





دانشگاه رازی

پردیس کشاورزی و منابع طبیعی
گروه زراعت و اصلاح نباتات

پایان نامه جهت اخذ درجه کارشناسی ارشد رشته ی مهندسی
کشاورزی گرایش اصلاح نباتات

عنوان پایان نامه

ارزیابی مقاومت به خشکی در ژنوتیپ های یولاف زراعی (*Avena sativa*) با استفاده
از شاخص های زراعی، فیزیولوژیکی و متابولیکی

اساتید راهنما

دکتر صحبت بهرامی نژاد

دکتر عزت اله فرشادفر

نگارش

عاطفه ظاهری

شهریور ۱۳۹۰

فصل اول

مقدمه و بررسی منابع

۱-۱ مقدمه

یولاف (*Avena sativa*) یکی از هشت محصول مهم دنیاست (Walsh et al., 2003). تولید جهانی یولاف بیش از ۲۳ میلیون تن می باشد (FAO, 2009)¹. چون یولاف در طول دوره رشد به حدود بیش از ۵۰۰ میلیمتر آب نیاز دارد، زراعت آن در ایران رواج چندانی ندارد و به مقدار بسیار کم در شمال و غرب کشور کاشته می شود (خدابنده، ۱۳۸۷).

کشور ما در یکی از مناطق بسیار خشک جهان واقع شده است. متوسط میزان بارش سالانه آن ۲۵۰ میلی متر است که حدود یک سوم متوسط میزان بارش جهانی می باشد. علاوه بر خشک بودن، ایران کشوری مستعد خشکسالی است و میزان خسارت خشکسالی به علت کاهش سرانه آب قابل دسترس ناشی از افزایش جمعیت، تغییر اقلیم و بهره برداری بیش از حد و کاهش کیفی منابع آب موجود (شوری و آلودگی) در حال افزایش است (حیدری شریف آباد، ۱۳۸۷).

تنش خشکی فقط در مواردی که باران به طور دراز مدت یا کوتاه مدت قطع شود اتفاق نمی افتد، بلکه در مواردی هم که میزان تعرق از میزان جذب آب به وسیله ریشه فزونی می گیرد، حتی با وجود آب قابل مصرف کافی در خاک، پیش می آید و رشد گیاه را تحت تأثیر قرار می دهد (کاظمی، ۱۳۸۷).

ارقام متحمل به خشکی ارقامی هستند که به طور نسبی در مقابل خشکی مقاومت می کنند و کاهش عملکرد چشمگیری ندارند (Clark et al., 1984). ارزیابی ژنوتیپ ها برای تحمل به تنش عموماً در شرایط تنش و بدون تنش انجام می شود. زیرا هدف اصلی اینگونه تحقیقات انتخاب ژنوتیپ هایی است که با هر دو شرایط سازگار باشند (جزایری و رضایی، ۱۳۸۵). شاخص های مختلفی برای انتخاب گیاهان زراعی بر اساس عملکرد پیشنهاد شده است که عمدتاً بر اساس عملکرد گیاه در دو محیط تنش و بدون تنش تعریف می شوند (Fernandez, 1992a).

فیشر و مورر (۱۹۷۸ b) شاخص حساسیت به خشکی را بر مبنای عملکردهای محیط تنش و غیر تنش پیشنهاد کردند. روزیل و هامبلین (۱۹۸۱) شاخص تحمل و میانگین تولید را معرفی کردند. فرناندز (Fernandez, 1992a) شاخص های تحمل به تنش و میانگین هندسی تولید را پیشنهاد نمود. ارزیابی پیشرفتهای اصلاحی در چند دهه اخیر حکایت از اصلاح ژنتیکی عملکرد هم در شرایط مطلوب و هم تنش دارد. قبل از اینکه بسیاری از جنبه های فیزیولوژیکی مقاومت به خشکی آشکار شود اصلاح عملکرد

¹ <http://faostat.fao.org/site/567/default.aspx#ancor>

صورت گرفته است که بخشی از این اصلاح ژنتیکی مربوط به عملکرد بالقوه و بخشی دیگر نیز در اثر بهبود مقاومت به خشکی است (اهدایی، ۱۳۷۳). بیشترین تولید غلات جهان مربوط به مناطق خشک می باشد که در این مناطق رطوبت عامل محدود کننده است. بنابراین توانایی گیاه از نظر مصرف رطوبت قابل دسترس اهمیت زیادی دارد (Gupta, 1995) لذا شناسایی ارقام تحمل کننده تنش خشکی سازگار با شرایط دیم ضروری به نظر می رسد. یکی از راه های مهم برای جلوگیری از مصرف نامناسب و صرفه جویی در منابع آب موجود و همچنین استفاده بهینه از منابع کم آب برای کشاورزی استفاده از گیاهان مقاوم به تنش آبی است (رجی، ۱۳۸۲). در این راستا شناسایی ژنوتیپهایی که با مقدار کم آب عملکرد بالاتری تولید کنند و انتخاب ارقام مناسب از بین آنها حائز اهمیت است، زیرا تنش خشکی عامل اصلی خسارت شدید در بیشتر محصولات گیاهی در مناطق خشک و نیمه خشک می باشد و یکی از مهمترین عوامل تنش زایی محیطی است که رشد و نمو گیاه را تحت تأثیر قرار می دهد. این پدیده بسیاری از فرایندهای فیزیولوژیکی مرتبط با تولید مانند رشد (تقسیم و بزرگ شدن)، فتوسنتز (باز و بسته شدن روزنه ها و آنزیم های فتوسنتزی و تنفسی)، تجمع مواد کربوهیدرات و تجمع پروتئین را تحت تأثیر قرار می دهد (رجی، ۱۳۸۲).

سازوکارهایی که در مقاومت به خشکی در گندم نقش دارند عبارتند از زودرسی، به طوری که محصول زودتر از دوره خشکی برسد و سیستم ریشه ای عمیق و قوی برای استفاده مؤثر رطوبت موجود در خاک داشته باشد، توانایی در بستن روزنه ها در خلال دوره تنش خشکی که سبب کاهش از دست رفتن آب می گردد و پوشش موم در سطح برگ که موجب کاهش از دست رفتن آب از طریق تنفس می گردد (ارزانی، ۱۳۸۳).

اطلاعاتی که بتواند اصلاحگران را از طریق گزینش برای صفات فیزیولوژیکی مرتبط با مقاومت به خشکی، به منظور افزایش عملکرد واریته های زراعی راهنمایی نماید، بسیار اندک می باشد. اما همکاری نزدیک متخصصین فیزیولوژی و اصلاح کنندگان نبات در شناسایی صفات مرتبط با مقاومت به خشکی و بهره برداری از تنوع ژنتیکی موجود برای این صفات مطلوب و انتقال آن ها به ارقام زراعی جدید می تواند در معرفی ارقام پر محصول مقاوم به خشکی مفید واقع گردد (زارعی، ۱۳۸۵).

این تحقیق به منظور ارزیابی تحمل خشکی در بیست و یک ژنوتیپ یولاف با استفاده از شاخص های زراعی و صفات فیزیولوژیکی، بررسی ارتباط صفات مورفولوژیکی، فنولوژیکی و فیزیولوژیکی با شاخص های تحمل خشکی انجام شد.

۱-۲- اهمیت یولاف

یولاف (*Avena sativa*) یکی از هشت محصول مهم دنیاست (Walsh et al., 2003). تولید جهانی یولاف بیش از ۲۳ میلیون تن می باشد (FAO, 2009). چون یولاف در طول دوره رشد به حدود بیش از ۵۰۰ میلیمتر آب نیاز دارد، زراعت آن در ایران رواج چندانی ندارد و به مقدار بسیار کم در شمال و غرب کشور کاشته می شود (خدابنده، ۱۳۸۷).

گاه یولاف دارای ارزش غذایی بسیار بالایی است. یولاف را می توان به تنهایی یا به صورت مخلوط با بقولات یکساله برای تهیه علوفه سبز یا خشک کشت نمود. در برخی موارد از یولاف برای مرتع و سیلو نیز استفاده می گردد. ارزش غذایی و قابلیت هضم دانه یولاف به دلیل داشتن مواد پروتئینی، چربی، ویتامین E، B و سایر مواد، بسیار بالا است (نورمحمدی و همکاران، ۱۳۷۷). آرد یولاف دارای مواد آنتی اکسیدان است و در صنعت بسته بندی برای حفظ کیفیت مواد غذایی چرب بکار می رود (خدابنده، ۱۳۸۷). واریته های اصلاح شده یولاف سه برابر بیشتر، علوفه سبز تولید می کند و برخلاف محصولات علوفه ای مرسوم، تعداد دام های بیشتری را می توانند تغذیه کنند (Nawaz et al., 2004). یولاف یک محصول مقاوم به سرما و خشکی می باشد و در طی دوره ای که علوفه سبز کمیاب است و حیوانات با علوفه خشک تغذیه می شوند، علوفه سبز تولید می کند (Nawaz et al., 2004).

۱-۳- سطح زیر کشت

سطح زیر کشت یولاف در دنیا بیش از ۱۰ میلیون هکتار بوده و کشور هایی که بیشترین سطح زیر کشت را دارند عبارتند از: روسیه ۵/۴ میلیون هکتار، استرالیا ۱/۲ میلیون هکتار، انگلستان ۷۵۷ هزار هکتار و ایالات متحده امریکا ۱۳۵ هزار هکتار (FAO, 2009).

۱-۴- تاریخچه

مبدأ اولیه یولاف هنوز به طور یقین مشخص نشده است بنا به عقیده او یولوف مبدأ یولاف اروپا، قفقاز و چین می باشد اما باید توجه داشت که در زمان پادشاهی روم قدیم، زراعت یولاف جهت استفاده دانه آن در تغذیه انسان انجام می شده است (نورمحمدی و همکاران، ۱۳۷۷). یولاف های امروزی احتمالاً از یولاف قرمز وحشی آسیا که به عنوان علف هرز در محصولات دانه ای دیگر رشد می کردند، منشا گرفته اند. مطالعات باستان شناسی نشان داد که یولاف از حدود ۲۰۰۰ سال قبل از میلاد (BC) (به عنوان علف هرز) شناخته شدند. آنها نسبت به غلات دیگر نزدیکتر به تاریخ میلادی می باشند چون بعد از غلات

دیگر کشت شدند. یولاف در اروپای جنوبی و آسیای میانه رشد می کند (Gibson and Benson, 2002).

یولاف در سال ۱۹۰۶ به همراه دانه های دیگر به امریکای شمالی آورده شد (Gibson and Benson, 2002). یولاف یک تاریخچه طولانی در شمال شرقی دارد. اگرچه این محصول بیشتر به عنوان محصول پوششی و یا به منظور تولید علوفه کشت می شده است اما کشت آن برای تولید دانه، یک منبع درآمد برای کشاورزان می باشد (Darby et al., 2011).

۱-۵- ترکیب شیمیایی دانه

قسمت اعظم مواد غذایی دانه یولاف مواد غیر از ته است. بعد از مواد غیر از ته، مواد پروتئینی بیشترین بخش دانه یولاف را تشکیل می دهد. از نظر میزان پروتئین و چربی و مواد معدنی نسبت به گندم برتری دارد. همچنین دانه یولاف دارای ویتامین های B1، B2، B6 و E می باشد که از نظر ویتامین های B1، B2 و B6 نسبت به گندم برتری دارد (نورمحمدی و همکاران، ۱۳۷۷). در ایالات متحده امریکا از دانه آن ماده مخصوصی به نام کوئیک^۲ تهیه می نمایند که بسیار گوارا و دارای طعم مطلوب می باشد و به علت مقوی بودن، همراه صبحانه به مصرف می رسانند. از پوست دانه آن آلکالوئید مخصوصی به نام فورفورال بدست می آید که مصرف صنعتی دارد (خدابنده، ۱۳۸۷).

۱-۶- ویژگی های گیاه شناسی

یولاف از خانواده گندمیان Gramineae و از جنس *Avena* و گونه مورد کاشت آن از نوع *Avena sativa* L می باشد. گل آذین آن به شکل پانیکول Panicule، دانه آن کاریوپسیس (گندمه) می باشد. یولاف دارای دو نوع ریشه ابتدایی و ثانوی (اصلی) افشان می باشد (بهنیا، ۱۳۷۶). ساقه یولاف مانند سایر غلات توخالی و بندبند می باشد. برگهای یولاف صاف و کشیده و شبیه برگهای گندم بوده و در محل اتصال برگ به ساقه دارای یک زبانک (لیگول)، لکن فاقد گوشوارک (استیپول) می باشد. برخی ارقام یولاف بدون ریشک هستند. ریشک در ارقام ریشک دار از رگبرگ میانی لما منشأ گرفته و ممکن است مستقیم، پیچیده یا خمیده (به شکل زانو) باشد (امام، ۱۳۸۶). وزن هزاردانه یولاف بین ۲۶ تا ۳۲ و گاهی اوقات ۴۰ گرم تغییر می کند (خدابنده، ۱۳۸۷). یولاف نسبت به ریزش دانه حساس تر از سایر غلات دانه ای است (امام، ۱۳۸۶). یولاف برای تولید ماده خشک نیاز به رطوبت بیشتری نسبت به سایر غلات به جز برنج دارد (Coffman and frey., 1961; Downes, 1969). سرما و آب و هوای مرطوب بهترین

² Quick

شرایط برای یولاف می باشند (Forsberg *et al.*, 1995). بر اساس چندین مطالعه ، دمای ۱۳ تا ۱۹ درجه سانتیگراد برای یولاف ، مناسب برای تولید عملکرد دانه و کاه بالا می باشد (Sorrels and Simons, 1992).

۱-۷- طبقه بندی یولاف

یولاف متعلق به جنس *Avena* می باشد . این جنس شامل گونه های زراعی و وحشی است. مهمترین گونه زراعی آن *Avena sativa* L. است که در تمام نقاط دنیا گسترش دارد. از نظر تعداد کروموزوم همانند گندم به صورت دیپلوئید، تتراپلوئید و هگزاپلوئید (بترتیب $2n=14$ ، $2n=28$ ، $2n=42$) وجود دارد. گونه های زراعی آن بیش از *A. sativa* ، *A. byzantina* ، *A. nud* (یولاف لخت) با ۴۲ کروموزوم می باشند. (نورمحمدی و همکاران، ۱۳۷۷)

۱-۸- خشکی

تنش در نتیجه کمبود رطوبت خاک، دمای بالا و وزش باد ایجاد می گردد. واکنش گیاه نسبت به آن ، بستگی به مرحله ای از رشد گیاه دارد که تنش در آن رخ می دهد (حق پرست ، ۱۳۷۶). تنش خشکی فقط در مواردی که باران به طور دراز مدت یا کوتاه مدت قطع شود اتفاق نمی افتد، بلکه در مواردی هم که میزان تعرق از میزان جذب آب به وسیله ریشه فزونی می گیرد، حتی با وجود آب قابل مصرف کافی در خاک، پیش می آید و رشد گیاه را تحت تأثیر قرار می دهد (کاظمی ، ۱۳۸۷). تنش خشکی زمانی افزایش می یابد که تقاضای تبخیری اتمسفر بالای برگها (تبخیر و تعرق پتانسیل) از ظرفیت و توانایی ریشه ها برای استخراج آب از خاک (تبخیر و تعرق حقیقی) تجاوز نموده و فراتر رود (Edmeads *et al.*, 1989). بیشتر دانشمندان فیزیولوژی گیاهی از این تعریف برای خشکی استفاده می کنند (زهرآوی، ۱۳۷۸).

۱-۹- اهمیت تنش خشکی

حدود ۲۶ درصد (۱۷۲۵۵۷۰۰ هکتار مربع) از کل اراضی جهان در مناطق خشک و نیمه خشک قرار دارند (ایران نژاد و شهبازیان ، ۱۳۸۴). کشور ما در یکی از مناطق بسیار خشک جهان واقع شده است متوسط میزان بارش سالانه آن ۲۵۰ میلی متر است که حدود یک سوم متوسط میزان بارش جهانی می باشد (حیدری شریف آباد ، ۱۳۸۷). خشکی از عمده ترین خطرات برای تولید موفق محصولات زراعی است و

از این لحاظ، اصلاح ارقام پیشرفته و مقاوم برای مناطق خشک و نیمه خشک ضروری به نظر می‌رسد (گل‌پرور و همکاران، ۱۳۸۳).

۱-۱۰- انواع خشکی

گیاهان در معرض سه نوع خشکی قرار می‌گیرند:

الف- خشکی موقتی

دوره‌های تنش موقت که گاهی در مراحل مختلف نمو گیاه رخ می‌دهند و مشخصه اصلی مناطق نیمه خشک می‌باشد.

ب- خشکی انتهایی

با نزدیک شدن به پایان دوره رشد، تنش رطوبتی افزایش می‌یابد و از تشکیل و رسیدگی معمولی دانه جلوگیری می‌کند. این خشکی در اقلیم‌های مدیترانه‌ای بسیار متداول است.

ج- خشکی فصلی

عبارت از بارندگی ناکافی برای تولید اقتصادی گیاهان زراعی است و مشخصه مناطق خشک می‌باشد، عموماً به صورت دوره‌ای در نواحی حاشیه‌ای مناطق نیمه خشک و گاهی در خود مناطق نیمه خشک رخ می‌دهد (کوچکی و سلطانی، ۱۳۷۷).

۱-۱۱- اثرات ناشی از تنش خشکی بر گیاهان زراعی

هر گاه تعرق گیاه از آب جذب شده فزونی یابد پتانسیل آب در گیاه پائین می‌رود و تنش آب پیش می‌آید. تنش آب در گیاه می‌تواند ناشی از زیادی تعرق، نقصان جذب و یا هردو باشد.

تنش آب از طریق بستن روزنه‌ها موجب نقصان فتوسنتز می‌گردد. همزمانی کمبود آب در خاک و پتانسیل بالای تبخیر و تعرق، فتوسنتز را به شدت کاهش می‌دهد. تنش‌های دوره‌ای آب منجر به تغییرات آنانومیکی زیادی می‌شود. از جمله سلول‌ها و فضاهای بین سلولی کوچکتر می‌گردند. دیواره سلولی ضخیم می‌شود، بافت‌های نگهدارنده و مکانیکی توسعه می‌یابند و در بعضی از گیاهان به تعداد روزنه‌ها در واحد سطح افزوده می‌شود. در اثر نقصان پتانسیل هیدرواستاتیک، توسعه سلول‌ها و نیز تا حدی تقسیم سلولی کاهش می‌یابد. اثر این تغییرات در رشد و اندازه ساقه‌ها، برگ‌ها و میوه‌ها مشاهده می‌گردد. بطوری که رشد اندام‌های جوان در اثر تنش محدود شده و این اندام‌ها کوچک می‌مانند ولی برگ‌های مسن ریزش می‌یابند.

تنش آب بر متابولیسم گیاه نیز تاثیر می‌گذارد. تجزیه کربوهیدرات‌ها، پروتئین‌ها و اسیدهای نوکلئیک افزایش می‌یابد. تجزیه نشاسته و پروتئین‌ها تولید آلکالوئیدها را افزایش می‌دهد که در نتیجه، مقدار

اسانس ها و مواد معطر گیاهان افزایش پیدا می کند. تنش آب تولید پروتئین ها و آنزیم ها را دچار اختلال می کند و از این طریق نیز بر رشد گیاهان تاثیر می گذارد (خواجه پور، ۱۳۷۶). ثابت شده است که تنش خشکی، انتقال مواد غذایی را از برگ ها به دانه ها کاهش می دهد و با توجه به این که خشکی، رسیدن دانه ها را تسریع می کند، این عکس العمل بر کاهش فتوسنتز به کاهش عملکرد غلات هم کمک می کند (سرمدنیا و کوچکی، ۱۳۷۱).

اثر تنش خشکی در مرحله پر شدن دانه ها بسیار بارز است، چون عملکرد بالقوه وابسته به وزن هزار دانه است که خود نیاز به تجمع مواد فتوسنتزی در دانه ها دارد. مواد جمع شده در دانه ها از دو منبع تأمین می شود که یکی از طریق فتوسنتز و دیگری انتقال مواد غذایی از سایر قسمت های گیاه به دانه است. قسمتی از مواد فتوسنتزی قبل از گرده افشانی ساخته می شود و در ساقه یا سایر اعضای گیاه ذخیره شده و سپس به دانه های در حال تشکیل منتقل می شود ولی قسمت اعظم مواد ساخته شده در دانه ها بعد از گرده افشانی ساخته می شود (Gupta, 1995). کمبود آب بعد از گرده افشانی باعث تسریع در پیری و انتقال بیشتر آسیمیلات های ذخیره شده در قبل از گرده افشانی به دانه غلات می شود

(Kobata *et al.*,

1992; Palta *et al.*, 1994; Zhang *et al.*, 1998).

غلظت بالای سیتو کینین در گیاهان می تواند پیری را به تأخیر بیندازد (Buchanan-Wollaston, 1997)، در حالی که غلظت بالای اسید آبسزیک (ABA) تاثیر معکوس دارد (Nooden, 1988; Madhu *et al.*, 1999; Tadas *et al.*, 1999).

اسید آبسزیک همچنین یک تنظیم کننده مهم در انتقال آسیمیلات ها به دانه ها و میوه ها می باشد (Ti *et al.*, 1981; Clifford *et al.*, 1986; Brenner and Cheikh, 1995).

همچنین نشان داده شده است که خشکی خاک، غلظت ABA را در برگ ها، ساقه ها یا تراوشات ریشه افزایش داده و سیتو کینین را به طور قابل توجهی در برگ ها کاهش می دهد. ABA به طور معنی داری، رابطه منفی با میزان فتوسنتز و محتوی کلروفیل در برگ های پرچم داشته در حالی که سیتو کینین همبستگی مثبت با این متغیرها دارد (Yang *et al.*, 2002, 2003).

تنش شدید آب می تواند منجر به بستن روزنه ها گردد و این امر فتوسنتز، تولید ماده خشک و جذب Co2 را کاهش می دهد (Shiri, 2000).

خشکی تشکیل انواع اکسیژن فعال (ROS) را افزایش می دهد که به گیاهان از طریق تخریب رنگدانه های فتوسنتزی، لیپیدهای غشایی، پروتئین ها و اسیدهای نوکلئیک صدمه می زند (Egert and Tevini, 2002).

فقدان آب، بیوماس گیاهان و عملکرد آنها را تحت تأثیر قرار می دهد و مهمترین عاملی است که باعث عدم قطعیت در تولید محصولات کشاورزی می شود (زارعی، ۱۳۸۵).

۱-۱۲-۱- سازوکارهای مقاومت گیاهان به خشکی

مقاومت گیاهان به خشکی، به میزان رطوبت خاک و ژنوتیپ بستگی دارد. به این ترتیب که در مقدار معینی از رطوبت خاک، توانایی عملکرد دانه یک ژنوتیپ ممکن است بیشتر از ژنوتیپ دیگر باشد. بر این اساس، مقاومت به خشکی در گیاه به مجموعه ای از سازوکارها و واکنش های پیچیده ای اطلاق می

شود که گیاه در صورت مواجه شدن با کمبود آب، توانایی رشد و نمو موفقیت آمیز خود را تا حدودی حفظ می کند (Rostami and Yazdi Samadi, 1991).

به طور کلی پارامترهای مؤثر بر تحمل به خشکی شامل مورفولوژی، فیزیولوژی، بیوشیمیایی و ژنتیکی می باشند. مقاومت گیاهان به خشکی در مناطق دیم نتیجه بسیاری از خصوصیات ظاهری و فیزیولوژیکی است و تنها معیار حقیقی مقاومت به خشکی عبارتست از قابلیت سازگاری گیاهان با اثرات خشکی و قابلیت ادامه رشد و نمو و تولید محصول در شرایط خشک می باشد (کوچکی، ۱۳۷۶).

تفاوت در تحمل تنش می تواند به علت تفاوت در عکس العمل گیاه از لحاظ درک تنش، سیگنال ترانسداکشن، بیان مناسب ژن و یا سایر مسیرهای متابولیکی جدید باشد که منحصر به گیاهان مقاوم می باشند (Bartlez and Sunkar, 2005).

در مفهوم ژنتیکی، سازوکارهای مقاومت به خشکی به سه گروه طبقه بندی شده اند: فرار از خشکی، اجتناب از خشکی و تحمل به خشکی. اما گیاهان هم زمان از بیش از یک سازوکار برای مقاومت در برابر خشکی استفاده می کنند (Jiban, 2001).

فرار از خشکی^۳: توانایی گیاه برای بالغ شدن قبل از آنکه استرس آبی یک فاکتور محدود کننده شود. اجتناب از خشکی^۴: توانایی گیاه برای نگهداری مقدار زیاد آب در طی خشکی تحمل به خشکی^۵: توانایی گیاه برای تحمل کمبود آب که بوسیله درجه و مدت کاهش پتانسیل آب گیاه اندازه گیری می شود (زارعی، ۱۳۸۵).

۱-۱۲-۱- فرار از خشکی

فرار از خشکی به صورت توانایی یک گیاه برای کامل کردن سیکل زندگی خود قبل از وقوع کمبود آب در گیاه تعریف شده است (Jiban, 2001). هماهنگ شدن فنولوژی گیاه با تأمین رطوبت همیشه یک هدف مهم به نژادی بوده است. صفات فنولوژیکی به طور مستقیم یا غیر مستقیم اثرات متفاوتی بر روی عملکرد دانه دارند. بنابراین مهم است مرحله بحرانی رشد گیاه که به خشکی بیشترین حساسیت را

³ Drought Escape

⁴ Drought Avoidance

⁵ Drought Tolerance

دارد مصادف با دوره خشکی معمول در منطقه نباشد. به عنوان مثال در غلات محدودیت آب در زمان سنبله رفتن، گرده افشانی و تشکیل دانه اثر غیر قابل جبرانی بر عملکرد دانه می گذارد. بنابراین تنظیم آهنگ رشد گیاه با توزیع نزولات معمول در منطقه، یک هدف مهم به نژادی است بر این اساس ارقام با خصوصیات فنولوژیکی مطلوب را می توان انتخاب یا اصلاح نمود (سرمدنیا و کوچکی، ۱۳۷۱).

سرمدنیا و کوچکی (۱۳۶۶) گزارش دادند که گیاه می تواند با اتمام دوره زندگی خود قبل از شروع شرایط محیطی مولد تنش، از ایجاد خشکی در بافت های خودداری نماید. اینگونه گیاهان به جای اجتناب، فرار کننده از خشکی نامیده می شود. به دلیل اینکه مواد غذایی بصورت محلول در آب جذب گیاه می شوند، بنابراین محدودیت در منابع آبی منجر به محدودیت در کلیه منابع غذایی شده و گیاه مجبور به کم کردن رشد رویشی و اتمام زود هنگام مرحله رویشی و شروع مرحله زایشی می گردد. در نتیجه دوره رشدی، ارتفاع، طول پدانکل، طول سنبله اصلی، عملکرد کاه و حتی طول ریشک کاهش می یابد.

۱-۱۲-۲- اجتناب از خشکی

اجتناب از خشکی قابلیت یک گیاه برای گریز از دوره های خشکی به خصوص در طول حساس ترین مراحل تکامل آن است. گیاهان می توانند از طریق اجتناب و یا گریز از دوره های خشکی به خصوص در مراحل حساس تکامل خود، از عهده تنش خشکی برآیند. این صفت کمی بوده و توسط مولتی ژن ها کنترل می شود (Magloire, 2005).

مکانیزم های اجتناب از تنش را می توان به دو گروه عمده تقسیم بندی کرد

۱-۱۲-۲-۱- تداوم جذب آب توسط گیاه

تداوم رشد ریشه تحت شرایط تنش خشکی یک مکانیزم سازگاری است که جذب آب از لایه های عمیق تر خاک را تسهیل می کند (Bartles and Sunkar, 2005) خصوصیات ریشه، عوامل کلیدی برای سازگاری گیاه به شرایط محیطی هستند. عمق ریشه و توسعه آن به درون عمق خاک، زمانی که رطوبت قابل دسترس در عمق خاک باشد، برای نمود محصول تحت شرایط محدودیت آب، حیاتی است.

۱-۱۲-۲-۲- کنترل و یا کاهش میزان اتلاف آب از گیاه

چندین صفت در گیاه میزان اتلاف آب را کاهش می دهند از جمله هدایت روزنه ای، تجمع متابولیت های تنش، مومی بودن اپیدرم و خصوصیات برگ (زارعی، ۱۳۸۵).

۱-۱۲-۲-۳- هدایت روزنه‌ای

هدایت روزنه‌ای ظاهراً به وسیله سه مکانیزم پاسخ محیطی کنترل می‌شود. اولی شامل تبخیر از اپیدرم مخصوصاً در مناطقی از برگ که کوتیکول نازک‌تر و احتمالاً نفوذپذیرتر است، می‌باشد. مکانیزم دوم در پاسخ به وضع ظاهری آب برگ در رابطه با هدایت و پتانسیل آب که بستگی به ماهیت تنش خشکی دارد می‌باشد. مکانیزم سوم جهت بسته‌شدن روزنه پاسخ به علائم شیمیایی (احتمالاً اسیدآبسیزیک) است که به وسیله ریشه‌هایی که در معرض خاک خشک قرار می‌گیرند به وجود آمده و از طریق آوند چوبی به آپوپلاست سلول محافظ منتقل می‌گردد. این امر می‌تواند دلیل اصلی بسته‌شدن ناقص روزنه حتی قبل از اینکه القاء خشکی تغییری در پتانسیل آب کل بوجود آورد باشد (کافی و مهدوی دامغانی، ۱۳۸۱). کمبود آب از طریق اثرات روزنه‌ای (کاهش جذب CO_2) مانع از فتوسنتز می‌شود، استراتژی اجتناب از خشکی به وسیله بسته‌شدن زود هنگام روزنه‌ها که مناسب وضعیت آبی مطلوب است، می‌تواند به پتانسیل عملکرد ضعیف در شرایط خشکی مطلوب باشد (Cla *et al.*, 2006). همچنین افزایش دمای برگ و کانوپی در تنش خشکی ممکن است به دلیل افزایش تنفس و کاهش تبخیر باشد که از بسته‌شدن روزنه‌ها ناشی می‌شود (Siddique *et al.*, 2000).

۱-۱۲-۲-۴- تجمع متابولیت‌های تنش

گیاهان در هنگام شرایط تنش محیطی، رشد خود را کاهش می‌دهند و این مسئله را از طریق هورمون‌های گیاهی که بیان ژن را تحت تأثیر قرار می‌دهند، انجام می‌دهند. واکنش‌های اولیه به تنش خشکی عموماً یکسان هستند. این تشابه شامل فرایندهای متابولیکی از قبیل افزایش سطوح هورمون گیاهی اسیدآبسیزیک می‌باشد (Bartles and Sunkar, 2005). اسیدآبسیزیک در عکس‌العمل‌های واسطه‌ای به تنش‌های محیطی، به خصوص بسته‌شدن روزنه‌ها و القاء محصولات ژن‌های وابسته به تنش نقش دارد (Thompson *et al.*, 2000). می‌توان سطوح اسیدآبسیزیک را در بافت‌های رویشی در پاسخ به تنش‌های محیطی مختلف، مخصوصاً تنش خشکی ارزیابی کرد. بنابراین اسیدآبسیزیک به عنوان یک هورمون تنش شناخته می‌شود (Taylor *et al.*, 2000)، و در ریشه‌ها در پاسخ به تنش ساخته می‌شود (ShashidHAM *et al.*, 1996).

۱-۱۲-۲-۵- قشر مومی روی بشره و ضخامت کوتیکول

لایه مومی کوتیکول خارجی هم تلفات آب را از طریق کوتیکول کاهش می‌دهد و همچنین ممکن است مقداری از نور آفتاب را منعکس کند که درجه حرارت برگ و بنابراین شیب‌های کمبود فشار بخار و بار

تعرق را کاهش می‌دهد. توانایی انعکاس نور از جوانه‌ها یا میزان کدورت روی آن بستگی به مقدار موم و همچنین شکل آنها (صاف یا پرزدار) دارد. تنوع ژنتیکی در مومی بودن با مقاومت به خشکی در گندم و جو همراه بوده است اما در ذرت اینگونه نبوده است (کافی و مهدوی دامغانی، ۱۳۸۱).

۱-۱۲-۲-۶- خصوصیات برگ

خصوصیات سطح برگ از صفات گوناگونی از جمله شکل، ترکیب موم کوتیکولی و اپی کوتیکولی و رنگ آن ناشی می‌شود. کمبود آب باعث افزایش موم کوتیکولی می‌شود و بازتاب از برگ را افزایش می‌دهد (Saxana and O'Toole, 2000). لوله‌شدن برگ، مهمترین واکنش به کمبود آب بخصوص در غلات است. این به عنوان ساز و کاری در کاهش انرژی هدایتی روی برگ در استرس آبی ارزیابی می‌شود. لوله‌شدن برگ با از دست رفتن آماس به وجود می‌آید. تنظیم اسمزی لوله‌شدن برگ در برگ‌هایی که تنظیم اسمزی را انجام داده‌اند، کمتر می‌باشد (Blum, 1988). کرک‌های سطح برگ به عنوان یک معیار سازگار با شرایط تنش خشکی محسوب می‌شوند. این کرک‌ها ضمن این که امکان تثبیت بیشتر کربن را برای برگ‌ها فراهم می‌سازند پتانسیل بالایی برای جلوگیری از تلف‌شدن برگ‌ها در دمای بالا را نیز فراهم می‌کنند و آب کمتری از دسترس گیاه خارج می‌شود. در نتیجه امکان رشد طولانی‌تر گیاه در شرایط خشکی فراهم می‌شود. معمولاً در مواقع محدودیت رطوبت ژنوتیپ‌های حاوی کرک و موم و کوتیکول ضخیم با میزان تعرق و تبخیر کمتر از سطح برگ، نقش سودمندی در استفاده بهینه از رطوبت ایفا می‌نمایند (صباغ‌پور، ۱۳۸۷).

۱-۱۲-۳- مکانیزم های تحمل به خشکی

تحمل خشکی قابلیت گیاه برای تحمل یا ایستادگی در یک دوره خشک با حفظ تعادل داخلی مطلوب آب تحت شرایط خشکی است. در واقع توانایی گیاه برای تحمل شرایط کمبود آب می‌باشد، که با درجه و مدت کاهش پتانسیل آب گیاه اندازه‌گیری می‌شود. ویژگی‌هایی مانند جابه‌جایی آسمیلات‌ها، تجمع پرولین، تنظیم اسمزی و قابلیت ارتجاع سلولی در این سازوکار دخالت دارند (نورمحمدی و کاشانی، ۱۳۷۶؛ یزدان‌سپاس، ۱۳۷۰).

۱-۱۲-۳-۱- تجمع پرولین

تجمع پرولین یک پاسخ فیزیولوژیکی بسیار رایج در بسیاری از گیاهان به دامنه وسیعی از تنش‌های زیستی و غیر زیستی می‌باشد (Verbruggen and Hermans, 2008). هنگامی که گیاه در معرض تنش خشکی قرار می‌گیرد و با کم‌آبی مواجه می‌شود با تنظیم فشار اسمزی سعی در تخفیف اثرات ناشی از

تنش آبی می‌کند. یکی از اسیدهای آمینه‌ای که نقش مهمی در تنظیم اسمزی گیاهان دارد، پرولین است (Pandy and Agarwal, 2001).

در بافتهای تحت تنش آب، نیتروژن محلول کل افزایش می‌یابد که به دلیل افزایش پروتئولیز، کاهش سنتز پروتئین و افزایش ساخت اسیدهای آمینه نوزاداً و کاهش ترکیب آنها برای تولید پروتئین‌ها است (Petrie and Wood, 1988). تجمع اسید آمینه پرولین در بافت‌های چندین گونه گیاهی به عنوان پاسخ عمومی به تنش آب و سایر تنش‌ها ربط داده می‌شود (Chen *et al.*, 1964; Chu *et al.*, 1976).

۱-۱۲-۳-۲-تنظیم فشار اسمزی

هنگامی که گیاهان آب خود را به تدریج از دست می‌دهند، تورژسانس مثبتی برای حفظ خصوصیات مکانیکی برگ، رشد برگ و فعالیت‌های متابولیکی سلول لازم است. تغییر در پتانسیل اسمزی ممکن است برای حفظ فشار تورژسانس در پتانسیلی در گیاه که نتیجه‌اش از دست رفتن تورژسانس خواهد بود، ضروری باشد (Olsovska *et al.*, 2001). تنظیم اسمزی ممکن است به دو صورت انجام شود:

- ۱) تنظیم غیرفعال که در نتیجه تقلیل مقدار نسبی آب برگ است.
- ۲) تنظیم فعال که بوسیله تجمع املاح یا متابولیت‌ها یا بوسیله کاهش گسترش حجم سلول صورت می‌گیرد (کافی و مهدوی دامغانی، ۱۳۸۱).

۱-۱۲-۳-۳-جابجایی آسیمیلات‌ها

پرشدن دانه در غلات وابسته به کربن از دو منبع می‌باشد: ۱- آسیمیلات‌های جاری منتقل شده به طور مستقیم به دانه و ۲- آسیمیلات‌های انتقال یافته از مخزن‌های ذخیره در بافت‌های رویشی، قبل یا بعد از گرده افشانی (Pheloung and Siddique, 1991; Kobata *et al.*, 1992; Schnyder, 1993).

قند‌های ساخته شده در برگ ممکن است در برگ‌ها باقی مانده و یا از طریق آوند‌های آبکش به قسمت‌های دیگر گیاه (به صورت ساکارز) منتقل گردند. آنها ممکن است در تنفس، ساخت بافت‌های بیشتر گیاهی، تنظیم اسمزی یا تبدیل مواد به صورت ذخیره‌ای مصرف شوند. در طی مراحل اولیه خشکی، رشد ممکن است بیشتر از فتوسنتز متوقف شده و مواد آسیمیله انباشته گردد. (کافی و مهدوی دامغانی، ۱۳۸۱)

۱-۱۳- معیارها و صفات مناسب در اصلاح گیاهان برای تحمل خشکی

۱-۱۳-۱- شاخص‌های مقاومت به خشکی مبتنی بر عملکرد دانه

انتخاب و جداکردن ژنوتیپ‌های متحمل به تنش به دو روش مستقیم (سنجش عملکرد) و غیر مستقیم (بر اساس صفات مورفولوژیک و فیزیولوژیک که با تحمل تنش همبستگی دارند) انجام می‌شود. تحمل به خشکی در یک ژنوتیپ گیاهی مدیون شماری از ویژگی‌های فیزیولوژیک و مورفولوژیک آن است و امروزه تلاش برای معیارهایی که بتوان از آنها به‌طور موثری در انتخاب ژنوتیپ‌های مقاوم بهره جست، ادامه دارد. با این حال احتمال اینکه ژن‌های تحمل به خشکی در یک گیاه مجتمع و توسط روش‌های فیزیولوژیک شناخته شوند بسیار کم است. بنابراین پایداری و ثبات عملکرد و اجزای آن تحت شرایط تنش همچنان از جمله شاخص‌های اصلی انتخاب برای یافتن ژنوتیپ‌های متحمل به تنش در بسیاری از برنامه‌های اصلاحی باقی خواهد ماند. پایداری و ثبات عملکرد نشان دهنده تفاوت بین عملکرد پتانسیل و عملکرد واقعی در طول مدت تنش محیطی است (نبی‌پور و همکاران، ۱۳۸۰). اگر اصلاحگر به دنبال ژنوتیپ‌های سازگار برای دامنه وسیعی از محیط‌ها یا مکان‌هایی با شرایط غیر قابل پیش‌بینی باشد، انتخاب باید بر اساس شاخص‌های مقاومت محاسبه شده از عملکرد در هر دو شرایط باشد (Akcurea and Ceri, 2011).

بر طبق نظر فرناندز (۱۹۹۲a) ژنوتیپ‌ها را بر اساس عکس‌العمل عملکردشان به شرایط تنش می‌توان به ۴ گروه تقسیم کرد: (۱) ژنوتیپ‌هایی که تحت هر دو شرایط تنش و غیر تنش عملکرد بالایی تولید می‌کنند (گروه A). (۲) ژنوتیپ‌هایی با عملکرد بالا تحت شرایط بدون تنش (گروه B). (۳) ژنوتیپ‌هایی با عملکرد بالا تحت شرایط تنش (گروه C). (۴) ژنوتیپ‌هایی با نمود ضعیف در هر دو شرایط تنش و بدون تنش (گروه D) (Sio-semarde *et al.*, 2006).

برای تشخیص ژنوتیپ‌های مقاوم به خشکی چندین شاخص انتخاب بر اساس روابط ریاضی بین شرایط تنش و شرایط مطلوب پیشنهاد شده است (Clarke *et al.*, 1984; Huang, 2000).

یکی از شاخص‌های انتخاب، شاخص حساسیت به تنش^۷ (SSI) می‌باشد که فیشر و مورر (۱۹۷۸) آن را پیشنهاد دادند. فیشر و مورر (۱۹۷۸) توضیح دادند که ژنوتیپ‌هایی با SSI کمتر از واحد، به خشکی مقاوم هستند و بنابراین کاهش عملکرد آنها در شرایط خشکی کمتر از کاهش عملکرد متوسط کل ژنوتیپ‌ها است. این شاخص قادر به تفکیک گروه A از C نیست. SSI به‌طور گسترده توسط محققان برای شناسایی ژنوتیپ‌های حساس و مقاوم استفاده شده است (Clarke *et al.*, 1984; Fischer and Maurer, 1978b; Winter *et al.*, 1988). سی‌وسه‌مرده و همکاران (۲۰۰۶) نیز شاخص SSI را به عنوان شاخص مناسبی برای تشخیص ارقام مقاوم به خشکی در شرایط تنش شدید معرفی کردند.

⁷ Stress Susceptibility Index

شاخص‌های تحمل^۸ (TOL) و متوسط بهره‌وری عملکرد^۹ (MP) توسط روسیل و هامبلین (۱۹۸۱) به کار برده شده است. شاخص TOL از اختلاف عملکرد یک ژنوتیپ در محیط بدون تنش و تنش بدست می‌آید. مقدار بالای TOL نشان دهنده حساسیت نسبی ژنوتیپ‌ها به تنش می‌باشد این شاخص فقط می‌تواند ژنوتیپ‌های با عملکرد نسبی بالا در محیط دارای تنش را انتخاب کند و ژنوتیپ‌های انتخابی تظاهر خوبی در محیط بدون تنش نخواهند داشت (Rossielli and Hamblin, Fernandez, 1992b) ; (1981).

هر قدر مقدار شاخص TOL کم باشد مطلوب‌تر می‌باشد. بنابراین شاخص TOL به‌تنهایی نمی‌تواند شاخص مناسبی جهت انتخاب ژنوتیپ‌های گروه A (که در هر دو محیط تنش و بدون تنش عملکرد قابل قبول تولید می‌کنند) محسوب شود. بر اساس شاخص میانگین بهره‌وری (MP) که به صورت میانگین حاصل جمع عملکرد در شرایط نرمال و تنش تعریف شده است، ژنوتیپ‌هایی متحمل‌تر هستند که مقادیر بیشتری از این شاخص را داشته باشند (Rosielle and Hamblin, 1981). هنگامی که اختلاف نسبی زیادی بین عملکرد در شرایط تنش و غیر تنش موجود باشد شاخص MP دارای اریبی به سمت عملکرد در شرایط غیر تنش می‌شود. بنابراین برای رفع این مشکل، شاخص میانگین هندسی عملکرد (GMP) (Geometric Mean productivity) که بر اساس میانگین هندسی عملکرد ژنوتیپ‌ها تحت شرایط تنش و غیر تنش محاسبه می‌شود، توسط فرناندز (۱۹۹۲) ارائه گردید. از آنجایی که این شاخص به مقادیر متفاوت عملکرد در شرایط تنش و غیر تنش حساسیت کمتری دارد، فرناندز (۱۹۹۲) شاخص دیگری به نام شاخص تحمل به تنش (Stress Tolerance Index, STI) را به منظور تعیین ژنوتیپ‌های با عملکرد بالاتر در شرایط تنش و بدون تنش و دارای پتانسیل تحمل به تنش معرفی کرد که می‌تواند گروه‌های B و C را از یکدیگر تفکیک کند. در تعیین ژنوتیپ‌های متحمل به تنش، مقدار بالای GMP و STI مورد نظر است (یوسفی آذر و رضایی، ۱۳۸۶).

فرناندز (۱۹۹۲a) شاخص تحمل تنش^{۱۰} (STI) را پیشنهاد نمود. مقدار بالای STI برای یک ژنوتیپ نشان دهنده تحمل به خشکی بالاتر و عملکرد بالقوه بیشتر آن می‌باشد این شاخص قادر به تفکیک گروه A از گروه C و B می‌باشد. او شاخص دیگری را تحت عنوان میانگین هندسی بهره‌وری (GMP) معرفی کرد. این شاخص در مقایسه با شاخص MP قدرت بالاتری در تفکیک گروه A از سایر گروه‌ها دارد. بر همین اساس بود که فرناندز STI خود را بر اساس GMP بنا نهاد.

حق‌پرست و همکاران (۲۰۰۳) در بررسی مقاومت به خشکی در چهارده ژنوتیپ گندم نان بیان کردند که در مرحله اول شناسایی ژنوتیپ‌های با عملکرد بالا در هر دو محیط STI بهترین شاخص می‌باشد و در

⁸ Tolerance

⁹ Mean Productivity

¹⁰ Stress Tolerance Index

مرحله بعد برای انتخاب از بین ژنوتیپ‌های با STI یکسان، می‌توان از شاخص TOL و SSI استفاده نمود (Haghparast *et al*, 2003). میانگین هارمونیک¹¹ (HAM) نیز از شاخص‌هایی است که در ارزیابی تحمل به تنش ژرم پلاسما مورد استفاده قرار می‌گیرد (Farshadfar, 2000). شاخص عملکرد¹² (YI) ارقام را فقط بر اساس عملکرد تنش رتبه‌بندی می‌کند، بنابراین ژنوتیپ‌های گروه A را تشخیص نمی‌دهد (Gavuzzi *et al*, 1997).

شاخص پایداری عملکرد¹³ (YSI) همان‌طور که توسط بوسلاما و شاپاگ (۱۹۸۴) ذکر شد عملکرد را تحت شرایط تنش یک رقم وابسته به عملکرد غیر تنش آن ارزیابی می‌کند و می‌بایست یک نشانگر مقاومت به خشکی در مواد ژنتیکی باشد. بنابراین ارقامی با YSI بالاتر انتظار می‌رود که تحت هر دو شرایط عملکرد بالاتری داشته باشند. اما در مطالعه سی‌وسه‌مرده و همکاران (۲۰۰۶) ارقامی با YSI بالاتر حداقل عملکرد را در شرایط غیر تنش و بالاترین عملکرد را تحت شرایط تنش نشان دادند.

اصلاح‌کنندگان نباتات، بر روی انتخاب مستقیم برای عملکرد دانه در محیط‌های هدف به‌عنوان شاخصی اصلی برای انتخاب تکیه دارند. اما ژنوتیپ‌هایی که در آزمایش‌های اصلاحی در معرض تنش قرار می‌گیرند و عملکرد بالایی تولید می‌کنند لزوماً دارای صفاتی برای تحمل به خشکی نمی‌باشند. این ژنوتیپ‌ها ممکن است دارای پتانسیل عملکرد بالا در شرایط آبیاری مطلوب باشند و یا توانایی رسیدگی قبل از شروع تنش خشکی را داشته باشند و بدین وسیله از تنش فرار کرده باشند. عملکرد در محیط‌های خشک تحت تأثیر سه جزء پتانسیل عملکرد، مناسب بودن فنولوژی و تحمل خشکی قرار می‌گیرد. سهم نسبی تحمل خشکی در عملکرد واقعی ممکن است نسبت به پتانسیل عملکرد بالا و یا فنولوژی مطلوب بزرگ نباشد. اگر غرابال برای تحمل خشکی بر اساس عملکرد دانه باشد، ممکن است ژنوتیپ‌هایی انتخاب شوند که پتانسیل عملکرد بالا و یا فنولوژی مناسب داشته باشند اما فاقد تحمل خشکی باشند (گراوندی، ۱۳۸۷). بیدینگر و همکاران (۱۹۸۷) شاخص پاسخ به خشکی¹⁴ (DRI) را برای شناسایی ژنوتیپ‌های ارزن مرواریدی متحمل و حساس به خشکی به کار بردند. شاخص پاسخ به خشکی عملکرد دانه را تحت شرایط تنش خشکی برای تنوع در تاریخ گلدهی و عملکرد در شرایط بدون تنش تصحیح می‌کند، بنابراین اطمینان می‌دهد که ژنوتیپ‌های انتخاب شده صفات تحمل خشکی را خواهند داشت. این شاخص در گیاهان مختلفی مثل برنج، لوییا و نخود مورد استفاده قرار گرفته است (Ouk *et al.*, 2006).

فرشادفر و محمدی (۱۳۸۵) در ارزیابی تحمل به خشکی ژنوتیپ‌های گندم نان از شاخص انتخاب چندگانه¹⁵ (MSI) استفاده کردند و بیان کردند که با توجه به کارایی شاخص‌های مورد بررسی در

¹¹ HAMmonic Mean

¹² Yield Index

¹³ Yield Stability Index

¹⁴ Drought Response Index

² Multiple Selection Index

گزینش ژنوتیپ های متحمل به خشکی، از شاخص انتخاب چندگانه (MSI)، به منظور انتخاب ژنوتیپ های مورد بررسی براساس چندین شاخص به طور توأم می توان استفاده کرد.

۱-۱۳-۲-صفات فیزیولوژیکی

در گذشته مهمترین شاخص مقاومت به خشکی که در برنامه های اصلاحی استفاده می شد، ارزیابی عملکرد دانه تحت شرایط تنش و بدون تنش بود، اما در صورت شناسایی صفات فیزیولوژیکی مرتبط با مقاومت به خشکی، به نژادگران می توانند از صفات فیزیولوژیکی به عنوان شاخص گزینش در جمعیت های بزرگ استفاده کنند (Winter *et al.*, 1988).

۱-۱۳-۲-۱-آب نسبی از دست رفته^{۱۶}

محمدی و فرشادفر (۱۳۸۲) همبستگی منفی و معنی داری بین عملکرد در شرایط دیم با میزان آب نسبی از دست رفته پیدا نمودند و این صفت را به عنوان مهمترین صفت فیزیولوژیکی موثر در عملکرد دانه در شرایط دیم گزارش نمودند.

۱-۱۳-۲-۲-محتوای نسبی آب برگ^{۱۷}

محتوای نسبی آب برگ، معرف بسیار خوبی از وضعیت آبی گیاه است که به عنوان یک شاخص انتخاب جهت تحمل به خشکی پیشنهاد شده است (Teulat *et al.*, 1997).

۱-۱۳-۲-۳-پایداری غشاء سلولی^{۱۸}

تنش خشکی باعث اثرات قابل ملاحظه ای مانند صدمه به غشای سلولی می شود و باید به خاطر داشته باشیم که غشاء سلولی از اولین هدف های مورد حمله در موقع تنش می باشد. همچنین درجه پایداری غشاء سلولی یکی از بهترین نشانگرهای فیزیولوژیکی تحمل به تنش خشکی است (Kocheva *et al.*, 2004). تحت شرایط تنش آب، اولین نتیجه آسیب پلاسماست (Levitt, 1980). یک استراتژی مهم برای تکامل مقاومت به خشکی در گیاهان حفظ تمامیت غشاء سلولی پس از تحمیل تنش خشکی است (Vasqtiez-Tel

lo *et al.*, 1990). سیستم های تعیین آن، پایداری غشاء سلولی (CMS) نامیده می شوند و برای تشخیص گیاهان مقاوم به کار می روند (Kocheva and Georgieva, 2003).

¹⁶ Relative Water Loss

¹⁷ Relative Water Content

¹⁸ Cell Membrane Stability

کوچوا و گئورگیو (۲۰۰۳) در ارزیابی مقاومت به خشکی ارقام جو، در ارقام مقاوم تر به خشکی تخریب کمتری در غشاءهای سلولی مشاهده کرد. آنها همچنین با توجه به نتایج این آزمایشات این مسئله را مطرح کرد که پرولین آزاد ممکن است باعث پایداری غشاء در طول تنش آب باشد.

۱-۱۳-۲-۴- میزان پرولین

اندازه گیری میزان تجمع پرولین به عنوان یکی از روش های ارزیابی گیاهان مقاوم به خشکی معرفی شده است (Blum and Ebercon, 1976). در مطالعات زیادی از اندازه گیری آن به عنوان روشی برای ارزیابی میزان تحمل به خشکی استفاده کرده اند (Gunes *et al.*, 2008 ; Farshadfar *et al.*, 2002). پرولین بسیار ناپایدار است و فقط در طی چند هفته خشکی در سلول های در حال رشد تجمع پیدا می کند. در حالیکه در بافت های بالغ به نظر می رسد که علامت مرگ قریب الوقوع باشد (کافی و مهدوی دامغانی، ۱۳۸۱).

عقاید زیادی وجود دارد که تجمع پرولین باعث تحمل به خشکی می شود. یک بازنگری از نتایج منتشر شده نشان می دهد که چرا نتایج متضادی بدست آمده و استفاده از تجمع پرولین برای مقاومت به خشکی نامناسب است. عمده ترین دلایل وجود این نتایج متضاد که به وسیله بلوم (۱۹۸۸) بیان شده است، به شرح زیر می باشد:

اولاً: تجمع پرولین با کاهش پتانسیل آب همراه است. بنابراین مقایسه برای تجمع پرولین ژنوتیپ های مختلف باید زمانی صورت گیرد که پتانسیل آب بافت ها در همه ی ژنوتیپ ها یکسان باشد.

ثانیاً: در مطالعاتی که انجام شده اغلب اندازه گیری تجمع در وارپته های حساس و مقاوم بودند و تجمع پرولین با طبیعت خاص مقاومت ارتباط دارد. بنابراین تجمع پرولین با یک جزء از تحمل آب گیر و نه با همه ی آنها همبستگی دارد. ضمن اینکه پیدا کردن همبستگی بین تجمع پرولین و مقاومت خشکی بدلیل وجود تعدادی از مراحل و فرایندهای بیوشیمیایی و فیزیولوژیکی و تمایز که در ضمن آن روی می دهد مشکل خواهد بود. بنابراین هرچند که ممکن است تجمع پرولین در بردارنده ی مزایای کوتاه مدت در سطح سلول باشد ولی از نظر عملی به عنوان معیاری برای گزینش قابل استفاده نخواهد بود.

ثالثاً: باید توجه داشت که تجمع پرولین در واکنش به تنش های دیگر به جز کمبود آب، همانند شوری و درجه حرارت حادث می شود و از نظر بیولوژیکی مشکل است که در یابیم تجمع پرولین با مقاومت به یک استرس و حساسیت به استرس دیگر مرتبط است (Blum, 1988) (نقل قول از شریفی، ۱۳۸۸).

بلوم و ابرکان (۱۹۷۶) اختلافات ژنتیکی معنی داری را در وارپته های سورگوم از نظر تجمع میزان پرولین بدست آوردند ولی رابطه ای بین میزان تجمع پرولین و درجات مختلف تحمل به خشکی پیدا نکردند.