J. Soil and Plant Interactions, Vol. 14, No. 4, Winter 2024, pp. 85-102. **Research Article**

https://jspi.iut.ac.ir EISSN: 2783-5286 https://doi.org/10.47176/jspi.14.4.03602

Improving Drought Tolerance in Smooth Bromegrass by Mild Drought Stress Induction in Vegetative Growth Stage

M. Ghasemi[1], M.M. Majidi[1*], P. Ehsanzadeh[1], M.R. Mosaddeghi[2] and M. Etemadi[1]

(Received: 1 October 2023; Accepted: 3 January 2024)

Abstract

Drought is one of the most important abiotic stresses limiting the survival, growth, and production of plants in many regions of the world including Iran. Genetically, different species adopt different strategies to confront with drought. One of the mechanisms that plants have evolved to adapt to the environmental changes is *stress memory*. In this study, different genotypes of smooth bromegrass were evaluated to investigate the drought stress memory and drought stress tolerance based on a greenhouse pot experiment. Thirty three genotypes of smooth bromegrass were evaluated in three moisture environments: control (C), once drought-stressed (D2), and twice drought-stressed (D1D2) in a factorial arrangement according to the randomized complete blocks design with two replications. The dry matter yield decreased by 45 and 36% in the one-stress and two-stress treatments compared to the control, respectively. These results indicated the role of drought stress memory in modulating drought stress through the influence on forage dry yield and root dry weight. The root dry weight reduced in the once stress and twice stress conditions by 32 and 19%, respectively, compared to the control environment. This finding shows the significant effect of stress memory on the root growth. Based on the principal component analysis, superior genotypes were identified for future researches. Overall, the results suggested that smooth bromegrass is capable to activate some drought stress memory mechanisms related to morphological and root traits.

Keywords: Drought, Stress memory, Root system, Bromegrass.

Background and Objective: Smooth bromegrass is particularly adapted to areas with medium and low annual precipitations and has a high drought tolerance when compared with the other grasses. Drought is one of the most important environmental factors with adverse effects on plant growth and development and affects all morphological, physiological, biochemical and metabolic aspects of plants (Farooq et al., 2009). Therefore, it is necessary to identify drought-tolerant genotypes (Saeidnia et al., 2017b). The term *stress memory* was first proposed by Trewavas (2003), as the plant's ability to access past experiences to better respond to future stresses. In open-pollinated species that are difficult to develop inbred lines, such as smooth bromegrass, the main breeding method is to create synthetic varieties that are obtained through the crossing of suitable parents. Besides, half-sib matting is one of the most common methods for obtaining genetic information such as estimating the additive effects and dominance of genes (Nguyen and Sleper,

1- Department of Agronomy and Plant Breeding, College of Agriculture, Isfahan University of Technology, Isfahan.
2- Department of Soil Science, College of Agriculture, Isfahan University of Technology, Isfahan, Iran.
* Corresponding author, Email: majidi@iut.ac.ir

1983). Saidnia et al. (2017a) in a study on the genotypes of orchardgrass species found superior genotypes for hay production. They also examined the genetic parameters and heritability of dry matter yield and introduced the superior genotypes for the further researches. Hence, this study was designed to investigate stress memory and its effect on improving drought tolerance in a smooth bromegrass germplasm.

Methods: This research was carried out from February 2017 to June 2018 in the research greenhouse located at the Isfahan University of Technology as a pot experiment. A sandy loam soil with bulk density, field capacity, and wilting point of 1.57 g cm^{-3}, and 12.5 and 7.4 %w/w, respectively, was used for filling the pots. The genetic materials included 33 genotypes of smooth bromegrass that were collected from different regions of the country and some foreign gene banks. The genotypes were investigated in three moisture environments including control (C), once drought-stressed (D2) and twice drought-stressed (D1D2) as a factorial experiment in the form of a randomized complete blocks design with two replications.

Results: The analysis of variance showed that drought treatments had a significant effect on most of the traits. A significant difference was observed between the genotypes regarding the measured traits indicating high genetic diversity among the genotypes. The secondary drought stress significantly reduced most of the traits. The dry matter yield decreased by 45 and 36% in the once-stress and twice-stress treatments compared to the control, respectively. These results indicated the role of drought stress memory through the effect on dry yield of forage and root dry weight. Also, the root dry weight was reduced by 32 and 19% in the conditions of one stress and two stress compared to the control environment, respectively, which shows the significant effect of stress memory on the root system. Multivariate analysis showed that under the twice stress condition compared to the other two moisture environments, the relationships of the traits have undergone severe changes, which is a confirmation of the effect of initial stress and stress memory.

Conclusions: This research indicated a high genetic diversity among the smooth bromegrass genotypes in terms of stress memory responses, which can be used in the selection methods. For example, the means of dry matter yield and root dry weight decreased to a lesser extent when grown in the presence of twice drought stress, than once drought stress. This finding shows that the mechanisms of the stress memory related to morphological and root traits in this plant are activated by applying preliminary mild drought stress and help the plant to have a smaller decrease in growth. Based on the principal component analysis, superior genotypes were identified for future research. The results of this research can be used in breeding programs and future genetic research. It is also suggested that suitable genotypes be studied more in field conditions over several years.

References:

1. Farooq, M., Wahid, A., Kobayashi, N., Fujita, D., Basra, S.M.A., 2009. Plant drought stress: effects, mechanisms and management. In: Alberola, C., Debaeke, P., Lichtfouse, E., Navarrete, M., Véronique, S. (Eds.), Sustainable Agriculture. Springer Dordrecht. pp. 153–188.
2. Nguyen, H.T., Sleper, D.A., 1983. Theory and application of half-sib matting in forage grass breeding. Theor. Appl. Genet. 64, 187–96.
3. Saeidnia, F., Majidi, M.M., Mirlohi, A., 2017a. Genetic analysis of stability in polycrossed populations of orchardgrass. Crop Sci. 57, 2828–2836.
4. Saeidnia, F., Majidi, M.M., Mirlohi, A., Manafi, M., 2017b. Productivity, persistence and traits related to drought tolerance in Smooth Bromegrass. Plant Breeding. 136, 270–278.
5. Trewavas, A., 2003. Aspects of plant intelligence. Ann. Bot. London. 92, 1–20.

روابط خاک و گیاه/ سال چهاردهم / شماره چهارم / زمستان ۱۴۰۲ / صفحات ۱۰۲-۸۵ مقاله پژوهشی
https://doi.org/10.47176/jspi.14.4.03602 EISSN: 2783-5286 https://jspi.iut.ac.ir

بهبود تحمل خشکی در بروموگراس نرم از طریق القای خشکی ملایم در مرحله رشد رویشی

مهین قاسمی[۱]، محمدمهدی مجیدی[۱*]، پرویز احسان‌زاده[۱]، محمدرضا مصدقی[۲] و مهدی اعتمادی[۱]

(تاریخ دریافت: ۱۴۰۲/۷/۹؛ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۲/۱۰/۱۳)

چکیده

خشکی یکی از مهم‌ترین تنش‌های غیرزیستی است که بقا، رشد و تولید گیاهان را در بسیاری از مناطق جهان از جمله ایران محدود می‌کند. از نظر ژنتیکی، گونه‌های مختلف راهکارهای متفاوتی را برای مقابله با خشکسالی اتخاذ می‌کنند. یکی از راهکارهایی که گیاهان برای سازگاری با تغییرات محیطی در خود تکامل داده‌اند، حافظه تنش است. در این پژوهش ژنوتیپ‌های مختلف این‌گونه که قبلاً از تلاقی پلی کراس حاصل شده بودند، به‌منظور بررسی حافظه تنش خشکی، و تحمل تنش خشکی در گلخانه آموزشی-پژوهشی دانشگاه صنعتی اصفهان ارزیابی شدند. بدین منظور ۳۳ ژنوتیپ گونه برموگراس در سه محیط رطوبتی شاهد (C)، یک‌بار تنش (D_2) و دو بار تنش خشکی (D_1D_2) به‌صورت فاکتوریل در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی با دو تکرار به‌صورت آزمایش گلدانی مورد بررسی قرار گرفتند. تنش خشکی منجر به کاهش عملکرد علوفه خشک و وزن خشک ریشه، شد. عملکرد علوفه خشک در تیمار یک بار تنش ۴۵٪ و در تیمار دو بار تنش ۳۶٪ نسبت به شاهد کاهش داشت؛ این نتایج حاکی از نقش حافظه تنش خشکی در تعدیل تنش از طریق تأثیر بر برخی از صفات مورفولوژیک بود. میزان کاهش وزن خشک ریشه در شرایط یک بار تنش ۳۲٪ و در شرایط دو بار تنش ۱۹٪ نسبت به محیط شاهد بود که اثر معنی‌دار حافظه تنش بر رشد ساختار ریشه‌ای را نشان می‌دهد. بر اساس نتایج تجزیه به مؤلفه‌های اصلی، ژنوتیپ‌های برتر برای پژوهش‌های آینده شناسایی شدند. در مجموع نتایج نشان داد که بروموگراس نرم توانایی فعال‌کردن برخی سازوکارهای حافظه تنش خشکی مرتبط با صفات مورفولوژیک و ریشه را دارد.

واژه‌های کلیدی: خشکی، حافظه تنش، بروموگراس نرم، سیستم ریشه‌ای.

مقدمه

ایران به‌عنوان یکی از مهم‌ترین مراکز تنوع گیاهان علوفه‌ای و چمنی، از پتانسیل بسیار زیادی برای تولید و توسعه این محصولات برای بخش‌های مختلف زراعی، مرتعی و فضای سبز برخوردار است (Mohammadi et al., 2006). مهم‌ترین اهداف اصلاحی در گراس‌های علوفه‌ای شامل افزایش عملکرد و کیفیت علوفه، دیرزیستی، افزایش فصل چرا، تحمل به تنش‌های زیستی (مانند بیماری‌ها) و غیرزیستی (مانند خشکی و

۱- گروه تولید و ژنتیک گیاهی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه صنعتی اصفهان، ایران
۲- گروه علوم خاک، دانشکده کشاورزی، دانشگاه صنعتی اصفهان، اصفهان، ایران
* مسئول مکاتبات، پست الکترونیکی: majidi@iut.ac.ir

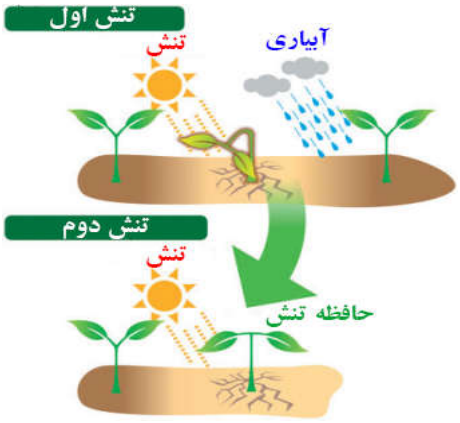
سرما) است (Halluer et al., 2010) که در ایران پـژوهش‌هـای اندکی در این زمینه انجام شده اسـت. ایـن در حـالی اسـت کـه وجود تنوع ژنتیکی در جمعیت‌هـای موجـود در کشـور، زمینـه تولید ارقام ساختگی با عملکرد و کیفیت بیش‌تـر را فـراهم مـی سازد (Mahajan et al., 2005).

در بین گونه‌های متنوع گـراس، گونـه Bromus، متعلـق بـه زیرجنس Zerna از خانواده Festuceae است (Mohammadi et al., 2006). یکی از مهم‌ترین گونه‌های چندساله در این جـنس، برمـوگراس نـرم (*Bromus inermis* L.) اسـت کـه یک‌گونـه دگرگشن خود ناسازگار بـوده و بـومی مرکـز و شـمال اروپـا و همچنین آسیای میانه است (Casler et al., 2000). بروموـگراس نرم، سازگاری ویژه‌ای به نواحی با بارندگی متوسـط و کـم و از تحمل به خشکی زیـادی در مقایسـه بـا سـایر گیاهـان زراعـی برخـوردار اسـت (Nguyen et al., 1983) و سـهم عمـده‌ای در تولیـد علوفـه مرتعـی کشـور داشـته و از کیفیـت مطلـوبی نیـز برخوردار است (Saeidnia et al., 2017).

هر عامـل زیسـتی و غیرزیسـتی کـه اثـر منفـی بـر رشـد و عملکرد گیاه داشته باشد، تنش نامیـده مـی‌شـود (Jaleel et al., 2009). خشکی یکی از مهم‌ترین فاکتورهای محیطی اسـت کـه باعـث نامسـاعد شـدن شـرایط رشـد و توسـعه گیـاه مـی‌شـود (Staniak et al., 2015) و تمـام جنبـه‌های مورفولوژیـک، فیزیولوژیک، بیوشیمیایی و متابولیک گیاهان را تحت‌تـأثیر قـرار می‌دهد (Irani et al., 2015). خشکی باعث کاهش رشد و نمـو از طریق کاهش محتوای آب، کاهش پتانسیل آب بـرگ، بسـته-شدن روزنه‌ها و کاهش رشد و توسعه سلول‌ها می‌گردد (Jaleel et al., 2009). انتخـاب و توسـعه گیاهـانی کـه بـه کمـک سازوکارهایی بتوانند خشکی را تحمل نمایند، اهمیت زیادی در تولید پایدار محصولات کشاورزی دارد (Farooq et al., 2009)؛ بنابراین برای مقابله با این پدیده نیاز به شناسایی ارقـامی اسـت که متحمل به خشکی بوده و یا با سازوکارهای ژنتیکی اجتنـاب از خشـکی اصـلاح شـده باشـند (Saeidnia et al., 2017). به‌نژادگران از تنوع ژنتیکی (بین و درون‌گونه‌ای) استفاده کرده و با بررسی تأثیر خشکی بر ویژگی‌هـای ظـاهری، رشـد، سـاختار ریشه و صفات فیزیولوژیک، سعی دارند ارقامی تولید کننـد کـه ضمن داشتن پتانسیل تولید مناسـب، از تحمـل خشـکی زیـادی برخوردار باشند (Askari et al., 2015).

گیاهان برای زنده ماندن در شـرایط تنش‌هـای محیطـی کـه مدام در حال تکرار هستند به تنش واکنشی نشان مـی‌دهنـد کـه ممکن است متفاوت از پاسـخ بـه تـنش پیشـین باشـد. یکـی از سازوکارهایی که گیاهان برای سازش با نوسـان‌های محیطـی در خود تکامل داده‌اند "حافظه تنش" است. پاسخ‌های متفـاوت بـه تنش‌های مشابه در طول زمـان تحـت عنـوان "حافظـه تـنش[1]" شناخته می‌شود. در طول این فرایند، پاسخ هماهنگ در سـطوح سلولی، ژنومی و سازمانی گیاه سبب تحمل شرایط تنش توسـط گیاه می‌شود (Nosalewicz et al., 2018). واژه "حافظـه تـنش" اولین بار در سال ۲۰۰۳ توسط تریویوز مطرح شد. او بیان کـرد که حافظه، نوعی توانایی بـرای دسـتیابی بـه تجربیـات گذشـته به‌منظور پاسخ بهتر به تنش‌های بعدی است (Trewavas et al., 2003). همان‌طور که در شکل (۱) نشان داده شده است، گیاهی که یک بار تنش دیده نوعی حافظه تنش در خود دارد که باعـث می‌شود در طول تنش دوم نسبت بـه گیـاهی کـه تـاکنون تـنش ندیده متحمل‌تر باشد (Kinoshita et al., 2014). حافظـه تـنش، جزء مهمی از رفتار اکولوژیک و فیزیولوژیک در گیاهـان اسـت (Fleta-Soriano et al., 2015). Bruce et al. (2007) بیـان نمودند که اثر تنش خشکی به عوامـل مختلفـی ماننـد شـدت و مدت زمان تنش، ژنوتیپ گیاه یا مرحله رشدی و همچنین آثـار تنش پیشین باقی‌مانده بستگی دارد. این اثر یا حافظه تـنش، مـی تواند به‌عنوان تغییرات ساختاری، ژنتیکی و بیوشیمیایی تعریـف شود که در معرض تکرار تنش قرار گرفتـه و گیـاه را متحمـل‌تر خواهد کرد. تحت شرایط نامساعد محیطی، برخی از سازوکارها در سلول‌های گیاهی شکل می‌گیـرد کـه بـدون ایجـاد تغییـر در توالی‌های نوکلئوتیدی، سازگاری به تنش‌های محیطـی را ایجـاد یا تسریـع نموده و بـه نسـل بعـد منتقـل مـی‌شـود کـه بـه آن

1. Stress memory



شکل ۱. شمای کلی از پدیده حافظه تنش در گیاهان (Kinoshita et al., 2014).

Fig. 1. An overview of the phenomenon of stress memory in plants (Kinoshita et al., 2014).

تغییرات اپی‌ژنتیکی[1] گویند (Feil et al., 2012).

تغییرات اپی‌ژنتیکی موجب انعطاف‌پذیری فنوتیپی در یک نسل (بین فرزندان) و یا سبب تغییر توارثی در بین نسل‌ها (والدین به نتایج) خواهد شد (Grativol et al., 2012). اپی ژنتیک باعث می‌شود تنش، به‌صورت تجربه‌ای در حافظه گیاه باقی‌مانده و درصورتی‌که مجدداً همین شرایط رخ بدهد، گیاه تجربه پیشین را به‌خاطر آورده و مقاومت خود را حفظ می‌کند و در نتیجه کم‌ترین کاهش عملکرد را در شرایط تنش خواهد داشت (Law et al., 2010). Bruce et al. (2007) بیان نمودند که تغییرات اپی‌ژنتیکی در سازگاری گیاه با شرایط، از جمله فاکتورهای مهم در فعال‌شدن حافظه تنش در گیاهان به‌حساب می‌آیند. Virlouvet et al. (2014) و Fleta-Soriano et al. (2015) در پژوهش‌های مجزا گزارش کردند که آبسزیک اسید (ABA) ممکن است در کوتاه‌مدت (روزها و هفته‌ها) در حافظه تنش خشکی نقش داشته باشد. آنها با بررسی سازوکارهای تنظیم‌کننده حافظه تنش خشکی در گیاهان خانواده CAM از جمله ناز یخی (*Aptenia cordifolia*) متوجه شدند حافظه تنش خشکی در اثر تکرار تنش در این گیاه فعال می‌شود. در پژوهش دیگری روی گیاه آرابیدوپسیس[2] مشخص گردید که ژن‌های پاسخ به خشکی RB29B و پاسخ به آبسزیک اسید RAB18، منجر به افزایش تحمل گیاه به این تنش می‌شوند به‌گونه‌ای که اگر گیاه چند بار خشکی را تجربه کند، سطح بیان و رونویسی ژن‌ها بیش‌تر از زمانی خواهد بود که برای اولین‌بار در معرض این تنش قرار می‌گیرد؛ در نتیجه تحمل گیاه، افزایش‌یافته و با سرعت بیش‌تری رخ می‌دهد (Ding et al., 2012). بر این اساس این پژوهش با هدف بررسی حافظه تنش و تأثیر آن در بهبود تحمل به تنش خشکی در ژرم‌پلاسم بروموگراس نرم انجام شد.

مواد و روش‌ها

مکان و زمان آزمایش و مواد ژنتیکی

این پژوهش طی بهمن‌ماه ۱۳۹۷ تا خردادماه ۱۳۹۸ در گلخانه آموزشی-پژوهشی دانشگاه صنعتی اصفهان اجرا شد. بستر کشت خاک با بافت لوم شنی بود که درصد هر یک از اجزای خاک (رس، سیلت و شن) به‌ترتیب ۱۶/۵، ۱۱/۰ و ۷۲/۵ درصد بود. چگالی ظاهری، گنجایش مزرعه (FC) و نقطه پژمردگی (PWP) خاک مورد بررسی به‌ترتیب برابر ۱/۵۷ گرم بر سانتی-متر مکعب، ۹/۵ و ۵/۴ درصد وزنی بود. مواد ژنتیکی شامل ۳۳ ژنوتیپ گونه برموگراس نرم بود که بر اساس بررسی‌های پیشین از مناطق مختلف کشور و برخی بانک‌های ژنی خارج کشور جمع‌آوری شده بودند (جدول ۱). ژنوتیپ‌های انتخابی در سه محیط رطوبتی شاهد (C)، یک‌بار تنش خشکی (D_2) و دو بار تنش خشکی (D_1D_2) به‌صورت آزمایش فاکتوریل در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی در دو تکرار مورد مطالعه قرار گرفتند. تجزیه واریانس به کمک نرم‌افزار SAS و مقایسه تیمارها به روش حداقل تفاوت معنی‌دار (LSD) و در سطح احتمال پنج درصد انجام شد. با هدف بررسی هم‌زمان و درک بهتر روابط بین صفات، از تجزیه به مؤلفه‌های اصلی استفاده شد.

تیمارهای تنش آبی

در این آزمایش ژنوتیپ‌ها در سه سطح تیمار رطوبتی با آرایش

1. Epigenetic
2. Arabidopsis

جدول ۱. منشأ ژنوتیپ‌های برموگراس نرم مورد بررسی در این مطالعه.

Table 1. The origin of the smooth bromegrass genotypes investigated in this study.

ژنوتیپ Genotype	کد بانک ژن جمعیت اولیه Primary population gene bank code	منشأ جمعیت اولیه Primary population origin
1	2000/50	مرکز تحقیقات بیوتکنولوژی شهید فزوه اصفهان Shahid Fozveh Biotechnology Research Center, Isfahan
2	2000/24	مرکز تحقیقات بیوتکنولوژی شهید فزوه اصفهان Shahid Fozveh Biotechnology Research Center, Isfahan
3	2000/24	مرکز تحقیقات بیوتکنولوژی شهید فزوه اصفهان Shahid Fozveh Biotechnology Research Center, Isfahan
4	2000/24	مرکز تحقیقات بیوتکنولوژی شهید فزوه اصفهان Shahid Fozveh Biotechnology Research Center, Isfahan
5	2000/24	مرکز تحقیقات بیوتکنولوژی شهید فزوه اصفهان Shahid Fozveh Biotechnology Research Center, Isfahan
6	2000/18 -2	مرکز تحقیقات بیوتکنولوژی شهید فزوه اصفهان Shahid Fozveh Biotechnology Research Center, Isfahan
7	2000/25	ایران – همدان Iran – Hamedan
8	2000/25	ایران – همدان Iran – Hamedan
9	-	مرکز تحقیقات بیوتکنولوژی شهید فزوه اصفهان Shahid Fozveh Biotechnology Research Center, Isfahan
10	RCAT064839	خارجی – مجارستان Hungarian – foreign
11	-	مرکز تحقیقات بیوتکنولوژی شهید فزوه اصفهان Shahid Fozveh Biotechnology Research Center, Isfahan
13	-	مرکز تحقیقات بیوتکنولوژی شهید فزوه اصفهان Shahid Fozveh Biotechnology Research Center, Isfahan
14	2000/18	مرکز تحقیقات بیوتکنولوژی شهید فزوه اصفهان Shahid Fozveh Biotechnology Research Center, Isfahan
15	2000/18	مرکز تحقیقات بیوتکنولوژی شهید فزوه اصفهان Shahid Fozveh Biotechnology Research Center, Isfahan
16	2000/18	مرکز تحقیقات بیوتکنولوژی شهید فزوه اصفهان Shahid Fozveh Biotechnology Research Center, Isfahan
17	2000/T- 9	ایران – همدان Iran – Hamedan
18	2000/T-9	ایران – همدان Iran – Hamedan

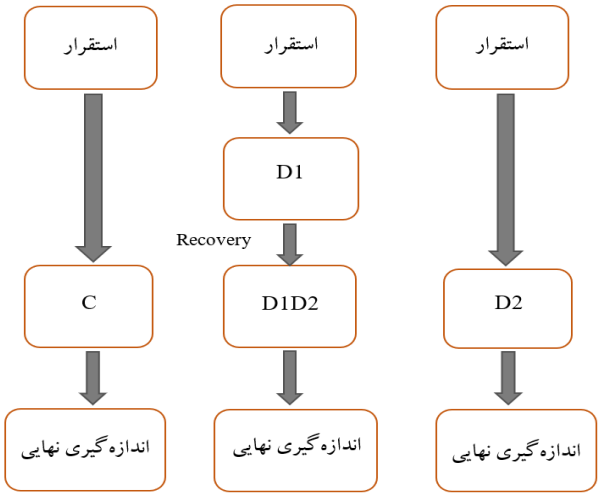
ادامه جدول ۱.

Table 1. (continued)

ژنوتیپ Genotype	کد بانک ژن جمعیت اولیه Primary population gene bank code	منشأ جمعیت اولیه Primary population origin
19	2000/18	مرکز تحقیقات بیوتکنولوژی شهید فزوه اصفهان Shahid Fozveh Biotechnology Research Center, Isfahan
20	2000/60	ایران – سمنان Iran – Semnan
21	RCAT041861	خارجی – مجارستان Hungarian – foreign
22	2000/40	اصفهان – سمیرم Isfahan – Semiram
23	2000/4	مرکز تحقیقات بیوتکنولوژی شهید فزوه اصفهان Shahid Fozveh Biotechnology Research Center, Isfahan
24	-	مرکز تحقیقات بیوتکنولوژی شهید فزوه اصفهان Shahid Fozveh Biotechnology Research Center, Isfahan
26	2000/18-2	مرکز تحقیقات بیوتکنولوژی شهید فزوه اصفهان Shahid Fozveh Biotechnology Research Center, Isfahan
27	2000/18-2	مرکز تحقیقات بیوتکنولوژی شهید فزوه اصفهان Shahid Fozveh Biotechnology Research Center, Isfahan
28	RCAT0041016	خارجی – مجارستان Hungarian – foreign
29	RCAT042133	خارجی – مجارستان Hungarian – foreign
31	2000/10	ایران – کردستان Iran – Kurdistan
32	RCAT041861	خارجی – مجارستان Hungarian – foreign
33	RCAT064835	خارجی – مجارستان Hungarian – foreign
34	RCAT064837	خارجی – مجارستان Hungarian – foreign
35	RCAT064837	خارجی – مجارستان Hungarian – foreign
36	RCAT064837	خارجی – مجارستان Hungarian – foreign

فاکتوریل در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی با دو تکرار به‌صورت آزمایش گلدانی در گلخانه ارزیابی شدند. فاکتور اول در این آزمایش، سطح رطوبتی و فاکتور دوم، ژنوتیپ‌های مورد بررسی بودند. بدین منظور ۱۹۸ واحد آزمایشی (گلدان) به‌صورت یکسان تهیه شدند. واحدهای آزمایشی، گلدان‌های پلاستیکی به قطر ۱۰ سانتی‌متر و ارتفاع ۲۰ سانتی‌متر در نظر گرفته شدند. کشت گیاهان در ۱۵ بهمن‌ماه سال ۹۷ انجام شده و اعمال تنش از ۱۵ فروردین‌ماه سال ۹۸ صورت گرفت و گیاهان در اوایل خرداد ۹۸ برداشت شدند. در هر گلدان پنج بوته مورد بررسی قرار گرفت. بدین منظور پس از کشت بذور در گلدان‌ها، تا مرحله استقرار کامل گیاهچه (حدود دو ماه)، آبیاری تمامی گلدان‌ها، با لحاظ ۵۰ درصد تخلیه آب قابل استفاده (MAD برابر ۰/۵) و بدون درنظرگرفتن نوع تیمار آبیاری، انجام گرفت. پس از آن، تنش اولیه (D_1) به‌صورت تنش خشکی اولیه به مدت دو هفته اعمال شد. گیاهانی که یک‌بار تنش خشکی اولیه را تجربه نموده‌اند، پس از یک دوره استراحت (به مدت سه هفته)، تحت تیمار تنش خشکی ثانویه به مدت دو هفته قرار گرفتند؛ بنابراین این تیمار با نماد (D_1D_2) نام‌گذاری شد (به‌صورت تنش خشکی اولیه و ثانویه). این در حالی است که در تیمار D2 اعمال تنش تنها در انتهای دوره به مدت دو هفته اعمال شد و سپس اندازه‌گیری صفات انجام گرفت. در تیمار شاهد هیچ‌گونه تنشی تا پایان دوره رشد رویشی گیاه اعمال نشد (Pirnajmedin et al. 2017) (شکل ۲).

به‌منظور اعمال تیمارهای آبیاری شاهد و تنش خشکی، ابتدا FC و PWP خاک پیش از آزمایش اندازه‌گیری شد و بر اساس بافت خاک با استفاده از نرم‌افزار Rosetta تصحیح شد (Schaap et al., 2001) که به‌ترتیب برابر ۹/۵ و ۵/۵ درصد وزنی بود. برای اعمال تیمارها ابتدا تعداد مشخصی گلدان (۸ گلدان) در هر تیمار را با ترازو وزن نموده و سپس میانگین مقدار رطوبت خاک آن‌ها محاسبه شد. بر این اساس درصد رطوبت وزنی خاک برای شرایطی که مقدار رطوبت خاک به شرایط رطوبتی FC، تخلیه ۵۰ (MAD=۰/۵) و ۸۰ درصد (MAD=۰/۸) آب



شکل ۲. نمای شماتیک مراحل اعمال تنش خشکی در گیاه برموگراس نرم

Fig. 2. Schematic view of the stages of applying drought stress in smooth bromegrass

قابل استفاده می‌رسید وزن گلدان‌ها تعیین شد تا برای تعیین زمان و مقدار آب آبیاری استفاده شود؛ بنابراین زمان آبیاری در شرایط شاهد ($MAD_{control}$=۰/۵) هنگامی بود که ۵۰ درصد آب قابل استفاده خاک تخلیه شده بود. برای اعمال تنش خشکی، تخلیه ۸۰ درصد آب قابل استفاده (MAD_{stress}=۰/۸) پیش از آبیاری در نظر گرفته شد (Allen et al., 1998).

صفات مورد بررسی

صفات مورفولوژیک شامل درصد سبزشدن، ارتفاع شاخساره و وزن خشک شاخساره، طول و حجم ریشه، و وزن خشک ریشه و درصد سبزمانی، تعداد پنجه در بوته و همچنین شاخص‌هایی مانند شاخص تحمل تنش (STI) و حساسیت به خشکی (DSI) برای ۳۳ ژنوتیپ مورد بررسی قرار گرفت. چون در این پژوهش ژنوتیپ‌ها در سه محیط رطوبتی شاهد، یک‌بار تنش خشکی و دو بار تنش در گلخانه مورد مقایسه قرار گرفتند، برای ارزیابی واکنش ژنوتیپ‌های برتر، شاخص تحمل و حساسیت به خشکی برای هر دو محیط یک‌بار تنش و دو بار تنش به شرح زیر محاسبه گردید.

شاخص تحمل تنش (STI) به منظور شناسایی ژنوتیپ‌های دارای عملکرد زیاد در دو محیط تنش و بدون تنش از سایر ژنوتیپ‌ها پیشنهاد شده است که با رابطه زیر محاسبه شد (Fernandez et al., 1992):

$$STI = (Ysi \times Ypi) / (Ymp)^2 \quad (۱)$$

در این رابطه، Ypi عملکرد هر ژنوتیپ در شرایط بدون تنش، Ysi عملکرد هر ژنوتیپ در شرایط تنش و Ymp میانگین عملکرد کلیه ژنوتیپ‌ها در شرایط بدون تنش است. مقدار بزرگ‌تر شاخص STI برای یک ژنوتیپ نمایانگر تحمل تنش بیش‌تر و عملکرد بالقوه بیش‌تر آن ژنوتیپ است.

همچنین شاخص حساسیت به خشکی (DSI) به‌صورت زیر محاسبه شد (Dencic et al., 2000):

$$DSI= [1-Ysi / (Ypi)] / [1-(Yms / Ymp)] \quad (۲)$$

در این رابطه، Yms میانگین عملکرد کلیه ژنوتیپ‌ها در شرایط تنش است، همچنین کمّیت‌های Ypi، Ymp و Ysi پیش از این تعریف شده است. مقادیر بزرگ DSI بیان‌کننده حساسیت بیش تر به تنش است؛ بنابراین هر چه شاخص DSI کوچک‌تر باشد حساسیت به خشکی ژنوتیپ کم‌تر بوده و مطلوب‌تر است. به عبارت دیگر ژنوتیپ‌های دارای شاخص DSI کم، دارای میانگین عملکرد زیادی در هر دو محیط تنش و عدم تنش می‌باشند.

نتایج و بحث

نتایج تجزیه واریانس نشان داد که تیمارهای رطوبتی تأثیر معنی داری بر همه صفات مورد بررسی (به‌جز تعداد پنجه در بوته و حجم ریشه) داشته است. بین ژنوتیپ‌ها از نظر صفات اندازه‌گیری شده تفاوت معنی‌داری وجود داشت و بیان‌گر تنوع زیاد بین ژنوتیپ‌ها از نظر صفات مورفولوژیک است که می‌تواند در بهبود انتخاب مؤثر باشد. برهم‌کنش تیمار رطوبتی و ژنوتیپ برای همه صفات به غیر از درصد خشکیدگی، تعداد پنجه در بوته، ارتفاع بوته و عملکرد علوفه خشک در سطح احتمال ۵ و ۱ درصد معنی‌دار بود. وجود برهم‌کنش ژنوتیپ و تیمار رطوبتی نشان داد که واکنش ژنوتیپ‌ها در تیمارهای رطوبتی مختلف، یکسان نبوده است (نتایج نشان داده نشده است).

درصد خشکیدگی، تعداد پنجه در بوته و ارتفاع بوته

نتایج مقایسه میانگین تیمارهای رطوبتی برای درصد خشکیدگی نشان داد که بین تیمار شاهد با دو محیط رطوبتی از نظر صفت درصد خشکیدگی تفاوت معنی‌داری وجود داشت (جدول ۲). میانگین درصد خشکیدگی از ۳۰/۷۲ گرم در بوته در سطح شاهد به‌ترتیب به ۴۲/۰۷ و ۴۴/۷۰ گرم در بوته در شرایط یک‌بار تنش و دو بار تنش افزایش یافت. نتایج مقایسه میانگین تیمارهای رطوبتی بین سه محیط رطوبتی نشان داد برای صفت ارتفاع بوته، عملکرد خشک علوفه و وزن خشک ریشه تفاوت معنی‌داری وجود دارد، در حالی برای بقیه صفات تفاوت معنی داری بین یک بار تنش و دوبار تنش هم مشاهده نشده است (جدول ۲). به‌طوری‌که میانگین ارتفاع بوته از سطح شاهد به سطح یک‌بار تنش و دو بار تنش به‌ترتیب به میزان ۲۰/۹۷ و ۲۶/۹۱ درصد کاهش معنی‌دار یافت. پژوهش‌های دیگر نیز کاهش ارتفاع بوته در اثر تنش خشکی در گیاهان علوفه‌ای از جمله بروموگراس نرم و داکتیلیس را ثابت کرده‌اند (Pirnajmedin et al., 2018).

عملکرد خشک علوفه و وزن خشک ریشه

میانگین عملکرد خشک علوفه در شرایط یک‌بار تنش و دو بار تنش نسبت به شاهد کاهش معنی‌داری نشان داد. به‌طوری‌که میانگین عملکرد خشک علوفه از ۱/۰۶ گرم در بوته در سطح شاهد به ۰/۸۸ گرم در بوته در سطح یک‌بار تنش و ۱/۰۲ گرم در بوته در سطح دو بار تنش رسید که به ترتیب ۱۷/۰ و ۳/۷ درصد کاهش نسبت به شاهد نشان داد (جدول ۲). در بررسی تأثیر تنش خشکی بر گراس‌ها، پژوهشگران زیادی کاهش عملکرد علوفه خشک را گزارش نمودند که با نتایج پژوهش حاضر هماهنگی دارد (Irani et al., 2015; Saeidnia et al.,

جدول ۲. مقایسه میانگین صفات مورفولوژیک ۳۳ ژنوتیپ برموگراس نرم تحت سه تیمار رطوبتی.

Table 2. Mean comparison of morphological traits in 33 smooth bromegrass genotypes under three moisture treatments.

صفات	شاهد (C) Control	یک‌بار تنش (D_2) Once stressed	دو بار تنش (D_1D_2) Twice stressed
درصد خشکیدگی (%) Drying percentage (%)	30.72^{b}	42.07^{a}	44.70^{a}
تعداد پنجه در بوته Number of claws per plant	2.71^{a}	2.62^{a}	2.65^{a}
ارتفاع بوته (cm) Plant height (cm)	44.96^{a}	35.53^{b}	32.86^{c}
عملکرد خشک علوفه (گرم در بوته) Dry yield of forage (g per plant)	1.60^{a}	0.88^{c}	1.02^{b}
وزن خشک ریشه (گرم در بوته) Root dry weight (g per plant)	1.76^{a}	1.20^{c}	1.43^{b}
نسبت ریشه به شاخساره Root to shoot ratio	1.49^{a}	1.42^{ab}	1.31^{b}
حجم ریشه (سانتی‌متر مکعب در بوته) Root volume (cm^3 per plant)	5.14^{a}	4.65^{a}	5.08^{a}
طول ریشه (سانتی‌متر در بوته) Root length (cm per plant)	41.37^{a}	32.64^{b}	33.43^{b}

در هر ردیف، میانگین‌هایی که دارای حروف مشترک هستند بر اساس آزمون LSD در سطح ۵ درصد اختلاف معنی‌دار ندارند.
In each row, numbers with similar letters are not significantly different based on the LSD test ($p < 0.5$).

2017). کاهش تولید در گراس‌ها ناشی از کاهش فتوسنتز در اثر تنش خشکی، کاهش آماس، رشد سلولی و کاهش سطح (لوله‌ای شدن) برگ‌ها و همچنین تولید و افزایش رادیکال‌های آزاد اکسیژن است (Jiang et al., 2001). در اکثر گراس‌ها، کاهش اندازه بخش هوایی یک مکانیسم سازگاری با شرایط تنش خشکی شدید است (Karcher et al., 2007). برخی دانشمندان علت کاهش عملکرد علوفه فسکیوی بلند در شرایط تنش خشکی را ناشی از کاهش تعداد ساقه در گیاه، ارتفاع گیاه و همچنین کاهش میزان فتوسنتز و رشد سلولی دانسته‌اند (Ebrahimiyan et al., 2013). Abid et al. (2018) با بررسی تأثیر حافظه تنش بر بذر گیاه گندم (*Triticum aestivum* L.) پس از جوانه‌زنی، نتایجی مشابه پژوهش حاضر گزارش کردند. آن‌ها بیان کردند مقدار کاهش عملکرد دانه در گیاهان یک‌بار تنش بیش‌تر از گیاهان دو بار تنش بود. Tabassum et al. (2017) با بررسی اثر حافظه تنش بر نسل‌های مورد مطالعه به‌منظور بهبود تحمل تنش شوری در گندم نان نتایج مشابهی گزارش نمودند.

نتایج مقایسه میانگین نشان داد بین سه محیط رطوبتی از نظر صفت وزن خشک ریشه تفاوت معنی‌داری وجود داشت (جدول ۲). میانگین وزن خشک ریشه از ۱/۶۷ گرم در بوته در سطح شاهد به ۱/۰۲ گرم در بوته در سطح یک‌بار تنش و ۱/۳۴ گرم در بوته در سطح دو بار تنش رسید که به‌ترتیب ۸/۳۱ و ۸/۱۸ درصد نسبت به شاهد کاهش معنی‌دار یافت (جدول ۲)؛ بنابراین بدیهی است که گسترش و افزایش وزن ریشه و دیگر صفات ریشه‌ای در گونه برموگراس نرم تحت شرایط تنش خشکی می‌تواند به‌عنوان سازوکار اجتناب از خشکی در این

گیاه مطرح گردد. نتایج این پژوهش با یافته‌های Abid et al. (2018) هم‌خوانی دارد.

نسبت وزن ریشه به شاخساره، حجم و طول ریشه

نتایج مقایسه میانگین محیط‌های رطوبتی نشان داد بین شاهد و سطح دو بار تنش از نظر صفت نسبت وزن ریشه به شاخساره تفاوت معنی‌داری وجود داشت (جدول ۲). میانگین نسبت وزن ریشه به شاخساره در شرایط شاهد با یک‌بار تنش اختلاف معنی داری نشان نداد (جدول ۲). افزایش نسبت وزن ریشه به ساقه در اثر تنش رطوبتی در پژوهش Guo et al. (2002) نیز گزارش شده است. میانگین حجم ریشه در سطح دو بار تنش نسبت به یک‌بار تنش کاهش کم‌تری نشان داد اگرچه تفاوت معنی‌دار نبود. در پژوهش دیگری افزایش حجم ریشه در شرایط تنش خشکی یکی از مهم‌ترین سازوکارهای افزایش جذب آب توسط ریشه گزارش شده است (Noiraud et al., 2000). نتایج مقایسه میانگین محیط‌های رطوبتی برای صفت طول ریشه نشان داد بین سطح شاهد با دو محیط رطوبتی یک‌بار تنش و دو بار تنش تفاوت معنی‌داری وجود داشت (جدول ۲). میانگین طول ریشه در سطوح یک‌بار تنش و دو بار تنش نسبت به سطح شاهد کاهش معنی‌داری نشان داد (جدول ۲). Nosalewicz et al. (2018) با بررسی دو گونه از گراس‌ها، نتایج مشابهی گزارش کردند.

مقایسه میانگین بین ژنوتیپ‌ها

نتایج مقایسه میانگین ۳۳ ژنوتیپ (جدول ۳) نشان داد کم‌ترین مقادیر عملکرد خشک علوفه در ژنوتیپ‌های ۷ و ۳۲ در سطح شاهد، ۴، ۱۰ و ۲۰ در سطح یک‌بار تنش و ۱۴، ۲۱ و ۳۲ در سطح دو بار تنش مشاهده شد. بیش‌ترین مقادیر این صفت متعلق به ژنوتیپ‌های ۲۲، ۲۳ و ۳۳ در سطح شاهد، ۲۲، ۲۶ و ۳۴ در سطح یک‌بار تنش و ۸، ۲۰، ۲۸ و ۳۳ در سطح دو بار تنش بود. کم‌ترین مقادیر میانگین وزن خشک ریشه متعلق به ژنوتیپ‌های ۷، ۱۴ و ۳۲ در سطح شاهد، ۴، ۵ و ۲۸ در سطح یک‌بار تنش و ۱۴، ۲۱ و ۳۲ در سطح دو بار تنش است. بیش ترین مقادیر این صفت در ژنوتیپ‌های ۱۰، ۲۲ و ۳۳ در سطح شاهد، ۱۶ و ۳۴ در سطح یک‌بار تنش و ۱۸، ۲۳ و ۳۵ در سطح دو بار تنش مشاهده شد.

مقایسه میانگین شاخص‌های تحمل خشکی (STI) و حساسیت به خشکی (DSI)

نتایج مقایسه میانگین ژنوتیپ‌ها برای شاخص‌های تحمل و حساسیت به خشکی در محیط‌های رطوبتی (یک‌بار تنش و دو بار تنش) در جدول (۴) ارائه شده است. کم‌ترین مقادیر شاخص تحمل خشکی در ژنوتیپ ۷ در سطح یک‌بار تنش و ژنوتیپ‌های ۱۴، ۲۱ و ۳۲ در سطح دو بار تنش مشاهده شد که بیانگر این است که این ژنوتیپ‌های حساسیت بیش‌تری به شرایط کم‌آبی دارند. بیش‌ترین مقادیر این شاخص مربوط به ژنوتیپ‌های ۲۲، ۲۷، ۳۳ و ۳۴ در سطح یک‌بار تنش و ژنوتیپ‌های ۸، ۲۰، ۲۳ و ۳۳ در سطح دو بار تنش بود که نشان‌دهنده بیش‌ترین تحمل این ژنوتیپ‌ها به تنش کم‌آبی است. کم‌ترین مقادیر شاخص حساسیت به خشکی مربوط به ژنوتیپ‌های ۶، ۷، ۱۴، ۳۱ و ۳۲ در سطح یک‌بار تنش و ژنوتیپ‌های ۳، ۷، ۱۴، ۲۸ و ۳۱ در سطح دو بار تنش بود که بر اساس این شاخص این ژنوتیپ‌ها در شرایط کم‌آبی مطلوب‌تر هستند. بیش‌ترین مقادیر شاخص حساسیت به خشکی مربوط به ژنوتیپ‌های ۲، ۱۰، ۲۰ و ۲۴ در سطح یک‌بار تنش وژنوتیپ‌های ۲۱، ۲۲ و ۲۴ در سطح دو بار تنش بود. این نتایج نشان‌دهنده حساسیت بیش‌تر این ژنوتیپ‌ها نسبت به تنش کم‌آبی است. به‌طور کلی برای شاخص تحمل تنش در شرایط یک‌بار تنش ژنوتیپ‌های (۲، ۱۳، ۱۷ و ۲۹)، (۶ و ۱۰)، (۱۴ و ۲۰)، (۲۱ و ۲۶) و در شرایط دو بار تنش ژنوتیپ‌های (۳ و ۴) و (۱۸، ۱۹ و ۲۲) با هم تفاوتی نداشتند. همچنین بر اساس شاخص حساسیت به خشکی در شرایط دو بار تنش، ژنوتیپ‌های (۲ و ۳۴)، (۱ و ۵) و (۱۵، ۱۸) وضعیت یکسانی داشتند. Abtahi et al. (2018) شاخص تحمل تنش را در

جدول ۳. مقایسه میانگین برهم‌کنش ژنوتیپ و تیمار خشکی برای عملکرد خشک علوفه و وزن خشک ریشه برموگراس نرم.

Table 3. Mean comparison of the interaction of genotype and drought treatment for dry matter yield and root dry weight of smooth bromegrass.

وزن خشک ریشه (گرم در بوته) Root dry weight (g per plant)			عملکرد خشک علوفه (گرم در بوته) Dry matter yield (g per plant)			
دو بار تنش (D_1D_2) Twice stressed	یک‌بار تنش (D_2) Once stressed	شاهد (C) Control	دو بار تنش (D_1D_2) Twice stressed	یک‌بار تنش (D_2) Once stressed	شاهد (C) Control	کد ژنوتیپ Genotype code
1.21	1.11	1.37	0.81	0.89	1.33	1
1.51	1.25	2.04	1.11	0.69	1.98	2
1.35	1.32	1.49	1.21	0.97	1.34	3
1.64	0.69	2.05	1.04	0.59	1.54	4
1.51	0.87	1.95	1.07	0.75	1.92	5
1.36	1.60	1.02	0.80	1.04	1.10	6
1.49	0.95	0.89	0.96	0.67	0.78	7
1.58	1.31	2.45	1.51	0.89	1.84	8
1.66	0.93	1.49	1.12	0.79	1.32	9
1.60	0.82	2.60	1.13	0.63	1.80	10
1.42	1.07	1.39	1.01	0.66	1.39	11
1.55	0.96	2.01	1.32	0.89	1.61	13
0.81	1.07	0.97	0.70	0.93	1.10	14
1.45	1.43	1.74	1.02	0.96	1.64	15
1.30	1.69	1.33	0.77	1.05	1.56	16
1.23	1.55	1.32	0.78	1.03	1.37	17
1.74	1.32	1.82	1.15	0.87	1.55	18
1.40	1.12	2.16	1.07	0.75	1.72	19
1.57	1.00	1.97	1.31	0.59	1.95	20
1.07	1.24	2.15	0.32	1.03	1.93	21
1.27	1.61	2.59	0.85	1.27	2.22	22
1.75	1.44	1.91	1.30	0.88	2.15	23
1.38	1.09	1.98	0.79	0.77	2.11	24
1.51	1.43	1.71	1.17	1.28	1.67	26
1.55	1.17	2.09	1.10	1.09	1.92	27
1.57	0.80	1.42	1.40	0.73	1.28	28
1.28	0.98	2.15	0.83	0.86	1.68	29
1.47	1.18	1.19	1.23	1.08	1.07	31
0.93	1.48	1.01	0.53	0.98	0.81	32
1.34	1.51	2.86	1.31	1.03	2.45	33
1.34	1.66	1.92	0.96	1.28	1.73	34
1.70	1.06	1.33	1.29	0.64	1.44	35
1.63	1.12	1.66	0.95	0.70	1.70	36
0.64	0.63	0.94	0.66	0.45	0.75	$LSD_{0.05}$

جدول ۴. مقایسه میانگین ۳۳ ژنوتیپ برای شاخص تحمل تنش (STI) و حساسیت به خشکی (DSI) در دو محیط رطوبتی یک‌بار تنش (D_2) و دو بار تنش (D_1D_2).

Table 4. Mean comparison of 33 genotypes for stress tolerance index (STI) and drought sensitivity index (DSI) in two water environments of once stressed (D_2) and twice stressed (D_1D_2).

(D_1D_2)		(D_2)		کد ژنوتیپ
DSI	STI	DSI	STI	Genotype code
1.08	0.42	0.73	0.46	1
1.26	0.91	1.45	0.56	2
-0.15	0.63	0.34	0.50	3
0.91	0.63	1.38	0.35	4
1.08	0.77	1.27	0.54	5
0.55	0.34	-0.13	0.44	6
-1.10	0.28	-0.15	0.18	7
0.49	1.09	1.16	0.65	8
0.39	0.57	0.86	0.40	9
1.04	0.81	1.45	0.44	10
0.84	0.57	1.18	0.36	11
0.57	0.90	0.91	0.56	13
-0.69	0.21	-0.51	0.42	14
0.79	0.59	0.83	0.60	15
1.22	0.43	0.77	0.68	16
1.17	0.41	0.59	0.56	17
0.79	0.74	0.92	0.52	18
1.03	0.74	1.29	0.54	19
0.83	1.00	1.49	0.42	20
2.31	0.24	1.04	0.78	21
1.68	0.74	0.93	1.09	22
1.06	1.13	1.31	0.74	23
1.72	0.65	1.41	0.64	24
0.78	0.80	0.26	0.78	26
1.24	0.85	0.98	0.83	27
-0.59	0.66	0.75	0.32	28
1.40	0.56	1.08	0.56	29
-0.51	0.51	-0.04	0.46	31
0.63	0.15	-0.68	0.31	32
1.34	1.29	1.30	0.99	33
1.26	0.67	0.57	0.88	34
0.21	0.71	1.22	0.36	35
1.13	0.68	1.19	0.47	36
1.10	0.45	0.81	0.31	$LSD_{0.05}$

شرایط تنش در گیاه داکتی‌لیس بررسی نموده و ژنوتیپ‌های مقاوم را معرفی نمودند. Majidi et al. (2016) کاربرد شاخص‌های تحمل و حساسیت به تنش را در انتخاب هم‌زمان بذر و علوفه گیاه داکتی‌لیس مورد بررسی قرار دادند. Pirnajmedin et al. (2017) نیز با بررسی تجزیه ژنتیکی صفات ریشه‌ای و فیزیولوژیک در گیاه فسکیوی بلند تحت شرایط خشکی، همبستگی بین شاخص‌های تحمل و حساسیت به خشکی را با صفات ریشه‌ای مورد بررسی قرار دادند.

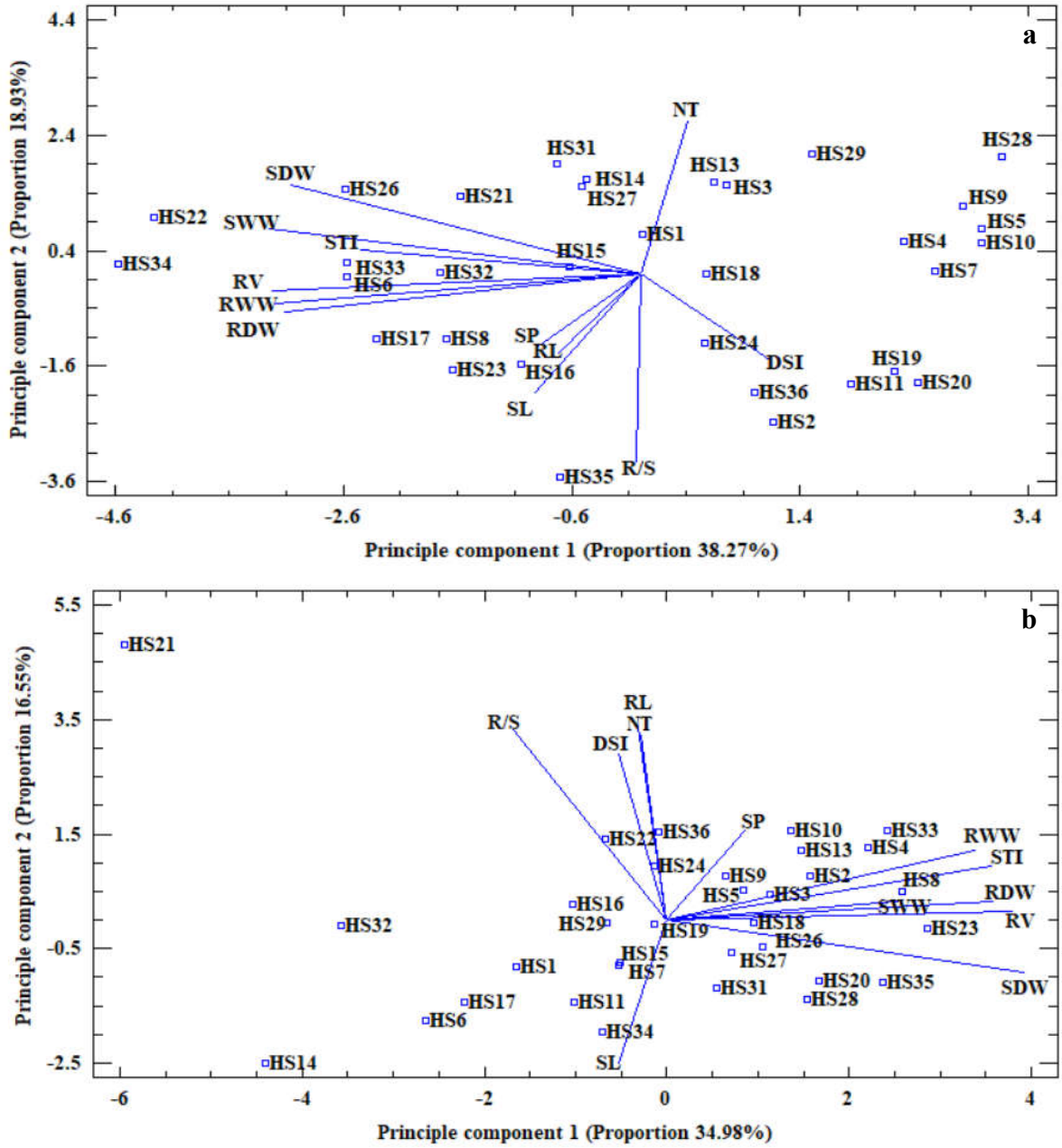
تحلیل مؤلفه‌های اصلی و ترسیم بای‌پلات

با هدف بررسی هم‌زمان و درک بهتر روابط بین صفات ریشه‌ای و عملکرد علوفه خشک، از تجزیه به مؤلفه‌های اصلی در سه محیط رطوبتی استفاده شد (شکل ۳). دو مؤلفه اول بیش از ۶۰/۶۱، ۲۰/۵۷ و ۵۳/۵۱ درصد از کل تغییرات را به‌ترتیب در سطح شاهد، یک‌بار تنش و دو بار تنش توجیه نمودند.

تحت شرایط یک‌بار تنش، مؤلفه اول همبستگی منفی و معنی‌داری با حجم ریشه (RV)، وزن خشک ریشه (RDW)، وزن خشک شاخساره (SDW) و شاخص تحمل تنش نشان داد. از این رو انتخاب بر اساس مقادیر کم مؤلفه اول منجر به گزینش ژنوتیپ‌هایی با سیستم ریشه‌ای گسترده و عملکرد علوفه خشک زیاد می‌گردد. مؤلفه دوم همبستگی منفی و معنی‌داری با درصد خشکیدگی (SP)، طول ریشه (RL)، ارتفاع بوته (SL) و نسبت وزن ریشه با شاخساره (R.S) و شاخص حساسیت به خشکی نشان داد. تحت این شرایط انتخاب بر اساس مقادیر کم مؤلفه دوم مطلوب خواهد بود. نتایج تجزیه به مولفه‌های اصلی تحت شرایط یک‌بار تنش (شکل ۳) نشان داد که ژنوتیپ‌های ۶، ۲۲، ۲۶، ۳۳ و ۳۴ از مؤلفه اول کم و مؤلفه دوم زیادی برخوردار هستند که به‌عنوان ژنوتیپ‌های مطلوب تحت این شرایط شناسایی شدند. در سطح دو بار تنش مؤلفه اول همبستگی مثبت و معنی‌داری با صفات حجم ریشه، وزن خشک ریشه، وزن خشک شاخساره و شاخص تحمل تنش داشت؛ مؤلفه دوم همبستگی مثبت و معنی‌داری با صفات تعداد پنجه در بوته (NT)، RL، نسبت R.S و شاخص حساسیت به خشکی و درصد خشکیدگی نشان داد. بر اساس نمودار مربوط به شرایط دو بار تنش (شکل ۳) ژنوتیپ‌های ۴، ۸، ۲۳، ۳۳، و ۳۵ به‌عنوان ژنوتیپ‌های مطلوب تحت این شرایط شناسایی شدند. در هر دو سطح یک‌بار تنش و دو بار تنش، شاخص تحمل تنش با صفات وزن خشک ریشه، وزن خشک شاخساره همبستگی مثبت داشت. شاخص حساسیت به خشکی همبستگی منفی با این صفات نشان داد (شکل ۳). Pirnajmedin et al. (2017) با بررسی صفات ریشه‌ای در گیاه فسکیوی بلند تحت شرایط تنش رطوبتی درازمدت بین صفات ریشه‌ای و تحمل خشکی در شرایط شاهد و تنش رطوبتی همبستگی مثبتی گزارش کردند. همچنین آن‌ها بین صفات ریشه‌ای با عملکرد علوفه تحت شرایط تنش همبستگی مثبت مشاهده کردند که با نتایج پژوهش حاضر هم‌خوانی دارد. Saeidnia et al. (2020) نیز در شرایط تنش، همبستگی مثبتی بین شاخص تحمل تنش و عملکرد ماده خشک گزارش کردند.

نتیجه‌گیری کلی

بر اساس نتایج این پژوهش تنوع ژنتیکی زیادی بین ژنوتیپ‌های بروموگراس نرم از نظر صفات مورفولوژیک وجود دارد که می‌تواند در بهبود روش‌های انتخاب مؤثر باشد. نتایج همچنین نشان داد که گیاه بروموگراس نرم پاسخ‌های متنوعی را تحت شرایط دو بار تنش خشکی نسبت به‌یک‌بار تنش نشان می‌دهد. از طرفی حافظه تنش در این گیاه از طریق تأثیر بر عملکرد خشک علوفه و وزن خشک ریشه نقش مهمی را ایفا می‌کند. نتایج مقایسه میانگین تیمارهای رطوبتی نشان داد تحت تنش خشکی، مقدار عملکرد خشک علوفه و وزن خشک ریشه در شرایط دو بار تنش نسبت به‌یک‌بار تنش کاهش کم‌تری داشت. این یافته نشان می‌دهد سازوکارهای مرتبط با حافظه تنش با اعمال تنش خشکی فعال شده و به گیاه کمک می‌کند در شرایطی که مجدداً تنش را تجربه می‌کند از لحاظ مقدار عملکرد کاهش کم‌تری داشته باشد. به‌طور کلی نتایج پژوهش حاضر



شکل ۳. بای‌پلات مؤلفه‌های اول و دوم صفات مورفولوژیک برای ۳۳ ژنوتیپ بروموگراس نرم در سطح یک‌بار تنش خشکی (D2) (a) و دو بار تنش خشکی (D1D2) (b).

Fig. 3. Biplot of the first and second principle components of morphological traits for 33 smooth bromegrass genotypes in one time drought stress (D2) (a) and two times drought stress (D1D2) (b).

تأیید می‌کند که این گیاه از پدیده حافظه در پاسخ به تنش خشکی بهره می‌برد ولی واکنش ژنوتیپ‌های مختلف یکسان نبود. کم‌ترین مقادیر میانگین صفات مورفولوژیک (عملکرد خشک علوفه، وزن خشک ریشه و حجم ریشه) در ژنوتیپ‌های ۷، ۲۱ و ۳۲ در شرایط یک‌بار تنش مشاهده شد. همچنین ژنوتیپ‌های ۱۳ و ۳۱ در شرایط یک‌بار تنش و ژنوتیپ‌های ۱ و ۲۲ در شرایط دو بار تنش کم‌ترین مقادیر نسبت وزن ریشه به شاخساره را داشتند. ژنوتیپ‌های ۳۱ و ۳۳ در محیط شاهد و

ژنوتیپ‌های ۳۳ و ۳۴ در شرایط یک‌بار تنش برای صفت حجم ریشه و ژنوتیپ‌های ۲۶ و ۳۴ در شرایط یک‌بار تنش و ژنوتیپ‌های ۲۰ و ۳۳ در شرایط دو بار تنش بیش‌ترین مقادیر عملکرد خشک علوفه را نشان دادند. در مجموع ژنوتیپ‌های ۶، ۲۲، ۲۶، ۳۳ و ۳۴ در شرایط یک‌بار تنش و ژنوتیپ‌های ۴، ۸، ۲۳، ۳۳ و ۳۵ در شرایط دو بار تنش به‌عنوان ژنوتیپ‌های مطلوب شناسایی شدند. همچنین نمودار تحلیل مولفه‌های اصلی نشان داد که تحت شرایط دو بار تنش، روابط صفات نسبت به دو محیط رطوبتی دیگر دستخوش تغییرات شدیدی شده است که تأییدی بر اثرگذاری تنش اولیه و حافظه تنش است. نتایج این پژوهش می‌توانند در برنامه‌های به‌نژادی و پژوهش‌های ژنتیکی آینده مورداستفاده قرار گیرند. همچنین پیشنهاد می‌شود ژنوتیپ‌های مطلوب شناسایی‌شده در پژوهش حاضر، در شرایط مزرعه و طی چند سال مورد مطالعه قرار گیرند.

تشکر و سپاسگزاری

هزینه‌های این پژوهش توسط دانشگاه صنعتی اصفهان تأمین شده است که بدین وسیله تشکر می‌گردد.

تضاد منافع

نویسندگان مقاله اذعان دارند هیچ‌گونه تضاد منافعی با شخص، شرکت یا سازمانی برای این پژوهش ندارند.

منابع مورد استفاده

1. Abid, M., Hakeem, A., Shao, Y., Liu, Y., Zahoor, R., Fan, Y., Suyu, J., Ata-Ul-Karim, S. T., Tian, Z., Jiang, D., John, L., Dai, S.T., 2018. Seed osmopriming invokes stress memory against post-germinative drought stress in wheat (*Triticum aestivum* L.). Environ. Exp. Bot. 145, 12–20.
2. Abid, M., Shao, Y., Liu, S., Wang, F., Gao, J., Jiang, D., Tian, Z., Dai, T., 2017. Pre-drought priming sustains grain development under postanthesis drought stress by regulating the growth hormones in winter wheat (*Triticum aestivum* L.). Planta 246, 509–524.
3. Abtahi, M., Majidi, M.M., Hoseini, B., Mirlohi, A., Araghi, B., Hughes, N., 2018. Genetic variation in an *Orchardgrass* population promises successful direct or indirect selection of superior drought tolerant genotypes. Plant Breeding 137, 928–935.
4. Allen, R.G., Pereira, L. S., Raes, D., Smith, M., 1998. Crop Evapotranspiration: Guidelines for Computing Crop Water Requirements, Irrigation and Drainage, No. 56, FAO, Rome.
5. Askari, E., Ehsanzadeh, P., 2015. Osmoregulation-mediated differential responses of field-grown fennel genotypes to drought. Ind. Crop Prod. 76, 494–508.
6. Backhaus, S., Kreyling, J., Grant, K., Beierkuhnlein, C., Walter, J., Jentsch, A., 2014. Recurrent Mild Drought Events Increase Resistance Toward Extreme Drought Stress, Springer Science and Business Media, New York.
7. Bruce, T.J., Matthes, M.C., Napier, J.A., Pickett, J.A., 2007. Stressful "memories" of plants: evidence and possible mechanisms. Plant Sci. 17, 603–608.
8. Casler, M.D., Vogel, K.P., Balasko, J.A., Berdhal, J.D., Miller, D.A., Hansen, J.L., Frits, J.O., 2000. Genetic progress from 50 years of *Smooth bromegrass* breeding. Crop Sci. 40, 13–22.
9. Dencic, S., Kastori, R., Kobiljski, B., Duggan, B., 2000. Evaluation of grain yield and its components in wheat cultivates and landraces under near optimal and drought conditions. Euphytica 113, 43–52.
10. Ding, Y., Fromm, M., Avramova, Z., 2012. Multiple exposures to drought 'train' transcriptional responses in *Arabidopsis*. Nat. Commun. 3, 740.
11. Ebrahimiyan, M., Majidi, M.M., Mirlohi, A.F., Noroozi, A., 2013. Physiological traits related to drought tolerance in tall fescue. Euphytica. 190, 401–414.
12. Farooq, M., Wahid, A., Kobayashi, N., Fujita, D., Basra, S.M.A., 2009. Plant drought stress: effects, mechanisms and management. In: Alberola, C., Debaeke, P., Lichtfouse, E., Navarrete, M., Véronique, S. (Eds.), Sustainable Agriculture. Springer, Dordrecht, pp. 153–188.
13. Feil, R., Fraga, M.F., 2012. Epigenetics and the environment: emerging patterns and implications. Nat. Rev. Genet. 13, 97–109.
14. Fernandez, G.C.J., 1992. Effective selection criteria for assessing plant stress tolerance. In: Kuo, C.C. (Ed), International Symposium on Adaptation of Food Crops to Temperature and Water Stress. ACRDC, Shanhua, Taiwan. pp. 257–270.

15. Fleta-Soriano, E., Munné-Bosch, S., 2016. Stress memory and the inevitable effects of drought: a physiological perspective. Front. Plant Sci. 7, 143.
16. Fleta-Soriano, E., Pintó-Marijuan, M., Munné-Bosch, S., 2015. Evidence of drought stress memory in the facultative CAM, *Aptenia cordifolia*: possible role of phytohormones. PloS One. 10(8), e0135391.
17. Grativol, C., Hemerly, A.S., Gomes Ferreira, P.C., 2012. Genetic and epigenetic regulation of stress responses in natural plant populations. Biochim. Biophys. Acta. 1819, 176–185.
18. Guo, G., Liu, S.H.Q., An, S., Ren, X., Lin, R.N., 2002. Effect of limited water supply on root growth and development of winter wheat and the characters of soil moisture use before planting. J. Appl. Meteorol. 13, 621–626.
19. Halluer, A.R., Marcelo, J.C., Miranda, J.B., 2010. Quantitative Genetic in Maize Breeding, Iowa State Univ. Press, Ames, Iowa.
20. Irani, S., Majidi, M.M., Mirlohi, A.F., 2015a. Half-Sib matting and genetic analysis of agronomic, morphological, and physiological traits in sainfoin under nonstressed versus water-deficit conditions. Crop Sci. 55, 123–135.
21. 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. Int. J. Agric. Biol. 11(1), 100–105.
22. Jiang, Y., Huang, B., 2001. Drought and heat stress injury to two cool-season turfgrass in relation to antioxidant metabolism and lipid peroxidation. Crop Sci. 41, 436–442.
23. Karcher, D., Richardson, M., Landreth, J., 2007. Drought tolerance of tall fescue and bluegrass cultivars. Agric. Exp. Stn. Res. Ser. 557, 17–20.
24. Kinoshita, T., Seki, M., 2014. Epigenetic memory for stress response and adaptation in plants. Plant Cell Physiol. 55, 1859–1863.
25. Law, J.A., Jacobsen, S.E., 2010. Establishing, maintaining and modifying DNA methylation patterns in plants and animals. Nat. Rev. Genet. 11, 204–220.
26. Mahajan, S., Narendra, T., 2005. Cold, salinity and drought stresses: An overview. Arch. Biochem. Biophys. 144, 139–158.
27. Majidi, M.M., Hoseini, B., Barati, M., Mirlohi, A., Araghi, B., 2016. Simultaneous selection for seed and forage production in cocksfoot (*Dactylis glomerata*): application of drought tolerance and susceptibility indices. Grass Forage Sci. 72, 441–453.
28. Mohammadi, R., Khayam Nekoei, M., Mirlohi, A., Razmjoo, K., 2006. Study of genetic variation in *Bromus inermis* Leyss. Populations. Iranian J. Rang. Forests Plant Breed Genetic Res., 14(3), 138–147. doi: 10.22092.ijrfpbgr.2006.115061) (In Persian with English abstract)
29. Nguyen, H.T., Sleper, D.A., 1983. Theory and application of half-sib matting in forage grass breeding. Theor. Appl. Genet. 64, 187–196.
30. Noiraud, N., Delrot, S., Lemoine, R., 2000. The sucrose transporter of celery: identification and expression during salt stress. Plant Physiol. 122, 1447–1456.
31. Nosalewicz, A., Siecińska, J., Kondracka, K., Nosalewicz, M., 2018. The functioning of *Festuca arundinacea* and *Lolium perenne* under drought is improved to a different extend by the previous exposure to water deficit. Environ. Exp. Bot. 156, 271–278.
32. Pirnajmedin, F., Majidi, M.M., Saeidi, G., Gheysari, M., Nourbakhsh, V., Radan, Z., 2017a. Genetic analysis of root and physiological traits of tall fescue in association with drought stress conditions. Euphytica 213, 1–16.
33. Pirnajmedin, F., Majidi, M.M., Saeidi, G., Gheysari, M., Volaire, F., Barre, P., Osivand, A.H., Sarfaraz, D., 2017b. Persistence, recovery and root traits of tall fescue genotypes with different flowering date under prolonged water stress. Euphytica 213, 1–15.
34. Pirnajmedin, F., Majidi, M.M., Saeidnia, F., Hoseini, B., Mirlohi, A.F., Abdolahi, M., 2018. Genetics of post-drought recovery, persistence and summer dormancy in orchardgrass (*Dactylis glomerata*). Crop Pasture Sci. 69, 1140–1149.
35. Saeidnia, F., Majidi, M.M., Mirlohi, A.F., Manafi, M., 2017. Productivity, persistence and traits related to drought tolerance in smooth bromegrass. Plant Breeding 136, 270–278.
36. Saeidnia, F., Majidi, M.M., Spanani, S., Abdollahi Bakhtiari, M., Karami, Z., Hughes, N., 2020. Genotypic-specific responses caused by prolonged drought stress in smooth bromegrass (*Bromus inermis*): Interactions with mating systems. Plant Breeding 139, 1029–1041.
37. Schaap, M.G., Leij, F.J., and van Genuchten, M.T. 2001. Rosetta: A computer program for estimating soil hydraulic parameters with hierarchical pedotransfer functions. J. Hydrol. 251, 163–176.
38. Staniak, M., Kocon, A., 2015. Forage grasses under drought stress in conditions of Poland. Acta Physiol. Plant. 37, 1–10.
39. Tabassum, T., Farooq, M., Ahmad, R., Zohaib, A., Wahid, A., 2017. Seed priming and transgenerational drought memory improves tolerance against salt stress in bread wheat. Plant Physiol. Bioch. 118, 362–369.
40. Trewavas, A., 2003. Aspects of plant intelligence. Ann. Bot. 92, 1–20.

41. Virlouvet, L., Ding, Y., Fujii, H., Avramova, Z., Fromm, M., 2014. ABA signaling is necessary but not sufficient for RD29B transcriptional memory during successive dehydration stresses in *Arabidopsis thaliana*. Plant J. 79, 150–161.