

پاسخ‌های فیزیولوژیک و فعالیت‌های آنتی‌اکسیدان در برگ پرچم و سنبله ژنوتیپ‌های گندم (*Triticum aestivum* L.) تحت تنش خشکی

پریسا شریفی، نیر محمدخانی*

مرکز آموزش عالی شهید باکری میاندوآب، دانشگاه ارومیه، ارومیه، ایران

تاریخ دریافت: ۹۵/۱۰/۱۳ تاریخ پذیرش: ۹۶/۶/۱۵

چکیده

این مطالعه به منظور بررسی اثر تنش خشکی پس از گرده افشانی بر صفات زراعی و برخی از ویژگی‌های فیزیولوژیکی برگ پرچم و سنبله ژنوتیپ‌های مختلف گندم به صورت فاکتوریل و در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی با دو عامل (آبیاری و ژنوتیپ گندم) و سه تکرار اجرا گردید. دو سطح فاکتور آبیاری شامل - شاهد (آبیاری در تمام مراحل رشدی بر اساس شرایط کشت آبی) و تنش خشکی (قطع آبیاری پس از گرده افشانی تا پایان دوره رشد) و سطوح ژنوتیپ‌های گندم را (SHARK و TEVEE'S//CROW/VEE'S: حساس، Manning/Sdv1/Dogu8 و Sabalan: نیمه متحمل، Sardari HR-86 و Dogu88/Ghafghaz 7: متحمل به خشکی) تشکیل دادند و صفات زراعی و فیزیولوژیکی اندازه‌گیری شدند. تنش خشکی باعث کاهش عملکرد دانه از طریق کاهش وزن هزار دانه شد. بیشترین عملکرد دانه مربوط به ژنوتیپ نیمه متحمل Manning/Sdv1/Dogu8 و کمترین عملکرد مربوط به ژنوتیپ SHARK بود. نتایج تحقیق مشخص ساخت که در تیمارهای تحت تنش محتوای پروتئین محلول در برگ پرچم و سنبله نسبت به شاهد افزایش یافت. بیشترین و کمترین محتوا به ترتیب مربوط به ژنوتیپ‌های Sardari HR-86 و SHARK - و در سنبله بیشترین محتوای پروتئین محلول در ژنوتیپ Manning/Sdv1/Dogu8 و کمترین آن مربوط به ژنوتیپ SHARK بود. بررسی‌ها همچنین مشخص ساخت که فعالیت آنزیم‌های پراکسیداز، آسکوربات پراکسیداز و سوپراکسید دیسموتاز تحت تنش خشکی افزایش یافت. بیشترین فعالیت آنزیم‌ها در برگ پرچم در ژنوتیپ متحمل Sardari HR-86 و در سنبله در ژنوتیپ نیمه متحمل Manning/Sdv1/Dogu8 در آخرین مرحله نمونه برداری مشاهده شد. همچنین ژنوتیپ‌های حساس کمترین فعالیت آنزیمی را نشان دادند. بر اساس نتایج به دست آمده به نظر می‌رسد که در ژنوتیپ نیمه متحمل Manning/Sdv1/Dogu8، فعال شدن سیستم دفاعی آنزیم‌های پراکسیداز و سوپراکسید دیسموتاز نقش موثری در افزایش تحمل به تنش خشکی داشته است.

واژه‌های کلیدی: آنزیم، پروتئین، تحمل، تنش خشکی، گندم.

مقدمه

(2006). بیشتر از ۴۵ درصد زمین‌های کشاورزی جهان به‌طور مداوم یا مکرر در معرض تنش خشکی هستند که ۳۸ درصد از جمعیت بشری در این مناطق زندگی می‌کنند (Ashraf and Foolad, 2007). کمبود آب، روابط آبی گیاه را در تمامی سطوح مولکولی، سلولی و اندامکی تحت تاثیر قرار می‌دهد (Li et al.,

خشکسالی به‌عنوان یکی از مهم‌ترین تنش‌های محیطی شناخته شده است که باعث کاهش رشد گیاه و تولید محصول می‌شود (Terzi and Kadioglu,

*مسئول مکاتبه: n.mohammadkhani@urmiaac.ir

آنزیم‌های پراکسیداز و آسکوربات پراکسیداز نقش جاروب کردن پراکسید هیدروژن را بر عهده دارند، اما تمایل آسکوربات پراکسیداز برای پراکسید هیدروژن نسبت به پراکسیداز بالاتر بوده و میتواند نقش ویژه‌ای را در تنظیم میزان ROS در شرایط تنش داشته باشد (Yang et al., 2008). گزارش‌ها نشان می‌دهد که رقم‌های مقاوم به تنش‌های محیطی می‌توانند از طریق القا کردن سیستم‌های دفاع آنتی‌اکسیدانی با تنش‌های محیطی مقابله کنند. بنابراین، بین سیستم دفاع آنتی‌اکسیدانی و تحمل شرایط تنش ارتباط وجود داد (Demiral and Türkan, 2004). مطالعه حاضر به منظور بررسی روند تغییرات محتوای پروتئین محلول و پاسخ‌های دفاعی آنتی‌اکسیدانی در شرایط تنش خشکی در برگ پرچم و سنبله ژنوتیپ‌های مقاوم و حساس به خشکی گندم در مراحل مختلف توسعه گیاهی بعد از گرده افشانی (۷، ۱۷ و ۲۳ روز بعد از گرده افشانی) انجام گرفت. علاوه بر این، سطح برخی از ترکیبات همانند مالون دی‌آلدنید، پراکسید هیدروژن و نیز آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان به منظور شناسایی ژنوتیپ‌های مقاوم و حساس به خشکی مورد اندازه‌گیری قرار گرفت.

مواد و روش‌ها

این پژوهش در سال ۹۴ در ایستگاه تحقیقات کشاورزی دیم مراغه در فاصله ۴۵ درجه و ۳۰ دقیقه تا ۴۶ دقیقه و ۳۷ دقیقه طول شرقی و ۳۶ درجه و ۵۲ دقیقه تا ۳۷ درجه و ۳۸ دقیقه عرض شمالی با ارتفاع ۱۷۲۰ متر از سطح دریا به صورت آزمایش فاکتوریل و در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی با سه تکرار اجرا شد. دو سطح آبیاری شامل شاهد یا عدم تنش (آبیاری در تمام مراحل رشدی بر اساس شرایط

خشکی باعث بسته شدن روزنه‌ها و به موازات آن کاهش فتوسنتز خالص و کارایی مصرف آب می‌شود که در نهایت این فرایندها منجر به کاهش رشد و توسعه گیاه خواهند شد (Farooq et al., 2009 a,b). هدایت روزنه‌ها نه تنها بوسیله شرایط آبی خاک کنترل می‌شود بلکه ترکیبی از اثرات متقابل فاکتورهای درونی و بیرونی در این امر دخیل هستند (Liu et al., 2006). بسته به میزان در دسترس بودن رطوبت خاک، فعالیت آنزیم‌های آسیمیلایون کربن و آنزیم‌های دخیل در سنتز آدنوزین تری فسفات کاهش می‌یابد (Farooq et al., 2009 a,b). یکی از عوامل عمده مسئول در اختلال رشد و تولید گیاه در شرایط تنش خشکی، تولید گونه‌های فعال اکسیژن در اندامک‌هایی همانند میتوکندری، کلروپلاست و پراکسی زوم می‌باشد (Farooq et al., 2009 a,b). گونه‌های فعال اکسیژن علاوه بر این اثرات مخرب، در شرایط پایدار، به عنوان پیام رسان‌های ثانویه، دارای نقش فیزیولوژیکی مهمی در علامت دهی و تنظیمات درون سلولی هستند (Gill and Tuteja, 2010). در گونه‌های مختلف گیاهی در شرایط تنش خشکی میزان فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان افزایش می‌یابد (Zhuang and Chen, 2006). گیاهان برای مقابله با اثرات سوء ناشی از رادیکال‌های آزاد اکسیژن در طی بروز تنش خشکی، از یک سیستم پیچیده دفاعی استفاده می‌کنند. یکی از اقدامات گیاهان در مقابله با اثرات مضر واکنش‌های اکسیداسیونی ناشی از تنش، افزایش فعالیت‌های آنتی‌اکسیدان‌ها می‌باشد. آنتی‌اکسیدان‌ها شامل دو گروه آنتی‌اکسیدان‌های آنزیمی همانند سوپراکسید دیسموتاز (SOD)، پراکسیداز (POX)، آسکوربات پراکسیداز (APX) و گلوکاتایون ردوکتاز (GR) و آنتی‌اکسیدان‌های غیر آنزیمی همانند اسید آسکوربیک، گلوکاتایون، کاروتنوئیدها و توکوفرول‌ها می‌باشند (Verma et al., 2014; Ashraf, 2009).

نانومتر می‌شود به وسیله دستگاه اسپکتروفومتر اندازه‌گیری شد (Stewart, 1980).

میزان پروتئین محلول کل به روش Bradford (۱۹۷۶) اندازه‌گیری شد.

اندازه‌گیری فعالیت آنزیم پراکسیداز بر اساس روش Chance و Machly (۱۹۵۵) انجام گرفت. جهت سنجش فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز نیز از روش Nakano و Asada (۱۹۸۷) استفاده شد. فعالیت آنزیم سوپر اکسید دیسموتاز از طریق اندازه‌گیری توانایی آن در جلوگیری از احیای نوری نیتروبلو ترازولیوم کلراید به روش Dhindsa و Thorpe (۱۹۸۱) اندازه‌گیری شد.

محاسبات آماری با استفاده از نرم‌افزار SPSS (Version 19) و مقایسات میانگین با روش دانکن در سطح احتمال آماری ۵ درصد انجام گردید. همبستگی بین فاکتورهای مورد مطالعه نیز در سطح ۵ درصد محاسبه شد.

نتایج

تغییرات عملکرد و اجزای عملکرد: نتایج تجزیه واریانس نشان داد که ژنوتیپ‌های مورد مطالعه از نظر تعداد دانه در سنبله، وزن هزار دانه و عملکرد دانه در سطح احتمال آماری ۵ درصد تفاوت معنی‌داری داشتند. همچنین تیمار تنش خشکی نیز بر روی نظر صفات مذکور در سطح احتمال آماری ۵ درصد اثر معنی‌دار گذاشت (جدول ۱).

کشت آبی) و تنش خشکی (قطع آبیاری پس از گرده افشانی که معادل با حذف ۳ مرحله آبیاری بود) به عنوان اولین فاکتور و ژنوتیپ‌های مختلف گندم (در شش سطح شامل ژنوتیپ‌های Shark و TEVEE'S//CROW/VEE'S: حساس، Sabalan و Manning/Sdv1/Dogu8: نیمه متحمل، Dogu88/Ghafghaz 7 و Sardari HR-86: متحمل به تنش خشکی) به عنوان دومین فاکتور در نظر گرفته شد. در نیمه دوم آبان ماه بعد از آماده سازی زمین در اوایل پاییز، کشت بذور ژنوتیپ‌ها بر اساس وزن هزار دانه و قوه نامیه در تراکم ۴۰۰ بوته در متر مربع انجام گردید. برای تجزیه‌های آنزیمی، پس از اعمال تنش‌های مورد نظر، ۱۰ بوته از هر واحد آزمایش (کرت) انتخاب گردید و به منظور استخراج آنزیم‌ها، نمونه‌های برگ پرچم و سنبله جمع‌آوری شده از مزرعه درون فویل آلومینیومی پیچیده شده و بلافاصله در ازت مایع به آزمایشگاه منتقل گردید تا بررسی فعالیت‌های آنزیمی بر روی آنها صورت بگیرد.

مقدار پراکسید هیدروژن براساس واکنش پراکسید هیدروژن با یدور پتاسیم انجام شد (Alexieva et al., 2001). سنجش میزان پراکسیداسیون لیپیدهای غشاء، غلظت مالون دی آلدئید و سایر آلدئیدهای تولید شده توسط واکنش با تیوباربیتوریک اسید (TBA) که سبب تشکیل کمپلکس قرمز (MDA-TBA) در طول موج ۵۳۲

جدول ۱: تجزیه واریانس (میانگین مربعات) اثر تنش خشکی بعد از مرحله گرده افشانی بر عملکرد و اجزاء عملکرد

وزن هزار دانه	تعداد دانه در سنبله	عملکرد دانه	درجه آزادی	منابع تغییرات
۱۲۸۹/۵۶*	۱۱۱/۲۸*	۷۰۸۵۱۴/۱۸*	۱	آبیاری
۲۹۶/۲۲*	۷۴/۶۹*	۲۱۷۰۷/۴۹*	۵	ژنوتیپ
۱۶/۵۳*	۵۰/۳۸*	۸۸۶۲/۰۶*	۵	آبیاری*ژنوتیپ
۲/۷۶	۰/۸۲۲	۳/۲۸	۶۰	خطا

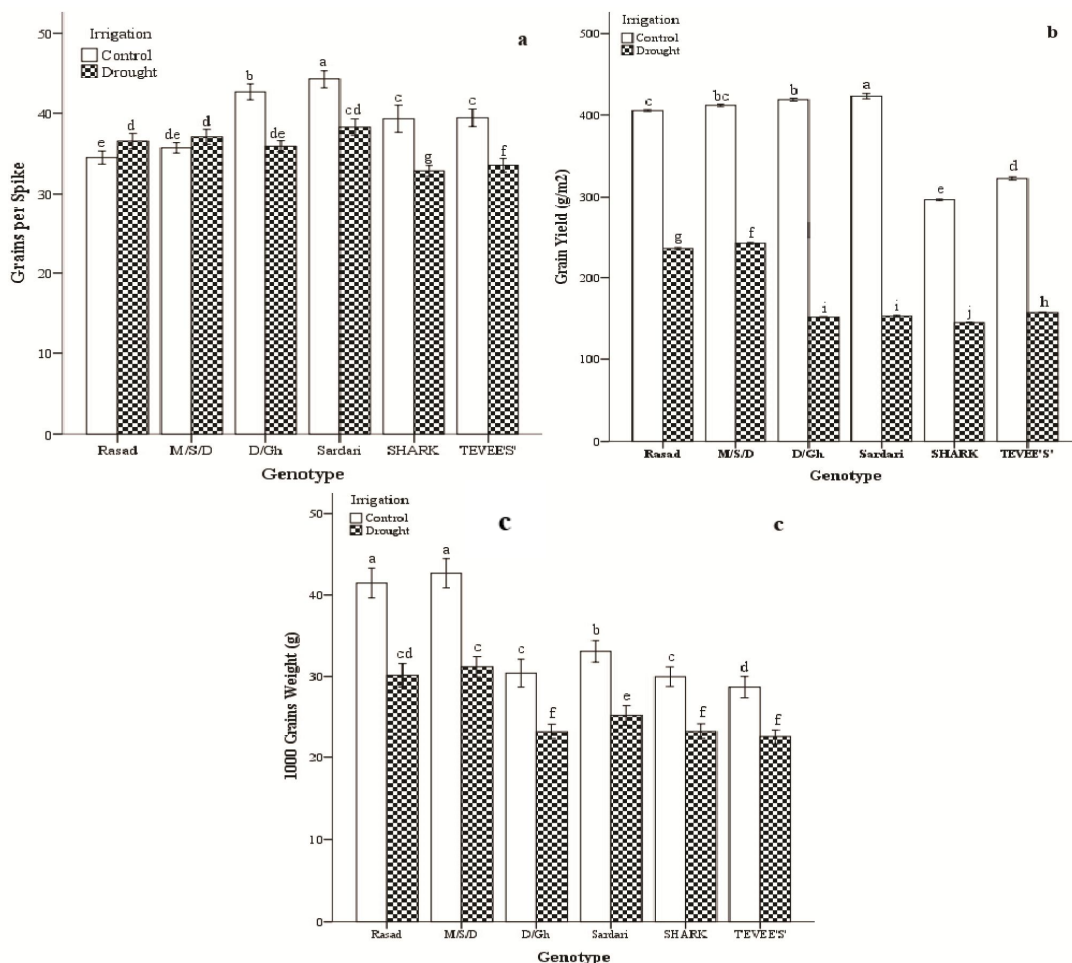
* و ** : به ترتیب غیر معنی‌دار و معنی‌دار در سطح احتمال ۵ درصد.

به دلیل عدم تأمین مواد فتوسنتزی مورد تقاضای دانه‌ها، نسبت به دو جزء دیگر عملکرد یعنی تعداد دانه در سنبله و تعداد سنبله در واحد سطح با شدت بیشتری انجام گرفت بوده و کاهش این جزء عملکردی باعث افت بیشتر عملکرد دانه شد (Abdoli and Saeidi, 2012). ژنوتیپ نیمه متحمل Manning/Sdv1/Dogu88 در شرایط تنش خشکی پس از مرحله گرده افشانی به دلیل وزن هزار دانه بیشتر، عملکرد دانه بالاتری را نسبت به سایر ژنوتیپ‌ها به خود اختصاص داد.

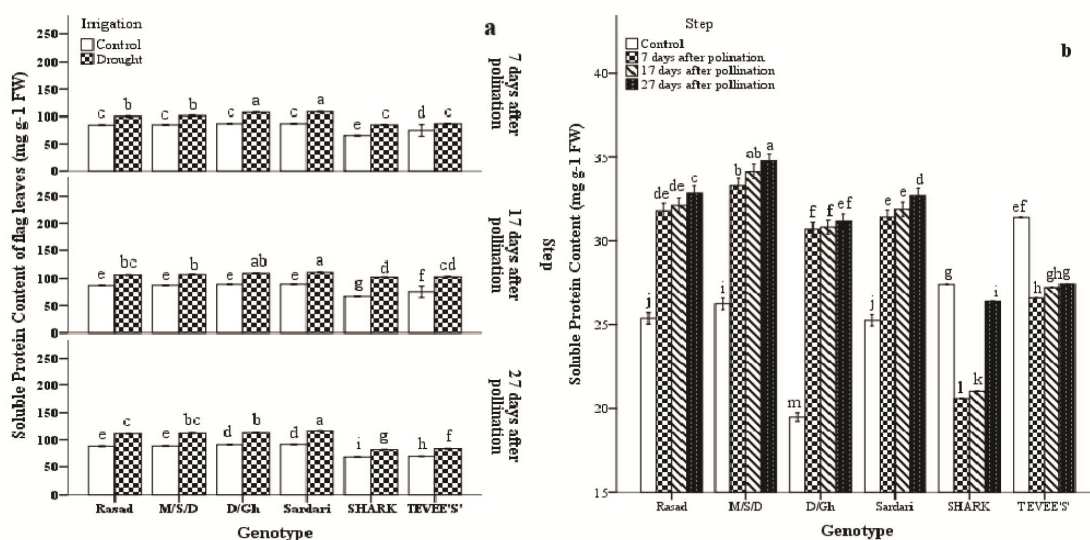
تغییرات پروتئین‌های محلول برگ پرچم و سنبله: نتایج تجزیه واریانس (جدول ۲) نشان داد که در برگ پرچم اختلاف معنی داری در سطح احتمال ۵ درصد بین اثرات ساده رژیم‌های رطوبتی، ژنوتیپ‌ها، مراحل نمونه برداری و اثر متقابل بین آنها وجود داشت. در سنبله نیز اختلاف معنی دار بین اثرات ساده و اثرات متقابل بین آنها (به غیر از اثرات متقابل آبیاری × مرحله و آبیاری × ژنوتیپ × مرحله) در سطح احتمال ۵ درصد مشاهده گردید.

اثر متقابل معنی دار بین تیمار آبیاری، ژنوتیپ و مرحله نمونه برداری بر محتوی پروتئین‌های محلول برگ پرچم (جدول ۲) نشان داد که در ژنوتیپ‌های مختلف با اعمال تنش خشکی و شدیدتر شدن تنش کمبود آب در آخرین مرحله نمونه برداری، محتوی پروتئینی به طور معنی داری افزایش یافت. به طوری که مقایسه میانگین‌ها حاکی از آن بود که بیشترین میانگین محتوی پروتئینی ($115/67 \text{ mg g}^{-1} \text{ Fw}$) در شرایط تنش خشکی در آخرین مرحله نمونه برداری در ژنوتیپ Sardari HR-86 مشاهده شد.

اثر متقابل معنی دار بین تیمار تنش خشکی و ژنوتیپ بر میزان عملکرد دانه حاکی از آن بود اعمال تنش خشکی منجر به کاهش عملکرد در ژنوتیپ‌های مورد مطالعه شده است. طوری که مقایسات میانگین نشان داد که حداقل و حداکثر عملکرد دانه در شرایط تنش خشکی به ترتیب مربوط ژنوتیپ‌های SHARK ($145/170 \text{ g m}^{-2}$) و Manning/Sdv1/Dogu88 ($242/080 \text{ g m}^{-2}$) بود (شکل 1a). مقایسه میانگین‌های اثر متقابل تنش خشکی و ژنوتیپ بر تعداد دانه در سنبله نشان داد که بیشترین تعداد دانه در سنبله مربوط به ژنوتیپ Sardari HR-86 ($39/12$) و کمترین آن در شرایط تنش خشکی مربوط به ژنوتیپ SHARK ($32/95$) بود (شکل 1b). نتایج حاصل از برهمکنش تنش خشکی و ژنوتیپ بر صفت وزن هزار دانه نشان داد که بیشترین وزن هزار دانه در شرایط تنش خشکی مربوط به ژنوتیپ Manning/Sdv1/Dogu88 ($28/94 \text{ g}$) و کمترین وزن هزار دانه تحت همین شرایط مربوط به ژنوتیپ‌های حساس به تنش خشکی SHARK ($22/17 \text{ g}$) و TEVEE'S//CROW/VEE'S ($21/51 \text{ g}$) بود (شکل 1c). بروز تنش خشکی پس از مرحله گرده افشانی، باعث کاهش عملکرد دانه می‌شود که احتمالاً به دلیل کاهش ذخیره سازی مواد پرورده در دانه‌ها و یا کاهش ظرفیت ذخیره سازی دانه‌ها است (Abdoli and Saeidi, 2012). در مطالعه حاضر وقوع تنش خشکی پس از مرحله گرده افشانی باعث کاهش ۱۶ درصدی وزن هزار دانه شد. همچنین همبستگی مثبت معنی داری ($P < 0/01$, $r > 0/8$) بین عملکرد دانه و وزن هزار دانه مشاهده شد. کاهش وزن هزار دانه در شرایط تنش خشکی پس از مرحله گرده افشانی



شکل ۱: مقایسه میانگین اثر متقابل ژنوتیپ و رژیم رطوبتی بر عملکرد دانه (a)، تعداد دانه در سنبله (b) و وزن هزار دانه (c). میانگین‌های دارای حروف مشابه، دارای تفاوت معنی دار در سطح احتمال پنج درصد در آزمون چند دامنه‌ای دانکن نیستند.



شکل ۲: مقایسه میانگین اثر متقابل رژیم رطوبتی، ژنوتیپ و مراحل نمونه برداری بر محتوی پروتئین در برگ پرچم (a) و مقایسه میانگین اثر متقابل ژنوتیپ و مراحل نمونه برداری بر محتوی پروتئین در سنبله (b). میانگین‌های دارای حروف مشابه، دارای تفاوت معنی دار در سطح احتمال پنج درصد در آزمون چند دامنه‌ای دانکن نیستند.

اثر متقابل معنی دار بین تیمار ژنوتیپ×مرحله بر محتوی پروتئین‌های محلول برگ پرچم نشان داد که با افزایش شدت تنش خشکی در پایان مراحل نمونه برداری محتوی پروتئینی ژنوتیپ‌های مختلف افزایش یافت. بیشترین و کمترین محتوی پروتئینی به ترتیب مربوط به ژنوتیپ‌های (Sardari HR-86 mg g⁻¹ Fw) و (SHARK و (۳۵/۲۹ mg g⁻¹ Fw) در آخرین مرحله نمونه برداری بود (شکل ۲a). کمترین میانگین محتوی پروتئینی در سنبله (۸۲/۱۶ mg g⁻¹ Fw) در شرایط تنش خشکی، مربوط به آخرین مرحله نمونه برداری در ژنوتیپ SHARK بود (شکل ۲b).

جدول ۲: تجزیه واریانس (میانگین مربعات) اثر تنش خشکی بعد از مرحله گرده افشانی بر برخی خصوصیات فیزیولوژیکی در برگ پرچم ژنوتیپ‌های مختلف گندم

جدول ۲: تجزیه واریانس (میانگین مربعات) اثر تنش خشکی بعد از مرحله گرده افشانی بر برخی خصوصیات فیزیولوژیکی در برگ پرچم ژنوتیپ‌های مختلف گندم

منابع تغییرات	درجه آزادی	مالون دی آلدئید	آنزیم آسکوربات پراکسیداز	آنزیم پراکسیداز	آنزیم سوپر اکسید دیسموتاز	پروتئین‌های محلول	پراکسید هیدروژن
آبیاری	۱	۳۵/۴۳*	۰/۷۹*	۵۳/۹۲*	۱۸۹/۱۹*	۲۳۰۶۵/۲۸*	۱۰۲/۱۴*
ژنوتیپ	۵	۴۸/۰۹*	۰/۵۶*	۵/۸۱*	۶۱/۱۵*	۳۳۱۸/۲۹*	۵۱/۵۶*
مرحله	۲	۷/۰۲*	۰/۲۳*	۱۲/۲۲*	۳۱/۴۷*	۴۳۹/۷۳*	۴۹/۷۴*
آبیاری×ژنوتیپ	۵	۳/۷۸*	۰/۰۰۵*	۱/۹۷*	۰/۵۵*	۳۱/۳۱*	۱/۴۲*
آبیاری×مرحله	۲	۶/۴۴*	۰/۰۴*	۱۰/۸۷*	۱۷/۱۵*	۲۱۲/۳۱*	۳/۶۲*
ژنوتیپ×مرحله	۱۰	۰/۶۷*	۰/۰۰۲*	۰/۱۵*	۰/۱۳*	۱۸۰/۶۱*	۳/۸۳*
آبیاری×ژنوتیپ×مرحله	۱۰	۰/۶۶*	۰/۰۰۲*	۰/۱۵*	۰/۱۳*	۱۰۲/۸۱*	۰/۹۰*
خطا	۱۸۰	۰/۰۰۲	۴/۶۷	۰/۰۰۱	۰/۰۰۱	۶/۲۷	۰/۰۲۸

ns و*: به ترتیب غیر معنی دار و معنی دار در سطح احتمال ۵ درصد.

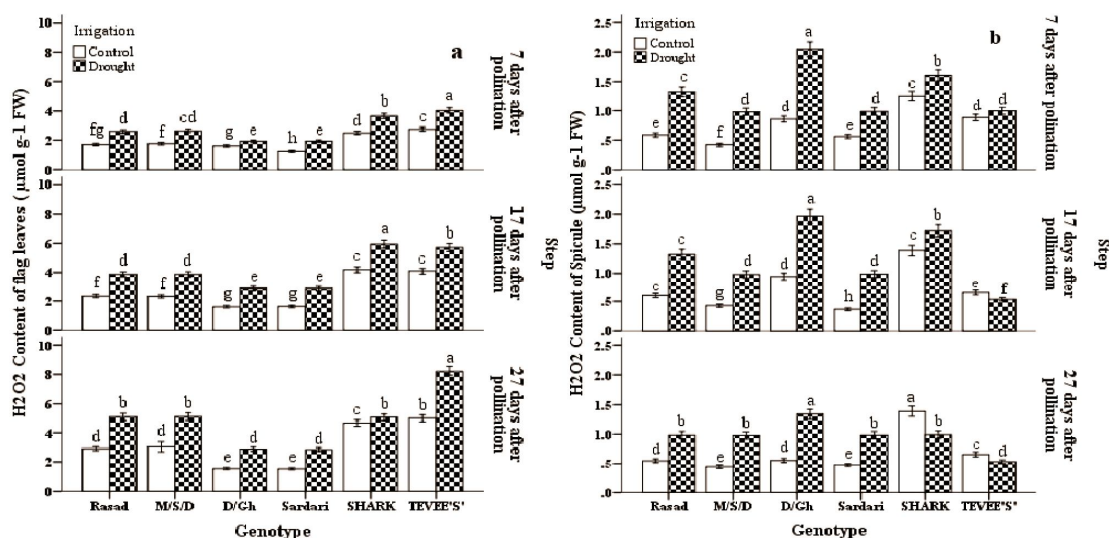
جدول ۳: تجزیه واریانس (میانگین مربعات) اثر تنش خشکی بعد از مرحله گرده افشانی بر برخی خصوصیات فیزیولوژیکی در سنبله ژنوتیپ‌های مختلف گندم

منابع تغییرات	درجه آزادی	مالون دی آلدئید	آنزیم آسکوربات پراکسیداز	آنزیم پراکسیداز	آنزیم سوپر اکسید دیسموتاز	پروتئین محلول	پراکسید هیدروژن
آبیاری	۱	۹۰/۶۰*	۰/۱۳*	۲/۹۸*	۷/۴۳*	۶۷۶/۹۷*	۱۱/۴۲*
ژنوتیپ	۵	۲/۹۳*	۰/۰۹*	۰/۹۲*	۵/۲۲*	۱۵۲/۸۱*	۳/۴۷*
مرحله	۲	۰/۲۴*	۰/۰۴*	۰/۲۹*	۲/۳۱*	۷۶/۹۳*	۰/۹۷*
آبیاری×ژنوتیپ	۵	۱۱/۲۸*	۰/۰۲*	۰/۷۰*	۱/۹۶*	۳۵۶/۵۳*	۱/۳۰*
آبیاری×مرحله	۲	۰/۶۱*	۹/۴۰ ^{ns}	۰/۰۵*	۰/۰۷*	۰/۶۳ ^{ns}	۰/۳۸*
ژنوتیپ×مرحله	۱۰	۰/۳۸*	۰/۰۰۲*	۰/۰۲*	۰/۰۷*	۱۰/۹۸*	۰/۲۳*
آبیاری×ژنوتیپ×مرحله	۱۰	۰/۶۷*	۳/۸۳ ^{ns}	۰/۰۲*	۰/۰۲۷*	۶/۳۲ ^{ns}	۰/۰۹*
خطا	۱۸۰	۰/۰۱۶	۵/۷۴	۵/۴۸	۰/۰۰۴	۰/۲۱	۰/۰۰۴

ns و*: به ترتیب غیر معنی دار و معنی دار در سطح احتمال ۵ درصد.

مرحله از نمونه برداری (۲۷ روز پس از گرده افشانی) بود (شکل ۳a). مقایسات میانگین اثر متقابل آبیاری، واریته و مرحله نمونه برداری بر میزان پراکسید هیدروژن تولیدی در سنبله‌های نمونه برداری شده حاکی از آن بود که با تشدید تنش خشکی کاهش معنی داری را در میزان پراکسید هیدروژن تولیدی در ژنوتیپ‌های مورد مطالعه شاهد بودیم. به طوری که بیشترین میزان پراکسید هیدروژن تولیدی (mol g^{-1} $1/42 \mu\text{Fw}$) در شرایط تنش خشکی مربوط به ژنوتیپ 7 Dogu88/Ghafghaz در اولین مرحله از نمونه برداری بود و حداقل میزان پراکسید هیدروژن تولیدی در شرایط تنش خشکی مربوط به ژنوتیپ TEVEE'S//CROW/VEE'S ($0/50 \mu\text{mol g}^{-1}$ Fw) در دومین مرحله از نمونه برداری بود (شکل ۳b).

تغییرات پراکسید هیدروژن در برگ پرچم و سنبله: نتایج تجزیه واریانس (جدول ۲ و ۳) حاکی از آن بود که اختلاف معنی داری در سطح احتمال ۵ درصد بین تیمارهای آبیاری، ژنوتیپ، مرحله نمونه برداری و اثر متقابل بین آنها در برگ پرچم‌ها و سنبله‌های نمونه برداری شده وجود داشت. مقایسه میانگین‌های اثر متقابل سه گانه نشان داد که اعمال تنش خشکی و شدیدتر شدن تنش کمبود آب در آخرین مرحله نمونه برداری، باعث افزایش معنی دار میزان پراکسید هیدروژن تولیدی در برگ پرچم ژنوتیپ‌های مورد مطالعه شد و حداکثر و حداقل میزان پراکسید هیدروژن تولیدی به ترتیب مربوط به ژنوتیپ‌های TEVEE'S//CROW/VEE'S ($7/98 \mu\text{mol g}^{-1}$ Fw) و Dogu88/Ghafghaz 7 (mol g^{-1}) و Sardari HR-86 در شرایط تنش خشکی در آخرین



شکل ۳: مقایسه میانگین اثر متقابل رژیم رطوبتی، ژنوتیپ و مراحل نمونه برداری بر میزان پراکسید هیدروژن تولیدی در برگ پرچم (a) و سنبله (b). میانگین‌های دارای حروف مشابه، دارای تفاوت معنی دار در سطح احتمال پنج درصد در آزمون چند دامنه‌ای دانکن نیستند.

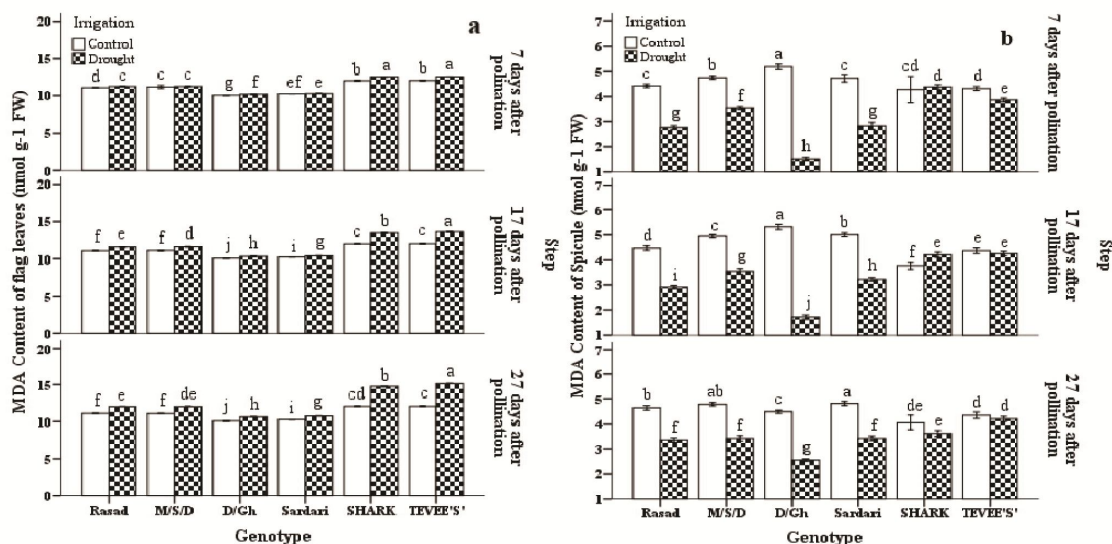
متقابل بین آنها در برگ پرچم‌ها و سنبله‌های نمونه برداری شده وجود دارد. اعمال تنش خشکی و افزایش شدت آن در آخرین مرحله نمونه برداری باعث افزایش معنی دار میزان مالون دی آلدئید تولیدی

تغییرات مالون دی آلدئید در برگ پرچم و سنبله: نتایج تجزیه واریانس (جدول ۲ و ۳) حاکی از آن بود که اختلاف معنی داری در سطح احتمال ۵ درصد بین تیمارهای آبیاری، واریته، مرحله نمونه برداری و اثر

تولیدی ($2/58 \text{ nmol g}^{-1}$) در شرایط تنش خشکی مربوط به سنبله ژنوتیپ 7 Dogu88/Ghafghaz به آخرین مرحله از نمونه برداری تعلق داشت (شکل b) (۴).

تغییرات فعالیت آنزیم پراکسیداز در برگ پرچم و سنبله: نتایج تجزیه واریانس (جدول ۲ و ۳) نشان داد که در برگ پرچم‌ها و سنبله‌های نمونه‌برداری شده اختلاف معنی‌داری در سطح احتمال ۵ درصد بین اثرات ساده رژیم‌های رطوبتی، ژنوتیپ‌ها، مراحل نمونه‌برداری و اثر متقابل بین آنها مشاهده شد. مقایسه میانگین‌های اثر متقابل آبیاری، ژنوتیپ و مرحله نمونه برداری، بر میزان فعالیت آنزیم پراکسیداز در برگ پرچم حاکی از آن بود که در ژنوتیپ‌های مختلف با اعمال تنش خشکی و شدیدتر شدن تنش کمبود آب در آخرین مرحله نمونه‌برداری، میزان فعالیت آنزیم پراکسیداز به‌طور معنی‌داری افزایش یافت.

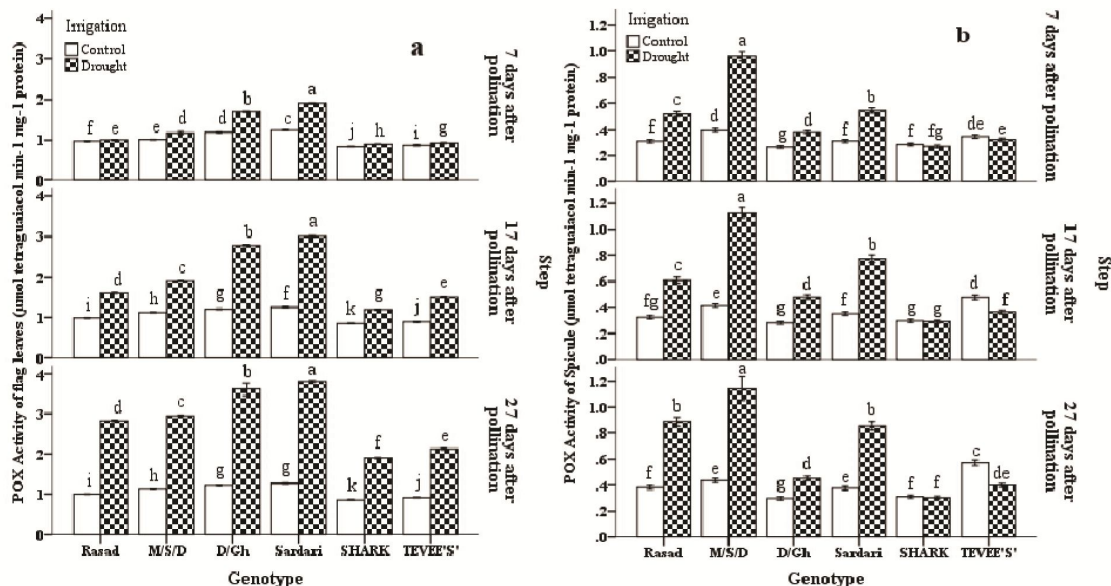
در ژنوتیپ‌های مورد مطالعه شد. مقایسه میانگین‌ها نشان داد که بیشترین و کمترین میزان مالون دی‌آلدئید تولیدی در شرایط تنش خشکی به‌ترتیب مربوط به ژنوتیپ‌های TEVEE'S//CROW/VEE'S ($15/17 \text{ nmol g}^{-1}$) و Dogu88/Ghafghaz 7 ($10/62 \text{ g}^{-1}$) در آخرین مرحله از نمونه‌برداری مشاهده گردید (شکل ۴a). مقایسات میانگین اثر متقابل آبیاری، واریته و مرحله نمونه برداری بر میزان مالون دی‌آلدئید تولیدی در سنبله‌های نمونه‌برداری شده نشان داد که اعمال تنش خشکی و تشدید تنش باعث افزایش معنی‌داری در میزان مالون دی‌آلدئید تولیدی در سنبله ژنوتیپ‌های مختلف شد. طوری که مقایسه میانگین‌ها نشان داد که حداکثر میزان پراکسید هیدروژن تولیدی ($4/28 \text{ nmol g}^{-1}$) در شرایط تنش خشکی مربوط به سنبله ژنوتیپ TEVEE'S//CROW/VEE'S در آخرین مرحله از نمونه برداری بود و حداقل میزان پراکسید هیدروژن



شکل ۴: مقایسه میانگین اثر متقابل رژیم رطوبتی، ژنوتیپ و مراحل نمونه‌برداری بر میزان مالون دی‌آلدئید تولیدی در برگ پرچم (a) و سنبله (b). میانگین‌های دارای حروف مشابه، دارای تفاوت معنی‌دار در سطح احتمال پنج درصد در آزمون چند دامنه‌ای دانکن نیستند.

تغییرات آنزیم آسکوربات پراکسیداز در برگ پرچم و سنبله: نتایج تجزیه واریانس (جدول ۲) نشان داد که اختلاف معنی داری در سطح احتمال ۵ درصد بین اثرات ساده رژیم‌های رطوبتی، ژنوتیپ‌ها، مراحل نمونه برداری و اثر متقابل بین آنها در برگ پرچم‌های نمونه برداری شده مشاهده شد. در سنبله نیز اختلاف معنی دار بین اثرات ساده و اثرات متقابل بین آنها (به غیر از اثرات متقابل آبیاری × مرحله و آبیاری × ژنوتیپ × مرحله) در سطح احتمال ۵ درصد مشاهده گردید. اثر متقابل معنی دار در تیمار آبیاری، ژنوتیپ و مرحله نمونه برداری بر میزان فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز برگ پرچم نشان داد که در ژنوتیپ‌های مختلف با اعمال تنش خشکی و تشدید تنش کم آبی در آخرین مرحله نمونه برداری، میزان فعالیت آنزیم به‌طور معنی داری افزایش یافت.

طوری که بیشترین میانگین میزان فعالیت آنزیم پراکسیداز (واحد آنزیمی ۳/۸۵) در شرایط تنش خشکی در آخرین مرحله نمونه برداری (۲۷ روز پس از گرده افشانی) در ژنوتیپ Sardari HR-86 مشاهده شد. کمترین میانگین میزان فعالیت آنزیم پراکسیداز (واحد آنزیمی ۰/۸۶) نیز در شرایط تنش خشکی، مربوط به آخرین مرحله نمونه برداری (۲۷ روز پس از گرده افشانی) در ژنوتیپ SHARK بود (شکل ۵a). مقایسات میانگین اثر متقابل آبیاری، ژنوتیپ و مرحله نمونه برداری، بر میزان فعالیت آنزیم پراکسیداز در سنبله نشان داد که حداکثر و حداقل میانگین میزان فعالیت آنزیم پراکسیداز به ترتیب در سنبله ژنوتیپ‌های Manning/Sdv1/Dogu88 (واحد آنزیمی ۱/۲۳) و SHARK (واحد آنزیمی ۰/۳۲) در شرایط تنش خشکی در آخرین مرحله نمونه برداری مشاهده شد (شکل ۵b).



شکل ۵: مقایسه میانگین اثر متقابل رژیم رطوبتی، ژنوتیپ و مراحل نمونه برداری بر میزان فعالیت آنزیم پراکسیداز در برگ پرچم (a) و سنبله (b). میانگین‌های دارای حروف مشابه، دارای تفاوت معنی دار در سطح احتمال ۵ درصد در آزمون چند دامنه‌ای دانکن نیستند.

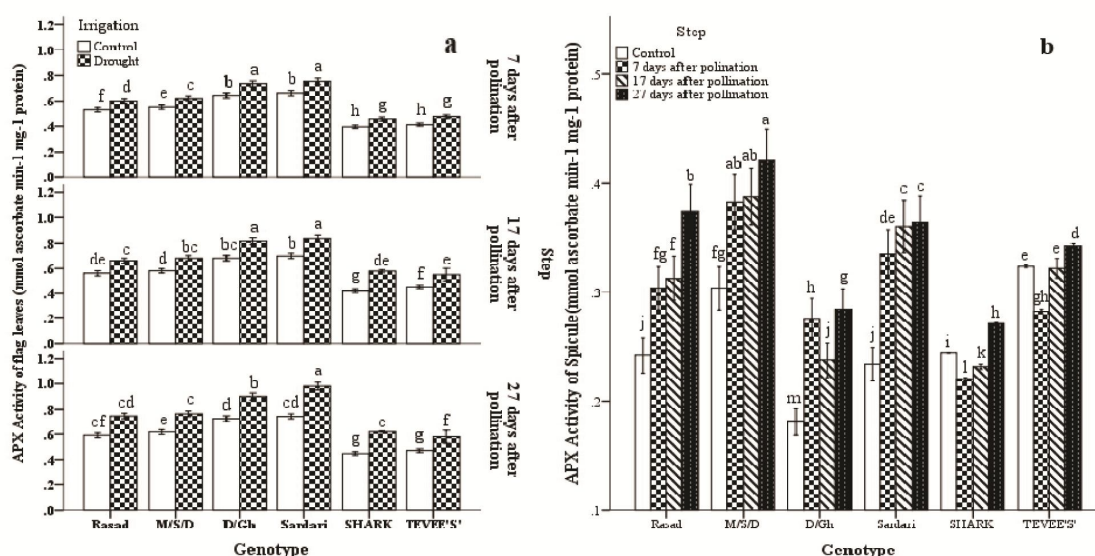
طوری که بیشترین میانگین‌ها نشان داد که بیشترین میانگین فعالیت آنزیم (واحد آنزیمی ۱/۰۰۷) در شرایط تنش خشکی در آخرین مرحله نمونه برداری

در ژنوتیپ Sardari HR-86 بود. همچنین کمترین میانگین فعالیت آنزیم (واحد آنزیمی ۰/۵۸) در شرایط تنش خشکی، در

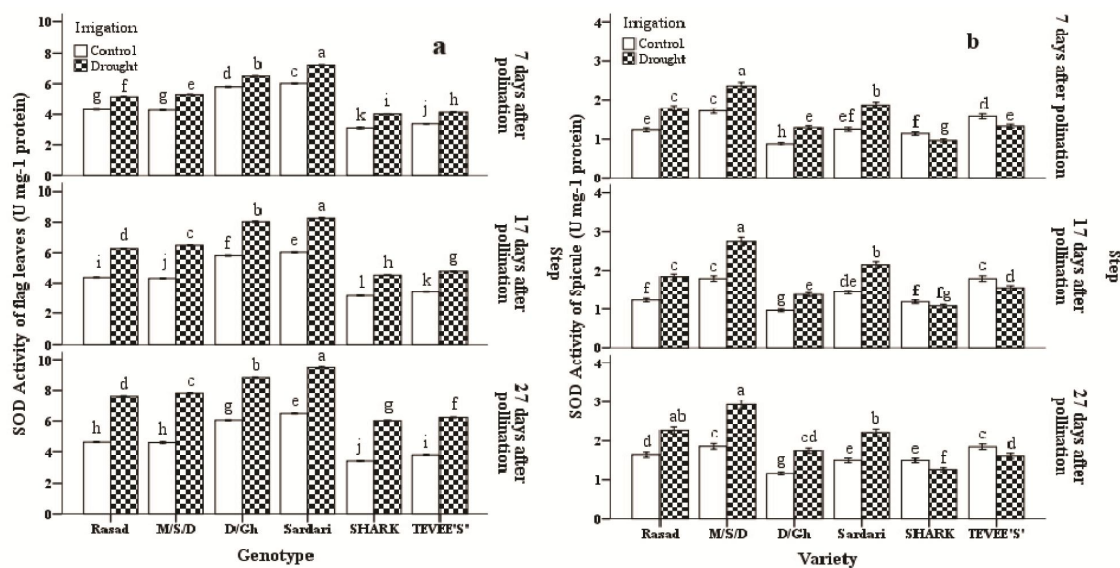
نمونه برداری بر میزان فعالیت آنزیم سوپر اکسید دیسموتاز برگ پرچم نشان داد که بیشترین میانگین فعالیت آنزیم (واحد آنزیمی ۹/۴۸) در شرایط تنش خشکی در آخرین مرحله نمونه برداری در ژنوتیپ Sardari HR-86 بود. کمترین میانگین فعالیت آنزیم (واحد آنزیمی ۵/۹۹) در شرایط تنش خشکی، در آخرین مرحله نمونه برداری در ژنوتیپ SHARK مشاهده شد (شکل ۷a). مقایسه میانگین‌های اثر متقابل آبیاری، ژنوتیپ و مرحله نمونه برداری بر میزان فعالیت آنزیم سوپر اکسید دیسموتاز سنبله نشان داد که اعمال تنش خشکی و تشدید تنش کم آبی باعث افزایش فعالیت این آنزیم در آخرین مرحله نمونه برداری در ژنوتیپ‌های مختلف مورد مطالعه شد. به طوری که بیشترین و کمترین میزان فعالیت آنزیم در شرایط تنش خشکی در آخرین مرحله نمونه برداری به ترتیب مربوط به ژنوتیپ‌های Manning/Sdv1/Dogu88 (واحد آنزیمی ۳/۰۳) و SHARK (واحد آنزیمی ۱/۲۳) بود (شکل ۷b).

آخرین مرحله نمونه برداری (۲۷ روز پس از گرده افشانی) در ژنوتیپ TEVEE'S//CROW/VEE'S مشاهده گردید (شکل ۶a). مقایسه میانگین‌های اثر متقابل ژنوتیپ × مرحله بر میزان فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز سنبله نشان داد بیشترین میزان فعالیت آنزیم (واحد آنزیمی ۰/۴۵) مربوط به ژنوتیپ Manning/Sdv1/Dogu88 در آخرین مرحله نمونه برداری (۲۷ روز پس از گرده افشانی) بود در حالی که کمترین میزان فعالیت آنزیم (واحد آنزیمی ۰/۲۳) مربوط به ژنوتیپ SHARK در آخرین مرحله نمونه برداری (۲۷ روز پس از گرده افشانی) تعلق داشت (شکل ۶b).

تغییرات آنزیم سوپر اکسید دیسموتاز در برگ پرچم و سنبله: نتایج تجزیه واریانس (جدول ۲ و ۳) نشان داد که اختلاف معنی داری در سطح احتمال ۵ درصد بین اثرات ساده رژیم‌های رطوبتی، ژنوتیپ‌ها، مراحل نمونه برداری و اثر متقابل بین آنها در برگ پرچم‌ها و سنبله‌های نمونه برداری شده مشاهده شد. مقایسات میانگین اثر متقابل آبیاری، ژنوتیپ و مرحله



شکل ۶: مقایسه میانگین اثر متقابل رژیم رطوبتی، ژنوتیپ و مراحل نمونه برداری بر میزان فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز در برگ پرچم (a) و مقایسه میانگین اثر متقابل ژنوتیپ و مراحل نمونه برداری بر میزان فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز در سنبله (b). میانگین‌های دارای حروف مشابه، دارای تفاوت معنی دار در سطح احتمال پنج درصد در آزمون چند دامنه ای دانکن نیستند.



شکل ۷: مقایسه میانگین اثر متقابل آبیاری و ژنوتیپ و مراحل نمونه برداری بر میزان فعالیت آنزیم سوپر اکسید دیسموتاز در برگ پرچم (a) و سنبله (b). میانگین‌های دارای حروف مشابه، اختلاف معنی داری با آزمون دانکن در سطح احتمال ۵ درصد ندارند.

شرایط جدید و تحمل تنش باشد (Levitt, 1980; Ebrahimi et al., 2010). طبق گزارش‌های قبلی افزایش محتوای پروتئین کل در ژنوتیپ‌های متحمل و نیمه متحمل بیشتر از ژنوتیپ‌های حساس است که با یافته‌های این مطالعه مطابقت دارد (Behbodi and Amjad et al., 2011; Ahmadi, 2010).

محتوای پروتئین کل تحت شرایط تنش خشکی و هم زمان با شدت گرفتن آن در برگ پرچم ژنوتیپ‌های مورد مطالعه افزایش یافت. به نظر می‌رسد افزایش محتوای پروتئین کل می‌تواند در ارتباط با افزایش بیوستتیز پروتئین برای سازش با

جدول ۴: ضرایب همبستگی بین صفات مورد مطالعه در ژنوتیپ‌های گندم تحت تنش خشکی بعد از مرحله گرده افشانی.

صفات	مالون دی آلدئید	پراکسید هیدروژن	آسکوربات پراکسیداز	پراکسیداز	سوپراکسید دیسموتاز	پروتئین محلول	عملکرد دانه	تعداد دانه در سنبله	وزن هزار دانه
مالون دی آلدئید	۱								
پراکسید هیدروژن	-۰/۸۰۲**	۱							
آسکوربات پراکسیداز	-۰/۲۶۶*	-۰/۸۶۹*	۱						
پراکسیداز	-۰/۳۸۳**	-۰/۰۴۲	۰/۹۳۶**	۱					
سوپراکسید دیسموتاز	-۰/۳۰۴*	-۰/۱۲۸	۰/۹۳۹**	۰/۹۳۳**	۱				
پروتئین محلول	-۰/۶۴۳**	۰/۱۴۸*	۰/۷۹۴**	۰/۷۸۲**	۰/۸۳۸**	۱			
عملکرد دانه	۰/۸۰۳**	-۰/۶۰۷**	-۰/۲۳۶*	-۰/۳۱۴**	-۰/۲۶۰*	-۰/۴۸۰**	۱		
تعداد دانه در سنبله	۰/۲۵۱*	۰/۰۴۲	-۰/۳۵۴**	-۰/۲۴۷*	-۰/۳۶۵**	-۰/۲۱۹	۰/۳۱۲**	۱	
وزن هزار دانه	۰/۵۹۶**	-۰/۵۰۹**	۰/۰۰۴	-۰/۰۷۶	۰/۰۳۹	-۰/۳۰۸**	۰/۸۰۲**	-۰/۱۵۵	۱

* و ** به ترتیب نشان‌دهنده معنی دار بودن ضریب همبستگی در سطح ۵ و ۱ درصد طبق آزمون دانکن می‌باشد.

7، نشان‌دهنده مقاومت بهتر این ژنوتیپ در برابر گونه‌های فعال اکسیژن می‌باشد و در ژنوتیپ حساس به خشکی TEVEE'S//CROW/VEE'S میزان تولید مالون دی‌آلدئید در شرایط تنش بیشتر بوده بنابراین کارایی این ژنوتیپ در تحمل به خشکی کمتر خواهد بود (Del Rio et al., 2005).

آنزیم پراکسیداز نقش کلیدی در سم‌زدایی H_2O_2 حذف مالون‌دی‌آلدئید در نهایت حفظ ثبات و پایداری دیواره سلولی را بازی می‌کند (Hojati et al., 2011). در مطالعات مختلفی افزایش فعالیت آنزیم پراکسیداز در تنش خشکی آخر فصل در گیاهان متفواتی همانند گندم (Shao et al., 2006) و (Abedi et al., 2012) و ارقام کلزا (Hasheminasab et al., 2010) گزارش شده است که با یافته‌های مطالعه حاضر بخصوص در مورد ژنوتیپ‌های متحمل و نیمه متحمل همخوانی داشت. همچنین سرعت فعالیت آنزیم پراکسیداز در ارقام مقاوم نسبت به ارقام حساس افزایش بیشتری داشت (Siosemardeh et al., 2003). در مطالعه حاضر بیشترین میزان فعالیت آنزیم پراکسیداز در برگ پرچم ژنوتیپ Sardari HR-86 و در سنبله ژنوتیپ Manning/Sdv1/Dogu88 مشاهده شد.

آنزیم آسکوربات پراکسیداز، با استفاده از آسکوربات به عنوان دهنده الکترون باعث تجزیه بیشتر پراکسید هیدروژن می‌شود و افزایش در فعالیت این آنزیم باعث تجزیه بیشتر و موثرتر پراکسید هیدروژن شده و در نتیجه مقاومت بیشتر نسبت به تنش اکسیداتیو را در پی خواهد داشت (Ozkur et al., 2009; Yoshimura et al., 2000). افزایش فعالیت آنزیم APX در شرایط تنش مانند آنزیم‌های SOD و POX بر اثر افزایش گونه‌های فعال اکسیژن است که با فعال کردن مسیرهای انتقال پیام باعث افزایش بیان ژنهای آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان و افزایش فعالیت این آنزیم‌ها می‌شوند (Bian and Jiang, 2009). در مطالعه

میزان پراکسید هیدروژن تولیدی می‌تواند به‌عنوان شاخص مناسبی جهت انتخاب ارقام مطرح باشد. یکی از تغییراتی که در زمان مواجهه گیاهان با شرایط تنش‌زای محیط حادث می‌شود، تولید گونه‌های فعال اکسیژن است (Hassibi et al., 2007)، که با اکسیژن درون سلول واکنش داده و گونه‌های فعال اکسیژن نظیر سوپر اکسید، پراکسید هیدروژن و اکسیژن منفرد و رادیکال هیدروکسیل را تولید می‌نمایند (Sato et al., 2004). این مواد بسیار واکنش‌گر و برای سلول سمی می‌باشند و در صورت عدم کارایی برخی ساز و کارهای محافظ، اختلال جدی در ساختار و سوخت و ساز گیاه ایجاد می‌کنند. در تحقیق حاضر نیز همبستگی مثبت معنی‌داری ($r > 0.8$, $P < 0.01$) بین محتوای مالون دی‌آلدئید و پراکسید هیدروژن در برگ پرچم وجود داشت (جدول 4). همبستگی مثبت پراکسید هیدروژن با مالون دی‌آلدئید نشانگر این مطلب است که این ماده عمدتاً از طریق پراکسیداسیون لیپیدهای غشا، پروتئین‌ها و اسیدهای نوکلئیک ایجاد اختلال می‌کند. در شرایط تنش خشکی مقادیر پراکسید هیدروژن و مالون دی‌آلدئید در واریته‌های حساس افزایش بیشتری می‌یابد (Sato et al., 2004; AL-Ghamdi, 2009) که با یافته‌های مطالعه حاضر مطابقت دارد.

افزایش محتوی مالون دی‌آلدئید تحت شرایط تنشی مختلف نشان داد که تنش خشکی توسط گونه‌های فعال اکسیژن (ROS) باعث ایجاد پراکسیداسیون لیپیدهای غشایی می‌شود (Moussa and Abdel-Aziz, 2008). میزان تولید مالون دی‌آلدئید به عنوان شاخصی برای اندازه‌گیری سطح تنش اکسیداتیو بکار می‌رود (Del Rio et al., 2005). در تایید مطالعات گذشته در مطالعه حاضر نیز پائین بودن میزان تولید مالون دی‌آلدئید در شرایط تنش خشکی در برگ پرچم و سنبله ژنوتیپ Dogu88/Ghafghaz

فعالیت آنزیم سوپر اکسید دیسموتاز در ارقام مقاوم به تنش خشکی بیشتر از ارقام حساس می‌باشد. در مطالعه حاضر نیز افزایش فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز در برگ پرچم ژنوتیپ متحمل-Sardari HR-86 و در سنبله ژنوتیپ نیمه متحمل Manning/Sdv1/Dogu88 مشاهده شد که بیانگر حذف موثرتری O_2^- در این ژنوتیپ‌ها می‌باشد که با یافته‌های مطالعات دیگران مطابقت دارد (Khayatnezhad et al., 2011). همچنین همبستگی مثبت معنی‌داری ($P < 0.01$, $r > 0.9$) بین فعالیت آنزیم سوپر اکسید دیسموتاز و فعالیت آنزیم‌های پراکسیداز و آسکوربات پراکسیداز در برگ پرچم و سنبله وجود داشت (جدول ۴).

نتیجه‌گیری نهایی

طبق نتایج حاصل از این پژوهش، غلظت پروتئین محلول در شرایط تنش خشکی و با گذشت زمان در برگ پرچم و سنبله ژنوتیپ‌های مورد مطالعه افزایش یافت. بیشترین غلظت پروتئین محلول در برگ پرچم ژنوتیپ متحمل Sardari HR-86 و در سنبله ژنوتیپ نیمه متحمل Manning/Sdv1/Dogu88 در مرحله آخر نمونه برداری مشاهده شد و کمترین غلظت مربوط به برگ پرچم و سنبله ژنوتیپ SHARK در آخرین مرحله نمونه برداری بود. فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدان POX، APX و SOD در اثر تنش خشکی پس از مرحله گرده افشانی و با گذشت زمان در اکثر ژنوتیپ‌های مورد مطالعه افزایش یافت. بیشترین میزان افزایش این آنزیم‌ها تحت تنش غالباً در برگ پرچم ژنوتیپ متحمل Sardari HR-86 و در سنبله ژنوتیپ نیمه متحمل Manning/Sdv1/Dogu88 مشاهده گردید و کمترین فعالیت این آنزیم‌ها مربوط به ژنوتیپ‌های حساس SHARK و TEVEE'S//CROW/VEE'S بود.

حاضر، تنش خشکی باعث افزایش معنی‌دار فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز در برگ پرچم ژنوتیپ Sardari HR-86 و در سنبله ژنوتیپ Manning/Sdv1/Dogu88 شد. فعالیت بالای آنزیم آسکوربات پراکسیداز در برگ پرچم و سنبله این ژنوتیپ‌ها حاکی از آن است که حذف H_2O_2 در این ژنوتیپ‌ها به صورت موثرتری انجام پذیرفته است. همچنین نتایج این تحقیق نشان داد همبستگی منفی معنی‌داری در سطح ۵ درصد بین فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز و محتوای H_2O_2 هم در برگ پرچم و هم در سنبله وجود داشت. همچنین همبستگی مثبت معنی‌داری در سطح ۱ درصد بین فعالیت آنزیم پراکسیداز و آنزیم آسکوربات پراکسیداز (APX) مشاهده شد (جدول ۴). فعالیت APX در ارقام مقاوم بیشتر از ارقام حساس بود و در مطالعات مختلف نتایجی مشابه نتایج حاضر گزارش شده است (Abdullah and Bian and Jiang, 2009; Ghamdi, 2009). دو آنزیم‌های APX و POX نقش عمده‌ای را در تجزیه پراکسید هیدروژن بر عهده دارند، اما APX نسبت به POX تمایل بیشتری برای تجزیه پراکسید هیدروژن دارد و در شرایط تنشی باعث تنظیم میزان ROS می‌شود (Yang et al., 2008). در این بررسی فعالیت این دو آنزیم تحت شرایط تنش خشکی و تشدید آن، در اکثر ژنوتیپ‌های مورد مطالعه افزایش یافت ولی سطح فعالیت آنزیم POX بالاتر از آنزیم APX بود. بدین معنی که قسمت عمده تجزیه پراکسید هیدروژن توسط POX انجام گرفته است. بیشترین میزان فعالیت آنزیم POX در برگ پرچم ژنوتیپ Sardari HR-86 مشاهده شد.

آنزیم سوپر اکسید دیسموتاز رادیکال‌های سمی O_2^- را به H_2O_2 تبدیل و آن نیز توسط آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان‌تی دیگر نظیر CAT، POX و APX این ترکیب به O_2 و آب تجزیه می‌شود (Ozkur et al., 2009; Ahmadizadeh et al., 2011). افزایش سرعت

References

- Aebi, H. (1984).** Catalase in vitro. *Methods in Enzymology*. 105: 121-126.
- Abdul Jalee, C., Sankar, B., Murali, P.V., Gomathinayagam, M., Lakshmanan, G. M. A., and Panneerselvam, R. (2008).** Water deficit stress effects on reactive oxygen metabolism in *Catharanthus roseus*; Impacts on Ajmalicine Accumulation. *Colloids and Surfaces*. 62: 105-111.
- Abedi, T. and Pakniyat, H. (2010).** Antioxidant enzyme changes in response to drought stress in ten cultivar of oilseed rape (*Brassica napus* L.). *Czech journal of Genetics and Plant Breeding*. 46(1): 27- 34.
- Abdullah, A., and Ghamdi, A. L. A. (2009).** Evaluation of oxidative stress in two wheat (*Triticum aestivum*) cultivars in response to drought. *International Journal of Agriculture and Biology*. 11: 7-12.
- Ahmadizadeh, M., Valizadeh, M., Zaefizadeh, M. and Shahbazi, H. (2011).** Antioxidative protection and electrolyte leakage in durum wheat under drought stress condition. *Journal of Applied Sciences Research*. 7(3): 236-246.
- AL-Ghamdi, A. A. (2009).** Evaluation of oxidative stress tolerance in two wheat (*Triticum aestivum* L.) cultivars in response to drought. *International Journal of Agriculture and Biology*. 11: 7-12.
- Alexieva, V., Sergiev, I., Mapelli, S. and Karanov, E. (2001).** The effect of drought and ultraviolet radiation on growth and stress markers in pea and wheat. *Plant, Cell and Environment*. 24: 1337-1344.
- Amjad, H., Noreen, B., Javed, A. and Nayyer, I. (2011).** Differential changes in antioxidants, proteases, and lipid peroxidation in flag leaves of wheat genotypes under different levels of water deficit conditions. *Plant Physiology Biochemistry* 49: 178-185.
- Ashraf, M. and Foolad, M. R. (2007).** Roles of glycine betaine and proline in improving plant abiotic stress resistance. *Environmental and Experimental Botany*. 59: 206-216.
- Ashraf, M. (2009).** Biotechnological approach of improving plant salt tolerance using antioxidants as markers. *Biotechnology Advances*. 27: 84-93.
- Behbodi, S. J. and Ahmadi, A. (2010).** Study protein profiles of wheat during germination under abiotic non-stress conditions. M.Sc. thesis in (field of study area), Imam Khomeini International University, 197p.
- Bian, S. and Jiang, Y. (2009).** Reactive oxygen species, antioxidant enzyme activities and gene expression patterns in leaves and roots of Kentucky Bluegrass in response to drought stress and recovery. *Scientia Horticulturae*. 120: 264-270.
- Bradford, M. M. (1976).** A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Analytical Biochemistry*. 72: 248-254.
- Chance, B. and Machly, A. C. (1955).** Assay of catalases and peroxidases. *Methods in Enzymology*. 2: 764-775.
- Del Rio, D., Stewart, A. J. and Pellegrini, N. (2005).** A review of studies on malondialdehyde as toxic molecule and biological marker of oxidative stress. *Nutrition, Metabolism and Cardiovascular Diseases*. 15(4): 316-328.
- Demiral, T. and Türkan, I. (2004).** Does exogenous glycine betaine affect antioxidative system of rice seedlings under NaCl treatment? *Journal of Plant Physiology*. 161: 1089-1100.
- Dhindsa, P. and Thorpe, T. A. (1981).** Leaf senescence: correlated with increased levels of membrane permeability and lipid peroxidation, and decreased levels of superoxide dismutase and catalase. *Journal of Experimental Botany*. 126: 93-101.
- Ebrahimi, A., Naqvi, M.R. and Sabokdast, M. (2010).** Comparison of different species of barely landraces in terms of chlorophyll, carotenoids, protein and enzyme. *Iranian Journal of Crop Science*. 41(1): 57-65.
- Farooq, M., Basra, S. M. A., Wahid, A. and Rehman, H. (2009a).** Exogenously

- applied nitric oxide enhances the drought tolerance in fine grain aromatic rice (*Oryza sativa* L.). *Journal of Agronomy Crop Science*. 195: 254-61.
- Farooq, M., Wahid, A., Kobayashi, N., Fujita, D. and Basra, S. M. A. (2009b).** Plant drought stress: effects, mechanisms and management. *Agronomy for Sustainable Development*. 29: 185-212.
- Gill, S. S. and Tuteja, N. (2010).** Reactive oxygen species and antioxidant machinery in abiotic stress tolerance in crop plants. *Plant Physiology and Biochemistry*. 48: 909-930.
- Hashemi Nasab, H., Assad, M. T., Aliakbari, A. and Sahhafi, R. (2012).** Influence of drought stress on oxidative damage and antioxidant defense systems in tolerant and susceptible wheat genotypes. *Journal of Agricultural Science*. 4(8): 20-30.
- Hassibi, P., Moradi, F. and Nabipour, M. (2007).** Screening of rice genotypes for low temperature stress-using chlorophyll fluorescence. *Iranian Journal of Crop Science*. 9(1): 14-31.
- Hojati, M., Modarres-Sanavy, A. M. M., Karimi, M. and Ghanati, F. (2011).** Responses of growth and antioxidant systems in *Carthamus tinctorius* L. under water deficit stress. *Acta Physiologia Plantarum*. 33: 105-112.
- Khayatnezhad, M., Zaeifizadeh, M. and Gholamin, R. (2011).** Effect of end-season drought stress on chlorophyll fluorescence and content of antioxidant enzyme superoxide dismutase enzyme (SOD) in susceptible and tolerant genotypes of durum wheat. *African Journal of Agricultural Research*. 6(30): 6397-6406.
- Levitt, J. (1980).** Responses of plants to environmental stresses. Academic, New York. 497 p.
- Li, X., Cai, J., Liu, F., Dai, T., Cao, W. and Jiang, D. (2014).** Cold priming drives the sub-cellular antioxidant systems to protect photosynthetic electron transport against subsequent low temperature stress in winter wheat. *Plant Physiology and Biochemistry*. 82: 34-43.
- Liu, F., Shahnazari, A., Andersen, M.N., Jacobsen, S.E. and Jensen, C.R. (2006).** Physiological responses of potato (*Solanum tuberosum* L.) to partial root-zone drying: ABA signalling, leaf gas exchange, and water use efficiency. *Journal of Experimental Botany*. 57(14): 3727-35.
- Moussa, H. and Abdel-Aziz, S.M. (2008).** Comparative response of drought tolerant and drought sensitive maize genotypes to water stress. *Australian Journal of Crop Science*. 1: 31-36.
- Nakano, Y. and Asada, K. (1987).** Purification of ascorbate peroxidase in spinach chloroplasts: its inactivation in ascorbate depleted medium and reactivation by monodehydroascorbate radical. *Plant Cell Physiology*. 28: 131-140.
- Ozkur, O., Ozdemir, F., Bor, M. and Turkan, I. (2009).** Physiochemical and antioxidant responses of the perennial Xerophyte *Capparis ovata* Desf. to Drought. *Environmental and Experimental Botany*. 66: 487-492.
- Sato, F., Yoshioka, H., Fujiwara, T., Higashio, H., Uragami, A. and Tokuda, S. (2004).** Physiological response of cabbage plug seedlings to water stress during low-temperature storage in darkness. *Horticultural Science*. 101: 349-357.
- Siosemardeh, A., Ahmadi, A. and Poustini, K. (2003).** Stomata and nonstopmatal limitations to photosynthesis and their relationship with drought resistance in wheat cultivars. *Iranian journal of agricultural science*. 34(4): 4p.
- Shao, H. B., Liang, Z. S. and Shao, M. A. (2006).** Osmotic regulation of 10 wheat (*Triticum aestivum* L.) genotypes at soil water deficits. *Colloids of Surfases*. 47: 32-139.
- Stewart, C.R. (1980).** The mechanism of abscisic acid-induced proline accumulation in barley leaves. *Plant Physiology*. 66(2):230-233.
- Terzi, R. and Kadioglu, A. (2006).** Drought stress tolerance and the antioxidant enzyme system in *Ctenanthe setosa*. *Acta Biologica Cracoviensia Series Botanica*. 48: 89-96.
- Verma, K. K., Singh, M., Gupta, R. K. and Verma, C.L. (2014).** Photosynthetic gas exchange, chlorophyll fluorescence,

antioxidant enzymes and growth responses of *Jatropha curcas* during soil flooding. Turkish Journal of Botany. 38: 130-40.

Yang, Y., Han, C., Liu, Q., Lin, B.J. and Wang, J. (2008). Effect of drought and low light on growth and enzymatic antioxidant system of *Picea asperata* seedlings. Acta Physiologiae Plantarum. 30: 433-440.

Yoshimura, K., Yabute, Y., Ishikawa, T. and Shigeoka, S. (2000). Expression of spinach ascorbate peroxidase isoenzymes in response to oxidative stresses. Plant Physiology. 123: 223-233.

Zhuang, L. and Chen, Y. N. (2006). Physiological responses of three contrasting plant species of groundwater level changes in arid environment. Journal of Integrative Plant Biology. 48: 520-110.