیپهای دارای هدایت مزوفیلی بیشتر و به عبارتی کارایی بیشتر در استفاده از CO_2 وارد شده به زیر روزنه سرعت فتوسنتز بیشتری داشته اند و در نتیجه از غلظت

CO_2 زیر روزنه‌ای آنها کاسته شده است (Roohi & Siosemardeh, 2008). در کل در صورتیکه کاهش فتوسنتز با افزایش یا ثبات غلظت CO_2 درون روزنه‌ای همراه باشد می‌توان گفت که عوامل غیر روزنه‌ای محدود کننده فتوسنتز هستند (Ahmadi & Baker, 2000). نتایج این آزمایش نشان دهنده کاهش سرعت تعرق تحت تنش خشکی در اکوتیپهای مورد بررسی بود (شکل ۴). براساس نتایج این تحقیق رابطه مثبت و معنی داری بین سرعت تعرق و عملکرد تحت تنش خشکی مشاهده شد ($r = ۰/۵۱^*$)، اما این رابطه در شرایط آبیاری معنی دار نبود، که ممکن است دلالت بر دسترسی به آب کافی در این شرایط و عدم اعمال محدودیت تعرق در شرایط آبیاری بر عملکرد باشد. نتایج نشان داد که سرعت تعرق بیشتر در شرایط تنش خشکی با کاهش شاخص حساسیت به تنش همراه شده است ($r = -۰/۳۹^*$) با توجه به اینکه اکوتیپهای با مقاومت بیشتر به تنش، تعرق بیشتری داشته اند می توان گفت که راهکار مقاومت به تنش خشکی در این اکوتیپها، مکانیسم اجتناب از تنش از طریق ادامه جذب آب خاک بوده است. Shiferaw & Baker (1996) اجتناب از تنش را از جمله مکانیسمهای موثر در مقاومت به تنش خشکی در گیاهان خانواده گندمیان ذکر کرده اند. با توجه به کاهش شدیدتر سرعت فتوسنتز در مقایسه با سرعت تعرق تحت تنش خشکی در تمامی اکوتیپهای مورد بررسی، کارایی مصرف آب فتوسنتزی تحت تنش کاهش نشان داد و در بیشتر اکوتیپها این کاهش معنی دار بود (شکل ۵). ارتباط بین کارایی مصرف آب فتوسنتزی و هدایت مزوفیلی از یک روند مثبت و معنی‌دار برخوردار بود ($r = ۰/۴۲^*$). بنابراین می توان گفت که بهبود هدایت مزوفیلی با افزایش فتوسنتز همراه بوده و افزایش فتوسنتز در این شرایط نقش اساسی در بهبود کارایی مصرف آب دارد.



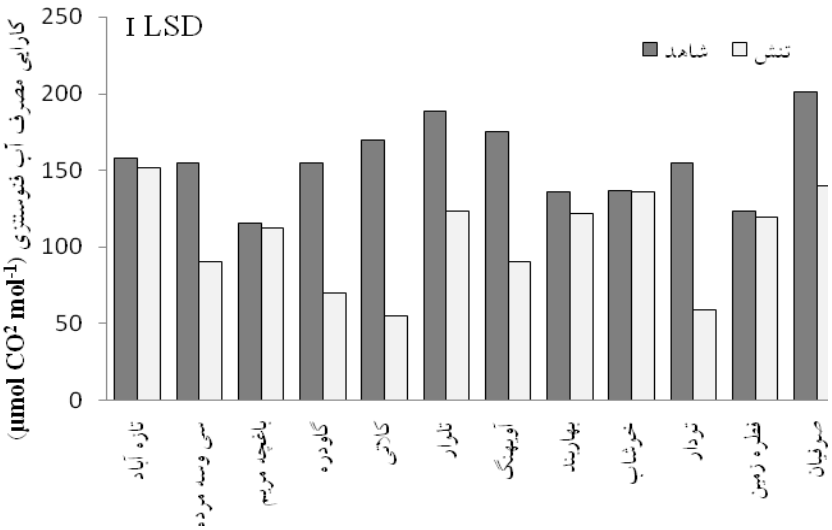
شکل ۴- تغییرات سرعت تعرق در ۱۲ اکوتیپ گندم سرداری جمع آوری شده از مناطق مختلف کشت دیم استان کردستان.

سرعت کاهش آب از برگ

کاهش آب از برگ از جمله ویژگی‌هایی است که تحت تاثیر تنش خشکی قرار می‌گیرد (Moradi et al., 2005). سرعت کاهش آب از برگ تحت تنش کاهش یافت و در این شرایط طیفی از ۰/۵۲ تا ۰/۶۲ گرم آب به ازاء هر گرم وزن خشک برگ را در ساعت تشکیل داد و تفاوت معنی‌داری از این لحاظ بین اکوتیپهای مورد بررسی مشاهده شد (شکل ۶). کاهش سرعت از دست رفتن آب از برگ تحت تنش خشکی بواسطه کاهش محتوای آب برگ در این شرایط است، به گونه ای که به طور متوسط در ۱۲ اکوتیپ مورد بررسی در شرایط آبیاری ۶۳٪ از وزن تر برگ را آب تشکیل می داد ولی در شرایط تنش این میزان ۵۹٪ بود (داده ها نشان داده نشده اند). در این آزمایش تحت تنش خشکی بیشترین

سرعت کاهش آب از برگ در اکوتیپ بهاربند و کمترین آن در اکوتیپ تازه آباد مشاهده شد. در این شرایط اکوتیپ بهاربند بیشترین سرعت فتوسنتز را داشت، در حالیکه اکوتیپ تازه آباد دارای سرعت فتوسنتز کمی بود. نتایج Valentovic et al. (2006) نشان داد که تنش خشکی باعث افت سرعت کاهش آب از برگ در دو رقم مقاوم و حساس ذرت شد، اما برخلاف آزمایش حاضر، آنها گزارش کردند که سرعت کاهش آب از برگ در رقم حساس شدیدتر از رقم مقاوم بود. همچنین Alimohamadi et al. (2009) افت ۳۲ درصدی سرعت کاهش آب از برگ را در شرایط تنش نسبت به شاهد در برگ ارقام گندم مورد بررسی گزارش کردند. آنها نشان دادند که برخلاف مطالعه فوق بر روی ذرت، رقم گندم مقاوم به خشکی سرداری در هر دو شرایط آبیاری و تنش خشکی سرعت کاهش آب برگ بیشتری در مقایسه با ارقام حساس به خشکی از قبیل فلات، پیشتاز و الوند در شرایط جغرافیایی منطقه اصفهان داشت.

در این آزمایش رابطه مثبت و معنی دار بین سرعت کاهش آب از برگ و سرعت فتوسنتز($r = ۰/۳۸^{*}$) در شرایط تنش نشان می‌دهد که خروج آب از برگ در اکوتیپهایی که توانایی فتوسنتز بیشتری دارند سریعتر است (جدول ۶). کاهش شدیدتر آب از برگ بواسطه باز بودن روزنه ها باعث حفظ امکان ورود CO_2 به برگ علی رغم خروج آب از برگ می گردد، لذا هدرروی سریعتر آب از برگ می تواند با رفع مقاومت روزنه ای در فتوسنتز همراه باشد.



شکل ۵- تغییرات کارایی مصرف آب فتوسنتزی در ۱۲ اکوتیپ گندم سرداری جمع آوری شده از مناطق مختلف کشت دیم استان

SPAD کلروفیل

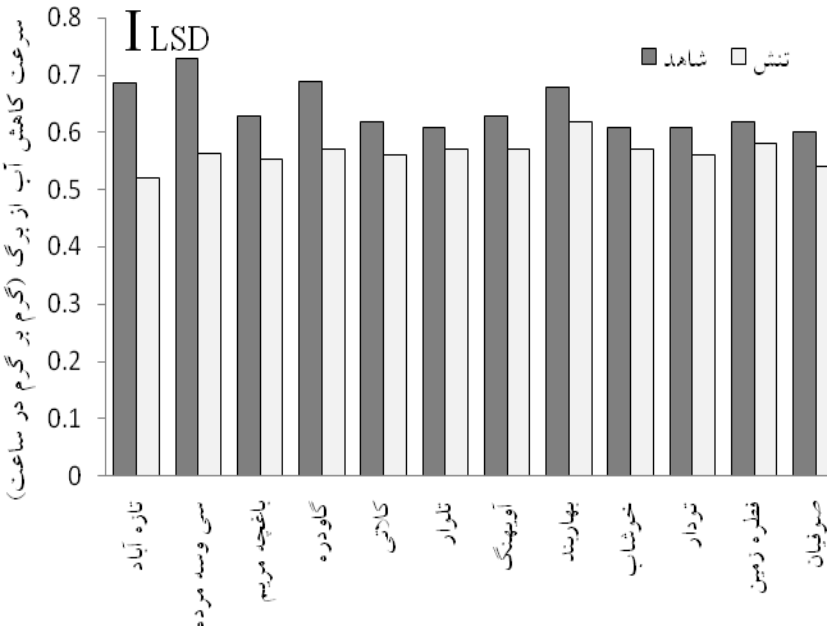
در شرایط آبیاری رابطه مثبت و معنی داری بین میزان SPAD کلروفیل و عملکرد دانه در اکوتیپها مشاهده شد ($r = ۰/۳۴^{*}$) که نشان دهنده نقش کلروفیل در عملکرد دانه در شرایط رطوبتی مطلوب می باشد. نتایج حاصل از تجزیه واریانس نشان داد که تنش خشکی میزان SPAD کلروفیل را به طور معنی‌داری کاهش داد (شکل ۷). نتایج مشابهی مبنی بر کاهش میزان کلروفیل در تنش کم آبی در آفتابگردان و نخود گزارش شده است (Nazarli ، Mafakheri et al., 2010 et al., 2011 که به تاثیر کلروفیلاز، پراکسیداز و ترکیبات فنلی در تجزیه کلروفیل نسبت داده می شود (Por Mousavi et al., 2007). همچنین گزارش شده است که در شرایط تنش خشکی رقم مقاوم به خشکی و در شرایط تنش گرما رقم مقاوم به گرما محتوی کلروفیل بالاتری دارند (Jabari et al., 2009).

در این آزمایش تحت تنش خشکی اکوتیپ تودار بیشترین میزان SPAD کلروفیل را دارا بود و اکوتیپهای

بهاربند و کلاتی کمترین میزان SPAD کلروفیل را دارا بودند. گزارش شده است که در گیاهان حساس به تنش تجلی ژن‌های کد کننده آنزیم کلروفیلاز افزایش می‌یابد (Dawlat Abadian et al., 2009). همچنین کاهش میزان کلرفیل تحت شرایط کمبود آب را به کاهش پایداری غشاء کلروپلاست و تخریب پروتئینها نسبت داده اند (Gnaana Saraswathi et al., 2011). این اثرات می تواند به عنوان یک عامل محدودکننده غیر روزنه‌ای فتوسنتز به حساب آید (Ahmadi & Siosemardeh, 2005). نتایج این آزمایش نشان داد بین SPAD کلروفیل و غلظت پروتئین($r = ۰/۵۳^{*}$) و میزان فتوسنتز ($r = ۰/۸۰^{**}$) در شرایط تنش همبستگی مثبت و معنی‌داری وجود دارد. با توجه به اینکه رنگیزه های موجود در برگ به صورت کمپلکسی از کلروفیل و پروتئین حضور دارند، این همبستگیها ارتباط نزدیک ثبات پروتئین تحت تنش را با حفظ غلظت کلروفیل در کمپلکسهای موجود (Ahmadi and Siosemardeh, 2009) و ادامه فتوسنتز تحت تنش نشان می دهد. با وجود رابطه مثبت بین میزان کلروفیل و سرعت فتوسنتز، مشاهده می شود که اکوتیپ بهاربند با دارا بودن میزان کلروفیل پایین سرعت فتوسنتزی بالایی را نشان داد. این مسئله نشان می دهد که ممکن است فاکتورهای دیگری از جمله ضخامت برگ و پایداری غشاء سلولی در تعیین سرعت فتوسنتز موثر باشند (Evans et al., 1994) و بهبود سرعت فتوسنتز و عملکرد تحت تنش ممکن است ضرورتاً بواسطه افزایش میزان کلروفیل در این شرایط نباشد.

پروتئین محلول برگ

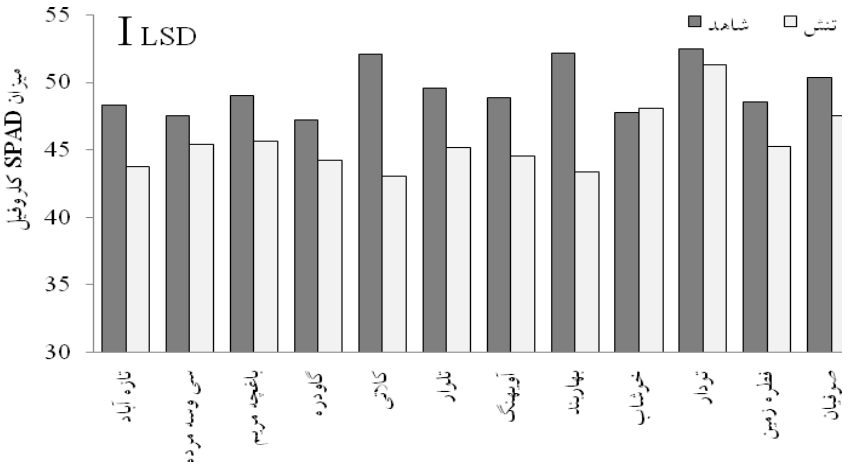
تنش خشکی غلظت پروتئین محلول برگ را در کلیه اکوتیپها کاهش داد (شکل ۸)، این کاهش را می توان به کاهش سنتز پروتئین‌ها در شرایط تنش خشکی و یا تجزیه پروتئین‌ها به علت افزایش فعالیت آنزیم‌های پروتئاز نسبت داد (Mafakheri et al., 2010).



شکل ۶- تغییرات سرعت کاهش آب از برگ در ۱۲ اکوتیپ گندم سرداری جمع آوری شده از مناطق مختلف کشت دیم استان کردستان.

با توجه به اینکه محتوای پروتئین محلول برگ دربرگیرنده کلیه ترکیبات آنزیمی نیز می باشد، ثبات پروتئین تحت تنش به مفهوم حفظ فعالیتهای آنزیمی برگ در این شرایط است. رابطه مثبت بین سرعت فتوسنتز و محتوای پروتئین

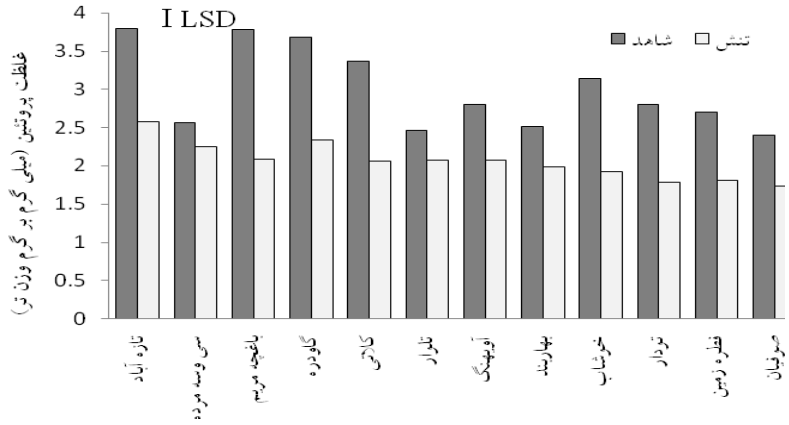
محلول (r =۰/۶۶۲**) در شرایط تنش دلالت بر نقش آنزیمی و حفاظتی پروتئین های محلول در حفظ فتوسنتز تحت تنش دارد.



شکل ۷- تغییرات SPAD کلروفیل در ۱۲ اکوتیپ گندم سرداری جمع آوری شده از مناطق مختلف کشت دیم استان کردستان.

الکتروفورز پروتئین محلول برگ

تفکیک باندهای پروتئینی نشان می دهد که در شرایط شاهد و تنش خشکی بین اکوتیپها تفاوتهایی از نظر سنتز، تخریب و یا تضعیف باندهای پروتئینی وجود دارد (شکل ۹). در الگوی باندهای پروتئینی اثر تنش رطوبتی بیشتر در جهت حذف و یا تحلیل بعضی از باندها در تیمار تنش خصوصاً در نواحی مربوط به زیر واحد های آنزیم رابیسکو نسبت به شاهد بوده است که با نقصان فتوسنتز همراه بوده و مشاهده می شود که از غلظت زیرواحد بزرگ آنزیم روبیسکو (۵۵ کیلودالتن) در اکوتیپهای فطره زمین، تودار، کلاتی، آویهنگ و خوشاب در شرایط تنش کاسته شده است.



شکل ۸- تغییرات پروتئین محلول برگ در ۱۲ اکوتیپ گندم سرداری جمع آوری شده از مناطق مختلف کشت دیم استان کردستان.

اکوتیپ های فوق در ناحیه ۲۰ کیلودالتن نیز کاهش شدت باند را نشان می دهند. گزارش شده است که محتوای پروتئین را می توان بعنوان یک معیار به منظور ارزیابی مقاومت به خشکی مورد استفاده قرار داد

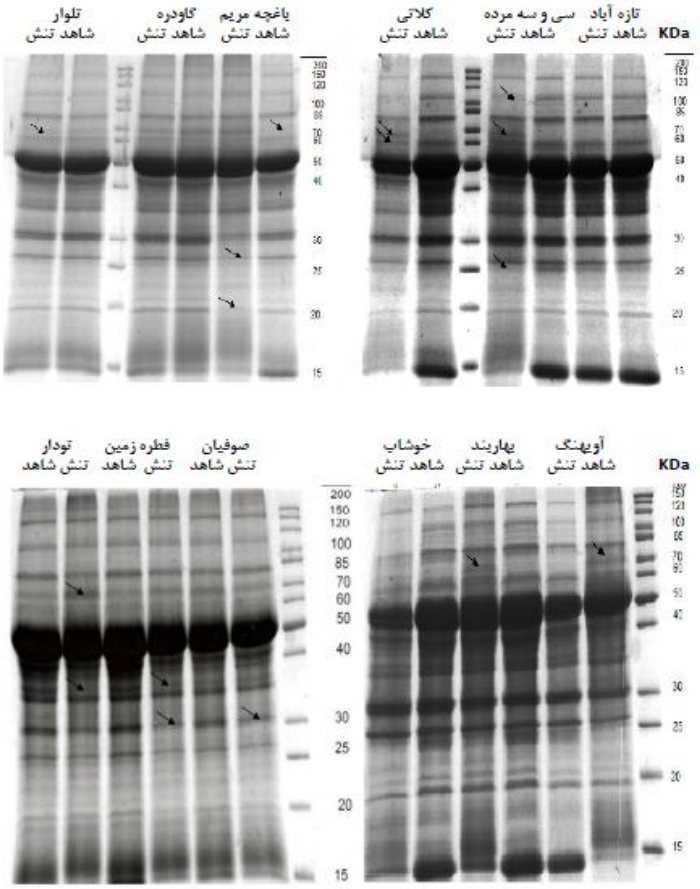
(Sabokdast Naodehi & Khialparast. 2007). در کل مشاهده می شود که زیر واحد بزرگ آنزیم روبیسکو بخش عمده پروتئین محلول برگ را تشکیل می دهد (شکل ۹). کاهش سنتز رابیسکو در شرایط تنش خشکی دراثر کاهش شدید فراوانی زیر واحد کوچک آن گزارش شده است (Jabari et al., 2009). در اینجا نیز مشاهده می شود که شدت باند حدود ۱۵ کیلودالتنی که متعلق به زیر واحد کوچک روبیسکو می باشد در اکوتیپهای صوفیان، فطره زمین، تازه آباد، سی و سه مرده و کلاتی کاهش یافته است. مقدار فتوسنتز نیز در این اکوتیپها در شرایط تنش اکثراً کمتر از متوسط اکوتیپها بود (شکل۱). می توان چنین نتیجه گرفت که تغییر بیان فعالیت روبیسکو برای ادامه تثبیت CO_2 و حفاظت از ظرفیت فتوسنتزی تحت تنش خشکی بسیار مهم می باشد. نتایج حاصل از ژل الکتروفورز تا حد زیادی مطابق با تغییرات مقدار پروتئین محلول برگ تحت تنش در اکوتیپهای مورد بررسی بود. اکوتیپهای صوفیان، فطره زمین و تودار که بیشترین کاهش محتوای پروتئین را تحت تنش تجربه کردند، در کنار اکوتیپهای باغچه مریم و کلاتی کاهش قابل ملاحظه باند ۳۰ کیلودالتونی را نشان دادند. تنش خشکی باعث کم رنگ شدن یک باند در محدوده ۱۰۰ کیلودالتون در اکوتیپ کلاتی شد، که ممکن است با کاهش شدید فتوسنتز در این اکوتیپ مرتبط باشد (Demirevska et al., 2008). گزارش شده است که پروتئین های شوک ۱۰۰ کیلودالتونی در کلروپلاست و سیتوسول حضور داشته و باعث تحمل به دمای بالا می شوند (Wang et al., 2004)، لذا کاهش این پروتئین ممکن است با حساسیت به دمای بالا در شرایط تنش خشکی در گندم و کاهش فتوسنتز مرتبط باشد. تحت تنش خشکی در الگوی پروتئینی اکوتیپهای باغچه مریم، سی و سه مرده و بهاربند ظهور یک باند جدید ۷۰ کیلودالتنی مشاهده شد، جالب توجه آن است که این سه اکوتیپ تحت تنش دارای سرعت فتوسنتز بالاتری نسبت به سایر اکوتیپها بودند.

Hu et al. (2010) گزارش کردند که پروتئین های شوک گرمایی ۷۰ کیلو دالتون نقش حیاتی در سیستمهای دفاعی آنتی اکسیدانی ذرت در واکنش به ترکیبی از تنشهای خشکی و گرمایی دارند. بنابراین بهبود سرعت فتوسنتز در این اکوتیپها ممکن است به نقش حفاظتی این پروتئین ۷۰ کیلودالتنی در ثبات غشاء های تیلاکوئیدی کلروپلاست احتمالاً از طریق رفع اثرات اکسیداتیوی در شرایط تنش مرتبط باشد. همچنین در اکوتیپ آویهنگ در شرایط تنش تشدید یک باند در محدوده ۲۵ کیلو دالتن مشاهده شد. گزارش شده است که دهیدرین های ۲۵ کیلو دالتنی نقش محافظتی در برابر تنش‌ها دارند (Bakalova et al., 2008). Fazeli et al. (2007) در مطالعه تنش خشکی بر روی دو رقم مقاوم و حساس کنجد، ظهور یک باند قوی در محدوده بین ۲۴-۲۰ کیلو دالتن را در شرایط تنش خشکی مشاهده کردند. همچنین Demireska et al. (2008) در بررسی تنش خشکی بر روی گندم گزارش کردند در ناحیه ۲۰ کیلو دالتن در اکثر واریته ها تحت تنش خشکی غلظت پروتئین افزایش یافت. در این آزمایش نیز یک باند در محدوده ۲۰ کیلو دالتن در اکوتیپ باغچه مریم در شرایط تنش مشاهده شد.

بنابراین به نظر می رسد که ظهور باندهای پروتئینی جدید یا حذف بعضی از باندها در سطوح مختلف تنش خشکی را می توان به عنوان نشانگرهای بیوشیمیایی پاسخ به تنش خشکی در نظر گرفت. این نشانگرهای بیوشیمیایی می توانند به عنوان یک ابزار ارزشمند در ارزیابی اکوتیپهای گندم در مرحله گلدهی در نظر گرفته شوند و به نظر می رسد که اکوتیپهای حساس نسبت به اکوتیپهای مقاوم تفاوتهایی در سطح باندهای پروتئینی خود نشان می دهند و میزان تخریب پروتئین بیشتری در شرایط تنش خشکی در این اکوتیپها دیده می شود.

براساس نتایج این آزمایش در کل می توان گفت که اکوتیپهای با میزان تعرق بیشتر دارای شاخص حساسیت به خشکی پایینتر و در مواردی سرعت فتوسنتز بالاتری داشتند. از طرف دیگر سرعت فتوسنتز با هدایت مزوفیلی اکوتیپهای مورد بررسی مرتبط بود و هدایت مزوفیلی تحت تنش نیز با کارایی مصرف آب فتوسنتزی رابطه مثبت و با غلظت CO_2 زیر روزنه ای رابطه منفی داشت. همچنین می توان گفت که با توجه به سرعت تعرق بالاتر و مصرف بیشتر آب در اکوتیپهای مقاوم به خشکی علی رغم یکسان بودن وضعیت آب خاک

در ایـن اکوتیپهـا، مقاومـت بـه خـشکی در ایـن اکوتیپهـای گنـدم تطـابق یافتـه بـا شـرایط تـنش خشکی عمـدتاً از طریـق ادامـه جـذب آب خـاک و اجتنـــاب از تـــنش خـــشکی مـــی باشـــد.



شکل ۹- الگوی باندی پروتئین محلول در برگ اکوتیپهای گندم سرداری جمع آوری شده از مناطق مختلف کشت دیم استان کردستان تحت شرایط تنش خشکی و شرایط شاهد با استفاده از ژل SDS- PAGE.

تغییرات الگوی باندهای پروتئینی نیز نشان داد که مقاومت به خشکی در گندم تا حد زیادی ممکن است به حفظ زیر واحدهای آنزیم روبیسکو و ثبات پروتئین هایی در محدوده ۲۰، ۲۵، ۷۰ و ۱۰۰ کیلودالتنی مرتبط باشد. لذا می توان گفت که صفات فیزیولوژیکی و نشانگرهای بیوشیمیایی فوق در مقاومت به خشکی گندم موثر بوده و می توانند به عنوان شاخصهای گزینشی مورد استفاده قرار گیرند.

REFERENCES

1. Ahmadi, A. & Baker, D. A. (2000). Stomatal and non stomatal factors controlling photosynthesis in wheat under drought stress. *Iranian Journal of Agricultural Science*, 31 (4), 813 – 825. (In Farsi).
2. Ahmadi, A. & Siosemardeh, A. (2005). Investigation on the physiological basis of grain yield and drought resistance in wheat: leaf photosynthetic rate, stomatal conductance, and non- stomatal limitations. *Journal of Agriculture and Biology*, 5, 807-811.
3. Ahmadi, A. & Siosemardeh, A. (2009). *Crop physiology*, University of Tehran press. Tehran. 280 pages. (In Farsi).

4. Alimohamadi, M., Rezaei, A. M. & Maibodi, S. A. M. (2009). Evaluation of grain yield and some physiological characteristics of 10 wheat cultivars under two irrigation regimes. *Journal of Agricultural Science and Natural Resource*, 13 (2), 107-120. (In Farsi).
5. Bakalova, S., Nedeva, D. & Mckee, J. (2008). Protein profiles in wheat seedlings subjected to dehydration stress. *Applied Ecology and Environmental Research*, 6 (2), 37- 48.
6. Bakhshi Khaniki, G. & Fattahi, F. (2007). Drought effects of morphologic traits of 10 barley varieties in Osko area, Eastern Azarbaijan province. *Pajouhesh and Sazandegi*, 74, 108-114. (In Farsi).
7. Bradford, M. M. (1976). A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein- due binding. *Annual Biochemistry*, 72, 248-254.
8. Dawlat abadian, A., Modares Sanawi, S. A. & Sharifi, M. (2009). Effects of abcisic acid foliar application on antioxidant enzyme activity, proline accumulation and lipid peroxidation of Canola (*Brassica napus* L.) under salinity stress. *Journal of Agricultural Science and Natural Resourc*,. 13(4), 611- 620. (In Farsi).
9. Demirevska, K., Simova- Stohlova, L., Vassileva V. & Feller, U. (2008). Rubisco and some chaperone protein responses to water stress and rewatering at early seedling growth of drought sensitive and tolerant wheat varieties. *Plant Growth Regulation*, 56,97–106.
10. Demirevska, K., Simova- Stohlova, L., Vassileva V. Vaseva, I., Grigorava B. & Feller U. (2008). Drought induced leaf protein alterations in sensitive and tolerant wheat varieties. *Plant Physiology*, 34, 79-102.
11. Evans, J.R., Von Caemmerer, S., Setchell, B.A. & Hudson, G.S. (1994) The relationship between CO2 transfer conductance and leaf anatomy in transgenic tobacco withreduced content of Rubisco. *Australian Journal of Plant Physiology*, 21, 475–495.
12. Fazeli, F., Ghorbanli, M. &. Niknam, V. (2007). Effect of drought on biomass, protein content, lipid peroxidation and antioxidant enzymes in tow sesame cultivars. *Journal of Biologia Plantarum*, 51, 98-103.
13. Fischer, R.A. & Maurer, R. (1978). Drought resistance in spring wheat cultivars. Part 1: grain yield response. *Australian Journal of Agricultural Research*, 29, 897–912.
14. Gnaana Saraswathi, S. & Paliwal, K. (2011). Drought induced changes in growth, leaf gas exchange and biomass production in *Albizia lebbeck* and *Cassia siamea* seedlings. *Journal of Environmental Biology*, 32, 173-178.
15. Hieng, B., Ugrinovich, K., Sustar-Vozlich, J., & Kidric, M. (2004). Different classes of proteases are involved in the response to drought of Phaseolus vulgaris L. cultivars differing in sensitivity. *Journal of Plant Physiology*, 161, 519-530.
16. Hu, X., Liu, R., Li, Y., Wang, W., Tai, F., Xue R. & Li. C. (2010). Heat shock protein 70 regulates the abscisic acid-induced antioxidant response of maize to combined drought and heat stress. *Plant Growth Regulation*, 60, 225 – 235.
17. Jabari, F., Ahmadi, A., Poustini, K., Alizadeh, H., Sharifzadeh, F., & Ranjbar, M. (2009). Evaluation of relationship between relative water content and gas exchanges parameters with drought resistance in 7 wheat cultivars. *Iranian Journal of Field Crop Science*, 40 (2), 198 – 207. (In Farsi).
18. Jaefari, S. R., Manochehri, K. &. Torkzadeh, M. (2006). Evaluation effects of Paclobotrazol on cold resistance in tomato (*Lycopersicum esculentom* L.) seedling. *Iranian Journal of Biology*, 19 (3), 290 – 298. (In Farsi).
19. Laemmli, U. K. (1970). Cleavage of structural protein during the assembly of the head of bacteriophage T4. *Nature*, 227, 680-685.
20. Lawlor, D. W., & Cornic, G. (2002). Photosynthetic carbon assimilation and associated metabolism in relation to water deficits in higher plants. *Plant Cell Environment*, 25, 275-294.
21. Lima, A. L. S., DaMatta, F. M., Pinheiro, H. A., Totola, M. R. & Loureiro, M. E. (2002). Photochemical responses and oxidative stress in two clones of Coffea canephora under water deficit conditions. *Environmental and Experimental Botany*, 47, 239-247.
22. Mafakheri, A., Siosemardeh, A., Bahramnejad, B., Struik, P.C. and Sohrabi, Y. (2010). Effect of drought stress on yield, proline and chlorophyll contents in three chickpea cultivars. *Australian Journal of Crop Science*, 4(8), 580-585.
23. Maighani, F. & Ebrahimzadeh, H. (2003). The response of foliar proteins in two wheat (Triticum aestivum) cultivars to salt stress. *Botanical Journal of Iran*, 4, 83 – 94. (In Farsi).
24. Mansori far, S., Modares Sanavi, A. M. & Jalali Javaran. M. (2005). The Effect of water stress and nitrogen fertilizer on leaf corn soluble protein. Iranian *Journal of Agricultural Science*, 36 (3), 625 – 637. (In Farsi).
25. Moradi, A., Ahmadi, A. & Joodi, A. (2005). Photosynthesis and stomatal conductance responses of

Mung bean (*Vigna radiata*) to severe and moderate water stress applied at different growth stages. *Proceeding of 1st Conference of Bean Crops*. University of Ferdawsi, Mashhad. 20 – 21 December, 268 – 272. (In Farsi).

26. Nazarli, H., Faraji, F. & Zardashti, M. R. (2011). Effect of drought stress and polymer on osmotic adjustment and photosynthetic pigments of Sunflower. *Cercetari Agronomice in Moldova*, 35-41.
27. Por Mousavi, M., Galavi, M. Danshiyan, J., Ghanbari, A. & Basirani, N. (2007). Effects of drought stress and manure on leaf relative water content, cell membrane stability and leaf chlorophyll content in soybean (*Glycine max*). *Journal of Agricultural Science and Natural Resource*, 14(4), 125 134. (In Farsi).
28. Ratnayaka, H. H., & Kincaid, D. (2005). Gas exchange and leaf ultrastracture of *Cassia angustifulia* under drought and nitrogen stress. *Crop Science*, 45, 840-847.
29. Roohi, E. & Siosemardeh, A. (2008). Study on gas exchange in different wheat (*Triticum aestivum* L.) genotypes under moisture stress conditions. *Journal of Seedling and Seed*, 24(1), 45 -62. (In Farsi).
30. Sabokdast Naodehi, M. & Khialparast, F. (2007). Evaluation of some biochemical and physiological of drought resistance in three wheat check pea. *Iranian Journal of Agricultural Science*, 30 (2), 71 – 80. (In Farsi).
31. Shiferaw, B. & Baker, D. A. (1996). Agronomic and morphological of TEF to drought. *Crop Science*, 36, 74-85.
32. Siosemardeh, A. (2003). *Physiological aspect of growth and yield of wheat cultivars in relation to drought resistance*. PhD. Thesis. Agronomy and crop development department. College of agriculture. University of Tehran. 283 pages. (In Farsi).
33. Siosemardeh, A., Ahmadi, A., Poustini, K. & Mohammadi, V. (2006). Evaluation of drought resistance indices under various environmental conditions. *Field Crops Research*, 98, 222-229.
34. Siosemardeh, A., Osmani, Z., Bahramnejad, B., Vahabi, Kh. & Roohi, E. (2012). Identification of AFLP marker associated with stress tolerance index in Sardari wheat ecotypes. *Journal of Agricultural Science and Technology*, 14, 633- 642.
35. Stiller, W. N., Read, J. J., Constable, G. A., & Reid, P. E. (2005). Selection for water use efficiency traits in a cotton breeding program. *Crop Science*, 45, 1107-1113.
36. Valentovic, P., Luxova, M., Kolarovic, L., & Gasparikova, O. (2006). Effect of osmotic stress on compatible solutes content, membrane stability and water relations in two maize cultivars. *Plant Soil and Environment*, 52 (4),186-191.
37. Van Ginkel, M., Calhoun, D.S., Gebeyehu, G., Miranda, A., Tian-you, C., Pargas Lara, R., Trethowan, R.M., Sayre, K., Crossa, L., & Rajaram, S. (1998). Plant traits related to yield of wheat in early, late, or continuous drought conditions. *Euphytica*, 100, 109–121.
38. Vierstra, R.D. (1993). Protein degradation in plants. *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology*, 44, 385-410
39. Wang, W., Vinocur, B., Shoseyov, O. & Altman, A. (2004). Role of plant heat-shock proteins and molecular chaperones in the abiotic stress response. *Trends in Plant Science*, 9 (5), 244 – 252.