

Effect of polyethylene glycol-induced drought stress on chlorophyll content and the antioxidant defense system in wheat seedlings

Hamid Nouri 

Assistant Professor, Department of Agriculture and Plant Breeding, Faculty of Agriculture, Yasouj University, Yasouj, Iran

Received 29 April 2024; Revised 13 June 2024; Accepted 15 June 2024

Extended abstract

Introduction

Drought stress is one of the main factors affecting the physiology and metabolism of crops such as wheat, leading to a reduction in yield and its components. Drought is among the most destructive and significant abiotic stresses in agriculture. Under drought stress, the imbalance between energy absorption and its utilization in the photosynthetic apparatus leads to the accumulation of reactive oxygen species (ROS) and the plant's inability to detoxify them, ultimately resulting in membrane damage and oxidative stress symptoms. Because it is challenging to create and maintain a defined soil water potential in the soil, drought stress is often imposed using osmotic agents that create controlled osmotic potentials. This approach is widely used to study the effects of drought on seed germination and related physiological traits. This study was conducted to investigate the effect of polyethylene glycol (PEG)-induced drought stress on chlorophyll content and the antioxidant defense system of wheat seedlings.

Materials and methods

The experiment was conducted as a factorial arrangement in a randomized complete block design (RCBD) with three replications. The experimental treatments consisted of five levels of drought stress induced using polyethylene glycol 6000 (PEG 6000) at osmotic potentials of 0, -1.5, -3.0, -4.5, and -6.0 bar, along with seeds of two irrigated wheat varieties, Sirvan and Baharan.

Results and discussion

Analysis of variance showed that the effects of drought stress and variety were significant for total chlorophyll, proline, ascorbic acid, total phenols, flavonoids, catalase (CAT), peroxidase (POD), ascorbate peroxidase (APX), superoxide dismutase (SOD), and glutathione reductase (GR). The interaction between drought stress and cultivar was significant only for POD activity. Based on the mean comparison results, drought stress had an adverse effect on the leaf chlorophyll content of both wheat cultivars. Increasing the severity of drought stress further reduced leaf chlorophyll content, and the lowest total chlorophyll content (2.51 mg g^{-1} fresh leaf weight) was observed under the -6 bar drought stress treatment. Drought stress influenced the antioxidant defense system of the wheat cultivars, such that under drought conditions, the levels of non-enzymatic antioxidants and the activities of enzymatic antioxidants increased. Under severe drought stress at -6 bar, the highest levels of leaf proline (2.8 mg g^{-1}), ascorbic acid (11.66 mg g^{-1}), and flavonoids (15.48 mg g^{-1}) were obtained. At this osmotic potential, APX activity was highest ($6.53 \text{ nmol.min}^{-1}.\text{g}^{-1}$). However, the highest total phenol content (12.70 mg.g^{-1}) was observed at -3.0 bar osmotic potential. At the osmotic potential of -4.5 bar, the

* Corresponding author: Hamid Nouri; E-Mail: h.nouri@yu.ac.ir

highest activities of CAT ($32.16 \text{ nmol min}^{-1} \text{ g}^{-1}$), POD ($12.96 \text{ nmol min}^{-1} \text{ g}^{-1}$), SOD ($1.53 \text{ } \mu\text{mol min}^{-1} \text{ g}^{-1}$), and GR ($0.84 \text{ } \mu\text{mol min}^{-1} \text{ g}^{-1}$) were obtained.

Conclusion

Based on the present results, drought stress triggered the activation of both enzymatic and non-enzymatic antioxidant components, which function to mitigate oxidative damage and reduce the adverse effects of drought on chlorophyll and other cellular organelles, thereby enhancing the plant's ability to tolerate stress conditions. Moreover, compared with the Baharan cultivar, Sirvan exhibited higher leaf chlorophyll, greater levels of non-enzymatic antioxidants, and higher activities of enzymatic antioxidants, indicating superior performance under drought stress. Given the superior performance of Sirvan over Baharan, Sirvan has greater potential for cultivation under dry conditions and can be recommended for water-limited environments. However, where possible, drought stress should be minimized through adequate irrigation for both cultivars to achieve higher yields

Keywords: Baharan, Catalase, Osmotic potential, Proline

اثر تنش خشکی ناشی از پلی اتیلن گلایکول بر محتوای کلروفیل و سیستم دفاع آنتی اکسیدانی گیاهچه‌های ارقام گندم

حمید نوری 

استادیار، گروه زراعت و اصلاح نباتات، دانشکده کشاورزی، دانشگاه یاسوج، یاسوج

ملاحظات مقاله	چکیده
واژه‌های کلیدی: بهاران پرویلین پتانسیل اسمزی کاتالاز	این مطالعه به منظور بررسی تنش خشکی بر محتوای کلروفیل و سیستم دفاع آنتی اکسیدانی گیاهچه گندم به صورت فاکتوریل در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی با سه تکرار در دانشگاه یاسوج انجام شد. تیمارهای آزمایش شامل تنش خشکی (صفر، ۱/۵، ۳، ۴/۵ و ۶- بار) و رقم (سیروان و بهاران) بودند. تنش خشکی دارای اثر منفی بر محتوای کلروفیلی برگ دو رقم گندم شد و با افزایش شدت تنش خشکی به میزان بیشتر از محتوای کلروفیل برگ کاسته شد به طوری که کمترین مقدار کلروفیل کل برگ (۲/۵۱ میلی گرم بر گرم وزن تازه برگ) در تیمار تنش خشکی ۶- بار به دست آمد. تنش خشکی روی سیستم دفاع آنتی اکسیدانی ارقام گندم احتمالاً اثر گذاشته و تحت شرایط تنش خشکی میزان آنتی اکسیدان‌های غیر آنزیمی و فعالیت آنتی اکسیدان‌های آنزیمی افزایش یافت. در شرایط تنش خشکی شدید در شدت ۶- بار بالاترین میزان پرویلین برگ (۲/۸ میلی گرم بر گرم)، اسید آسکوربیک (۱۱/۶۶ میلی گرم بر گرم) و فلاونوئید (۱۵/۴۸ میلی گرم بر گرم) به دست آمد. همچنین در این پتانسیل اسمزی بالاترین میزان فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز به میزان ۶/۵۳ نانو مول بر دقیقه بر گرم حاصل شد. این در حالی بود که در پتانسیل اسمزی ۳- بار بالاترین میزان فنل کل (۱۲/۷ میلی گرم بر گرم) به دست آمد. در پتانسیل اسمزی ۴/۵- بار نیز بیشترین میزان فعالیت آنزیم‌های کاتالاز (۳۲/۱۶ نانو مول بر دقیقه بر گرم)، پراکسیداز (۱۲/۹۶ نانو مول بر دقیقه بر گرم)، سوپراکسید دیسموتاز (۱/۵۳ میکرومول بر دقیقه بر گرم) و گلوتاتیون رداکتاز (۰/۸۴ میکرومول بر دقیقه بر گرم) به دست آمد. همچنین نتایج نشان داد رقم سیروان نسبت به رقم بهاران دارای بالاترین میزان کلروفیل برگ، آنتی اکسیدان‌های غیر آنزیمی و فعالیت آنتی اکسیدان‌های آنزیمی بالاتری بود و از این نظر در شرایط تنش دارای برتری بود.

مقدمه

گیاهان دارد باعث کاهش شدید رشد و نمو و محصول گیاهان می‌شود (Hadian et al., 2019). نخستین و حساس‌ترین واکنش گیاه نسبت به کمبود آب، کاهش در آماس و رشد یاخته (به‌ویژه طولی شدن) است. کمبود آب، سنتز آبسزیک اسید از کاروتنوئیدها را در ریشه تحریک می‌کند. آبسزیک اسید تولیدی به اندام‌های هوایی گیاه منتقل شده و پیری را تسریع می‌کند که به پژمرده شدن یاخته‌های گیاه، خشک شدن و ریزش برگ‌های مسن‌تر منجر می‌شود (Salehi Eskandari et al., 2023). همچنین، متابولیسم پروتئین،

خشکی از جمله مخرب‌ترین و مهم‌ترین تنش‌های غیر زیستی در کشاورزی است. در شرایط تنش عدم توازن بین فرآیند جذب انرژی و مصرف آن توسط اندام فتوسنتزی باعث تجمع گونه‌های فعال اکسیژن و ناتوانی گیاه در مهار آن می‌گردد که در نهایت منجر به بروز تنش در غشاء سلول و بروز علائم ناشی از صدمات اکسیداتیو می‌گردد (Bandehaq et al., 2018). تنش خشکی به عنوان یک عامل محیطی محدودکننده است که به دلیل اثرات نامطلوب فیزیولوژیک، بیوشیمیایی و مولکولی فراوانی که بر

واحدهای مقابله‌کننده در برابر افزایش گونه‌های فعال اکسیژن به شمار می‌آیند و در این روند خصوصیات فیزیولوژیک ارقام مختلف از جمله بسته شدن روزنه‌ها، تغییر در الگوی تنظیم‌کننده‌های رشد و تجمع متابولیت‌ها نیز می‌توانند نمونه‌های بارزی از سازگاری با شرایط تنش باشند (Valizadeh et al., 2021).

علاوه بر آنتی‌اکسیدان‌های آنزیمی، میزان آنتی‌اکسیدان‌های غیرآنزیمی نیز در شرایطی تنش خشکی افزایش یافته و این عمل به کاهش میزان گونه‌های فعال اکسیژن تحت این شرایط کمک می‌نماید. در مطالعه‌ای مشخص شد که در شرایطی که گیاه *Thellungiella salsuginea* تحت تنش قرار می‌گیرد، میزان پرولین به‌عنوان یک اسمولیت که دارای خاصیت آنتی‌اکسیدانی است، افزایش یافته و همین امر می‌تواند در کاهش سطح فعالیت برخی از آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی تحت این شرایط مؤثر باشد (Soshinkova et al., 2013). در مطالعه‌ای دیگر روی گیاه سویا مشخص شد که همه ارقام موردبررسی سویا به تنش کم‌آبی واکنش نشان داده و با فعال نمودن سیستم دفاع آنتی‌اکسیدان خود درصدد مقابله با رادیکال‌های آزاد ناشی از تنش خشکی برآمدند و این سیستم در همه ارقام موردبررسی فعال شده بود، ولی تنش شدید خشکی به‌طور معنی‌دار تخریب لیپیدها و فرآورده ناشی از آن‌ها (مالون دی‌آلدئید) را افزایش و ارقام با مقادیر بالاتر آنتی‌اکسیدان دارای میزان کمتری از تخریب لیپیدها و درنهایت عملکرد بالاتر دانه و روغن بودند (Masoumi et al., 2020). در مطالعه‌ای دیگر مشخص شد که شرایط خشکی باعث افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان از قبیل کاتالاز، سوپراکسید دیسموتاز و گلوتاتیون پراکسیداز شده و بین ارقام مختلف ازلحاظ فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان تفاوت وجود داشت (Sayfzadeh et al., 2010).

از آنجایی که ایجاد و حفظ یک پتانسیل آب خالص در محیط خاک کاری تقریباً مشکل است، برقراری شرایط تنش خشکی با استفاده از مواد اسمزی مختلف برای ایجاد پتانسیل‌های اسمزی، یکی از مهم‌ترین روش‌های مطالعه تأثیر تنش خشکی بر جوانه‌زنی و خصوصیات مرتبط با آن تلقی می‌شود. با توجه به این‌که در بیشتر موارد بافت‌های گیاهی عکس‌العمل مناسبی در محیط‌های کنترل مصنوعی پتانسیل آب (نظیر محلول شکر و نمک) نشان نمی‌دهند و با دخالت در تغذیه بافت‌ها، پتانسیل اسمزی را تعدیل می‌کنند، توجه

سنتز اسیدهای آمینه، واکنش‌های ثانویه فتوسنتز و تنفس میتوکندری را مختل کرده و درنهایت باعث ایجاد اختلالات یاخته‌ای می‌شود. واکوئل مرکزی به چند واکوئل کوچک تجزیه شده، تایلاکوئیدها در کلروپلاست‌ها و کریستاها در میتوکندری متورم شده، سپس تجزیه می‌شوند و درنهایت به مرگ یاخته‌ای منجر می‌شود (Basu et al., 2016).

گیاهان در مواجهه با تنش خشکی، شروع به تجمع مواد محلول در سلول‌های خود کرده و پتانسیل آبی خود را بدون تغییر در فشار آماز، پایین می‌آورند. این مواد سازگار کننده بتائین، اسیدهای آمینه (پرولین و گلايسین)، قندهای محلول و الکلی، سوربیتول آلی، اسیدهای آمینه و یون‌هایی مانند پتاسیم بوده که با کاهش پتانسیل آب سلول‌ها، گیاه را قادر به جذب آب از محیط می‌کنند (Anjum et al., 2017). در شرایطی که تولید گونه‌های فعال اکسیژن در گیاه در حالت عادی قرار دارد از طریق فتوسنتز، تنفس نوری هم اتفاق می‌افتد. گیاهان تحت شرایط معمولی و همچنین در شرایطی که تولید گونه‌های فعال اکسیژن افزایش می‌یابد، غلظت گونه‌های فعال اکسیژن را توسط مجموعه‌ای از آنتی‌اکسیدان‌های غیر آنزیمی مانند پرولین، اسید اسکوربیک، فنل و فلاونوئید و همچنین آنتی‌اکسیدان‌های آنزیمی شامل کاتالاز، آسکوربات پراکسیداز سوپراکسید دیسموتاز، پراکسیداز و گلوتاتیون رداکتاز کنترل می‌کند (Pan et al., 2019).

تنش خشکی باعث افزایش میزان تنفس درنتیجه نشت الکترون تنفسی به بیرون از چرخه و تولید رادیکال‌های آزاد و گونه‌های فعال اکسیژن از قبیل سوپراکسید، پراکسید هیدروژن و رادیکال هیدروکسیل شده و غلظت این مواد به بالاتر از حد آستانه رسیده و سمیت ایجاد می‌کند که به اجزای مختلف سلول‌های زنده از جمله چربی‌ها، پروتئین‌ها و اسیدهای نوکلئیک آسیب اکسیداتیو وارد می‌کند (Abogadallah et al., 2010). بنا به گزارش‌های متعدد سیستم آنتی‌اکسیدانی آنزیمی و غیرآنزیمی گیاه تحت شرایط خشکی فعال شده و در برابر افزایش تولید گونه‌های فعال اکسیژن از خود رفتار دفاعی نشان داده است (Masoumi et al., 2020; Singh et al., 2014). البته بایستی در نظر داشت که میزان فعال شدن، بسته به حساسیت ارقام مختلف و پتانسیل ژنتیکی گونه‌های مختلف، متفاوت است (Bandehaq et al., 2018). آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان به‌عنوان سریع‌ترین

به‌سوی مواد با جرم مولکولی بالا که نقشی در تغذیه بافت‌ها نداشته و جذب نمی‌شوند، جلب شده است (Michel and Kaufmann, 1973). در میان مواد با جرم مولکولی بالا، پلی‌اتیلن گلیکول (به دلیل ایجاد محلول دارای شرایط مشابه PEG) شرایط طبیعی بیشترین کاربرد را پیدا کرده است (Rade and Kar, 1995). این ماده به دلیل داشتن وزن مولکولی بالا نمی‌تواند از دیواره سلولی عبور کند و به همین دلیل از آن برای تنظیم پتانسیل آب در آزمایش‌های جوانه‌زنی استفاده می‌شود. پلی‌اتیلن گلیکول وزن مولکولی بالا (PEG MW=6000) جهت ایجاد تنش خشکی در مقایسه با مولکول‌های کوچک‌تر آن مثل (PEG MW=4000) مناسب‌تر است، زیرا درصد جوانه‌زنی بذر در محلول پلی‌اتیلن گلیکول ۶۰۰۰ و در خاکی با همان پتانسیل آب تقریباً برابر است (Emmerich and Hardgree, 1990). پلی‌اتیلن گلیکول ماده‌ای غیر سمی است که در یافت‌های گیاه نفوذ نمی‌کند؛ بنابراین، برعکس موادی همچون کلرید سدیم، مانیتول و ساکارز باعث صدمه به گیاه نمی‌شود (Fakheri et al., 2017). از این رو این مطالعه به منظور بررسی تنش خشکی در سطوح مختلف پتانسیل اسمزی ناشی از پلی‌اتیلن گلیکول بر محتوای کلروفیلی و فعالیت سیستم دفاع آنتی‌اکسیدانی گیاهچه ارقام گندم سیروان و بهاران (مخصوص مناطق سرد و معتدل) صورت گرفت.

مواد و روش‌ها

این مطالعه به منظور بررسی اثرات تنش خشکی ناشی از پلی‌اتیلن گلیکول بر محتوای کلروفیل و سیستم دفاع آنتی‌اکسیدانی گیاهچه‌های گندم به صورت آزمایش فاکتوریل در دو سطح ارقام گندم سیروان و بهاران و پنج سطح تنش خشکی ایجادشده با پلی‌اتیلن گلیکول (۰، ۱/۵، ۳، ۴/۵ و ۶- بار) در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی با سه تکرار در دانشگاه یاسوج انجام شد.

بذرهای هر دو رقم گندم قبل از انتقال به پتری‌دیش به مدت ۱۰ ثانیه در الکل ۹۶ درصد و سپس به مدت ۵۰ ثانیه در محلول هیپوکلریت سدیم نیم درصد قرار گرفتند (وایتکس تجاری که دارای هیپوکلریت سدیم فعال با غلظت ۵/۲۵ درصد است با ۹ قسمت آب مقطر استریل رقیق شدند تا غلظت هیپوکلریت سدیم فعال به غلظت نیم درصد برسد). پس از این مرحله، بذرهای چندین بار با آب مقطر استریل شستشو داده شدند. سپس بذرهای به مدت ۳۰ ثانیه در محلول

یک در هزار بنومیل جهت ضدعفونی سطحی قرار داده شدند و سه مرتبه با آب مقطر شستشو داده شدند. پس از این مرحله تعداد ۱۰۰ عدد بذر گندم از ارقام سیروان و بهاران در پتری‌دیش‌های ۱۵ سانتی‌متری استریل محتوی دولایه کاغذ صافی واتمن شماره ۱ در شرایط تنش اسمزی ناشی از پلی‌اتیلن گلیکول و شاهد کشت شدند. در این آزمایش برای هر رقم و هر سطح از تیمار تنش خشکی تعداد سه عدد پتری‌دیش و در هر پتری‌دیش ۱۰۰ عدد بذر گندم به‌منزله سه تکرار آزمایش در نظر گرفته شدند. میزان پلی‌اتیلن گلیکول مصرفی برحسب گرم در لیتر برای ایجاد پتانسیل لازم از رابطه ۱ محاسبه گردید (Michel Burlyn and Kaufmann, 1973):

$$\Phi = -(1.18 \times 10^{-2})C - (1.18 \times 10^{-4})C^2 + (2.67 \times 10^{-4})CT + (8.39 \times 10^{-7})C^2T \quad [1]$$

در این رابطه Φ پتانسیل اسمزی، T دما برحسب درجه سانتی‌گراد و C غلظت پلی‌اتیلن گلیکول ۶۰۰۰ است (PEG, MW=6000).

پس از اعمال تیمارها و در روز هفتم از جوانه‌زنی بذرهای نمونه‌برداری به منظور اندازه‌گیری صفات انجام گردید. برای اندازه‌گیری میزان کلروفیل کل از روش آرنون با استفاده از استون ۸۰ درصد استفاده شد (Arnon, 1949). همچنین برای اندازه‌گیری پرولین از روش بیت استفاده شد (Bate, 1973). میزان فلاونوئید با استفاده از روش رنگ سنجی کلرید آلومینیوم اندازه‌گیری شد. در این روش میزان ۰/۵ میلی‌لیتر از محلول موردنظر با ۱/۵ میلی‌لیتر اتانول ۹۵ درصد، ۰/۱ میلی‌لیتر آلومینیوم کلرید ۱۰ درصد، ۰/۱ میلی‌لیتر جذب نمونه‌ها به‌وسیله‌ی دستگاه اسپکتروفتومتر اندازه‌گیری گردید (Sadeghi et al., 2016). میزان فنل از روش Folin - Ciocalteu و جذب نمونه‌ها در طول موج ۷۶۰ نانومتر توسط دستگاه اسپکتروفتومتر انجام گردید (Ebrahimzadeh et al., 2011). برای اندازه‌گیری اسیدآسکوربیک ۰/۲ گرم بافت بذری با ۲ میلی‌لیتر اسیدپرکلرید ۰/۵ میلی‌مولار در هاون چینی بر روی یخ ساییده شده و سپس در میکروتیوب ریخته و به مدت ۲۰ دقیقه در ۱۰۰۰۰ دور و در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد سانتریفیوژ شده و جذب نوری نمونه‌ها در طول موج ۷۳۵ نانومتر انجام شد (Zhang et al., 2010).

برای اندازه‌گیری فعالیت آنزیم کاتالاز یک گرم نمونه با ۳ میلی‌لیتر بافر استخراج مخلوط و پس سانتریفیوژ جذب در طول موج ۲۴۰ نانومتر به مدت دو دقیقه اندازه‌گیری و از یک

میکرو مول NADH بود که جذب در ۳۴۰ نانومتر قرائت گردید (Sgherri et al., 1994).

تجزیه آماری داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار آنالیز آماری SAS نسخه ۹/۴ انجام شد. مقایسات میانگین با استفاده از روش LSD در سطح پنج درصد انجام شد.

نتایج و بحث

بر اساس نتایج حاصل از تجزیه واریانس داده‌های آزمایش مشخص شد که اثر تیمار تنش خشکی ناشی از پلی‌اتیلن گلیکول بر صفات کلروفیل کل، پرولین، اسید آسکوربیک، فنل، فلاونوئید، کاتالاز، پراکسیداز، آسکوربات پراکسیداز، سوپراکسید دیسموتاز و گلوکاتایون رداکتاز معنی‌دار شد. همچنین اثر تیمار رقم بر صفات کلروفیل کل، پرولین، اسید آسکوربیک، فنل، فلاونوئید، کاتالاز، آسکوربات پراکسیداز، سوپراکسید دیسموتاز و گلوکاتایون رداکتاز معنی‌دار شد. نتایج همچنین بیانگر این مطلب بود که اثر متقابل تنش خشکی و رقم فقط بر میزان فعالیت آنزیم پراکسیداز معنی‌دار بود ولی بر سایر صفات اثر معنی‌داری نداشت (جدول ۱).

نتایج حاصل از مقایسه میانگین تیمارهای آزمایش نشان داد محتوای کلروفیل برگ در گیاهچه گندم با افزایش شدت تنش خشکی ایجادشده به وسیله پلی‌اتیلن گلیکول کاهش یافته به طوری که بیشترین میزان کلروفیل کل برگ (۳/۹۶ میلی گرم بر گرم وزن تازه برگ) در تیمار شاهد و کمترین میزان کلروفیل کل برگ به میزان ۲/۵۱ میلی گرم بر گرم وزن تازه برگ در تیمار تنش خشکی ۶- بار به دست آمد. و اختلاف بین این دو تیمار از نظر آماری معنی‌دار بود. همچنین نتایج نشان داد محتوای کلروفیلی گیاهچه گندم رقم سیروان بیشتر از رقم بهاران بود (شکل ۱).

دقیقه اول آن با ضریب خاموشی ۰/۰۳۹۴ بر میلی مول بر سانتی متر برای محاسبه فعالیت کاتالاز استفاده گردید (Chance and Maehly, 1955).

برای اندازه‌گیری فعالیت آنزیم پراکسیداز ۲ گرم نمونه با ۴ میلی لیتر بافر استخراج مخلوط و پس از سانتریفیوژ جذب در طول موج ۴۷۰ نانومتر به مدت ۴ دقیقه اندازه‌گیری و از یک دقیقه اول آن با ضریب خاموشی ۲/۴۷ بر میلی مول بر سانتی متر برای محاسبه فعالیت پراکسیداز استفاده گردید (Chance and Maehly, 1955).

برای اندازه‌گیری فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز، ۰/۳ گرم از بافت بذری با ۲ میلی لیتر بافر استخراج در هاون چینی بر روی یخ ساییده شد و پس از عبور از دولایه پارچه ململ در میکروتیوب ریخته و به مدت ۳۰ دقیقه (دو زمان ۱۵ دقیقه‌ای) در ۱۵۰۰۰ دور و دمای ۴ درجه سانتی‌گراد سانتریفیوژ شد. تغییرات جذب در طول موج ۲۹۰ نانومتر به مدت ۳ دقیقه اندازه‌گیری و از یک دقیقه اول جهت محاسبه فعالیت آسکوربات پراکسیداز استفاده شد (Resenda et al., 2002).

واکنش سنجش فعالیت سوپراکسید دیسموتاز شامل ۰/۰۵۵ میلی مول نیتروبلوتترازولوم، ۱/۴۲ درصد تریتون X-100، 0.1 mM EDTA، ۱۶ میلی مول پیروگالول بود که پس از اضافه کردن عصاره نمونه بافت تغییر جذب در اسپکتروفتومتر در طول موج ۵۶۰ نانومتر ارزیابی گردید (Minami, 1979).

واکنش سنجش فعالیت گلوکاتایون رداکتاز روی نمونه حاوی ۱۰۰ میلی مول فسفات پتاسیم، ۱ میلی مول EDTA و ۰/۲ پلی وینیل فسفات، ۲ میلی مول EDTA، یک و نیم میلی مول کلرور منیزیم، ۰/۵ میلی مول اکسید گلوکاتایون، ۵۰

جدول ۱. اثر تنش خشکی بر کلروفیل و آنتی‌اکسیدان‌های آنزیمی و غیر آنزیمی گیاهچه ارقام گندم

Table 1. Effect of drought stress on chlorophyll and enzymatic and non enzymatic antioxidant of wheat seedling cultivars

S.O.V	منابع تغییرات	درجه آزادی DF	کلروفیل کل Chl-ab	پرولین Proline	اسید آسکوربیک Ascorbic acid	فنل Phenol	فلاونوئید Flavonoid
Replication	تکرار	2	0.12	0.1	0.11	0.3	0.05
Drought stress (D)	تنش خشکی	1	3.53**	0.53*	7.8**	10.6**	11.4**
Variety (V)	رقم	4	2.6**	2.2**	12.1**	19.4**	31.9**
D * V		4	0.04	0.14	0.14	0.29	1
Error	خطا	18	0.14	0.1	0.64	0.34	0.51
CV(%)	ضریب تغییرات		11.3	17.3	8.3	5.72	5.8

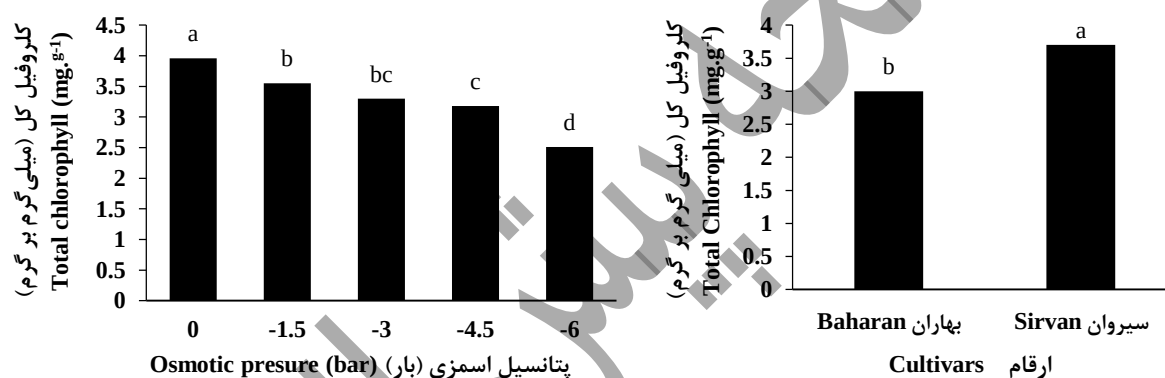
Table 1. Contained

جدول ۱. ادامه

S.O.V	منابع تغییرات	درجه آزادی DF	کاتالاز CAT	پراکسیداز POX	آسکوربات پراکسیداز APX	سوپراکسید دیسموتاز SOD	گلوتاتیون رداکتاز GR
Replication	تکرار	2	1.6	1.2	0.2	0.001	0.002
Drought stress(D)	تنش خشکی	1	24**	0.42	2.8**	0.4**	0.08**
Variety (V)	رقم	4	42**	9.2**	2.6**	0.6**	0.05**
D *V		4	0.55	4.3**	0.008	0.03	0.003
Error	خطا	18	2.1	0.66	0.08	0.01	0.003
CV(%)	ضریب تغییرات		5.1	7.6	5.3	13.7	7.9

* و ** به ترتیب بیانگر معنی داری در سطح پنج و یک درصد می باشند

*and** are significant in 5 and 1% respectively



شکل ۱. مقایسه میانگین اثر تیمارهای مختلف خشکی و رقم بر میزان کلروفیل کل گیاهچه گندم. ستون هایی که دارای حداقل یک حرف مشابه هستند فاقد اختلاف آماری معنی دار بر اساس آزمون LSD می باشند.

Fig. 1. Mean comparison for effect of different drought stress treatment and cultivar on total chlorophyll of wheat seedling. Column with at least one same letter had no significant difference based on LSD test.

پتانسیل اسمزی افزایش یافت به طوری که بالاترین میزان اسید آسکوربیک به میزان ۱۱/۶۶ میلی گرم بر گرم در تیمار پتانسیل اسمزی -۶ بار حاصل گردید و در تیمار شاهد نیز کمترین میزان اسید آسکوربیک به میزان ۸ میلی گرم بر گرم حاصل گردید. همچنین نتایج نشان داد رقم سیروان دارای میزان اسید آسکوربیک بیشتری (۱۰/۱۶ میلی گرم بر گرم) نسبت به رقم بهاران بود (شکل ۳).

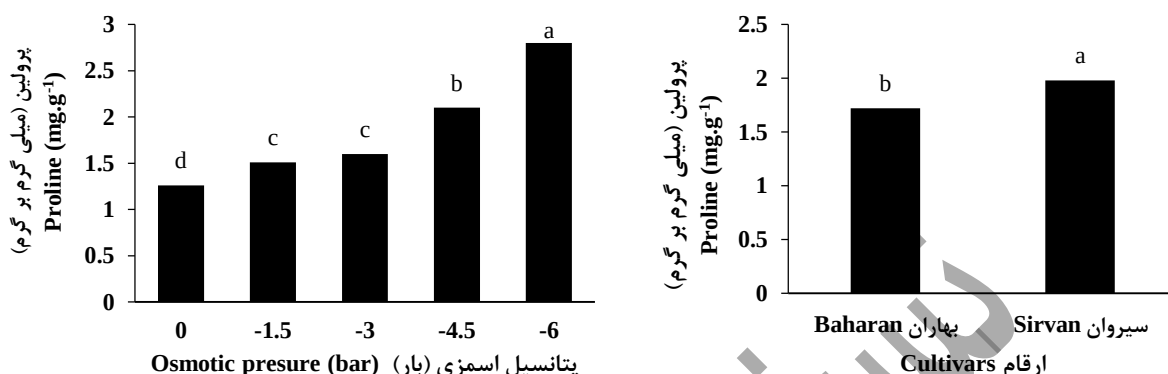
نتایج همچنین بیانگر افزایش میزان فنل اندازه گیری شده در گیاهچه گندم در شرایط تنش خشکی ایجاد شده با استفاده از پلی اتیلن گلیکول بود. هر چند که با افزایش میزان پتانسیل اسمزی تا -۳ بار میزان فنل تا ۱۲/۷ میلی گرم بر گرم وزن تازه افزایش یافت ولی نتایج نشان داد در دو پتانسیل اسمزی -۴/۵ و -۶ بار میزان فنل در گیاهچه گندم کاهش

بر اساس نتایج حاصل از این مطالعه مشخص شد که محتوای پرولین گیاهچه گندم در تیمارهای مختلف تنش های خشکی باهم متفاوت بوده و کاهش پتانسیل اسمزی منجر به افزایش محتوای پرولین در ارقام گندم شد. بالاترین میزان پرولین در تیمار پتانسیل اسمزی -۶ بار به میزان ۲/۸ میلی گرم بر گرم حاصل گردید و کمترین مقدار پرولین برگ نیز به میزان ۱/۲۶ میلی گرم بر گرم در تیمار شاهد حاصل گردید. همچنین بر طبق نتایج این مطالعه مشخص شد که میزان پرولین برگ در رقم سیروان بالاتر از رقم بهاران بود (به ترتیب ۱/۹۸ و ۱/۷۲ میلی گرم بر گرم) (شکل ۲).

نتایج حاصل از این مطالعه بیانگر این مطلب بود که میزان اسید آسکوربیک اندازه گیری شده در گیاهچه گندم با افزایش تنش خشکی ناشی از پلی اتیلن گلیکول و با کاهش میزان

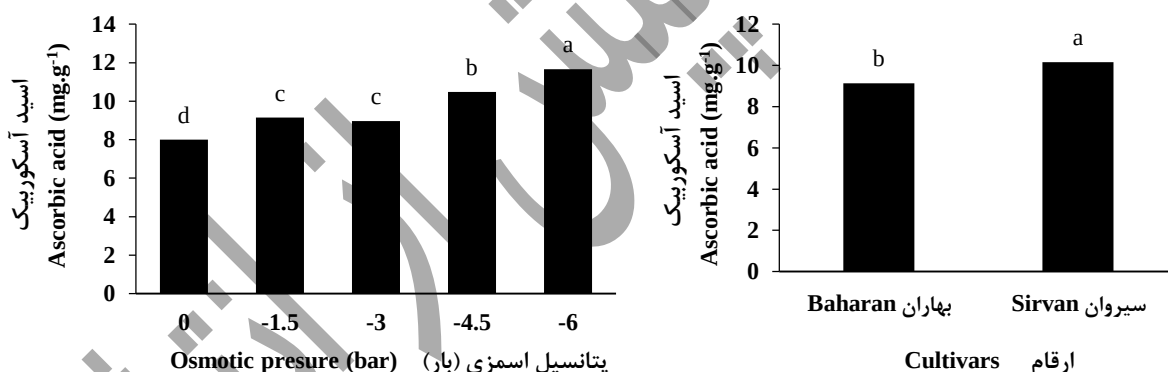
سیروان و بهاران نیز رقم سیروان دارای میزان فنل بیشتری یافت. همچنین در تیمار شاهد کمترین میزان فنل به مقدار ۸ میلی گرم بر گرم وزن تازه حاصل گردید. در بین دو رقم به مقدار ۱۰/۸ میلی گرم بر گرم وزن تازه بود (شکل ۴).

یافت. همچنین در تیمار شاهد کمترین میزان فنل به مقدار ۸ میلی گرم بر گرم وزن تازه حاصل گردید. در بین دو رقم



شکل ۲. مقایسه میانگین اثر تیمارهای مختلف خشکی و رقم بر میزان پرولین گیاهچه گندم. ستون‌هایی که دارای حداقل یک حرف مشابه هستند فاقد اختلاف آماری معنی‌دار بر اساس آزمون LSD می‌باشند.

Fig 2. Mean comparison for effect of different drought stress treatment and cultivar on proline of wheat seedling. Column with at least one same letter had no significant difference based on LSD test.

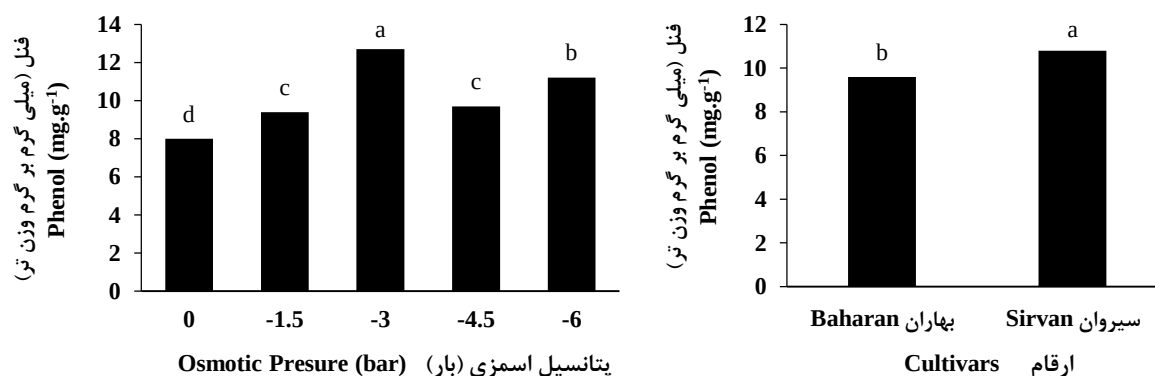


شکل ۳. مقایسه میانگین اثر تیمارهای مختلف خشکی و رقم بر میزان اسید آسکوربیک گیاهچه گندم. ستون‌هایی که دارای حداقل یک حرف مشابه هستند فاقد اختلاف آماری معنی‌دار بر اساس آزمون LSD می‌باشند.

Fig 3. Mean comparison for effect of different drought stress treatment and cultivar on ascorbic acid of wheat seedling. Column with at least one same letter had no significant difference based on LSD test.

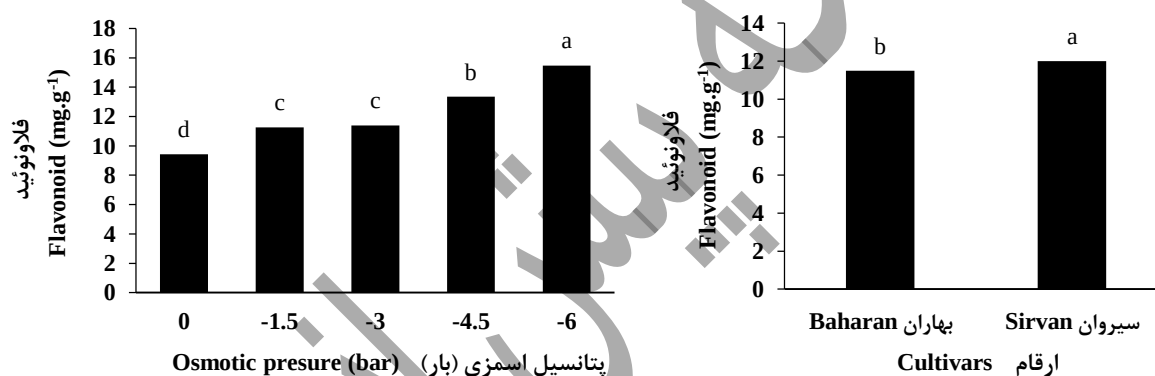
و ۱۵/۴۸ میلی گرم بر گرم وزن تازه متعلق به تیمارهای شاهد و پتانسیل اسمزی -۶ بار بود و بین آن‌ها از نظر آماری اختلاف معنی‌دار وجود داشت. همچنین در بین دو رقم گندم نیز، رقم سیروان دارای میزان فلاونوئید بیشتری (۱۲ میلی گرم بر گرم) نسبت به رقم بهاران (۱۱/۵ میلی گرم بر گرم) بود و اختلاف بین آن‌ها نیز از نظر آماری معنی‌دار بود (شکل ۵).

میزان فلاونوئید به عنوان یکی دیگر از آنتی اکسیدان‌های غیر آنزیمی تحت تأثیر پتانسیل‌های مختلف اسمزی قرار گرفت و کاهش میزان پتانسیل اسمزی با افزایش سطح تنش خشکی ناشی از پلی اتیلن گلیکول منجر به افزایش میزان فلاونوئید اندازه‌گیری شده در گیاهچه گندم بود. بر این اساس مشخص شد که کمترین و بیشترین میزان فلاونوئید اندازه‌گیری شده در گیاهچه گندم به ترتیب به مقادیر ۹/۴۳



شکل ۴. مقایسه میانگین اثر تیمارهای مختلف خشکی و رقم بر میزان فنل گیاهچه گندم. ستون‌هایی که دارای حداقل یک حرف مشابه هستند فاقد اختلاف آماری معنی‌دار بر اساس آزمون LSD می‌باشند.

Fig 4. Mean comparison for effect of different drought stress treatment and cultivar on total phenol of wheat seedling. Column with at least one same letter had no significant difference based on LSD test.



شکل ۵. مقایسه میانگین اثر تیمارهای مختلف خشکی و رقم بر میزان فلاونوئید گیاهچه گندم. ستون‌هایی که دارای حداقل یک حرف مشابه هستند فاقد اختلاف آماری معنی‌دار بر اساس آزمون LSD می‌باشند.

Fig 5. Mean comparison for effect of different drought stress treatment and cultivar on flavonoid of wheat seedling. Column with at least one same letter had no significant difference based on LSD test.

میزان فعالیت این آنزیم در این سطح از تیمار به مقدار ۲۸/۸ نانو مول بر دقیقه بر گرم ثبت گردید که به‌طور معنی‌داری بالاتر از میزان فعالیت آنزیم کاتالاز در گیاهچه رقم بهاران (۲۷ نانو مول بر دقیقه بر گرم) بود (شکل ۶).

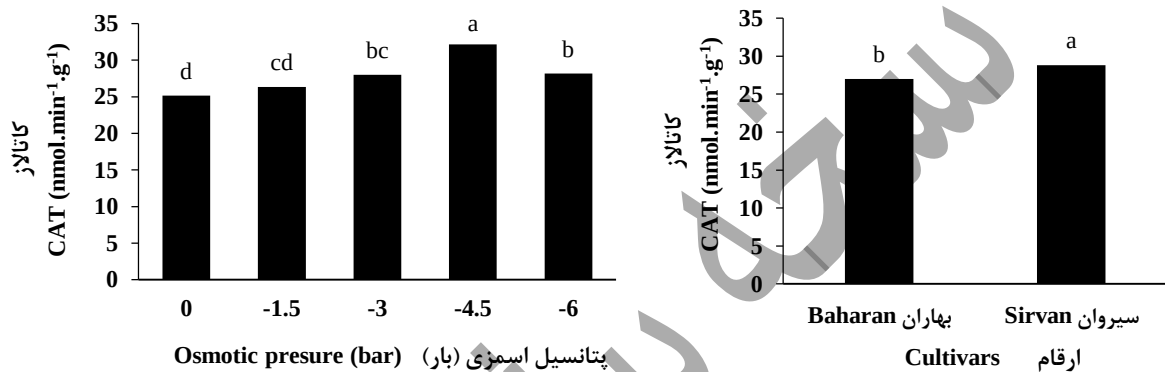
نتایج بیانگر معنی‌دار شدن اثر متقابل تنش خشکی و رقم بر میزان فعالیت آنزیم پراکسیداز بود. هرچند که در هر دو رقم بهاران و سیروان میزان فعالیت آنزیم پراکسیداز در تیمار پتانسیل اسمزی ۴/۵- بار بیشتر از سایر سطوح پتانسیل اسمزی بود، ولی نتایج نشان داد میزان فعالیت این آنزیم در این سطح از تیمار پتانسیل اسمزی در رقم سیروان بیشتر از سایر تیمارهای آزمایشی بود (۱۲/۹۶ نانو مول بر دقیقه بر گرم). در هر دو رقم با افزایش میزان پتانسیل اسمزی تا ۶- بار میزان فعالیت آنزیم پراکسیداز کاهش معنی‌دار نشان داد.

علاوه بر آنتی‌اکسیدان‌های غیرآنزیمی، میزان فعالیت آنتی‌اکسیدان‌های آنزیمی نیز تحت تأثیر تیمار پتانسیل‌های مختلف اسمزی قرار گرفت و نتایج بیانگر این مطلب بود که میزان فعالیت آنزیم کاتالاز با کاهش میزان پتانسیل اسمزی تا ۴/۵- بار افزایش یافت و بالاترین میزان فعالیت در این سطح از پتانسیل اسمزی به میزان ۳۲/۱۶ نانو مول بر دقیقه بر گرم به دست آمد و در پتانسیل اسمزی ۶- بار میزان فعالیت آنزیم کاتالاز کاهش یافت و به میزان ۲۸/۱۶ نانو مول بر دقیقه بر گرم رسید. همچنین نتایج نشان داد در بین تیمارهای مختلف پتانسیل اسمزی کمترین میزان پتانسیل اسمزی به مقدار ۲۵/۱۶ نانو مول بر دقیقه بر گرم در تیمار شاهد به دست آمد. همچنین نتایج نشان داد در بین دو رقم مورد مطالعه، رقم سیروان از نظر میزان فعالیت آنزیم کاتالاز دارای برتری بود و

ترتیب به میزان ۴/۴۷ و ۶/۵۳ نانو مول بر دقیقه بر گرم در تیمارهای شاهد و پتانسیل اسمزی ۶- بار حاصل گردید و بین آن‌ها از این نظر اختلاف آماری معنی‌دار مشاهده گردید. بین دو رقم بهاران و سیروان نیز از نظر میزان فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز اختلاف آماری معنی‌دار مشاهده شد به‌طوری‌که میزان فعالیت این آنزیم در این دو رقم به ترتیب برابر با ۵/۱۸ و ۵/۷۸ نانو مول بر دقیقه بر گرم بود (شکل ۸).

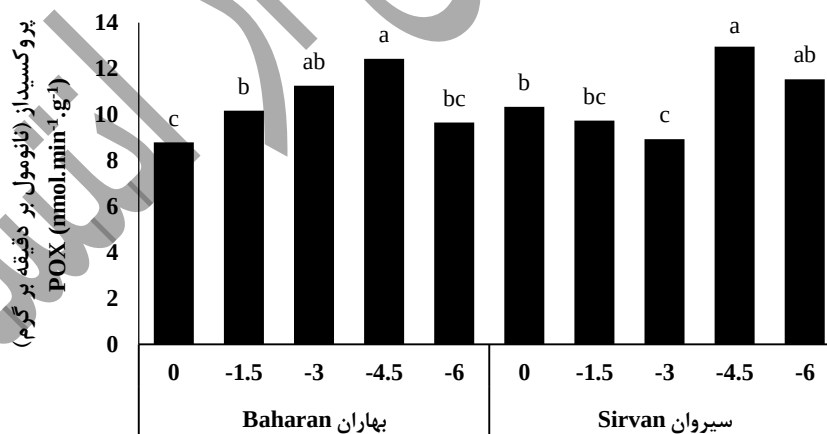
همچنین کمترین میزان فعالیت آنزیم پراکسیداز به میزان ۸/۷۸ نانو مول بر دقیقه بر گرم در تیمار شاهد متعلق به رقم بهاران به دست آمد (شکل ۷).

میزان فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز نیز تحت تأثیر تیمارهای مختلف تنش اسمزی قرار گرفت و نتایج نشان داد در شرایطی که میزان ماده پلی‌اتیلن گلیکول افزایش یابد فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز نیز افزایش پیدا می‌کند به‌طوری‌که کمترین و بیشترین میزان فعالیت این آنزیم به



شکل ۶. مقایسه میانگین اثر تیمارهای مختلف خشکی و رقم بر فعالیت آنزیم کاتالاز در گیاهچه گندم. ستون‌هایی که دارای حداقل یک حرف مشابه هستند فاقد اختلاف آماری معنی‌دار بر اساس آزمون LSD می‌باشند.

Fig 6. Mean comparison for effect of different drought stress treatment and cultivar on CAT activity of wheat seedling. Column with at least one same letter had no significant difference based on LSD test



شکل ۷. مقایسه میانگین اثر متقابل تیمارهای مختلف خشکی و رقم بر فعالیت آنزیم پراکسیداز در گیاهچه گندم. ستون‌هایی که دارای حداقل یک حرف مشابه هستند فاقد اختلاف آماری معنی‌دار بر اساس آزمون LSD می‌باشند.

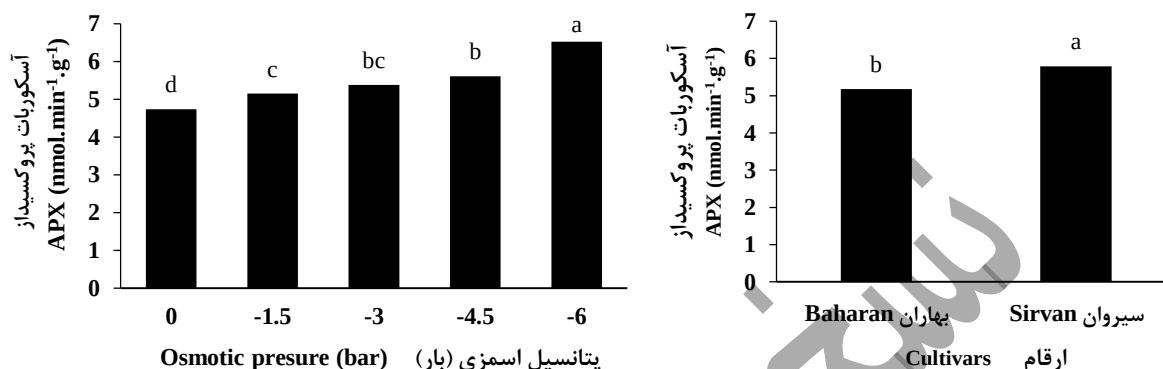
Fig 7. Mean comparison for effect of different drought stress treatment and cultivar on POX activity of wheat seedling. Column with at least one same letter had no significant difference based on LSD test

یافت و از این تیمار به بعد با افزایش میزان پتانسیل اسمزی میزان فعالیت این آنزیم کاهش یافت. نتایج نشان داد بالاترین و کمترین میزان فعالیت این آنزیم به مقادیر ۱/۵۳ و ۰/۶۶

بر اساس نتایج حاصل از این مطالعه مشخص شد که میزان فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز در تیمار تنش خشکی با کاهش میزان پتانسیل اسمزی تا ۴/۵- بار افزایش

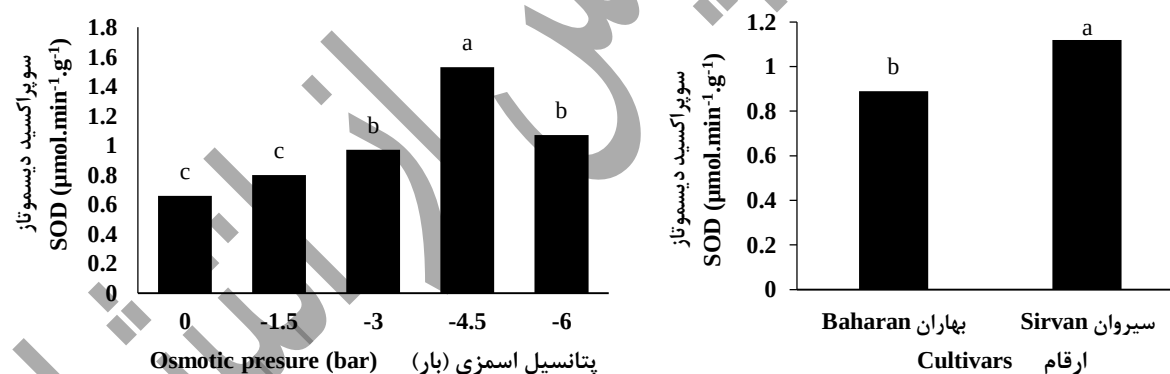
سیروان نیز نسبت به رقم بهاران دارای میزان فعالیت سوپراکسیداز بیشتری (۱/۱۲ میکرومول بر دقیقه بر گرم) بود و اختلاف بین آن‌ها نیز از نظر آماری معنی‌دار بود (شکل ۹).

میکرومول بر دقیقه بر گرم به ترتیب در تیمارهای پتانسیل اسمزی ۴/۵- بار و شاهد حاصل گردید. از تیمار شاهد تا پتانسیل اسمزی ۴/۵- بار میزان فعالیت این آنزیم افزایش یافت و از این تیمار به بعد میزان فعالیت آن کاهش یافت.



شکل ۸. مقایسه میانگین اثر تیمارهای مختلف خشکی و رقم بر فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز در گیاهچه گندم. ستون‌هایی که دارای حداقل یک حرف مشابه هستند فاقد اختلاف آماری معنی‌دار بر اساس آزمون LSD می‌باشند.

Fig 8. Mean comparison for effect of different drought stress treatment and cultivar on APX activity of wheat seedling. Column with at least one same letter had no significant difference based on LSD test.

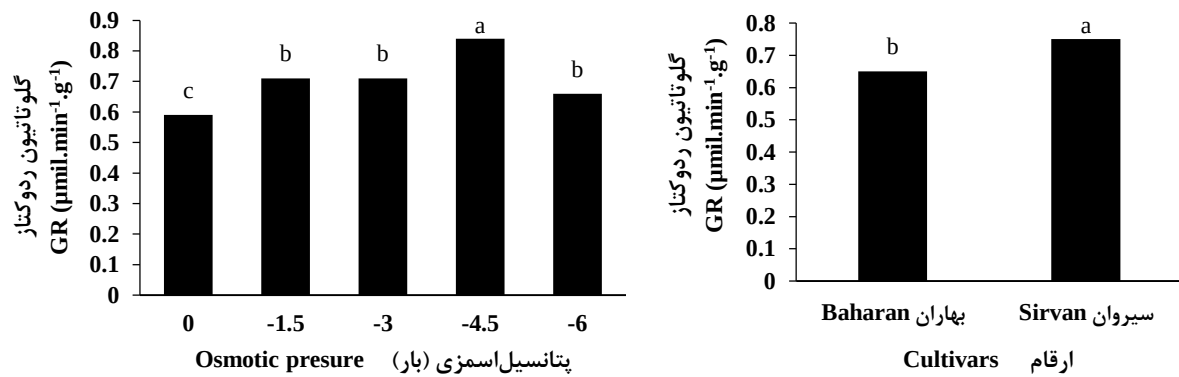


شکل ۹. مقایسه میانگین اثر تیمارهای مختلف خشکی و رقم بر فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز در گیاهچه گندم. ستون‌هایی که دارای حداقل یک حرف مشابه هستند فاقد اختلاف آماری معنی‌دار بر اساس آزمون LSD می‌باشند.

Fig. 9. Mean comparison for effect of different drought stress treatment and cultivar on SOD activity of wheat seedling. Column with at least one same letter had no significant difference based on LSD test

تنش خشکی نیز میزان فعالیت این آنزیم کاهش محسوسی نشان داد به‌طوری‌که در تیمار پتانسیل اسمزی ۶- بار به ۰/۶۶ میکرومول بر دقیقه بر گرم رسید. همچنین نتایج نشان داد میزان فعالیت این آنزیم در رقم سیروان (۰/۷۵ میکرومول بر دقیقه بر گرم) بالاتر از رقم بهاران (۰/۶۵ میکرومول بر دقیقه بر گرم) بود و بین این دو رقم از این نظر اختلاف آماری معنی‌دار مشاهده گردید (شکل ۱۰).

میزان فعالیت آنزیم گلوکاتایون رداکتاز نیز تحت تأثیر تیمارهای پتانسیل اسمزی قرار گرفت و نتایج نشان داد بالاترین میزان فعالیت این آنزیم به مقدار ۰/۸۴ میکرومول بر دقیقه بر گرم در تیمار ۴/۵- بار حاصل گردید. این در حالی بود که تیمار شاهد دارای کمترین میزان فعالیت این آنزیم به مقدار ۰/۵۹ میکرومول بر دقیقه بر گرم بود و اختلاف بین آن‌ها نیز از نظر آماری معنی‌دار بود. با افزایش میزان شدت



شکل ۱۰. مقایسه میانگین اثر تیمارهای مختلف خشکی و رقم بر فعالیت آنزیم گلوکاتایون رداکتاز در گیاهچه گندم. ستون‌هایی که دارای حداقل یک حرف مشابه هستند فاقد اختلاف آماری معنی‌دار بر اساس آزمون LSD می‌باشند.

Fig 10. Mean comparison for effect of different drought stress treatment and cultivar on GR activity of wheat seedling. Column with at least one same letter had no significant difference based on LSD test.

داشت. بر این اساس مشخص شد که با افزایش میزان آنتی‌اکسیدان‌های آنزیمی و افزایش فعالیت آنتی‌اکسیدان‌های غیرآنزیمی مقدار کلروفیل کل افزایش یافته است (جدول ۲).

بر اساس نتایج حاصل از آنالیز همبستگی بین صفات مشخص شد که بین همه آنتی‌اکسیدان‌های آنزیمی و غیر آنزیمی باهم از یک طرف و با سایر صفات بیوشیمیایی و همچنین مقدار کلروفیل همبستگی مثبت و معنی‌دار وجود

جدول ۲. همبستگی ساده بین صفات اندازه‌گیری شده

Table 2. Simple correlation between traits

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
1 فنل Phenol	1									
2 فلاونوئید Flavonoid	0.95**	1								
3 گلوکاتایون رداکتاز GR	0.71**	0.69**	1							
4 آسکوربات پراکسیداز APX	0.74**	0.74**	0.68**	1						
5 پراکسیداز POX	0.65**	0.69**	0.52**	0.6**	1					
6 کاتالاز CAT	0.85**	0.86**	0.73**	0.79**	0.63**	1				
7 اسید آسکوربیک Ascorbic acid	0.82**	0.87**	0.6**	0.74**	0.59**	0.75**	1			
8 کلروفیل کل Chl-ab	0.83**	0.79**	0.8**	0.78**	0.48**	0.87**	0.76**	1		
9 پرولین Proline	0.82**	0.82**	0.7**	0.73**	0.73**	0.74**	0.75**	0.73**	1	
10 سوپراکسید دیسموتاز SOD	0.89**	0.87**	0.75**	0.78**	0.6**	0.85**	0.73**	0.81**	0.77**	1

و* به ترتیب بیانگر معنی‌داری در سطح پنج و یک درصد است

(GR=گلوکاتایون رداکتاز، APX=آسکوربات پراکسیداز، POX=پروکسیداز، CAT=کاتالاز، Chl-ab=کلروفیل آ و ب، SOD=سوپراکسید دیسموتاز)

*and** are significant in 5 and 1% respectively

بحث

تنش خشکی یکی از عوامل اصلی کاهش عملکرد در گیاهان زراعی در مناطق مختلف جهان است به همین دلیل توسعه مناطق خشک و نیمه خشک در جهان و همچنین محدودیت منابع آبی جهان در برخورد با تنش خشکی و متضرر شدن از نتایج آن اجتناب ناپذیر است. از این رو آزمایش‌های مختلف در جهت کاهش اثرات منفی ناشی از تنش خشکی و انتخاب ارقام مقاوم بایستی از اولویت‌های پژوهشی باشد. در مطالعه حاضر تنش خشکی ناشی از پلی اتیلن گلیکول ۶۰۰۰ سبب تغییراتی در محتوای کلروفیلی و سیستم دفاع آنتی اکسیدانی دو رقم سیروان و بهاران گندم شد. در گیاهچه گندم دو رقم سیروان و بهاران تنش خشکی ایجاد شده با پلی اتیلن گلیکول دارای اثر منفی بر محتوای کلروفیلی برگ گیاهچه گندم بوده است. کاهش محتوای کلروفیلی برگ می تواند دلایل مختلفی داشته باشد که یکی از دلایل این کاهش می تواند به دلیل اثر منفی تنش خشکی بر آنزیم‌های پایدارکننده کلروفیل و یا افزایش تجزیه کلروفیل از طریق افزایش فعالیت آنزیم کلروفیلاز باشد. تنش خشکی باعث تولید گونه‌های فعال اکسیژن و در نتیجه تخریب شدن رنگ‌دانه‌های فتوسنتزی شده که در نتیجه آن کاهش محتوای کلروفیلی برگ را به همراه دارد (Laxa et al., 2019). کاهش میزان رنگیزه‌های فتوسنتزی ناشی از تنش خشکی در ارقام سیروان و بهاران می تواند ناشی از پراکسیداسیون لیپیدی باشد که با افزایش میزان مالون دی‌آلدئید سلول‌ها باعث افزایش میزان مالون دی‌آلدئید اکسیداسیون ترکیبات غشای سلولی شده و در نهایت به افزایش تجزیه رنگیزه‌های فتوسنتزی و کاهش میزان کلروفیل منجر می شود (Nasr Esfahani, 2013). کاهش محتوای کلروفیلی در رقم بهاران به میزان بیشتری مشاهده گردید و مشخص شد که محتوای کلروفیلی برگ گیاهچه گندم رقم سیروان نسبت به رقم بهاران حدود ۱۹ درصد بیشتر و از این نظر دارای برتری بوده و از این رو می توان عنوان نمود که محتوای رنگیزه‌ای برگ رقم سیروان نسبت به بهاران در شرایط تنش خشکی ناشی از پلی اتیلن گلیکول دارای پایداری بیشتری بوده و این رقم را به عنوان رقمی مقاوم در شرایط خشکی نسبت به رقم بهاران پیشنهاد کرد.

میزان آنتی اکسیدان‌های غیر آنزیمی از قبیل پرولین، اسید آسکوربیک و فلاونوئیدها با افزایش تنش خشکی تا ۶- بار در هر دو رقم سیروان و بهاران افزایش یافت در حالی که میزان فنل در هر دو رقم تا پتانسیل اسمزی ۳- بار افزایش

یافت و از این پتانسیل تا پتانسیل اسمزی ۶- بار میزان آن کاهشی بود. گیاهان توسط سنتز آنتی اکسیدان‌های غیر آنزیمی مانند پرولین، اسید آسکوربیک، فنل‌ها، کاروتنوئیدها، آسکوربات، آلفا توکوفرول، گلوکاتیون و فلاونوئیدها از صدمات ناشی از تولید بیش از حد گونه‌های فعال اکسیژن در امان می ماند (Laxa et al., 2019). تنش خشکی ناشی از پلی اتیلن گلیکول با کاهش پتانسیل اسمزی میزان آنتی اکسیدان‌های غیر آنزیمی از قبیل پرولین افزایش یافته است (Salehi Eskandari et al., 2023) که نتایج این آزمایش با یافته‌های حاصل از سایر پژوهش‌ها مطابقت داشت. در مطالعه حاضر نیز افزایش میزان آنتی اکسیدان‌های غیر آنزیمی از قبیل پرولین، اسید آسکوربیک، فنل و فلاونوئید با کاهش پتانسیل اسمزی ناشی از پلی اتیلن گلیکول افزایش یافته است. یکی از واکنش‌هایی که گیاهان به پتانسیل‌های آبی پایین نشان می دهند ساخت و تجمع اسیدهای آمینه پرولین است که توسط آن می توانند از محیط آب جذب نمایند (Moreno-Galván et al., 2020). تجمع پرولین در گیاهان رابطه مستقیم با افزایش مقاومت به اغلب تنش‌ها دارد. گزارش‌های مشابهی در مورد تنش کم آبی و تجمع پرولین در گیاه نیشکر، برنج و ریحان وجود دارد که تجمع پرولین در سیتوپلاسم را به عنوان اسموتیکم و عامل حفاظت ساختار ماکرومولکول‌ها در محیط‌هایی که تعادل یونی به هم خورده معرفی می کنند (Dien et al., 2019; Taha et al., 2020). به هر حال گیاهان تحت تنش با افزایش پرولین، عملکرد سازشی خود را از طریق حفظ فشار تورگر، حمایت از ماکرومولکول‌ها و غشاهای سلولی اعمال می کنند که در رقم متحمل این سازگاری بارزتر است و در این مطالعه سازگاری در رقم سیروان به خوبی مشهود بود. اعمال تنش خشکی با استفاده از پلی اتیلن گلیکول منجر به افزایش میزان برخی از آنتی اکسیدان‌های غیر آنزیمی از قبیل پرولین گردید (Nasr Esfahani, 2013) که با یافته‌های حاصل از این مطالعه مطابقت داشت. پرولین از طریق مکانیسم‌هایی شامل تنظیم وضعیت اسمزی، سم زدایی گونه‌های فعال اکسیژن و ثبات در فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدان یا پروتئین‌ها گیاهان را در مقابل تنش خشکی محافظت می نماید (Niknam et al., 2016). همچنین افزایش در میزان پرولین با افزایش در میزان اسید آسکوربیک، فنل و فلاونوئید بوده که همگی از آنتی اکسیدان‌های غیر آنزیمی بوده که با توجه به وظایف هر کدام از این مواد، گیاهچه گندم را در مقابل صدمات ناشی

از تنش خشکی حفظ می‌نمایند (جدول ۲). علاوه بر اینکه این آنتی‌اکسیدان‌ها می‌توانند در کاهش اثرات منفی ناشی از تنش خشکی مؤثر باشند، افزایش تولید آن‌ها می‌تواند نشانه‌ای برای افزایش شدت تنش خشکی باشد که افزایش میزان پرولین به‌عنوان یک اسمولیت می‌تواند بیانگر بهتری بر وضعیت اسمزی خاک بر گیاه باشد. شرایط تنش اکسیداتیو حاکم بر گیاه باعث افزایش تولید گونه‌های فعال اکسیژن شده که با افزایش میزان آنتی‌اکسیدان‌های غیر آنزیمی به‌عنوان راهکاری برای مقابله با این گونه‌های فعال اکسیژن همراه است (Foyer and Noctor, 2003). همچنین این محققین بیان داشتند که توانایی به‌دام انداختن گونه‌های فعال اکسیژن یک راهکار سازشی در گیاهان است که می‌توان از این گونه‌های گیاهی برای مقابله با تنش اکسیداتیو استفاده کرد.

در شرایطی که تنش خشکی باعث کاهش محتوای کلروفیلی برگ در گیاهچه گندم می‌شود، نتایج نشان داد فعالیت آنتی‌اکسیدان‌های آنزیمی نیز تحت تأثیر تیمارهای مختلف پتانسیل اسمزی قرار گرفته و تنش خشکی سبب تغییر در میزان فعالیت این آنزیم‌ها شده است به‌طوری‌که افزایش فعالیت این آنزیم‌ها تا سطح پتانسیل اسمزی $-4/5$ بار به وقوع پیوست و به‌جز آنزیم آسکوربات پراکسیداز که میزان فعالیت آن تا سطح پتانسیل اسمزی -6 بار افزایشی بود، میزان فعالیت آنزیم‌های کاتالاز، پراکسیداز، سوپراکسید دیسموتاز و گلوکاتایون رداکتاز تا پتانسیل اسمزی $-4/5$ بار افزایشی بود و در تیمار پتانسیل اسمزی -6 بار این فعالیت حالت کاهشی داشت. در شرایط وقوع تنش خشکی میزان برخی از گونه‌های فعال اکسیژن که در پراکسیداسیون لیپیدی غشاهای سلولی دخیل هستند افزایش یافته که به دنبال آن گونه‌های فعال پالایش می‌گردند و میزان فعالیت برخی از آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان از قبیل کاتالاز، پراکسیداز، آسکوربات پراکسیداز، سوپراکسید دیسموتاز و گلوکاتایون رداکتاز افزایش می‌یابد (Bande haq et al., 2018). در مطالعه حاضر نیز وضعیت مشابهی به وجود آمده و در شرایط وقوع تنش خشکی میزان فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان افزایش یافته است. به نظر می‌رسد که در شرایط تنش خشکی افزایش غلظت پراکسید هیدروژن توسط تنش خشکی فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز را افزایش داده که سبب افزایش فعالیت آنزیم کاتالاز برای تجزیه پراکسید هیدروژن شده اما در شرایط بدون تنش به دلیل عدم تولید گونه‌های فعال اکسیژن میزان فعالیت این آنزیم‌ها پایین است. رقم سیروان

نیز نسبت به رقم بهاران دارای میزان فعالیت آنزیمی بالاتری بوده و این بیانگر این مطلب است که رقم سیروان نسبت به رقم بهاران در شرایط خشکی متحمل‌تر بوده و توانایی مقابله با تنش خشکی را به میزان بیشتری نسبت به رقم بهاران دارا است. در عمل نیز مشاهده شده است که رقم سیروان هرچند ممکن است پتانسیل عملکرد کمتری نسبت به رقم بهاران داشته باشد ولی قابلیت توانایی تحمل به خشکی در این رقم بیشتر بوده و در شرایط خشکی آخر فصل نسبت به رقم بهاران دارای عملکرد قابل قبول‌تری است. هرچند محتوای کلروفیلی در برگ رقم سیروان در شرایط مختلف خشکی نسبت به رقم بهاران بالاتر بود، اما کاهش میزان کلروفیل کل در هر دو رقم سیروان و بهاران در شرایط وقوع تنش خشکی ناشی از پلی‌اتیلن گلیکول رخ داد می‌تواند ناشی از اثر منفی تنش خشکی بر میزان آنتی‌اکسیدان‌های غیر آنزیمی و فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان باشد که در نهایت به خسارت گونه‌های فعال اکسیژن به کلروفیل منجر شده است.

به‌جز آنزیم آسکوربات پراکسیداز که تا پتانسیل اسمزی -6 بار میزان فعالیت آن افزایش یافته است، فعالیت سایر آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان با کاهش پتانسیل اسمزی تا $-4/5$ بار افزایش یافته و پس‌ازاین با کاهش بیشتر پتانسیل اسمزی میزان فعالیت آن‌ها کاهش یافته است. به‌احتمال زیاد کاهش میزان فعالیت این آنزیم‌ها تحت شرایط خشکی -6 بار به دلیل افزایش بیش‌ازحد گونه‌های فعال اکسیژن بوده که سیستم دفاع آنتی‌اکسیدانی آنزیمی را با شکست مواجه نموده و در نهایت با کاهش بیشتر پتانسیل اسمزی، آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان تا حدودی کارایی خود را از دست داده و منجر به کاهش میزان فعالیت آنزیمی شده است. بدیهی است که اگر میزان پتانسیل اسمزی به میزانی کمتر از -6 بار برسد فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان مختل شده و ممکن است به میزان کمتر از تیمار شاهد نیز برسد که در این مطالعه به این شرایط پرداخته نشده است. با افزایش شدت و مدت تنش خشکی میزان فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان به میزان بیشتری کاهش می‌یابد (Bande haq et al., 2018) که با یافته‌های حاصل از این مطالعه مطابقت دارد. برخی دیگر از مطالعات روی گیاه ذرت و گندم مشخص نمود که تنش خشکی منجر به تغییراتی در میزان فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان از قبیل کاتالاز و پراکسیداز نموده که با یافته‌های حاصل از این مطالعه همخوانی دارد (Bai and Sui, 2016). تنش خشکی ناشی از پلی‌اتیلن گلیکول سبب

شد که فعالیت برخی از آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان از قبیل کاتالاز، پراکسیداز، آسکوربات پراکسیداز و گلوکاتایون رداکتاز نسبت به تیمار شاهد در ارقام مختلف نخود افزایش درخور توجهی داشته باشد (Nasr Esfahani, 2013) که نتایج این محقق تأییدکننده نتایج حاصل از این مطالعه بود.

مقاومت گیاه به تنش‌های مختلف محیطی ممکن است با سطح فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان برای به دام انداختن گونه‌های فعال اکسیژن مرتبط باشد (Mckersie, 2023). هرچند که این پاسخ ممکن است به شرایط وقوع تنش، شدت آن و نوع گونه گیاهی و همچنین رقم متفاوت باشد. رقم سیروان دارای فعالیت آنتی‌اکسیدانی بالاتری نسبت به رقم بهاران بوده و می‌توان بیان کرد که رقم سیروان با توجه به مقاومت بالای آن در برابر تنش خشکی در مقایسه با رقم بهاران ظرفیت حفاظتی کارآمدتری در مقابل تنش اکسیداتیو ناشی از خشکی داشته که می‌تواند از طریق بالا بردن میزان فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان افزایش پیدا کند (Hossein Boldaji et al., 2012). به‌عنوان نمونه پراکسید هیدروژن یکی از ترکیبات آسیب‌رسان به بافت‌ها و غشای سلولی بوده که در شرایط تنش اکسیداتیو میزان آن افزایش یافته و در صورت عدم تجزیه آن خسارت بیشتری به غشاهای سلولی می‌زند و در صورت افزایش میزان خسارت فرآیند فتوسنتز و سایر آنزیم‌ها نیز مختل می‌گردد (Gupta and Gupta, 2005). این در حالی است که افزایش میزان فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان از قبیل کاتالاز، پراکسیداز، آسکوربات پراکسیداز، سوپراکسید دیسموتاز و گلوکاتایون رداکتاز باهم منجر به کاهش میزان پراکسید هیدروژن شده که با کاهش پراکسیداسیون لیپید در غشای سلولی میزان خسارت واردشده نیز کاهش می‌یابد. این وضعیت در مطالعه دیگر محققین نیز مشاهده گردید (Nasr Esfahani, 2013). آنزیم پراکسیداز دارای نقش کلیدی در پالایش و حذف پراکسید هیدروژن بوده (Hojati et al., 2011) که در این مطالعه افزایش میزان تنش خشکی تا ۴/۵- بار منجر به کاهش میزان فعالیت این آنزیم شده و درنهایت با افزایش بیشتر تنش خشکی تا ۶- بار از میزان فعالیت این آنزیم کاسته شد. با توجه به اینکه فعالیت این آنزیم در رقم سیروان بالاتر از رقم بهاران بود پس رقم سیروان دارای ظرفیت بالاتری برای به دام انداختن گونه‌های فعال اکسیژن بوده و خسارات کمتری در شرایط تنش خشکی به این رقم وارد می‌گردد. برخی دیگر از مطالعات عنوان داشتند که ارقام مقاوم نسبت

به ارقام حساس دارای ظرفیت بالاتری برای به دام انداختن گونه‌های فعال اکسیژن هستند که تأییدکننده نتایج حاصل از این مطالعه است (Khan and Panda, 2018). کاتالاز نیز در پالایش پراکسید هیدروژن دارای نقش مهمی بوده و فعالیت آنزیم کاتالاز نیز در هر دو رقم سیروان و بهاران تا پتانسیل اسمزی ۴/۵- بار افزایش یافته و با افزایش شدت تنش خشکی تا ۶- بار از میزان فعالیت این آنزیم کاسته شده است. کاهش میزان فعالیت این آنزیم تحت این شرایط ممکن است به‌واسطه بازداشته شدن سنتز آنزیم یا غیرفعال شدن آنزیم توسط اکسیژن منفرد، پراکسید و هیدروکسیل باشد (Hosseini Boldaji et al., 2012). گلوکاتایون رداکتاز نیز که نقش تبدیل گلوکاتایون اکسیدشده به گلوکاتایون احیاشده را بر عهده دارد، در تنش اکسیداتیو دارای نقش کلیدی بوده و گزارش شده است که افزایش سطح فعالیت آن در برگ‌های چغندر منجر به افزایش مقاومت گیاه در برابر تنش اکسیداتیو شده است. در مطالعه حاضر نیز در هر دو رقم سیروان و بهاران افزایش تنش خشکی تا ۴/۵- بار منجر به افزایش فعالیت این آنزیم شده و درنهایت افزایش تنش خشکی تا ۶- بار از میزان فعالیت این آنزیم کاسته است. در ارقام حساس نیز کاهش میزان فعالیت آنزیم گلوکاتایون رداکتاز نسبت به ارقام مقاوم مشاهده شده است (Khan and Panda, 2018). آنزیم سوپراکسید دیسموتاز نیز شرایطی مشابه با آنزیم گلوکاتایون رداکتاز داشت درحالی‌که فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز با افزایش شدت تنش خشکی افزایش یافته است. در این مطالعه رقم سیروان دارای فعالیت آسکوربات پراکسیدازی بالاتری نسبت به رقم بهاران بود و در برخی دیگر از مطالعات عنوان شده که ارقام حساس گندم دارای فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز کمتری نسبت به ارقام مقاوم بودند که نتایج آن‌ها تأییدکننده نتایج حاصل از این مطالعه بود (Khanna Chopra and Selote, 2017).

نتیجه‌گیری نهایی

وقوع تنش خشکی با اثر بر خصوصیات فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی گیاه منجر به تغییراتی در سیستم دفاع آنتی‌اکسیدانی گیاه شده و از این طریق بر عملکرد نهایی گیاه اثر می‌گذارد. در این مطالعه مشخص شد که تنش خشکی ناشی از پلی‌اتیلن گلاپکول منجر به کاهش محتوای کلروفیلی برگ ارقام گندم شده است. صرف‌نظر از بیان دلایل این کاهش باید عنوان کرد که تنش خشکی بر سیستم دفاع

سیروان نسبت به رقم بهاران می‌توان بیان نمود که این رقم از پتانسیل بالاتری برای کاشت در شرایط خشکی برخوردار بوده و می‌توان آن را برای شرایط دارای آب‌وهوای خشک پیشنهاد نمود، هرچند که در حد توان بایستی با فراهم نمودن آب برای هر دو رقم تا حد امکان از وقوع تنش خشکی اجتناب نمود تا عملکرد بالاتری حاصل گردد.

آنتی‌اکسیدانی گیاهچه ارقام گندم اثر داشته به‌طوری‌که افزایش شدت تنش خشکی میزان آنتی‌اکسیدان‌های غیر آنزیمی از قبیل پرولین، آسکوربیک اسید، فنل و فلاونوئید را افزایش داده است. همچنین افزایش شدت تنش خشکی میزان فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان از قبیل کاتالاز، پراکسیداز، آسکوربات پراکسیداز، سوپراکسید دیسموتاز و گلوکاتایون رداکتاز را افزایش داده است. با توجه به برتری رقم

منابع

- Abogadallah, M.J., 2010. Antioxidative defense under salt stress. *Plant Signal Behav.* 5, 4. 369-374. <https://doi.org/10.4161/psb.5.4.10873>
- Anjum, S.A., Ashraf, U., Tanveer, M., Khan, I., Hussain, S., Shahzad, B., Wang, L.C., 2017. Drought induced changes in growth, osmolyte accumulation and antioxidant metabolism of three maize hybrids. *Frontiers in Plant Science.* 8. <https://doi.org/10.3389/fpls.2017.00069>
- Arnon, D.I., 1949. Photosynthesis by isolated chloroplast. IV. Central concept and comparison of three photochemical reactions. *Biochemica et Biophysica Acta.* 20, 40-446.
- Bai, L.P., Sui, F.G., 2006. Effect of soil drought stress on leaf water status, membrane permeability and enzymatic antioxidant system of maize. *Pedosphere.* 16, 3. 326-332.
- Bandehaq, A., Valizadeh, M., Ghaffari, M., Jahangir, F., Dehghanian, Z., 2018. Band pattern of some antioxidant enzymes under water stress and proline in sunflower plant. *Crop Production Journal.* 12, 21-34. [In Persian with English summary] <https://doi.org/10.22069/ejcp.2020.17020.2267>
- Basu, S., Ramegowda, V., Kumar, A., Pereira, A., 2016. Plant adaptation to drought stress [version 1; peer review: 3 approved]. *F1000Research* 2016, 5(F1000 Faculty Rev), 155 <https://doi.org/10.12688/f1000research.7678.1>
- Bate, L.S., 1973. Rapid determination of free proline for water-stress studies. *Plant and Soil.* 39, 205-207.
- Chance, B., Maehly, A.C., 1955. Assay of catalase and peroxidases. *Methods Enzymology.* 2, 764-775.
- Dien, D.C., Thu, T.T.P., Moe, K., Yamakawa, T., 2019. Proline and carbohydrate metabolism in rice varieties (*Oryza sativa* L.) under various drought and recovery conditions. *Plant Physiology Reports.* 24, 376-387. <https://doi.org/10.1007/s40502-019-00462>
- Ebrahimzadeh, M.A., Navai, S.F., Dehpour, A.A., 2011. Antioxidant activity of hydroalcoholic extract of *Ferula gummosa* Boiss roots, US National Library of Medicinal National Institutes of Health. 15, 658-664
- Emmerich, W.E., Hardgree, S.P., 1990. Poly ethylene glycol solution contact affection seed germination. *Agronomy Journal.* 82, 1103-1107.
- Fakheri, B., Mousavinik, S.M., Mohammadpour Vashwai, R., 2017. Effect of drought stress caused by polyethylene glycol on germination and morphological characteristics of fennel and fennel. *Agricultural Science Research Journal in Dry Areas.* 1, 35-50. [In Persian with English summary]. <https://doi.org/10.22034/csrar.01.01.04>
- Foyer, C., Noctor, G., 2003. Redox sensing and signaling associated with reactive oxygen in chloroplasts, peroxisomes and mitochondria. *Physiologia Plantarum.* 119, 355-364. <https://doi.org/10.1034/j.1399-3054.2003.00223>
- Gupta, S., Gupta, N. K., 2005. High temperature induced antioxidative defense mechanism in contrasting wheat seedlings. *Indian Journal of Plant Physiology.* 10, 7375
- Hadian, F., Jafari, R., Bashari, H., Tarkesh, M., Clarke, K.D., 2019. Effects of drought on plant parameters of different rangeland types in Khansar region, Iran. *Arabian Journal of Geosciences.* 12, 93. <https://doi.org/10.1007/s12517-019-4275-6>
- Hojati, M., Modarres-Sanavy, A. M. M., Karimi, M., Ghanati, F., 2011. Responses of growth and

- antioxidant systems in *Carthamus tinctorius* L. under water deficit stress. *Acta Physiologia Plantarum*. 33, 105-112. <https://doi.org/10.1093/jxb/50.332.375>
- Hosseini Boldaji, S. A., Khavari-Nejad, R. A., Hassan Sajedi, R., Fahimi, H., Saadatmand, S., 2012. Water availability effects on antioxidant enzyme activities lipid peroxidation, and reducing sugar contents of alfalfa (*Medicago sativa* L.). *Acta Physiologia Plantarum*. 34, 1177-1186.
- Khan M. H., Panda S. K., 2018. Alternations in root lipid peroxidation and antioxidative responses in two rice cultivars under NaCl-salinity stress. *Acta Physiologia Plantarum*. 30, 81-89. [https://doi.org/10.1016/s0168-9452\(02\)00338-2](https://doi.org/10.1016/s0168-9452(02)00338-2)
- Khanna-Chopra, R., Selote D. S., 2017. Acclimation to drought stress generates oxidative stress tolerance in droughtresistant than -susceptible wheat cultivar under field conditions. *Environmental and Experimental Botany*. 60, 276-283. <https://doi.org/10.18185/erzifbed.1293492>
- Laxa, M., Liebthal, M., Telman, W., Chibani, K., Dietz, K. J., 2019. The role of the plant antioxidant system in drought tolerance. *Antioxidants*. 8, 94. <https://doi.org/10.3390/antiox8040094>
- Masoumi, H., Masoumi, M., Darvish, F., Daneshian, J., Nourmohammadi, G.H., Habibi, D., 2020. Change in several antioxidant anzymes activity and seed yield by water deficit stress in soybean (*Glycine max* L.) cultivars, *Notulae Botanicae Horti Agrobotanici ClujNapoca*. 38, 50-59. <https://doi.org/10.15835/nbha3834936>
- Mckersie, B. D., Bowley, S. R., Harjanto, E., Leprince, O., 2023. Water-deficit tolerance and field performance of transgenic alfalfa overexpressing superoxide dismutase. *Plant Physiology*. 111, 1177-1181. <https://doi.org/10.1104/pp.111.4.1177>
- Michel Burlyn, E., Kaufmann, M.R., 1973. The osmotic potential of polyethylene glycol 6000. *Plant Physiology*. 51, 914-916.
- Minami, M., Yoshikawa, H., 1979. A simplified assay method of superoxide dismutase activity for clinical use. *Clinical Chimistry Acta*. 92, 337-342. <https://doi.org/10.1104/pp.51.5.914>
- Moreno-Galván, A.E., Cortés-Patiño, S., Romero-Perdomo, F., Uribe-Vélez, D., Bashan, Y., Bonilla, R.R., 2020. Proline accumulation and glutathione reductase activity induced by drought-tolerant rhizobacteria as potential mechanisms to alleviate drought stress in Guinea grass. *Applied Soil Ecology*. 147, 103367 <https://doi.org/10.1016/j.apsoil.2019.103367>
- Nasr Esfahani, M., 2013. Effect of drought stress on growth and antioxidant system in three chickpea cultivars. *Plant biology*. 5, 124-115. [In Persian with English summary] <https://doi.org/10.29252/jcb.11.30.11>
- Niknam, V., Razavi, N., Ebrahimzadeh, H., Sharifzadeh, B., 2016. Effect of NaCl on biomass, protein and proline contents and antioxidant enzymes in seedlings and calii of two *Trigonella* Species. *Biologia Plantarum*. 50, 591-596. <https://doi.org/10.1007/s10535-006-0093-2>
- Pan, Y., Jun Wu, L., Liang Yu Z., 2019. Effect of salt and drought stress on antioxidant enzymes activities and SOD isoenzymes of liquorice (*Glycyrrhiza uralensis* Fisch). *Journal of Plant Growth Regulation*. 49, 157-165. <https://doi.org/10.1007/s10725-006-9101-y>
- Rade, D., Kar, R.K., 1995. Seed germination and seedling growth of mange bean (*vigna vadiata*) under water stress induced by PEG 6000. *Seed Science and Technology*. 23, 301-308.
- Resenda, M.L.V., Nojosa, G.B.A., Cavalcanti, L.S., Aguilar, M.A.G., Silva, L.H.C.P., Perez, J.O., Andrade, G.C.G., Carvalho, G.A., Castro, R.M., 2002. Induction of resistance in coca against *Crinipellis pernicioso* and *Verticillium dahlia* by acibenzolar-s-methyl (ASM). *Plant Pathology*. 51, 624-628. <https://doi.org/10.1046/j.1365-3059.2002.00754.x>
- Sadeghi, Z., Valizadeh, J., Azizian-Sharmeh, M., 2016. Investigating the amount of phenol, total flavonoid and antioxidant activity of *Pistacia atlantica* gum from Saravan region. *Journal of Ecophytochemistry of Medicinal Plants*. 3, 18-27. [In Persian with English summary] [https://doi.org/10.1016/s0254-6272\(15\)30067-4](https://doi.org/10.1016/s0254-6272(15)30067-4)
- Salehi Eskandari, B., Abbaspour, J., Farqani, A.H., 2023. The effect of drought stress on seed germination, chlorophyll, proline and the activity of tolerant and sensitive two-digit antioxidant enzyme of rapeseed. *Journal of Environmental Stresses in Agricultural Sciences*. 15, 104-93. [In Persian with English

summary]

<https://doi.org/10.22077/escs.2020.3712.1895>

Sayfzadeh, S., Habibi, D., Fathollah, D.F., 2010. Response of antioxidant enzyme activities and root yield in sugar beet to drought stress. *International Journal of Agriculture and Biology*. 13, 358-362.

Sgherri, C.L.M., Liggini, S. Puliga, F., Navari-Izzo, F., 1994. Antioxidant system in *Sporobolus stapfianus*. Changes in response to desiccation and rehydration, *Phytochemistry*. 35, 561-565. [https://doi.org/10.1016/S0031-9422\(00\)90561-2](https://doi.org/10.1016/S0031-9422(00)90561-2)

Singh, A.M.L., Saini, R.K., 2014. Seed germination and seedling growth of citrus (*Cytrus species*) root stocks under different salinity regimes. *Journal of Agricultural Science*. 74, 5. 246-248. 22. <https://doi.org/10.13140/RG.2.2.31314.32964>

Soshinkova, T.N., Radyukina, N.L., Korolkova, D.V., Nosov, A.V., 2013. Proline and functioning of the antioxidant system in (*Thellungiella salsuginea*) plants and cultured cells subjected to oxidative stress. *Russian Journal of Plant Physiology*. 60, 1. 41-

54. <https://doi.org/10.1134/S1021443713010093>

Taha, R.S., Alharby, H.F., Bamagoos, A.A., Medani, R.A., Rady, M.M., 2020. Elevating tolerance of drought stress in *Ocimum basilicum* using pollen grains extract; a natural biostimulant by regulation of plant performance and antioxidant defense system. *South African Journal of Botany*. 128, 42-53. <https://doi.org/10.1016/j.sajb.2019.09.014>

Valizadeh, M., Mohayjeji, M., Yasinzadeh, N., Nasrullazade, S., Moghaddam, M., 2021. Genetic diversity of synthetic alfalfa generations and cultivars using tetrasomic inherited allozyme markers. *Journal of Agricultural Science*. 13, 425430. <https://dor.isc.ac/dor/20.1001.1.16807073.2011.13.3.14.1>

Zhang, M., Zhuo, J. J., Wang, X., Wu, S., Wang, X. F., 2010. Optimizing seed water content: relevance to storage stability and molecular mobility. *Journal of Integrated Plant Biology*. 52, 324-33. <https://doi.org/10.1111/j.1744-7909.2010.00916.x>