



بررسی اثرات سطوح تنش خشکی بر فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان و برخی صفات فیزیولوژیکی در ارقام حساس و مقاوم به خشکی گندم (*Triticum aestivum* L.)

زینب رحیمی^۱، فرزاد حسین پناهی^{۲*} و عادل سی‌وسه مرده^۳

۱. دانش آموخته کارشناسی ارشد زراعت، گروه زراعت و اصلاح نباتات، دانشکده کشاورزی، دانشگاه کردستان، سنندج، ایران

۲.* نویسنده مسئول، استادیار گروه زراعت و اصلاح نباتات، دانشکده کشاورزی، دانشگاه کردستان، سنندج، ایران

۳. دانشیار گروه زراعت و اصلاح نباتات، دانشکده کشاورزی، دانشگاه کردستان، سنندج، ایران

پست الکترونیک نویسنده مسئول f.hosseinpanahi@agri.uok.ac.ir

پذیرش: ۱۳۹۸/۰۶/۰۹

دریافت: ۱۳۹۸/۰۴/۲۶

چکیده

به منظور بررسی اثرات تنش خشکی بر برخی صفات فیزیولوژیکی ارقام حساس و مقاوم به خشکی گندم آزمایشی مزرعه‌ای به صورت کرت‌های خرد شده بر پایه‌ی طرح بلوک‌های کامل تصادفی با سه تکرار در سال زراعی ۱۳۹۱-۱۳۹۲ در مزرعه تحقیقاتی دانشکده کشاورزی دانشگاه کردستان انجام شد. کرت‌های اصلی، شامل پنج سطح مختلف آبیاری (FI، آبیاری به میزان نیاز آبی گیاه، FI ۷۵٪، فرعی، شامل ارقام حساس (گاسکوژن و سایونز) و رقم متحمل (آذر ۲) به خشکی گندم بودند. نتایج نشان داد که میزان اسیدآسکوربیک فقط تحت شرایط تنش شدید افزایش یافت و سایر سطوح تنش تأثیری بر میزان این متابولیت نداشتند. افزایش شدت تنش خشکی منجر به افزایش میزان گلیسین‌بتائین و افزایش فعالیت آنزیم پراکسیداز شد. همچنین میزان زیر واحد بزرگ روبیسکو با افزایش سن گیاه و در اثر تنش خشکی در ارقام حساس و مقاوم کاهش پیدا کرد. در مراحل خمیری و گل‌دهی انجام آبیاری سبب کاهش میزان غلظت مالون دی‌آلدئید شد به گونه‌ای که در تمام تیمارها غلظت آن قبل از آبیاری بیشتر از میزان آن بعد از آبیاری بود. به طور کلی، تحت شرایط تنش، فعالیت آنزیم پراکسیداز و غلظت مالون دی‌آلدئید در رقم مقاوم به خشکی (آذر ۲) نسبت به ارقام حساس افزایش بیشتری نشان داد. نتایج کلی این مطالعه نشان داد که ارقام متحمل و حساس به تنش خشکی پاسخ‌های فیزیولوژیکی متفاوتی نسبت به تنش خشکی از خود نشان می‌دهند. نتایج این تحقیق می‌تواند اصلاحگران را در انتخاب رقم مناسب نسبت به تنش خشکی کمک نماید.

کلمات کلیدی: آسکوربات پراکسیداز، پراکسیداز، روبیسکو، گلیسین‌بتائین، مالون دی‌آلدئید

مقدمه

تنش‌های محیطی به خصوص تنش خشکی از عوامل اصلی محدود کننده تولید در گیاهان زراعی هستند (Shekoofa *et al.*, 2015). عوامل زیادی در نحوه پاسخ گیاهان نسبت به تنش خشکی مؤثر هستند، عواملی همچون ژنوتیپ گیاهی، مرحله رشدی گیاه، شدت و طول دوره تنش خشکی، فرآیندهای فیزیولوژیکی رشد، الگوهای متفاوت بیان ژنی و الگوهای متفاوت فتوسنتزی در نحوه پاسخ مؤثرند (Nezhadahmadi *et al.*, 2013). تنش خشکی منجر به جلوگیری از فتوسنتز و در نهایت تجمع گونه‌های فعال اکسیژن می‌شود (Yadav and Sharma, 2016). آنتی‌اکسیدانت‌ها مولکول‌هایی هستند که موجب از بین بردن گونه‌های فعال اکسیژن و تأخیر در آسیب‌رسانی به سلول‌های گیاهی می‌شوند. میزان فعالیت آنتی‌اکسیدانتی از گونه‌ای به گونه دیگر متغیر است. گیاهان جهت مقابله با تنش اکسیداتیو ناشی از رادیکال‌های فعال اکسیژن دارای مکانیزم‌های آنتی‌اکسیدانی آنزیمی و غیر آنزیمی می‌باشند (Nimse and Pal, 2015). آنتی‌اکسیدان‌های غیر آنزیمی شامل ترکیبات آب‌گریز (توکوفرول‌ها و کاروتنوئیدها) و آب‌دوست (گلوکاتیون و اسیدآسکوربیک) می‌باشند (Racchi, 2013 & Kim *et al.*, 2014). آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان شامل سوپراکسید دیسموتاز (SOD)، کاتالاز (CAT)، آسکوربات‌پراکسیداز (APX) گلوکاتیون رداکتاز (GR) و پراکسیداز (POX) می‌باشد (Sytar *et al.*, 2017 & Wu *et al.*, 2013). سیستم دفاع آنتی‌اکسیدانی سلول در محافظت سلول‌های گیاهی در مقابل تنش اکسیداتیو ناشی از وجود رادیکال‌های فعال اکسیژن نقش مهمی بر عهده دارد.

یکی از واکنش‌هایی که در حضور گونه‌های اکسیژن فعال (ROS) سرعت بیشتری پیدا می‌کند، پراکسیداسیون لیپیدهای غشایی است (Tripathi *et al.*, 2017). پراکسیداسیون لیپیدی در کنار افزایش ROS می‌تواند منجر به پارگی غشاء سلولی در گیاهان در زمان تنش شود. مالون‌دی‌آلدئید به عنوان یک مارکر زیستی مناسب برای اکسیداسیون لیپیدی مورد استفاده قرار می‌گیرد که نتیجه اثر آن تخریب اکسیداتیو است (Kong *et al.*, 2016). گیاهان مکانیزم‌های حفاظتی مختلفی را برای دفع یا کاهش ROS

دارند که در سطوح مختلف تنش مؤثر است. از جمله آنتی‌اکسیدانت‌ها، آنزیم پراکسیداز می‌باشد که باعث شکسته شدن H_2O_2 می‌گردد (Toscano *et al.*, 2016). آنزیم پراکسیداز با سم‌زدایی پراکسید هیدروژن نقش مهم و کلیدی در حذف

مالون‌دی‌آلدئید، که باعث پراکسیداسیون غشاء می‌شود ایفا می‌کند (Hojati *et al.*, 2011). مطالعات متعددی در زمینه افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانتی در پاسخ به تنش خفیف و شدید تنش خشکی وجود دارد (Ge *et al.*, 2016 & Toscano *et al.*, 2014).

از آنتی‌اکسیدان‌های غیر آنزیمی اسیدآسکوربیک است، که یک مولکول کوچک قابل حل در آب است، دارای خاصیت آنتی‌اکسیدانی بالایی بوده و به عنوان سوبسترای اولیه در مسیرهای چرخه‌ای، برای سمیت‌زدایی و خنثی کردن رادیکال‌های سوپراکسید و اکسیژن منفرد نقش دارد. همچنین به عنوان یک آنتی‌اکسیدان ثانویه در باز چرخش آلفا توکوفرول و دیگر آنتی‌اکسیدان‌های چربی دوست نقش ایفا می‌کند (Afroz *et al.*, 2016). این مولکول آنتی‌اکسیدان همراه دیگر ترکیبات سیستم آنتی‌اکسیدانی، سلول‌های گیاهی را در برابر آسیب‌های اکسیداتیو ناشی از متابولیسم‌های هوازی فتوسنتز و تنفس و حتی آلودگی‌ها حفظ می‌نماید. مهم‌ترین نقش اسیدآسکوربیک محافظت از پروتئین‌ها و لیپیدها در مواجهه گیاه با تنش‌های خشکی و شوری ذکر شده است (Akram *et al.*, 2017 & Naz *et al.*, 2016).

گلیسین‌بتائین معمول‌ترین محلول آلی سازگار می‌باشد که در می‌کرورگان‌های مختلف، گیاهان عالی و حیوانات وجود داشته و در میان ترکیبات آمونیومی چهارگانه شناخته شده بیش‌ترین و فراوان‌ترین ترکیب در پاسخ به تنش پسابیدگی در گیاهان می‌باشد. سنتز گلیسین‌بتائین در گیاهان توسط اکسیداسیون دو مرحله‌ای کولین (Choline) از طریق بتائین‌آلدئید (ماده واسط) صورت می‌گیرد. این واکنش توسط دو آنزیم کولین مونواکسیژناز (Choline monooxygenase) و بتائین‌آلدئید دهیدروژناز (Betaine aldehyde dehydrogenase) کاتالیز می‌شود (Rathinasabapathi *et al.*, 1997). گلیسین‌بتائین در پاسخ به تنش در بسیاری از گیاهان زراعی مانند چغندر قند، اسفناج،

کار غلات و با تراکم ۴۰۰ بذر در متر مربع در تاریخ ۱۰ آبان ماه سال ۱۳۹۱ انجام گردید. قبل از کاشت ضد عفونی تمام بذور با قارچ کش کاربندازیم انجام شد. هر کرت فرعی شامل ۱۹ خط کاشت با فاصله خطوط ۱۵ سانتی متر به عرض ۳ متر و طول ۶ متر بود. همچنین جهت جلوگیری از نشت آب از هر کرت اصلی به کرت اصلی مجاور، فاصله ۲ متر بین کرت های اصلی و فاصله ۳ متر بین تکرارهای آزمایش منظور شد. کودهای مورد نیاز در زمان کاشت براساس نتایج آزمون خاک به میزان ۱۰۰ کیلوگرم سوپر فسفات تریپل، ۵۰ کیلوگرم سولفات پتاسیم و ۱۰۰ کیلوگرم اوره مورد استفاده قرار گرفت. در فروردین ماه ۱۳۹۲ کنترل علف های هرز پهن برگ با استفاده از علف کش توفوردی صورت گرفت و در طول دوره رشد نیز علف های هرز باقیمانده به صورت دستی وجین شد. محاسبه نیاز آبی گیاه بر اساس روش پنمن- مونتیت فائو (Allen et al., 1998) و پس از محاسبه تبخیر و تعرق مرجع و در نظر گرفتن ضریب گیاهی برای مراحل مختلف رشدی صورت گرفت. جزئیات محاسبه در رحیمی (۲۰۱۵) ارائه شده است (Rahimi, 2015). از زمان از سرگیری رشد فعال در فصل بهار (روز ۱۷ فروردین مصادف با اوایل ساقه رفتن) تیمارهای مختلف آبیاری اعمال شد. آبیاری به صورت قطره ای و با استفاده از نوارهای تیپ درزدار صورت گرفت. جهت محاسبه میزان آب مصرفی، کرت های آزمایش با استفاده از لوله های پلی اتیلنی لوله کشی شد و مقدار آب مصرفی در هر آبیاری و برای هر کرت توسط کنتور اندازه گیری شد.

در مراحل گل دهی و پر شدن دانه (مرحله خمیری) نمونه هایی از برگ پرچم گیاهان (یک روز قبل و یک روز بعد از انجام آبیاری) از کرت های مختلف برداشت گردید و در تانک محتوای ازت مایع منجمد و به فریزر ۴۰- درجه سانتی گراد در آزمایشگاه منتقل شد. برای اندازه گیری صفات فیزیولوژیکی مورد استفاده قرار گرفت.

سنجش محتوای اسیدآسکوربیک (ASA)

به منظور اندازه گیری محتوای اسیدآسکوربیک از روش موخرجی و چودهوری (Mukherjee and Choudhuri, 1983) استفاده شد. محتوای آسکوربیک اسید بر حسب میلی گرم بر گرم وزن تر برگ بیان شد.

جو، گندم و سورگوم تجمع پیدا می کند. مطالعات آزمایشگاهی نشان داده که گلیسین بتائین باعث پایداری و استحکام ساختارها و فعالیت های آنزیمی و ترکیب های پروتئینی می شود و پایداری دیواره سلولی در مقابل اثرات آسیب رسانی بیش از حد نمک، سرما، گرما و یخ زدگی از جمله فعالیت های آن به شمار می رود (Zhang and Rue, 2014). یکی از آنزیم های مهم در فعالیت فتوسنتزی گیاه، روپیسکو است که در حدود ۵۰ درصد پروتئین های برگ را شامل می شود. این پروتئین از زیر واحدهای بزرگ و کوچک تشکیل شده که به ترتیب به وسیله ژنوم کلروپلاست و هسته سنتز می شوند. نتایج مطالعات نشان داده که تنش های محیطی اثرات سوء بر فعالیت آنزیم روپیسکو داشته که به صورت کاهش سنتز یا فعالیت زیر واحدها، تخریب آن ها و در نهایت کاهش فتوسنتز ظاهر می یابد (Zinta et al., 2014). با توجه به نقش و اهمیت صفات فیزیولوژیکی در مطالعات تنش خشکی، این آزمایش به منظور بررسی نحوه تأثیر تنش خشکی روی فعالیت آنزیم های آنتی اکسیدان و برخی صفات فیزیولوژیکی در ارقام حساس و مقاوم به خشکی گندم انجام گردید.

مواد و روش ها

در این پژوهش اثرات تنش خشکی بر ارقام حساس و مقاوم به خشکی گندم به صورت آزمایش کرت های خرد شده بر پایه ی طرح بلوک های کامل تصادفی با سه تکرار در سال زراعی ۱۳۹۱-۱۳۹۲ در مزرعه تحقیقاتی دانشکده کشاورزی دانشگاه کردستان واقع در ۳۵ کیلومتری شهر سنندج (عرض جغرافیایی: ۳۵ درجه و ۱۷ دقیقه شمالی، طول جغرافیایی: ۴۷ درجه و ۲۵ دقیقه شرقی، ارتفاع از سطح دریا: ۱۴۸۰ متر، متوسط بارندگی سالانه: ۳۴۰ میلی متر) مورد ارزیابی قرار گرفت. کرت های اصلی شامل پنج سطح مختلف آبیاری (FI، آبیاری به میزان نیاز آبی گیاه، FI ۷۵٪، FI ۵۰٪ و FI ۲۵٪) به ترتیب آبیاری به میزان ۷۵، ۵۰ و ۲۵ درصد نیاز آبی گیاه در تیمار FI، و NI تیمار بدون آبیاری، و کرت های فرعی، شامل ارقام حساس (گاسکوژن و سایونز) و رقم متحمل (آذر ۲، رقم ریشک دار) به خشکی گندم بودند. کاشت ارقام در زمینی با مساحت ۱۲۰۰ متر مربع با استفاده از دستگاه خطی

گلیسین بتائین (GB)

میزان گلیسین بتائین در برگ‌های گندم به روش گریو و گراتان (Grieve and Grattan, 1983) اندازه‌گیری شد. اسیدسولفوریک به عنوان شاهد دستگاه مورد استفاده قرار گرفت و استانداردها نسبت به آن سنجیده شدند.

پروتئین زیر واحد بزرگ آنزیم روبیسکو (rbcl)

بررسی تغییرات مقدار این پروتئین در طول دوره آزمایش با استفاده از روش SDS-PAGE انجام گرفت. جهت آماده‌سازی نمونه‌های پروتئینی ۱۵ می‌کرولیتر از عصاره آنزیمی با ۵ می‌کرولیتر بافر (۱۰ میلی‌لیتر بافر ژل بالا، ۵ میلی‌لیتر گلیسرول، یک گرم SDS، ۰/۲ میلی‌لیتر بروموفنل بلو (۵/۰ درصد در اتانول) و ۱ میلی‌لیتر مرکاپتواتانول در یک ظرف ریخته شد و سپس با آب مقطر به حجم نهایی ۲۰ میلی‌لیتر رسانده شد) مخلوط کرده و به مدت پنج دقیقه در آب جوش (با دمای ۱۰۰ درجه سانتی‌گراد) قرار داده شدند. سپس ۱۸ می‌کرولیتر از مایع سطحی در چاهک ژل SDS- پلی‌اکریل‌امید به روش لاملی (Laemmli, 1970) تزریق گردید. با استفاده از نرم‌افزار Gel Quant NET ژل‌های SDS-PAGE تجزیه و تحلیل شده و وزن مولکولی نوارها مشخص گردید.

اندازه‌گیری پراکسیداسیون لیپیدها

مقدار پراکسیداسیون لیپیدهای غشائی بر اساس تشکیل کمپلکس مالون‌دی‌آلدئید ایجاد شده با تیوباربتوریک اسید (TBA) سنجش شد. برای اندازه‌گیری این پارامتر غلظت مالون‌دی‌آلدئید (MDA) با استفاده از روش هیت و پاکر (Heath and Packer, 1968) به عنوان محصول شاخص واکنش پراکسیداسیون اسیدهای چرب اندازه‌گیری شد. میزان مالون‌دی‌آلدئید با اندازه‌گیری در طول موج‌های ۵۳۲ و ۶۰۰ نانومتر برحسب mol/g (مول بر گرم وزن خشک) محاسبه شد.

ارزیابی فعالیت آنزیمی

نمونه‌های پروتئینی استخراجی به منظور ارزیابی فعالیت‌های آنزیمی در ویال‌های جداگانه در فریزر و در دمای ۴۲- درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند. نمونه‌های مربوط به هر واحد

آزمایشی در چند ویال جداگانه نگهداری شد. تا طی اندازه‌گیری فعالیت هر آنزیم نمونه مربوط فقط یکبار از حالت انجماد خارج شود. در این تحقیق به منظور ارزیابی فعالیت آنزیم‌های اسکوربات‌پراکسیداز و پراکسیداز نمونه‌های پروتئینی استخراج شده از H_2O_2 به عنوان سوبسترا و بر اساس فرآیند تجزیه H_2O_2 به آب و اکسیژن به وسیله آنزیم‌های فوق اندازه‌گیری شد.

به منظور سنجش فعالیت آنزیم پراکسیداز از روش همدا و کلین (Hemeda and Klein, 1990) استفاده شد. فعالیت آنزیم پراکسیداز با استفاده از ضریب خاموشی برابر $1\text{cm}^{-1}\text{mM}^{-1}$ و $1/6/26$ و ضریب ۴ مولکولی تعیین گردید.

فعالیت آنزیم اسکوربات‌پراکسیداز به روش ناکونو و اسدا (Nakano and Asada, 1987) اندازه‌گیری گردید. فعالیت آنزیم اسکوربات‌پراکسیداز بر اساس میزان اکسید شدن اسکوربات در طول موج ۲۹۰ نانومتر و با استفاده از ضریب خاموشی برابر $1\text{cm}^{-1}\text{mM}^{-1}$ ۲/۸ تعیین گردید.

پس از اندازه‌گیری صفات مورد مطالعه تجزیه واریانس و مقایسات میانگین داده‌ها توسط نرم‌افزار MSTAT-C انجام شد. رسم نمودارها در محیط برنامه Excel صورت گرفت. مقایسه میانگین داده‌ها توسط آزمون چند دامنه‌ای دانکن صورت گرفت.

نتایج و بحث**اسیدآسکوربیک**

نتایج حاصل از تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد که اثر تیمارهای آبیاری و اثر متقابل سطوح تیمارهای آبیاری و ارقام مورد بررسی بر میزان اسیدآسکوربیک معنی‌دار بود و تنها اثر رقم در مرحله خمیری قبل از آبیاری غیر معنی‌دار شد (جدول ۱). در مرحله گل‌دهی قبل از انجام آبیاری بین ارقام حساس گاسکوژن و سایونز در تیمار آبیاری ۵۰٪ نیاز آبی گیاه از نظر میزان اسیدآسکوربیک اختلاف معنی‌داری وجود داشت (شکل ۱). در مرحله گل‌دهی بعد از آبیاری یک روند کاهشی در میزان اسیدآسکوربیک ارقام حساس و مقاوم مشاهده شد اما در رقم مقاوم آذر ۲ با کاهش بیشتر فراهمی آب در تیمار FI ۲۵٪ و NI میزان اسیدآسکوربیک نسبت به تیمار شاهد افزایش یافت. احتمالاً در ارقام مقاوم تولید بیشتر گونه‌های

تنش‌ها، به خصوص اکسیژن رادیکالی، و نقش آن در تحریک و انبساط سلولی و جذب مواد به درون سلول، می‌تواند از خطر اکسیده شدن گیاهان در برابر تنش‌ها محیطی جلوگیری کند (Gallie, 2013). اسیدآسکوربیک از آنتی‌اکسیدان‌های مهم غیرآنزیمی در گیاه است که در بهبود تحمل به تنش مؤثر می‌باشد (Akram et al., 2017 & Gallie, 2013). آسکوربات به عنوان جزئی از سیستم دفاعی غیرآنزیمی گیاه منجر به غلبه و خنثی‌سازی گونه‌های فعال اکسیژن می‌شود که معمولاً در طی تنش خشکی انباشت می‌شوند (Akram et al., 2017). آسکوربات در شرایط تنش با کاهش پراکسید اسیون لیپیدی غشاء باعث مقاومت در برابر تنش‌های خشکی و شوری می‌شود (Shalata and Neumann, 2001). در شرایط تنش خشکی به منظور باز داشتن و یا به تأخیر انداختن آسیب به غشا میزان محتوای اسید آسکوربیک در گیاه تحت تنش افزایش می‌یابد. افزایش در غلظت آسکوربیک اسید در گیاه گندم و در شرایط تنش خشکی توسط سایرام و همکاران (۱۹۹۸) گزارش شده است.

اکسیژن فعال سبب شده است که نیاز به اسیدآسکوربیک جهت کاهش بخشی از صدمات اکسیداتیو در گیاه بیشتر گردد. در مرحله خمیری قبل از آبیاری میزان اسیدآسکوربیک در تیمارهایی که آب دریافت کرده بودند کمتر از مقدار آن در تیمار دیم بود که هیچ گونه آبی دریافت نکرده بود. در مرحله خمیری بعد از انجام آبیاری یک روند کاهش در میزان اسیدآسکوربیک در ارقام حساس و مقاوم مشاهده شد اما در تیمار NI که دارای شدیدترین سطح تنش خشکی بود، میزان اسیدآسکوربیک نسبت به سایر تیمارها بیشتر بود (شکل ۱). تنش خشکی نه تنها رشد و نمو گیاهان را کاهش می‌دهد، بلکه موجب تغییر در مسیر برخی فرآیندهای متابولیسمی نیز می‌گردد. طی تنش خشکی دراز مدت، انتقال مواد به علت کاهش آب قابل دسترس، منجر به تغییر غلظت برخی متابولیت‌ها می‌شود. در نتیجه، میزان مواد محلول سازگار به خشکی مانند قندها، قندهای الکلی، آمینواسیدهای ویژه نظیر پرولین، گلیسین‌بتائین و اسیدآسکوربیک افزایش می‌یابد. اسیدآسکوربیک به دلیل حذف رادیکال‌های آزاد حاصل از

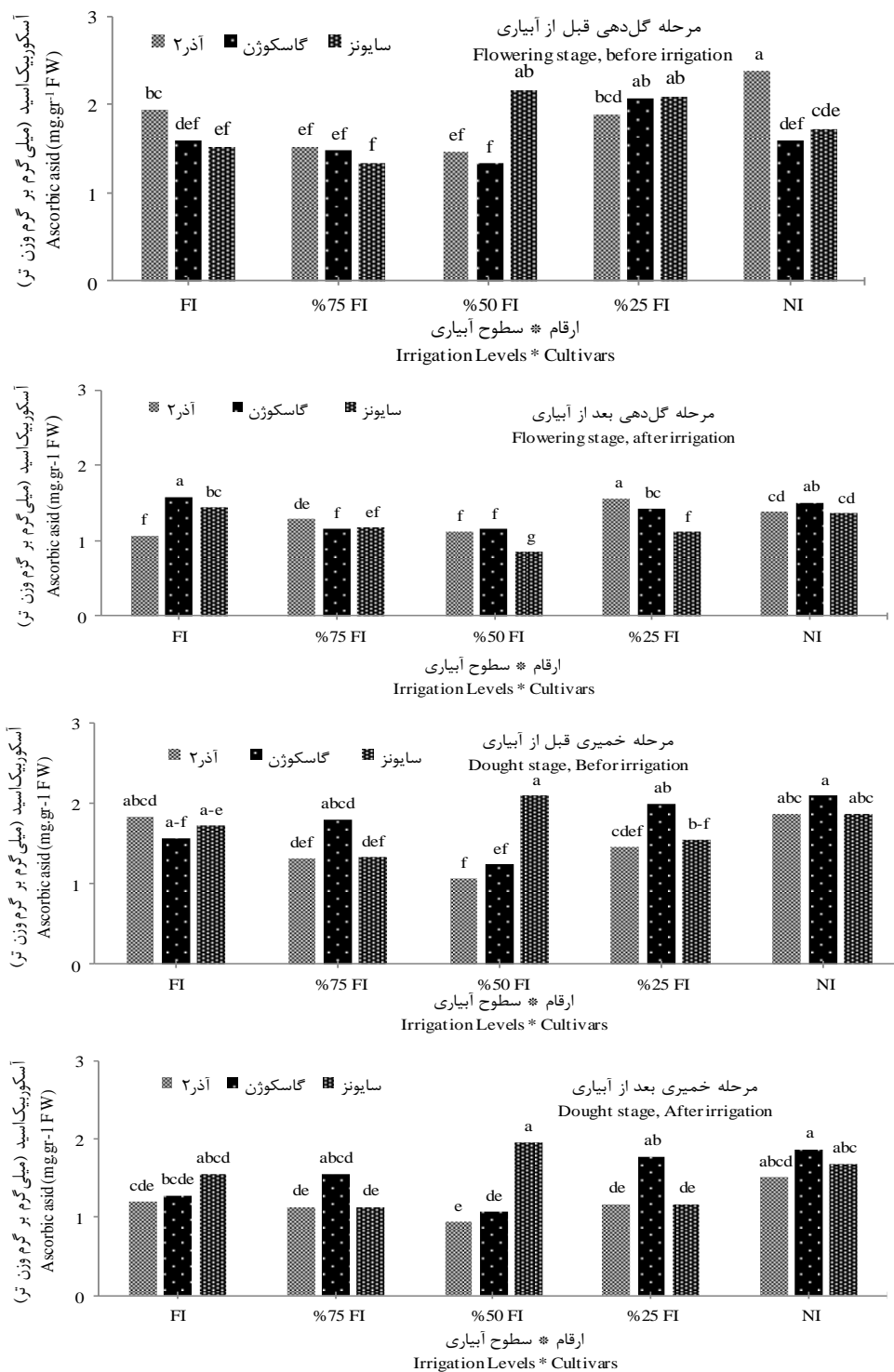
جدول ۱- تجزیه واریانس میزان اسیدآسکوربیک در ارقام مقاوم (آذر ۲) و حساس (گاسکوژن و سایونز) به خشکی گندم تحت سطوح مختلف آبیاری

Table 1. Analyze of variance (squares mean) for ascorbic acid in drought-resistant (Azar2) and drought-susceptible (Gascogne and Sayonce) cultivars of wheat under different irrigation levels

منابع تغییرات	مرحله نمونه‌برداری Sampling stage	مرحله نمونه‌برداری			
		درجه آزادی	قبل از آبیاری در مرحله گل‌دهی	بعد از آبیاری در مرحله گل‌دهی	قبل از آبیاری در مرحله خمیری
S.O.V	Degree of freedom	Flowering stage, Before irrigation	Flowering stage, After irrigation	Dough stage, Before irrigation	Dough stage, After irrigation
Replication	2	0.020 ^{ns}	0.019 ^{ns}	0.150 ^{ns}	0.119 ^{ns}
Irrigation levels	4	0.447 ^{**}	0.217 ^{**}	0.341 [*]	0.245 [*]
First error	8	0.040	0.008	0.073	0.036
Cultivar	2	0.201 [*]	0.118 ^{**}	0.241 ^{ns}	0.491 [*]
Irrigation levels× Cultivar	8	0.286 ^{**}	0.092 ^{**}	0.309 [*]	0.291 [*]
Second error	20	0.039	0.004	0.097	0.089
CV(%)	-	%11.35	%5.23	%18.87	%21.28

ns, * و ** به ترتیب غیر معنی‌دار و معنی‌دار در سطوح احتمال ۵ و ۱ درصد

ns, * and ** are non-significant and significant at 1% and 5 % probability levels, respectively



شکل ۱- مقایسه میانگین مربوط به اثر تیمارهای مختلف آبیاری و رقم بر میزان آسکوربیک اسید قبل و بعد از آبیاری در مراحل گل‌دهی و خمیری در ارقام مقاوم (آذر ۲) و حساس (گاسکوزن و سایونز) به خشکی گندم FI، آبیاری به میزان نیاز آبی گیاه، ۷۵٪ FI، ۵۰٪ FI و ۲۵٪ FI به ترتیب آبیاری به میزان ۷۵، ۵۰ و ۲۵ درصد نیاز آبی گیاه در تیمار FI و NI تیمار بدون آبیاری). FW یعنی وزن تر

Fig 1. Mean comparisons for interaction effect of irrigation levels and cultivars on Ascorbic acid after and before irrigation at flowering and dough stages in drought-resistant (Azar2) and drought-susceptible (Gascogne and Sayonce) cultivars of wheat. (FI is irrigation based on crop water requirement, 75%FI, 50%FI and 25%FI are irrigation based on 75%, 50% and 25% of crop water requirement in FI treatment, respectively and NI is treatment without irrigation). FW means fresh weight

گلیسین بتائین

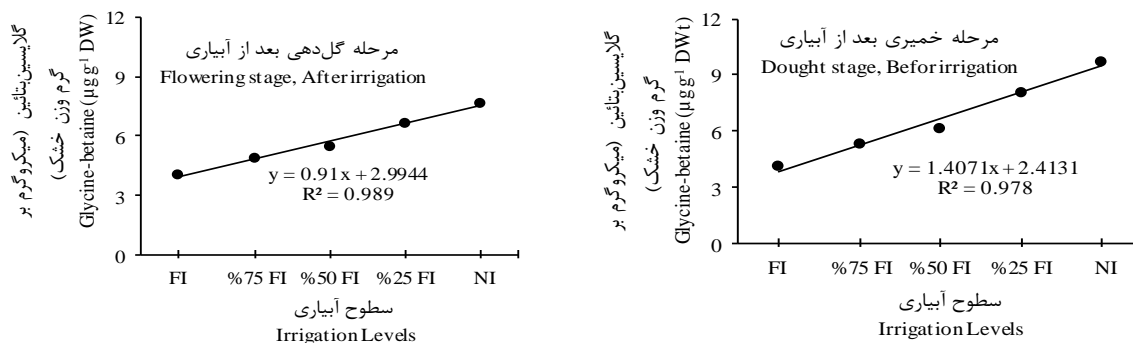
نتایج حاصل از تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد که اثر تیمارهای آبیاری بر میزان گلیسین بتائین در مرحله گل‌دهی و خمیری بعد از آبیاری و در مرحله خمیری قبل از آبیاری به ترتیب در سطح احتمال ۱ و ۵ درصد معنی‌دار بود (جدول ۲). در مرحله گل‌دهی و خمیری بعد از انجام آبیاری رابطه بین میزان گلیسین بتائین و شدت تنش خشکی، یک رابطه خطی با همبستگی بالا و معنی‌دار بود (شکل ۲). به گونه‌ای که با افزایش سطوح تنش خشکی، میزان گلیسین بتائین در ارقام حساس و مقاوم افزایش یافت. بیش‌ترین میزان گلیسین بتائین در مرحله گل‌دهی بعد از آبیاری در تیمار NI و کم‌ترین میزان آن از تیمار FI حاصل شد. شیب افزایش میزان گلیسین بتائین تحت تأثیر تنش خشکی در مرحله خمیری بعد از آبیاری بیشتر بود. از آنجایی که در مناطق مدیترانه‌ای شدت تنش خشکی و همچنین دمای محیط در فصل بهار به تدریج افزایش می‌یابد، احتمالاً به همین دلیل شیب افزایش

میزان گلیسین بتائین در مرحله خمیری نیز بالاتر از مرحله گل‌دهی بود. این مسئله می‌تواند یک نوع پاسخ سازگاری در گیاه باشد. با توجه به نتایج موجود به نظر می‌رسد گلیسین بتائین در شرایط تنش در ارقام حساس و مقاوم برای کاهش اثرات مضر کمبود آب که به وسیله تنش‌های محیطی مختلف ایجاد می‌شود تولید و تجمع یابد. به طور کلی، گلیسین بتائین در شرایط تنش در گیاهان ظاهر می‌شود و به عنوان یک متابولیت ثانویه در تنظیم اسمزی نقش آفرینی می‌کند و با رشد گیاهان در محیط‌های خشک و شور همبستگی بالایی دارد. بتائین به عنوان یکی از اسمولیت‌های سازگاری نقش مهمی در مقابله با تنش خشکی و حفظ ساختارهای سلول گیاهی دارد (Dawood and Sadak, 2014). نتیجه پژوهش حاضر با نتایج به دست آمده از تحقیقات دیگر پژوهشگران مطابقت دارد (Dawood, 2016 & Fariddudin et al., 2013).

جدول ۲- تجزیه واریانس گلیسین بتائین در ارقام مقاوم (آذر ۲) و حساس (گاسکوئن و سایونز) به خشکی گندم تحت سطوح مختلف آبیاری
Table 2. Analyze of variance (squares mean) for glycine betaine in drought-resistant (Azar2) and drought-susceptible (Gascogne and Sayonce) cultivars of wheat under different irrigation levels

منابع تغییرات	مرحله نمونه برداری				
	درجه آزادی	Sampling stage			
		قبل از آبیاری در مرحله گل‌دهی	بعد از آبیاری در مرحله گل‌دهی	قبل از آبیاری در مرحله خمیری	بعد از آبیاری در مرحله خمیری
S.O.V	Degree of freedom	Flowering stage, Before irrigation	Flowering stage, After irrigation	Dough stage, Before irrigation	Dough stage, After irrigation
Replication	2	0.391 ^{ns}	0.928 ^{ns}	0.308 ^{ns}	0.221 ^{ns}
Irrigation levels	4	0.135 ^{ns}	18.845 ^{**}	2.038 [*]	45.554 ^{**}
First error	8	0.799	0.589	0.292	1.407
Cultivar	2	1.230 ^{ns}	1.678 ^{ns}	0.848 ^{ns}	0.422 ^{ns}
Irrigation levels× Cultivar	8	0.330 ^{ns}	1.008 ^{ns}	0.317 ^{ns}	0.672 ^{ns}
Second error	20	0.590	0.504	0.686	0.864
CV(%)	-	%26.61	%12.40	%25.30	%14.01

ns, * و ** به ترتیب نشان دهنده غیر معنی‌داری و معنی‌داری در سطح احتمال ۵ و ۱ درصد
ns, * and ** are non-significant and significant at 1% and 5% probability level, respectively



شکل ۲- رگرسیون خطی مربوط به اثر تیمارهای مختلف آبیاری بر میزان گلیسین بتائین بعد از آبیاری در مراحل گل‌دهی و خمیری در ارقام مقاوم (آذر ۲) و حساس (گاسکوژن و سایونز) به خشکی گندم (FI، آبیاری به میزان نیاز آبی گیاه، %۷۵ FI، %۵۰ FI و %۲۵ FI به ترتیب آبیاری به میزان ۷۵، ۵۰ و ۲۵ درصد نیاز آبی گیاه در تیمار FI و NI تیمار بدون آبیاری). DW یعنی وزن خشک

Fig 2. Linear regression for effect of different irrigation treatments on glycin betaine after irrigation at flowering and dough stages in drought-resistant (Azar2) and drought-susceptible (Gascogne and Sayonce) cultivars of wheat (FI is irrigation based on crop water requirement, 75%FI, 50%FI and 25%FI are irrigation based on 75%, 50% and 25% of crop water requirement in FI treatment, respectively and NI is treatment without irrigation). DW means dry weight

یافت. بیش‌ترین و کم‌ترین میزان مالون‌دی‌آلدئید به ترتیب مربوط به مرحله خمیری قبل و بعد از آبیاری بود (شکل ۳). با توجه به نتایج این آزمایش رقم مقاوم به خشکی آذر ۲ در مقایسه با ارقام حساس به تنش خشکی گاسکوژن و سایونز با افزایش شدت تنش میزان مالون‌دی‌آلدئید کمتری را افزایش داده بود که می‌تواند دلیل بر مقاوم به خشکی بودن رقم آذر ۲ باشد. Russo and Belligno (۲۰۱۰) گزارش کردند تنش خشکی باعث تنش اکسیداتیو و تولید رادیکال‌های آزاد می‌شود. مالون‌دی‌آلدئید یک محصول پراکسیداسیون اسیدهای چرب اشباع نشده در فسفولیپیدها است. از سطح پراکسیداسیون لیپیدی به عنوان یک نشانه رادیکال آزاد مضر برای غشاء سلولی تحت شرایط تنش استفاده شده است. بنابراین MDA به عنوان یک معرف برای بررسی میزان صدمات غشاء در شرایط تنش مورد استفاده قرار می‌گیرد (Ayala et al., 2014 & Yang et al., 2017).

غلظت مالون‌دی‌آلدئید

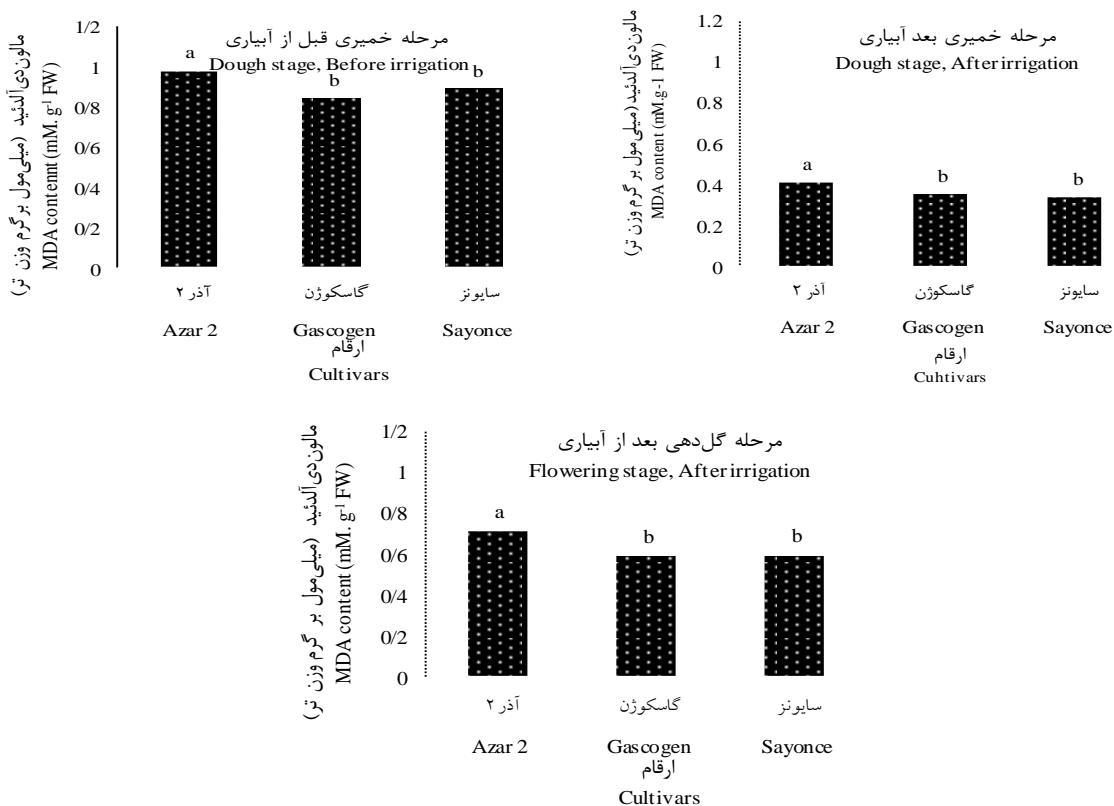
نتایج تجزیه واریانس نشان داد که تنها اثر رقم بر میزان مالون‌دی‌آلدئید در مرحله گل‌دهی بعد از آبیاری و در مرحله خمیری قبل و بعد از آبیاری در سطح ۱ درصد معنی‌دار بود (جدول ۳). نتایج مقایسه میانگین رقم‌های مورد بررسی از لحاظ میزان مالون‌دی‌آلدئید در مرحله گل‌دهی بعد از آبیاری و مراحل خمیری قبل و بعد از آبیاری نشان داد که بین رقم مقاوم به خشکی آذر ۲ و ارقام حساس به تنش خشکی گاسکوژن و سایونز در مرحله گل‌دهی بعد از آبیاری تفاوت معنی‌داری وجود داشت. نتایج نشان داد که میزان مالون‌دی‌آلدئید در مرحله گل‌دهی بعد از آبیاری در رقم مقاوم آذر ۲ بیشتر از ارقام حساس سایونز و گاسکوژن بود (شکل ۳). میزان مالون‌دی‌آلدئید در مرحله خمیری بعد از آبیاری در مقایسه با مرحله خمیری قبل از آبیاری به ترتیب در ارقام آذر ۲، گاسکوژن و سایونز ۵۸/۴۲، ۵۸/۱۴ و ۶۲/۲۹ درصد کاهش

جدول ۳- تجزیه واریانس تغییرات غلظت مالون‌دی‌آلدئید در ارقام مقاوم (آذر ۲) و حساس (گاسکوژن و سایونز) به خشکی گندم تحت سطوح مختلف آبیاری.

Table 3. Analyze of variance (squares mean) for concentration of MDA in drought-resistant (Azar2) and drought-susceptible (Gascogne and Sayonce) cultivars of wheat under different irrigation levels

منابع تغییرات	مرحله نمونه برداری				
	درجه آزادی	قبل از آبیاری در مرحله گل‌دهی	بعد از آبیاری در مرحله گل‌دهی	قبل از آبیاری در مرحله خمیری	بعد از آبیاری در مرحله خمیری
S.O.V	Degree of freedom	Flowering stage, Before irrigation	Flowering stage, After irrigation	Dough stage, Before irrigation	Dough stage, After irrigation
Replication	2	0.002	0.022	0.002	0.002
Irrigation levels	4	0.011 ^{ns}	0.004 ^{ns}	0.051 ^{ns}	0.015 ^{ns}
First error	8	0.014	0.021	0.019	0.007
Cultivar	2	0.052 ^{ns}	0.072 ^{**}	0.075 ^{**}	0.022 ^{**}
Irrigation levels× Cultivar	8	0.010 ^{ns}	0.016 ^{ns}	0.007 ^{ns}	0.005 ^{ns}
Second error	20	0.012	0.012	0.011	0.003
CV(%)	-	%16.31	%17.21	%11.49	%15.66

ns, * و ** به ترتیب نشان دهنده غیر معنی‌داری و معنی‌دار در سطح احتمال ۵ و ۱ درصد
ns, * and ** are non-significant and significant at 1 % and 5 % probability level, respectively



شکل ۳- مقایسه میانگین اثر رقم بر میزان مالون‌دی‌آلدئید قبل و بعد از آبیاری در مرحله گل‌دهی و خمیری در ارقام مقاوم (آذر ۲) و حساس (گاسکوژن و سایونز) به خشکی گندم (FI، آبیاری به میزان نیاز آبی گیاه، ۷۵٪ FI، ۵۰٪ FI و ۲۵٪ FI به ترتیب آبیاری به میزان ۷۵، ۵۰ و ۲۵ درصد نیاز آبی گیاه در تیمار FI و NI تیمار بدون آبیاری). FW یعنی وزن تر

Fig 3. Mean comparison for effect of cultivars on MDA content after and before irrigation at flowering and dough stages in drought-resistant (Azar2) and drought-susceptible (Gascogne and Sayonce) cultivars of wheat. (FI is irrigation based on crop water requirement, 75%FI, 50%FI and 25%FI are irrigation based on 75%, 50% and 25% of crop water requirement in FI treatment, respectively and NI is treatment without irrigation). FW means fresh weight

فعالیت آنزیم پراکسیداز

نتایج تجزیه واریانس نشان داد که اثر سطوح تنش خشکی و رقم بر روی میزان فعالیت آنزیم پراکسیداز در مراحل گل‌دهی و خمیری قبل و بعد از آبیاری در سطح احتمال ۱ درصد و ۵ درصد معنی‌دار بود و نیز اثر متقابل سطوح مختلف آبیاری و ارقام مورد بررسی بر روی میزان فعالیت آنزیم پراکسیداز در مرحله گل‌دهی بعد از آبیاری در سطح ۱ درصد و در مرحله خمیری قبل از آبیاری در سطح احتمال ۵ درصد معنی‌دار بود (جدول ۴). نتایج مقایسه میانگین اثر متقابل سطوح مختلف آبیاری و ارقام مورد بررسی در مرحله گل‌دهی بعد از آبیاری بر میزان فعالیت آنزیم پراکسیداز نشان داد که کم‌ترین و بیش‌ترین میزان فعالیت آنزیم پراکسیداز به ترتیب در تیمارهای FI و NI مربوط به رقم آذر ۲ بود. با افزایش شدت تنش خشکی در همه‌ی ارقام افزایش فعالیت آنزیم پراکسیداز مشاهده گردید. نتایج نشان داد که ارقام آذر ۲، گاسکوژن و سایونز مربوط به سطح آبیاری NI به ترتیب ۱۵۰، ۵۷ و ۱۰۶ درصد میزان فعالیت آنزیم پراکسیداز را نسبت به تیمار آبیاری FI افزایش داده بود. با توجه به نتایج رقم مقاوم به خشکی آذر ۲ بیش‌ترین افزایش فعالیت آنزیم پراکسیداز را تحت تنش خشکی در مقایسه با دو رقم حساس به خشکی نشان داده است (شکل ۴). اثر متقابل سطوح مختلف آبیاری و رقم در مرحله خمیری قبل از آبیاری بر میزان فعالیت آنزیم

پراکسیداز نشان داد که در تیمارهای FI و NI بیش‌ترین و کم‌ترین میزان فعالیت آنزیم پراکسیداز مربوط به رقم آذر ۲ و سایونز بود. با افزایش شدت تنش خشکی در همه‌ی ارقام فعالیت آنزیم پراکسیداز افزایش یافت. نتایج نشان داد که ارقام آذر ۲، گاسکوژن و سایونز مربوط به تیمار NI به ترتیب ۲۳/۴، ۳۰/۶۱ و ۱۴/۵۱ درصد میزان فعالیت آنزیم پراکسیداز را نسبت به تیمار FI (آبیاری به میزان نیاز آبی گیاه) ۲۵٪ افزایش داده بودند. با توجه به نتایج رقم مقاوم به خشکی آذر ۲ بیش‌ترین افزایش فعالیت آنزیم پراکسیداز را تحت تنش خشکی در مقایسه با دو رقم حساس به خشکی نشان داده است (شکل ۵). در مطالعه تاثیر تنش خشکی بر روی ارقام حساس و متحمل به تنش خشکی گندم گزارش شد که فعالیت آنزیم پراکسیداز افزایش داشت و این افزایش در ارقام متحمل بیشتر بود (Naderi et al., 2014). آنزیم پراکسیداز در شرایط تنش خشکی با حذف پراکسید هیدروژن و حذف مالون‌دی‌آلدئید که باعث پراکسیداسیون غشاء می‌شود نقش مهم و کلیدی را در شرایط تنش خشکی ایفا می‌کند. در مطالعه‌ای بررسی تأثیر تنش شوری و خشکی بر فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی در شیرین‌بیان مشخص کرد که فعالیت سوپراکسید دیسموتاز در تنش شوری و خشکی کاهش پیدا می‌کند و فعالیت پراکسیداز در تنش شوری و خشکی، ابتدا کاهش و سپس با ادامه تنش افزایش پیدا می‌کند (Hojati et al., 2011).

جدول ۴- تجزیه واریانس فعالیت آنزیم پراکسیداز در مرحله گل‌دهی و خمیری در ارقام مقاوم (آذر ۲) و حساس (گاسکوژن و سایونز) به خشکی گندم تحت شرایط سطوح مختلف آبیاری.

Table 4. Analyze of variance (squares mean) for Peroxidase enzyme activity in drought-resistant (Azar2) and drought-susceptible (Gascogne and Sayonce) cultivars of wheat under different irrigation levels.

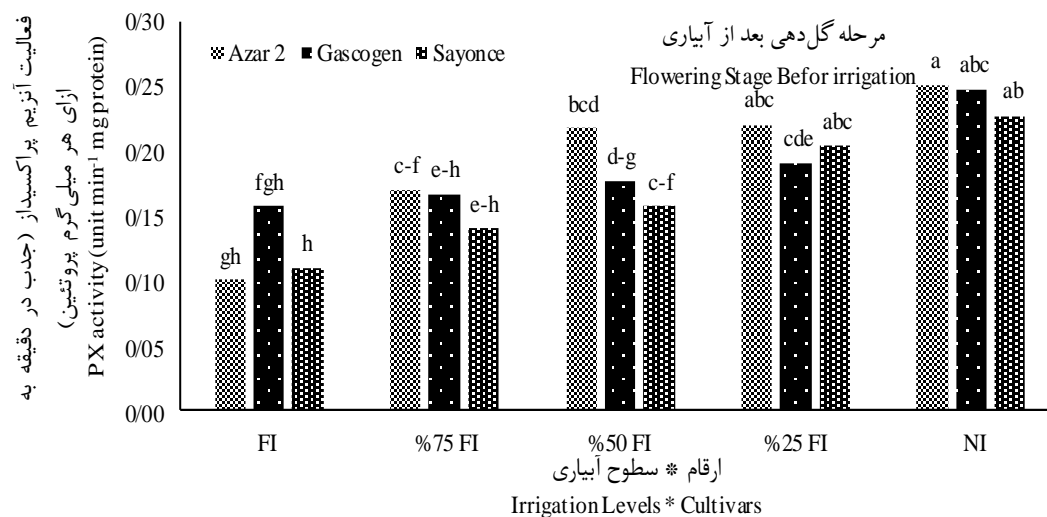
منابع تغییرات	درجه آزادی	مرحله نمونه برداری			
		Sampling stage			
		قبل از آبیاری در مرحله گل‌دهی	بعد از آبیاری در مرحله گل‌دهی	قبل از آبیاری در مرحله خمیری	بعد از آبیاری در مرحله خمیری
S.O.V	Degree of freedom	Flowering stage, Before irrigation	Flowering stage, After irrigation	Dough stage, Before irrigation	Dough stage, After irrigation
Replication	2	0.000 ^{ns}	0.000 ^{ns}	0.00001 ^{ns}	0.000 ^{ns}
Irrigation levels	4	0.005 ^{**}	0.018 ^{**}	0.034 ^{**}	0.026 ^{**}
First error	8	0.001	0.000	0.0001	0.000
Cultivar	2	0.005 [*]	0.002 ^{**}	0.005 ^{**}	0.004 ^{**}
Irrigation levels× Cultivar	8	0.003 ^{ns}	0.001 ^{**}	0.001 [*]	0.000 ^{ns}
Second error	20	0.002	0.000	0.000	0.000
CV(%)	-	25.6%	5.65%	11.21%	9.15%

ns, * و ** به ترتیب نشان دهنده غیر معنی‌داری و معنی‌داری در سطح احتمال ۵ و ۱ درصد

ns, * and ** are non-significant and significant at 1 % and 5 % probability level, respectively

نشریه پژوهش‌های گندم

دوره دوم. شماره اول (پیاپی ۲). بهار و تابستان ۱۳۹۸



شکل ۴- مقایسه میانگین اثر متقابل سطوح مختلف آبیاری و رقم بر روی فعالیت آنزیم پراکسیداز بعد از آبیاری در مرحله گل‌دهی در ارقام مقاوم (آذر ۲) و حساس (گاسکوئن و سایونز) به خشکی گندم (FI، آبیاری به میزان نیاز آبی گیاه، 75% FI، 50% FI و 25% FI به ترتیب آبیاری به میزان 75، 50 و 25 درصد نیاز آبی گیاه در تیمار FI و NI تیمار بدون آبیاری).

Fig 4. Mean comparisons for interaction effect of irrigation levels and cultivars on Peroxidase enzyme activity after irrigation at flowering stage in drought-resistant (Azar2) and drought-susceptible (Gascogne and Sayonce) cultivars of wheat. (FI is irrigation based on crop water requirement, 75%FI, 50%FI and 25%FI are irrigation based on 75%, 50% and 25% of crop water requirement in FI treatment, respectively and NI is treatment without irrigation).

نیبود، اما احتمالاً در تیمار تنش شدید ظرفیت عمومی ارقام برای فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز به دلیل کاهش فرآورده‌های فتوسنتزی کاهش یافته است. نتیجه‌گیری در این خصوص نیازمند تحقیقات بیشتر می‌باشد. از طرفی APX در پاسخ به تعدادی از تنش‌های محیطی از قبیل شوری، خشکی و سرما فعال می‌شود (Bonifacio *et al.*, 2011, Tewari *et al.*, 2013 & Wang *et al.*, 2013). ممکن است تحت شرایط تنش فعالیت برخی از آنزیم‌ها افزایش و فعالیت برخی دیگر کاهش یابد. به عبارتی بهتر افزایش تنش لزوماً به منزله افزایش تمام ظرفیت‌های آنتی‌اکسیدانی گیاه نیست. در مطالعات قبلی افزایش APX در اثر تنش خشکی در گندم گزارش شده است (Cui *et al.*, 2017 & Wang *et al.*, 2014). در این مطالعه چنین افزایشی فقط در سطوح متوسط تنش اتفاق افتاد و در تنش شدید نتایج عکس مشاهده گردید.

آسکوربات پراکسیداز (APX)

نتایج تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد که اثر متقابل سطوح تنش خشکی و رقم روی میزان فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز تنها در مرحله گل‌دهی قبل و بعد از آبیاری در سطح احتمال 5 درصد معنی‌دار بود (جدول 5). به طور کلی روند مشخصی در ارتباط با فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز مشاهده نشد (شکل 6). در هر سه رقم میزان فعالیت آنزیم در تیمارهای 50% FI و 25% FI نسبت به تیمار شاهد افزایش یافت اما در تیمار تنش شدید (NI) مجدداً دچار کاهش شد. همچنین در مرحله گل‌دهی قبل و بعد از انجام آبیاری میزان فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز در تیمار 75 درصد نیاز آبی گیاه مربوط به رقم حساس گاسکوئن و مقاوم آذر 2 نسبت به تیمار شاهد در مقایسه با تیمارهای آبی دیگر روندی کاهشی داشته است. دلیل این کاهش برای ما مشخص

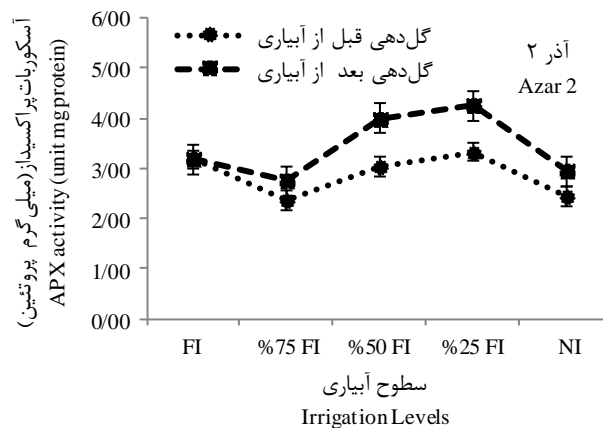
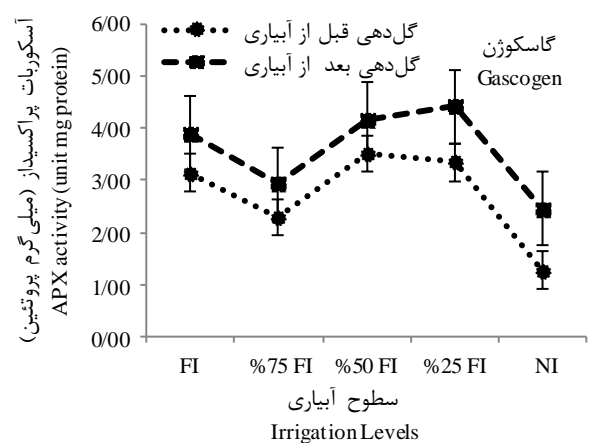
جدول ۵- تجزیه واریانس آسکوربات پراکسیداز در ارقام مقاوم (آذر ۲) و حساس (گاسکوژن و سایونز) به خشکی گندم تحت سطوح مختلف آبیاری

Table 5. Analyze of variance (squares mean) for Ascorbate peroxidase in drought-resistant (Azar2) and drought-susceptible (Gascogne and Sayonce) cultivars of wheat under different irrigation levels

منابع تغییرات	درجه آزادی	مرحله نمونه برداری			
		Sampling stage			
		قبل از آبیاری در مرحله گل دهی	بعد از آبیاری در مرحله گل دهی	قبل از آبیاری در مرحله خمیری	بعد از آبیاری در مرحله خمیری
S.O.V	Degree of freedom	Flowering stage, Before irrigation	Flowering stage, After irrigation	Dough stage, Before irrigation	Dough stage, After irrigation
Replication	2	0.034 ^{ns}	0.649 ^{ns}	0.274 ^{ns}	0.513 ^{ns}
Irrigation levels	4	7.183 ^{**}	2.130 ^{ns}	0.616 ^{ns}	0.522 ^{ns}
First error	8	0.271	0.673	0.878	0.890
Cultivar	2	5.662 ^{**}	4.304 ^{**}	0.141 ^{ns}	0.359 ^{ns}
Irrigation levels× Cultivar	8	1.985 ^{**}	1.273 ^{**}	2.081 ^{ns}	0.917 ^{ns}
Second error	20	0.319	0.238	0.958	0.504
C.V.(%)	-	% 16.93	% 17.69	% 29.61	% 29.64

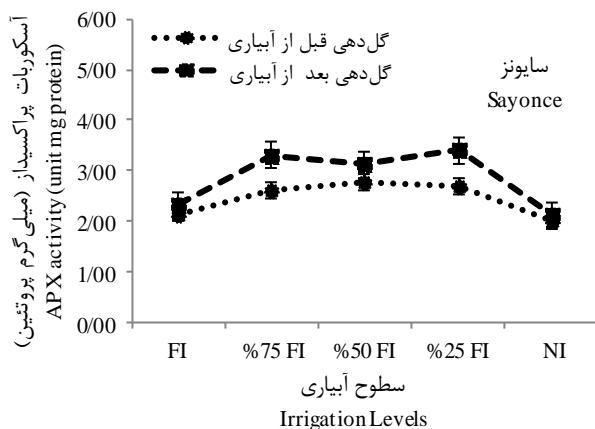
ns, * و ** به ترتیب نشان دهنده غیر معنی داری و معنی دار در سطح احتمال ۵ و ۱ درصد

ns, * and ** are non-significant and significant at 1 % and 5 % probability level, respectively



نشریه پژوهش های گندم

دوره دوم. شماره اول (پیاپی ۲). بهار و تابستان ۱۳۹۸



شکل ۶- مقایسه میانگین اثر متقابل سطوح مختلف آبیاری و رقم بر روی فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز در مرحله گل‌دهی قبل و بعد از آبیاری در ارقام مقاوم (آذر ۲) و حساس (گاسکوژن و سایونز) به خشکی گندم (FI، آبیاری به میزان نیاز آبی گیاه، %۷۵ FI، %۵۰ FI و %۲۵ FI به ترتیب آبیاری به میزان ۷۵، ۵۰ و ۲۵ درصد نیاز آبی گیاه در تیمار FI و NI تیمار بدون آبیاری).

Fig 6. Mean comparisons for interaction effect of irrigation levels and cultivars on Ascorbate peroxidase activity before and after irrigation at flowering stage in drought-resistant (Azar2) and drought-susceptible (Gascogne and Sayonce) cultivars of wheat. (FI is irrigation based on crop water requirement, 75%FI, 50%FI and 25%FI are irrigation based on 75%, 50% and 25% of crop water requirement in FI treatment, respectively and NI is treatment without irrigation).

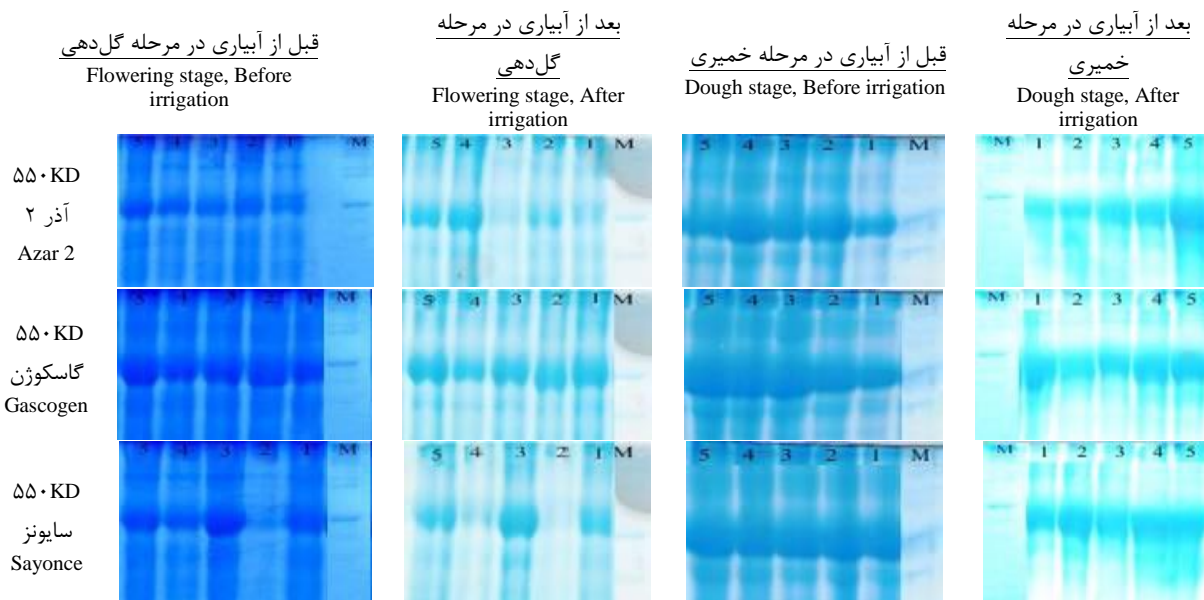
تثبیت CO₂ در گیاهان، کاهش فعالیت آنزیم روبیسکو در اثر تنش خشکی می‌تواند اثر تنش خشکی را در تسریع پیری نیز توجیه کند (Parry *et al.*, 2002). کاهش آنزیم روبیسکو طی تنش خشکی در گیاهان توسط محققین بسیاری گزارش شده است (Perdomo *et al.*, 2017 & Sharwood *et al.*, 2016).

نتیجه‌گیری کلی

تنش خشکی از طریق تولید گونه‌های فعال اکسیژن منجر به آسیب اکسیداتیو به غشاء، پروتئین‌ها و اسیدهای نوکلئیک می‌شود و کارکرد آن‌ها را مختل می‌نماید. در این آزمایش تغییراتی در میزان آنتی‌اکسیدان‌ها و نشانگرهای تخریب غشای سلولی مشاهده شد که بسته به رقم و میزان آبیاری متفاوت بود. رقم متحمل به تنش خشکی (آذر ۲) در مقایسه با ارقام حساس (گاسکوژن و سایونز) با پاسخ فیزیولوژیکی از جمله افزایش میزان اسید آسکوربیک و آنزیم پراکسیداز منجر به ایجاد شرایط بهتری در تحمل تنش خشکی شد. بروز تغییرات فیزیولوژیکی تحت تاثیر تنش خشکی در ارقام مورد مطالعه منجر به کاهش آنزیم روبیسکو شد که دلیل آن ایجاد تنش اکسیداتیو در اثر تنش خشکی بود.

پروتئین زیر واحد بزرگ آنزیم روبیسکو

با استفاده از نرم‌افزار Gel Quant NET ژل‌های SDS-PAGE آنالیز شدند و شدت باندهای آن‌ها نسبت به هم سنجیده و وزن مولکولی باندها با استفاده از لدر پروتئینی (۱۰ تا ۱۷۰ kDa) به کار برده شده مشخص گردید. باندهای که وزن مولکولی آن ۵۵ KD بود به عنوان باند پروتئین زیر واحد بزرگ آنزیم روبیسکو شناسایی گردید (شکل ۷). نتایج به دست آمده نشان داد که میزان پروتئین rbcL در طی دوره آزمایش در مراحل گل‌دهی و خمیری بعد از انجام آبیاری در ارقام حساس و مقاوم تحت تنش خشکی کاهش پیدا کرد. مشخص شده است که تخریب پروتئین‌های استرومای کلروپلاست به ویژه آنزیم روبیسکو در شرایط تنش اکسیداتیو به وسیله رادیکال‌های فعال اکسیژن به صورت غیر آنزیمی صورت می‌گیرد. به دلیل این‌که در زمان پیری و در اثر تنش خشکی میزان ROS در کلروپلاست افزایش می‌یابد، بنابراین هم در اثر پیری و هم در زمان تنش خشکی تخریب پروتئین آنزیم روبیسکو افزایش می‌یابد. بیش از ۴۰ درصد پروتئین محلول کل برگ را آنزیم روبیسکو تشکیل می‌دهد بنابراین کاهش آنزیم روبیسکو در اثر تنش اکسیداتیو می‌تواند کاهش پروتئین محلول کل را در زمان پیری و در اثر تنش خشکی توجیه کند. همچنین با توجه به نقش آنزیم روبیسکو در



شکل ۷: تغییرات پروتئین زیر واحد بزرگ آنزیم روبیسکو در ارقام حساس (گاسکوژن و سایونز) و مقاوم (آذر ۲) به خشکی گندم تحت سطوح مختلف آبیاری. اعداد یک تا پنج به ترتیب نشان دهنده سطوح مختلف آبیاری شامل FI، آبیاری به میزان نیاز آبی گیاه، ۷۵٪ FI، ۵۰٪ FI و ۲۵٪ FI به ترتیب آبیاری به میزان ۷۵، ۵۰ و ۲۵ درصد نیاز آبی گیاه در تیمار FI و NI تیمار بدون آبیاری.

Fig 7. Changes in large subunit of Rubisco protein in drought-resistant (Azar2) and drought-susceptible (Gascogne and Sayonce) cultivars of wheat under different irrigation levels. Numbers 1- 5 are related to FI, 75%FI, 50%FI, 25%FI and NI respectively.

(FI is irrigation based on crop water requirement, 75%FI, 50%FI and 25%FI are irrigation based on 75%, 50% and 25% of crop water requirement in FI treatment, respectively and NI is treatment without irrigation).

منابع

- Afroz, R., Tanvir, E.M., Paul, S., Bhoumik, N.C., Gan, S.H. and Khalil, M.I. 2016. DNA damage inhibition properties of sundarban honey and its phenolic composition. *Journal of Food Biochemistry*, 40 (4): 436-445.
- Akram, N.A., Shafiq, F. and Ashraf, M. 2017. Ascorbic Acid-A potential oxidant scavenger and its role in plant development and abiotic stress tolerance. *Frontiers in Plant Science*, 8: 1-17.
- Allen, R.G., Pereira, L.S., Raes, D. and Smith, M. 1998. *Crop evapotranspiration Guidelines for computing crop water requirements - FAO Irrigation and drainage*, 56 P.
- Ayala, A., Muñoz, M.F. and Argüelles, S. 2014. Lipid peroxidation: production, metabolism, and signaling mechanisms of malondialdehyde and 4-hydroxy-2-nonenal. *Oxidative medicine and cellular longevity*. Hindawi, 2014: 1-31.
- Bonifacio, A., Martins, M.O., Ribeiro, C.W., Fontenele, A.V., Carvalho, F.E., Margis-Pinheiro, M. and Silveira, J.A. 2011. Role of peroxidases in the compensation of cytosolic ascorbate peroxidase knockdown in rice plants under abiotic stress. *Plant Cell Environ*, 34: 1705-1722.
- Cui, G., Zhao, X., Liu, S., Sun, F., Zhang, C. and Xi, Y. 2017. Beneficial effects of melatonin in overcoming drought stress in wheat seedlings. *Plant Physiology and Biochemistry*, 118: 138-149.
- Dawood, M.G. 2016. Influence of osmoregulators on plant tolerance to water stress. *Agricultural Science*, 13 (1): 42-58.
- Dawood, M.G. and Sadak, M.Sh. 2014. Physiological role of glycinebetaine in alleviating the deleterious effects of drought stress on canola plants (*Brassica napus* L.). *Middle East Journal of Agriculture Research*, 3: 943-954.
- Fariddudin, Q., Varshney, P., Yusuf, M., Ali, A. and Ahmad, A. 2013. Dissecting the role of glycine betaine in plants under abiotic stress. *Plant stress*, 7 (1): 8-18.
- Farooq, M., Hussain, M., Wahid, A. and Siddique, K.H.M. 2012. Drought Stress in Plants: An Overview. R. Aroca (ed.), *Plant Responses to Drought Stress*, Chapter 1, pp. 1-6.
- Gallie, D.R. 2013. Increasing vitamin C content in plant foods to improve their nutritional value successes and challenges. *Nutrients*, 5: 3424-3446.
- Ge, Y., Guest, D. I. and Bi, Y. 2014. Differences in the induction of defence responses in resistant and susceptible muskmelon plants infected with *Colletotrichum lagenarium*. *Journal of Phytopathology*, 162: 48-54.
- Grieve, C.M. and Grattan, S.R. 1983. Rapid assay for determination of water soluble quaternary ammonium compounds. *Plant Soil*, 70: 303-307.
- Heath, R.L. and Packer, L. 1968. Photoperoxidation in isolated chloroplasts. Kinetics and stiochemistry of fatty acid peroxidation. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 125: 189-198.
- Hemeda, H.M. and Klein, B.P. 1990. Effects of naturally occurring antioxidants on peroxidase activity of vegetable extracts. *Journal Food Science*, 55 (1): 184-185.
- 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 (1): 105-112.
- Kim, Y.H., Khan, A.L., Waqas, M., Jeong, H.J., Kim, D.H. and Shin, J.S. 2014. Regulation of jasmonic acid biosynthesis by silicon application during physical injury to *Oryza sativa* L. *Journal of Plant Research*, 127: 525-532.
- Kong, W., Liu, F., Zhang, C., Zhang, J. and Feng, H. 2016. Non-destructive determination of Malondialdehyde (MDA) distribution in oilseed rape leaves by laboratory scale NIR hyperspectral imaging. *Scientific Reports*, 6: 1-8.
- Laemmli, U.K. 1970. Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4. *Nature*, 227: 680-685.
- Mukherjee, S.P. and Choudhuri, M.A. 1983. Implication of water stress-induced changes in the levels of endogenous ascorbic acid and hydrogen peroxide in Figna seedlings. *Journal of Plant Physiology*, 58: 166-170.

- Naderi, R., Valizadeh, M., Toorchi, M. and Shakiba, M.R. 2014. Antioxidant enzyme changes in response to osmotic stress in wheat (*Triticum aestivum* L.) seedling”, *Acta Biologica Szegediensis*, 58(2): 95-101. (In Persian)
- Nakano, Y. and Asada, K. 1987. Purification of ascorbate peroxidase in spinach chloroplast: in inactivation in ascorbate-depleted medium and reactivation by monodehydroascorbate radical. *Plant Cell Physiology*, 28: 131-140.
- Naz, H., Akram, N.A. and Ashraf, M. 2016. Impact of ascorbic acid on growth and some physiological attributes of cucumber (*Cucumis sativus*) plants under water-deficit conditions. *Pakistan Journal of Botany*, 48, 877-883.
- Nezhadahmadi, A., Prodhan, Z.H. and Faruq, G. 2013. *Drought Tolerance in Wheat*. Hindawi Publishing Corporation, 2013: 1-12.
- Nimse, S.B. and Pal, D.P. 2015. Free radicals, natural antioxidants, and their reaction mechanisms. *RSC Advances*, 5 (35) :27986-28006. <http://dx.doi.org/10.1039/C4RA13315C>. [Links]
- Parry, M. A. J., Andralojc, P.J., Khan, S., Lea, P. J. and Keys, A.J. 2002. Rubisco Activity: Effects of Drought Stress. *Annals of Botany*, 89: 833-839.
- Perdomo, J.A., Capó-Bauçà, S., Carmo-Silva, E. and Galmés, J. 2017. Rubisco and Rubisco Activase Play an Important Role in the Biochemical Limitations of Photosynthesis in Rice, Wheat, and Maize under High Temperature and Water Deficit. *Frontiers in Plant Science*, 8: 1-15.
- Racchi, M.L. 2013. Antioxidant defenses in plants with attention to *Prunus* and *Citrus spp.* *Antioxidants* 2: 340-369.
- Rahimi, Z. 2015. Evaluation of growth indices, water and light use efficiency in drought susceptible and tolerant wheat genotypes under different irrigation levels. Master's degree in Agronomy and Plant Breeding Agrarian Sciences, Faculty of Agriculture, Kurdistan University. (In Persian)
- Rathinasabapathi, B., Burnet, M., Russell, B.L., Gage, D.A., Liao, P.C., Nye, G.J., Scott, P., Golbeck, J.H. and Hanson, A.D. 1997. Choline monooxygenase, an unusual iron-sulfur enzyme catalyzing the first step of glycine betaine synthesis in plants: prosthetic group characterization and cDNA cloning. *Plant Biology*, 94:3454-3458.
- Russo, M.A. and Belligno, A. 2010. Different availabilities of reduced nitrogen: Effects on oxidative stress in chicory plants, *Emirates Journal of Food and Agriculture*, 22 (4): 250-258.
- Sairam, R. K., Deshmukh, P. S., and Saxena, D. C. 1998. Role of antioxidant systems in wheat genotypes tolerance to water stress. *Biologia Plantarum*, 41 (3): 387-394.
- Shalata, A. and Neumann, P.M. 2001. Exogenous ascorbic acid (Vitamin C) increase resistance to salt stress and reduces lipid peroxidation. *Journal of Experimental Botany*, 52: 2207-2228.
- Sharwood, R.E., Sonawane, B.V., Ghannoum, O. and Whitney, S.M. 2016. Improved analysis of C4 and C3 photosynthesis via refined in vitro assays of their carbon fixation biochemistry. *Journal of Experimental Botany*, 67: 3137-3148.
- Shekoofa, A., Anderson, P.R., Sinclair, T.R., Balota, R. and Isleib, T.G. 2015. Measurement of limited-transpiration trait under high vapor pressure deficit for peanut in chambers and in field. *Agronomy Journal*, 107 (3): 1019-1024.
- Sytar, O., Kumar, A., Latowski, D., Kuczynska, P., Strzałka, K. and Prasad, M.N.V. 2013. Heavy metal-induced oxidative damage, defense reactions, and detoxification mechanisms in plants. *Acta Physiology Plantarum*, 35: 985-999.
- Tewari, R.K., Hadacek, F., Sassmann, S. and Lang, I. 2013. Iron deprivation-induced reactive oxygen species generation leads to non-autolytic PCD in *Brassica napus* leaves. *Environmental and Experimental Botany*, 91:74-83.
- Toscano, T., Farieri, E., Ferrante, A. and Romano, D. 2016. Physiological and biochemical responses in two ornamental shrubs to drought stress. *Frontiers in Plant Science*, 7: 1-12.
- Tripathi, D.K., Singh, S., Singh, V.P., Prasad, S.M., Dubey, N.K. and Chauhan, D.K. 2017. Silicon nanoparticles more effectively alleviated UV-B stress than silicon in wheat (*Triticum aestivum*) seedlings. *Plant Physiology and Biochemistry*, 110: 70-81.

- Wang, J., Zeng, Q., Zhu, J., Liu, G. and Tang, H. 2013. Dissimilarity of ascorbate-glutathione (AsA-GSH) cycle mechanism in two rice (*Oryza sativa* L.) cultivars under experimental free-air ozone exposure. *Agriculture Ecosystems and Environment*, 165: 39-49.
- Wang, X., Vignjevic, M., Jiang, D., Jacobsen, S. and Wollenweber, B. 2014. Improved tolerance to drought stress after anthesis due to priming before anthesis in wheat (*Triticum aestivum* L.) var. Vinjett. *Journal of Experimental Botany*, 65 (22): 6441-6456.
- Wu, Z., Liu, S., Zhao, J., Wang, F., Du, Y. and Zou, S. 2017. Comparative responses to silicon and selenium in relation to antioxidant enzyme system and the glutathione-ascorbate cycle in flowering Chinese cabbage (*Brassica campestris* L. ssp. *chinensis* var. *utilis*) under cadmium stress. *Environmental and Experimental Botany*, 133: 1-11.
- Yadav, N. and Sharma, S. 2016. Reactive Oxygen Species, Oxidative stress and ROS scavenging system in plants. *Journal of Chemical and Pharmaceutical Research*, 8 (5):595-604.
- Yang, H., Zhao, L., Zhao, S., Wang, J. and Shi, H. 2017. Biochemical and transcriptomic analyses of drought stress responses of LY1306 tobacco strain. *Scientific Reports*, 7: 1-10.
- Zhang, Q. and Rue, K. 2014. The Effect of glycinebetaine priming on seed germination of six turfgrass species under drought, salinity, or temperature stress. *Horticulture Science*, 49 (11): 1454-1460.
- Zinta, G., AbdElgawad, H., Domagalska, M.A., Vergauwen, L., Knapen, D. and Nijs, I. 2014. Physiological, biochemical, and genome-wide transcriptional analysis reveals that elevated CO₂ mitigates the impact of combined heat wave and drought stress in *Arabidopsis thaliana* at multiple organization allels. *Global Change Biology*, 20: 3670-3685.

Effects of drought stress on antioxidant enzymes activity and some physiological traits of drought resistant and susceptible cultivars of wheat (*Triticum aestivum* L.)

Zeynab rahimi¹, Farzad Hosseinpanahi *²& Adel Siosemardeh³

1. M. Sc. of Agronomy, Department of Agronomy and Plant Breeding, University of Kurdistan, Sanandaj, Iran

2*. Corresponding author, Assistant Professor, Department of Agronomy and Plant Breeding, University of Kurdistan, Sanandaj, Iran

3. Associate Professor, Department of Agronomy and Plant Breeding, University of Kurdistan, Sanandaj, Iran

Email: f.hosseinpanahi@agri.uok.ac.ir

Received: 2019/ 07/ 17

Accepted: 2019/ 08/ 31

Abstract

A field experiment was conducted in order to evaluate drought stress effects on some physiological traits of drought resistant and susceptible cultivars of wheat at agricultural faculty research field of University of Kurdistan during 2012-2013 growing season. The experiment was split plots based on randomized complete blocks design with three replications. The main plots were different levels of irrigation (FI as irrigation based on crop water requirement, 75%FI, 50%FI and 25%FI as irrigation based on 75%, 50% and 25% of crop water requirement in FI treatment, and NI as treatment without irrigation) and subplots were three wheat cultivars (Azar2 (resistant), Gascogen and Sayonce (susceptible). Results showed that ascorbic acid (ASA) amount increased only under severe stress conditions, and other stress levels did not affect amount of this metabolite. The amount of glycine betaine (GB) and peroxidase activity were increased with increase in drought stress severity. Also, the amount of the cultivars the amount of rubisco large subunit was decreased with increasing plant age and due to drought stress in sensitive and resistant cultivars. In flowering and dough stages, irrigation cause to decrease in malondialdehyde (MDA) concentration, so that in all treatments, the concentration before irrigation was higher than after irrigation. In general, the activity of peroxidase enzyme and the MDA concentration in drought resistant cultivar (Azar2) showed a higher increase compared to other sensitive cultivars under the stress condition. The overall results of this study showed that the resistant and susceptible cultivars have different physiological responses to drought stress. Results of this study can help breeders to select suitable cultivars for drought stress.

Keywords: *Ascorbate peroxidase, Peroxidase, Rubisco, Glycine betaine, Malondialdehyde*