

## ارزیابی تغییرات صفات فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی در گونه‌های اجدادی و تکاملی گندم تحت تنش کم آبی

صدیقه فابریکی اورنگ<sup>۱\*</sup>، ثریا مهرآباد پوربناب<sup>۲</sup>

۱. استادیار، هیئت علمی گروه ژنتیک و به‌نژادی گیاهی، دانشگاه بین‌المللی امام خمینی (ره)، قزوین، ایران

۲. دانشجوی کارشناسی ارشد ژنتیک و به‌نژادی گیاهی، دانشگاه بین‌المللی امام خمینی (ره)، قزوین، ایران

تاریخ دریافت: ۹۶/۰۷/۱۱؛ تاریخ پذیرش: ۹۶/۰۸/۱۷

### چکیده

آگاهی از تنوع ژنتیکی موجود در ارقام اهلی و خوبشاوندان وحشی یک گونه گیاهی، در به‌کارگیری آن‌ها در برنامه‌های اصلاحی از اهمیت زیادی برخوردار است. با توجه به اینکه بخش قابل توجهی از اراضی زیر کشت گندم در ایران در مناطق خشک قرار گرفته و اینکه گونه‌های گیاهی با راهبردهای مختلفی از جمله تغییر در آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی، خود را با تنش‌های محیطی وفق می‌دهند، لذا مطالعه هرچه بیشتر در رابطه با شناسایی گونه‌های مقاوم و نیز شناخت نوع سازوکار تحملی آن‌ها امری ضروری است. از این رو و به‌منظور بررسی اثر تنش خشکی بر محتوای رنگیزه‌های فتوسنتزی، وزن تر و خشک ریشه و اندام هوایی و فعالیت آنزیم‌های آنتی-اکسیدان در پنج گونه اجدادی و تکامل یافته گندم از جنس *Aegilops* و *Triticum*، آزمایشی به‌صورت فاکتوریل در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی با سه تکرار در سه سطح آبیاری نرمال (۱۰۰ درصد ظرفیت زراعی)، تنش متوسط (۵۰ درصد ظرفیت زراعی) و تنش شدید (۲۵ درصد ظرفیت زراعی) اجرا گردید. با مقایسه میانگین داده‌ها بیشترین میزان فعالیت آنزیم‌های کاتالاز، سوپراکسید دیسموتاز، آسکوربات پراکسیداز و گاباکول پراکسیداز طی تنش شدید به ترتیب با میزان افزایش ۸۰، ۴۴، ۴۴ و ۲۹ درصدی نسبت به عدم تنش مشاهده شد. نتایج این تحقیق نشان داد که گونه‌های *T. urartu* و *T. aestivum* از نظر فعالیت SOD، گونه *Aegilops tauschii* از نظر CAT، *T. durum* از نظر APX و *Ae. speltoides* از نظر GPX به دلیل بیشترین افزایش فعالیت آنزیم‌های ذکر شده در هر دو تنش متوسط و شدید جزء گونه‌های کاندید برای اصلاح به تحمل خشکی با مکانیسم آنتی‌اکسیدانی مربوطه محسوب می‌شوند. مقدار کلروفیل کل در شرایط تنش متوسط و شدید به ترتیب کاهش ۱۱/۵ و ۶۶ درصدی داشت، باین‌وجود در دو گونه *Aegilops speltoides* و *T. durum* کمترین میزان کاهش نسبت به شرایط نرمال مشاهده شد. میزان کارتنوئید با افزایش شدت خشکی کاهش یافت، اما این کاهش در گونه *T. durum* رخ نداده بلکه با شدت تنش بر میزان کارتنوئید که یک آنتی‌اکسیدان غیر آنزیمی نیز محسوب می‌شود افزوده شد.

واژه‌های کلیدی: آنتی‌اکسیدان، آسکوربات پراکسیداز، تنش خشکی، کاتالاز، سوپراکسید دیسموتاز.

### مقدمه

سیستم‌های آنتی‌اکسیدانی نقش مهمی در ایجاد تعادل و جلوگیری از آسیب اکسیداسیونی ایفا می‌کنند. باین‌حال، تولید و کارایی سیستم‌های آنتی‌اکسیدانی به نوع گیاه و ساختار ژنتیکی گیاه بستگی دارد (Fotouhi Qazvini et al., 2011). تنش خشکی یکی از مهم‌ترین عوامل محیطی محدودکننده رشد و تولید گیاهی در اکثر نقاط دنیا از جمله

هر یک از عوامل تنش‌زا تأثیرات خاص خود را بروز می‌دهند ولی بیشتر این عوامل تنش‌زا، اثرات مشابهی بر گیاهان می‌گذارند. تنش‌های غیرزنده مانند خشکی، شوری، دما، نور، فلزات سنگین و آلاینده‌ها از عوامل شناخته‌شده در افزایش تولید رادیکال‌های فعال اکسیژن در گیاهان می‌باشند که به سیستم‌های غشا و دیگر فرآیندهای سلولی آسیب می‌زنند.

جنس آژیلوپس و تریبتیکوم از مهم‌ترین جنس‌های موجود در تیره Triticaceae است و گونه‌های موجود در این جنس بخش اصلی مخزن ژنی گندم زراعی را تشکیل می‌دهند. ارزیابی گسترده‌ای از خویشاوندان وحشی گندم برای مقاومت به تنش خشکی نشان داده که *Aegilops tauschii* و *Aegilops columnaris* و *Aegilops umbellulata* و *Aegilops triuncialis* و *peregrina* مقاوم‌ترین گونه‌ها به تنش خشکی هستند (Damania et al., 1992). در رابطه با مقاومت خویشاوندان وحشی به‌ویژه گونه‌های دیپلوئید در برابر تنش خشکی و قابلیت ویژه این گونه‌ها از نظر صفات فیزیولوژیک مانند توانایی‌های فتوسنتزی، محتوای کلروفیل و هدایت روزنه‌ای گزارش‌های متعددی وجود دارد. مولنار و همکاران گزارش کردند که تحت شرایط تنش خشکی گونه‌های *Aegilops tauschii* و *Aegilops speltoides* نسبت به *Aegilops bicornis* کاهش کمتری در محتوای نسبی آب برگ ( $RWC^2$ ) و میزان فتوسنتز دارند و اظهار داشتند که این دو گونه می‌توانند به‌عنوان منابع مطلوبی برای برنامه‌های اصلاحی مرتبط با اصلاح صفات فیزیولوژیک برای شرایط تنش خشکی در نظر گرفته شوند (Molnar et al., 2005). آگاهی از تنوع ژنتیکی موجود در ارقام اهلی و خویشاوندان وحشی یک گونه گیاهی، در به‌کارگیری آن‌ها در برنامه‌های اصلاحی از اهمیت زیادی برخوردار است (Hardon et al., 1994). در همین راستا، با توجه به اینکه بخش قابل توجهی از اراضی زیر کشت گندم در ایران، در مناطق خشک و نیمه‌خشک قرار گرفته و همچنین این مناطق دارای طیف گسترده‌ای از تنش‌های غیرزیستی از جمله خشکی و شوری می‌باشند، لذا شناسایی و مطالعه هرچه بیشتر در رابطه با گونه‌های مقاوم به چنین شرایطی و نیز شناخت نوع سازوکار تحملی آن‌ها امری ضروری است.

### مواد و روش‌ها

این تحقیق در گلخانه تحقیقاتی و آزمایشگاه دانشگاه بین‌المللی امام خمینی (ره) در سال ۱۳۹۵ اجرا شد. به‌منظور بررسی اثر تنش خشکی بر محتوای رنگیزه‌های فتوسنتزی، وزن تر و خشک ریشه و اندام هوایی و فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان در پنج گونه گندم اجدادی و تکامل‌یافته از جنس *Aegilops* و *Triticum tauschii* (Hardon et al., 1994).

ایران است. تأثیر تنش خشکی روی رشد و عملکرد گیاه به ژنوتیپ گیاه بستگی دارد و گیاهان سازوکارهای متفاوتی را در برابر تنش خشکی بکار می‌گیرند. گیاهان با کاهش پارامترهای رشد، بسته نمودن روزنه‌ها، کاهش فتوسنتز، تغییر در سازوکارهای تنظیمی انتقال یون‌ها و افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان با تنش خشکی مقابله می‌نمایند.

تولید انواع گونه‌های اکسیژن فعال ( $ROS^1$ ) از جمله اثرات دیگر تنش خشکی در گیاهان است. ترکیبات ROS شامل مولکول‌های سوپراکسید، هیدروژن پراکسید، رادیکال هیدروکسیل و اکسیژن می‌باشند. این ترکیبات توسط فعالیت‌های طبیعی سلولی نظیر تنفس نوری و بتا‌اکسیداسیون اسیدهای چرب نیز تولید می‌شوند، ولی میزان آن‌ها خیلی بالا نبوده و در پیام‌دهی نقش دارند. هنگامی که گیاهان در معرض تنش‌های زیستی و غیرزیستی قرار می‌گیرند، میزان ترکیبات ROS بسیار افزایش یافته و تجمع ترکیبات ROS به دلیل اکسیداسیون رنگیزه‌های فتوسنتزی، لیپیدهای غشایی، پروتئین‌ها و اسیدهای نوکلئیک می‌تواند به گیاه آسیب وارد کرده و در نهایت باعث مرگ سلول گردند. برای کاهش اثرات رادیکال‌های آزاد، سلول‌های گیاهی دارای سیستم آنتی‌اکسیدان غیرآنزیمی با وزن مولکولی پایین و نیز آنتی‌اکسیدان‌های آنزیمی هستند. سیستم آنتی‌اکسیدان‌های آنزیمی یکی از سازوکارهای حفاظتی است که شامل عوامل آنزیمی نظیر سوپراکسید دیسموتاز، کاتالاز و گلوکاتایون پراکسیداز است که به ترتیب رادیکال‌های سوپراکسید، هیدروژن پراکسید و پراکسیدهای آلی را در درون سلول‌ها خنثی می‌نمایند (Hassanpour and Niknam, 2014). همچنین در این سیستم عوامل غیرآنزیمی شامل ویتامین E، کاروتنوئیدها، ویتامین C، پلی‌فنل‌ها و اسیداوریک به‌عنوان آنتی‌اکسیدان در خنثی‌سازی بسیاری از رادیکال‌های آزاد و گونه‌های فعال اکسیژن دخالت دارند (Sies and Stahl, 1995).

گندم از تیره غلات، مهم‌ترین گیاه زراعی یک‌ساله است که در سطح گسترده‌ای از جهان تولید و مورد استفاده انسان است (Farahani and Arzani, 2008). اصلاح‌گران گندم، تمام گونه‌هایی را که در سه جنس تاکسونومیکی تریبتیکوم، آژیلوپس و آمبلیوپایروم قرار می‌گیرند (به عبارتی گندم‌های زراعی و کلیه خویشاوندان نزدیک آن‌ها) گندم می‌نامند.

<sup>2</sup>. Relative Water Content

<sup>1</sup>. Reactive Oxygen Species

گردید. پس از آماده‌سازی گلدان‌ها تعدادی بذر داخل آن‌ها کاشته و تا رسیدن به مرحله چهار برگگی به‌طور یکسان آبیاری شدند و از این مرحله به بعد دو تنش خشکی ذکرشده اعمال شد. دو هفته پس از اعمال تنش، نمونه‌های برگگی برای بررسی فعالیت آنزیمی تهیه و بلافاصله به درون نیتروژن مایع انتقال یافتند. همچنین از هر سطح تنش چند بوته برای ارزیابی وزن بااحتیاط از خاک خارج‌شده و پس از شستشوی ریشه درون یخ خشک به آزمایشگاه انتقال‌یافته و وزن تر ریشه و اندام هوایی اندازه‌گیری شد. در ادامه بوته‌ها در دمای ۷۰ درجه سلسیوس به مدت ۴۸ ساعت خشک‌شده و سپس وزن خشک ریشه و اندام هوایی اندازه‌گیری گردید.

*Triticum urartu*, *Triticum aestivum* *speltooides* و *Triticum durum*) آزمایشی به‌صورت فاکتوریل در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی با سه تکرار در سه سطح آبیاری نرمال (۱۰۰ درصد ظرفیت زراعی)، تنش متوسط (۵۰ درصد ظرفیت زراعی) و تنش شدید (۲۵ درصد ظرفیت زراعی) اجرا گردید. ظرفیت زراعی هر گلدان بر اساس روش پیشنهادشده توسط سوزا و همکاران (Souza et al., 2000) تعیین و میزان آب داده‌شده به هر گلدان طی اعمال تنش بر اساس اختلاف وزن تر و خشک به‌دست‌آمده از خاک گلدان و نیز درصد تعیین‌شده (۲۵، ۵۰ و ۱۰۰ درصد) صورت گرفت. تمامی بذر موردنیاز از بانک ژن غلات دانشگاه ایلام تهیه

جدول ۱. مشخصات ژنومی و محل جمع‌آوری خویشاوندان وحشی و تکامل‌یافته گندم‌های مورد مطالعه  
Table 1. Genomic characteristics and collection sites of wild and evolutionary relatives of wheat

گونه Species	ژنوتیپ Genotype	محل جمع‌آوری بذر Seed collection location	محل جمع‌آوری بذر
<i>Triticum aestivum</i>	AABBDD	Urmia	ارومیه
<i>Triticum urartu</i>	A <sup>U</sup> A <sup>U</sup>	Sagez road-Marivan	جاده سقر - مریوان
<i>Aegilops tauschii</i>	DD	Astara	آستارا
<i>Aegilops speltooides</i>	BB	Kermanshah-Ghasreshirin	قصرشیرین کرمانشاه
<i>Triticum durum</i>	AABB	Golpayegan	گلپایگان

مدت ۲۰ دقیقه با دور ۲۵۰۰۰ g سانتریفیوژ شده و فاز رویی برای آزمایش آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی استفاده شد (Kang and Saltveit, 2002).

فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز (SOD<sup>3</sup>) از طریق اندازه‌گیری توانایی آن برای کاهش مهار فتوشیمیایی NBT با استفاده از روش دهیندسا و همکاران (Dhindsa et al., 1992) سنجیده شد. مخلوط واکنش شامل ۳ میلی‌لیتر بافر فسفات ۵۰ mM (pH 7.8)، متیونین ۱۳ mM، EDTA ۷۵ mM، NBT، ریبوفلاوین ۲ μM، واتی بر روی شیکر به مدت ۱۰ دقیقه قرار گرفتند. سپس جذب نور در طیف ۵۶۰ نانومتر با دستگاه اسپکتروفتومتر قرائت شد.

سنجش کلروفیل و کارتنوئید: ۰/۱ گرم بافت تازه برگ تهیه، در ۳ میلی‌لیتر استن ۸۰٪ کوبیده و ماده همگن‌شده به تیوپ ۲ میلی‌لیتری انتقال و ۵ دقیقه در ۱۰۰۰۰ g سانتریفیوژ شد. فاز رویی جدا و میزان جذب نور در طیف‌های ۴۸۰، ۵۱۰، ۶۶۳، ۶۴۵ نانومتر با دستگاه اسپکتروفتومتر برای محاسبه فرمولی میزان کلروفیل a، کلروفیل b، کلروفیل کل و کارتنوئید قرائت شد (Nogues and Baker, 2000).

تهیه عصاره پروتئینی و آنزیمی: ۰/۵ گرم بافت تازه از نمونه‌های برگگی تهیه، با ازت مایع کوبیده شده و به تیوپ-های ۲ میلی‌لیتری انتقال داده شد. سپس در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد، یک میلی‌لیتر بافر استخراج (MgCl<sub>2</sub>, 1 mM EDTA & 1.5% w/v PVPP, 0.05 M Tris-HCL buffer, pH 7.5, 3 Mm) به نمونه‌ها افزوده و برای همگن شدن ترکیب ورتکس شدند. در نهایت محلول همگن‌شده به

3. Superoxide Dismutase

صفات موردبررسی داشته است. تغییرات صفات مورفولوژیکی ریشه و اندام هوایی گونه‌های گندم تحت شرایط عدم تنش، تنش متوسط و تنش شدید خشکی در جدول ۳ و اثرات متقابل آن‌ها در شکل ۱ نشان داده شده است. مقایسه میانگین داده‌ها (جدول ۳) نشان داد، با شدت یافتن تنش خشکی غلظت رنگیزه‌ها و پروتئین کاهش یافته، به طوری که بیشترین غلظت آن‌ها در شرایط عدم تنش بود که این نتایج با یافته‌های دولت‌آبادیان و همکاران (Dolatabadian et al., 2009) مشابه است. فعالیت آنزیم‌های موردبررسی در این آزمایش اختلاف معنی‌داری را در سطح تنش، ژنوتیپ و اثر متقابل ژنوتیپ در تنش نشان دادند. طبق بیشتر گزارش‌های در گونه‌های مختلف گیاهی در شرایط تنش خشکی میزان فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان افزایش می‌یابد (Turkan et al., 2006; Zhuang and Chen, 2005). مقایسه میانگین داده‌ها (جدول ۳) در رابطه با میزان فعالیت آنزیم‌های آنتی-اکسیدانی نشان داد که میزان فعالیت این آنزیم‌ها همراه با شدت تنش خشکی افزایش یافته است، به طوری که بیشترین میزان فعالیت آنزیم‌های CAT، SOD، APX و GPX طی تنش شدید (۲۵ درصد ظرفیت زراعی) به ترتیب با میزان افزایش ۸۰، ۳۴، ۸۴ و ۲۹ درصدی نسبت به عدم تنش (جدول ۳) مشاهده شد. در این راستا حسن‌پور و همکاران (Hassanpour et al., 2012) با بررسی تأثیر تنش خشکی بر فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی در گندم مشاهده کردند که در شرایط تنش خشکی، فعالیت آنزیم‌های SOD و APX نسبت به شاهد افزایش یافت.

تنش خشکی همانند سایر تنش‌های محیطی مانند شوری، فلزات سنگین و تنش دمایی می‌تواند باعث تنش اکسیداتیو شود که بسیار آسیب‌زننده است. در این شرایط آنتی‌اکسیدان‌های آنزیمی و غیر آنزیمی در گیاه فعال می‌شوند. نتایج تحقیقات نشان داده است که غشاهای سلولی و اندامک‌ها، اولین محل آسیب به سلول‌ها در شرایط تنش خشکی توسط شکل‌های فعال اکسیژن هستند (Schwars et al., 2001). گیاهان برای مقابله با این ترکیبات فرآیندهایی را در خود توسعه داده‌اند که به طور کلی به عنوان فرآیند دفاع آنتی‌اکسیدانی شناخته می‌شوند. سوپراکسید دیسموتاز که در رده‌های مختلف سلولی می‌توان آن را یافت نقش جاروب کردن رادیکال سوپراکسید و تبدیل آن به آب و

فعالیت آنزیم کاتالاز (CAT<sup>۴</sup>) با اندازه‌گیری میزان تجزیه پراکسید هیدروژن، با استفاده از روش مهلی و چنز (Maehly and Chance, 1959) سنجیده شد. مخلوط واکنش حاوی ۲/۵ میلی‌لیتر بافر فسفات ۵۰ میلی‌مولار (pH=7.4)، ۰/۱ میلی‌لیتر از هیدروژن پراکسید ۱٪ و ۵۰ میلی‌لیتر عصاره بود. تخریب هیدروژن پراکسید با کاهش جذب در طیف نوری ۲۴۰ نانومتر با دستگاه اسپکتروفتومتر سنجیده شد.

فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز (APX<sup>۵</sup>) با استفاده از روش چن و آسادا (Chen and Asada, 1989) محاسبه شد. مخلوط واکنش شامل ۱ میلی‌لیتر بافر فسفات ۵۰ میلی‌مولار (pH=7.0)، ۱ میلی‌مولار EDTA، ۰/۵ میلی‌مولار آسکوربات، ۱/۵۴ میلی‌مولار هیدروژن پراکسید و ۵۰ میلی‌لیتر عصاره آنزیمی بود. تخریب آسکوربات با کاهش جذب در طیف نوری ۲۹۰ نانومتر با دستگاه اسپکتروفتومتر سنجیده شد.

فعالیت آنزیم گایاکول پراکسیداز (GPX<sup>۶</sup>) با استفاده از روش اوپادهایا و همکاران (Upadhyaya et al., 1985) مشخص شد. مخلوط واکنش شامل ۲/۵ میلی‌لیتر بافر فسفات ۵۰ میلی‌مولار (pH=6.1)، ۱ میلی‌لیتر هیدروژن پراکسید ۱٪، ۱ میلی‌لیتر گایاکول ۱٪ و ۲۰ میلی‌لیتر عصاره آنزیمی بود. افزایش جذب در طیف نوری ۴۲۰ نانومتر ثبت شد.

محتوای پروتئین کل با استفاده از روش بردفورد (Bradford, 1976)، با استفاده از آلبومین سرم گاوی (BSA) به عنوان یک استاندارد تعیین شد. تمام فعالیت آنزیم‌ها از هر میلی‌گرم پروتئین در هر دقیقه محاسبه شد و به عنوان یک درصدی برای کنترل بیان شد.

تجزیه و تحلیل آماری داده‌های حاصل به روش تجزیه واریانس فاکتوریل در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی انجام شد. برای ارزیابی اثر تیمارها و ژنوتیپ روی صفات اندازه‌گیری شده، مقایسه میانگین تیمارها با آزمون دانکن انجام گرفت. از نرم‌افزارهای Excel و SAS برای ترسیم نمودارها و تجزیه‌های آماری استفاده شد.

## نتایج و بحث

نتایج تجزیه واریانس داده‌ها (جدول ۲) نشان داد که تیمار تنش خشکی تأثیر معنی‌داری ( $P \leq 0.05, 0.01$ ) بر اکثر

6. Guaiacol Peroxidase

4. Catalase

5. Ascorbate Peroxidase

در این تحقیق افزایش معنی‌داری در فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز در گونه‌های تنش دیده نسبت به شرایط عدم تنش (جدول ۳) مشاهده گردید که مطابق نتایج ژانگ و کایرخام (Zhang and Kirkham, 1994) بود. در این راستا افزایش فعالیت SOD در گندم گزارش شده است (Hassanpour et al., 2012).

اکسیژن را به عهده دارد. افزایش فعالیت این آنزیم تحت تنش خشکی باعث افزایش مقاومت گیاه در مقابل تنش خشکی شده و از کاهش رشد و عملکرد گیاه جلوگیری می‌کند (Hassanpour et al., 2012). این افزایش فعالیت زمانی رخ می‌دهد که مقدار یون سوپراکسید درون سلولی افزایش یابد (Smirnoff, 1998). تغییر در فعالیت SOD با توجه به شدت خشکی، طول مدت تنش و گونه گیاهی متفاوت است،

جدول ۲. نتایج تجزیه واریانس اثر تنش خشکی بر صفات فیزیولوژیکی و آنتی‌اکسیدان‌های گونه‌های اجدادی و تکاملی گندم.

Table 2. ANOVA results for the effect of drought stress on physiological traits and antioxidants of ancestral and evolutionary species of wheat.

S.O.V	منابع تغییرات	درجه آزادی (df)	میانگین مربعات (MS)					کاتالاز CAT
			کلروفیل a Chla	کلروفیل b Chlb	کلروفیل کل ChlT	کارتنوئید CAR	پروتئین Protein	
Replication	تکرار	2	0.017	0.001	0.022	0.027	21.7	0.0001
Stress (S)	تنش	2	0.62**	0.48**	2.11**	0.15**	310.5*	0.002**
Species (DS)	گونه	4	0.053*	0.005 <sup>ns</sup>	0.082 <sup>ns</sup>	0.004 <sup>ns</sup>	121.4 <sup>ns</sup>	0.001**
DS × S	تنش × گونه	8	0.046*	0.042 <sup>ns</sup>	0.15 <sup>ns</sup>	0.02 <sup>ns</sup>	209*	0.001**
Error	اشتباه آزمایشی	28	0.016	0.03	0.077	0.011	76.8	0.00003

Table 2. Continued

جدول ۲. ادامه

S.O.V	منابع تغییرات	درجه آزادی (df)	میانگین مربعات (MS)						
			سوپراکسید دیسموتاز SOD	آسکوربات پراکسیداز APX	گایاکول پروکسیداز GPX	وزن تر ریشه RFW	وزن خشک ریشه RDW	وزن تر اندام هوایی SFW	وزن خشک اندام هوایی SDW
Replication	تکرار	2	204.5	0.03	0.19	0.023	0.002	0.015	0.0004
Replication	تنش	2	556.9**	4.79**	418*	0.004	0.001**	0.037 <sup>ns</sup>	0.003*
Stress (S)	گونه	4	430**	1.35*	413.5*	0.012*	0.002**	0.26**	0.012**
Species (DS)	تنش × گونه	8	602.5**	1.61**	1068**	0.006 <sup>ns</sup>	0.0001 <sup>ns</sup>	0.023 <sup>ns</sup>	0.001 <sup>ns</sup>
DS × S	اشتباه آزمایشی	28	34.26	0.4	111.1	0.004	0.0002	0.02	0.001

ns, \*, \*\*: به ترتیب غیر معنی‌دار و معنی‌دار در سطح احتمال ۵٪ و ۱٪.

ns, \*, \*\*: non-significant and significant at 5%, 1% level, respectively.

Chla: chlorophyll a, Chlb: chlorophyll b, ChlT: total chlorophyll, CAR: carotenoid, CAT: catalase, SOD: Superoxide dismutase, APX: Ascorbate peroxidase, GPX: Guaiacol peroxidase, RFW: root fresh weight, RDW: root dry weight, SFW: shoot fresh weight, SDW: shoot dry weight.

فعالیت کاتالاز در هر دو سطح تنش خشکی افزایش نشان داد (جدول ۳)، در تطابق با افزایش فعالیت آنزیم کاتالاز در این آزمایش، افزایش آن در شرایط تنش کم‌آبی گزارش شده است (Zhang and Kirkham, 1994). البته کاهش این آنزیم نیز تحت شرایط تنش خشکی در گندم (Herbinger

et al., 2002) و آرابیدوپسیس (Jung, 2004) گزارش شده است. چنین به نظر می‌رسد که در شرایط تنش کم‌آبی، افزایش غلظت پراکسید هیدروژن توسط فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز (Bowler et al., 1992)، سبب افزایش فعالیت آنزیم کاتالاز برای تجزیه پراکسید هیدروژن می‌گردد

1998) دریافتند که کاهش پراکسیداسیون لیپید با افزایش و القای فعالیت APX در ژنوتیپ‌های مقاوم به خشکی در گندم با هم مرتبط است؛ بنابراین به نظر می‌رسد در این مطالعه در شرایط تنش خشکی محصول فعالیت SOD که آب‌اکسیژنه است توسط القای فعالیت APX حذف می‌شود.

اما در شرایط بدون تنش به دلیل عدم تولید بیش‌ازحد رادیکال‌های آزاد اکسیژن، تولید پراکسید هیدروژن ناشی از یون سوپراکسید کاهش یافته و در نتیجه فعالیت آنزیم کاتالاز کاهش می‌یابد. در تطابق با نتایج این تحقیق (جدول ۳)، افزایش معنی‌دار APX در گیاهان مختلف تحت تنش دیده شده است. در گزارشی سایرام و همکاران (Sairam et al.,

جدول ۳- مقایسه میانگین بین تیمارهای تنش خشکی برای صفات فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی مورد مطالعه در آزمایش.

Table 3. Mean comparison amongst drought stress treatments for studied physiological and biochemical traits

Treatment	تیمار	کلروفیل a	کلروفیل b	کلروفیل کل	کارتنوئید	پروتئین	کاتالاز	سوپراکسید
		Chl a	Chl b	ChlT	CAR	Protein	CAT	SOD
		(μmol g FW <sup>-1</sup> )			(mg gFW <sup>-1</sup> )		(U/ml)	
NS	بدون تنش	0.57 <sup>A</sup>	0.54 <sup>A</sup>	1.12 <sup>A</sup>	0.44 <sup>A</sup>	45.9 <sup>A</sup>	0.03 <sup>C</sup>	34.14 <sup>B</sup>
MDS	تنش خشکی متوسط	0.52 <sup>A</sup>	0.36 <sup>B</sup>	0.88 <sup>B</sup>	0.37 <sup>A</sup>	38.7 <sup>B</sup>	0.046 <sup>B</sup>	36.58 <sup>B</sup>
SDS	تنش خشکی شدید	0.19 <sup>B</sup>	0.18 <sup>C</sup>	0.38 <sup>C</sup>	0.25 <sup>B</sup>	37.5 <sup>B</sup>	0.054 <sup>A</sup>	45.7 <sup>A</sup>
		آسکوربات	گایاکول	وزن تر	وزن خشک	وزن تر	اندام هوایی	وزن خشک
		پراکسیداز	پروکسیداز	ریشه	ریشه	اندام هوایی	اندام هوایی	اندام هوایی
		APX	GPX	RFW	RDW	SFW	SDW	SDW
		(U/ml)			(g plant <sup>-1</sup> )			
NS	بدون تنش	1.35 <sup>C</sup>	37.3 <sup>B</sup>	0.14 <sup>A</sup>	0.055 <sup>A</sup>	0.45 <sup>A</sup>	0.098 <sup>A</sup>	
MDS	تنش خشکی متوسط	1.83 <sup>B</sup>	43.2 <sup>AB</sup>	0.12 <sup>A</sup>	0.041 <sup>B</sup>	0.38 <sup>A</sup>	0.082 <sup>AB</sup>	
SDS	تنش خشکی شدید	2.48 <sup>A</sup>	47.8 <sup>A</sup>	0.11 <sup>A</sup>	0.037 <sup>B</sup>	0.35 <sup>A</sup>	0.068 <sup>B</sup>	

میانگین‌های با حروف مشترک در هر ستون، تفاوت معنی‌داری ندارند.

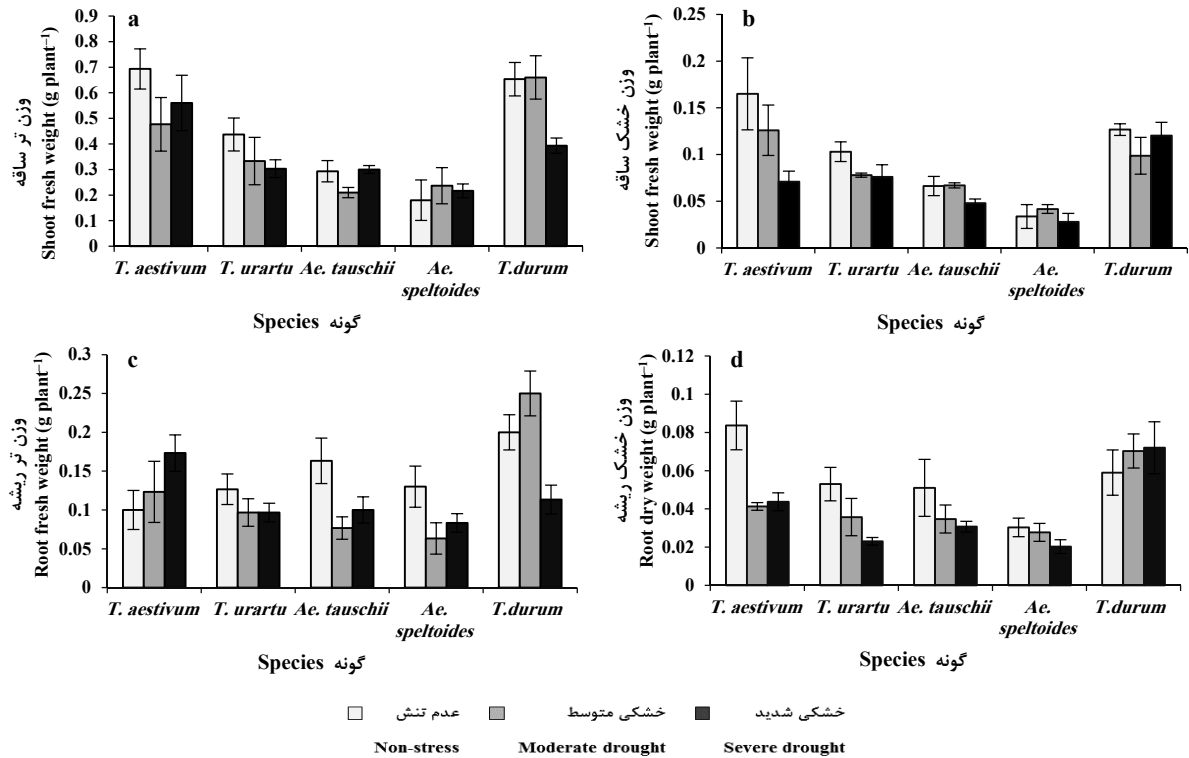
The means with same letters in each column is not significant.

NS: non stress, MDS: moderate drought stress, SDS: severe drought stress, Chla: chlorophyll a, Chlb: chlorophyll b, ChlT: total chlorophyll, CAR: carotenoid, CAT: catalase, SOD: Superoxide dismutase, APX: Ascorbate peroxidase, GPX: Guaiacol peroxidase, RFW: root fresh weight, RDW: root dry weight, SFW: shoot fresh weight, SDW: shoot dry weight

وجود دارد (Demiral and Turkan, 2004; Hernandez et al., 2000).

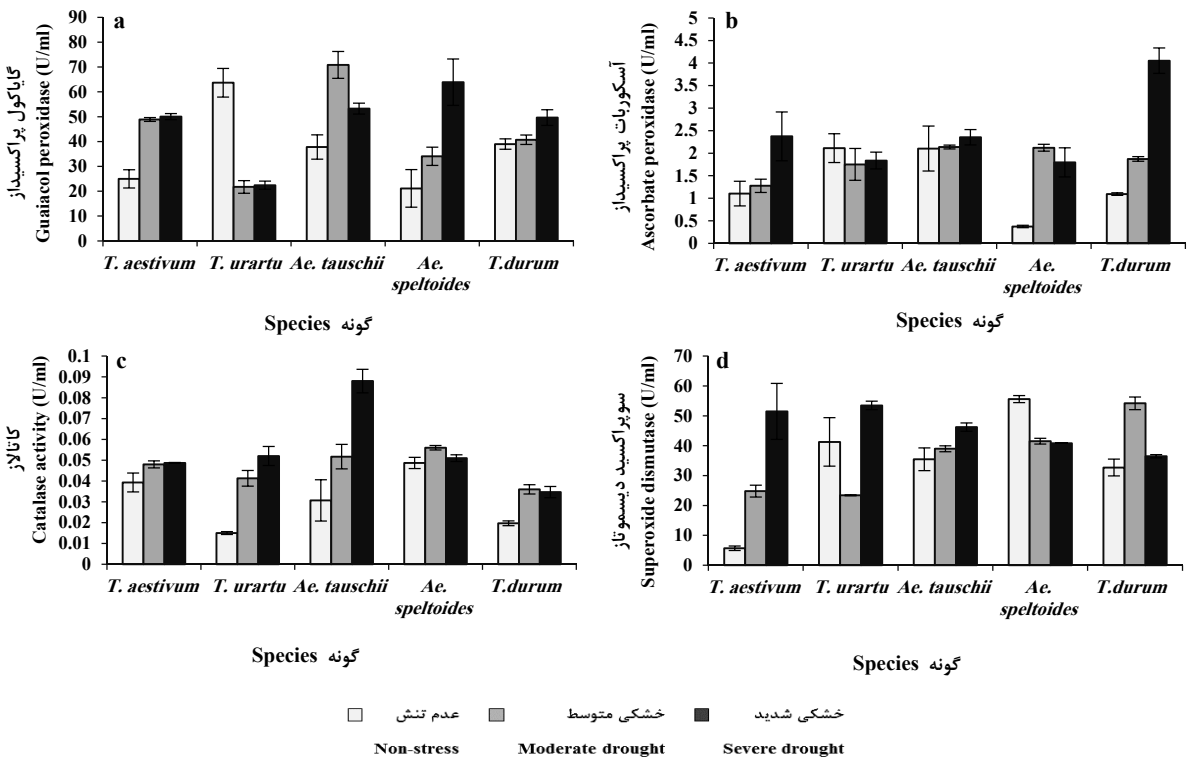
رادیکال‌های آزاد اکسیژن میل ترکیبی بالایی با پروتئین-ها داشته و سبب اکسید شدن آن‌ها می‌شوند (Bradford and Hsiao, 1982) تنش کم‌آبی با تولید رادیکال‌های مخرب اکسیژن سبب تخریب ساختار پروتئین‌ها و اسیده‌های آمینه می‌شود و در نتیجه باعث کاهش غلظت پروتئین می‌گردد که با نتایج ما در این تحقیق همسو است (شکل ۳). همچنین فیلر (Feller, 2004) اعلام نمود که تنش خشکی، بیان ژن‌های کدکننده پروتئازهای درون سلولی را القا کرده و سبب تجزیه پروتئین‌ها و از جمله پروتئین‌های محلول برگ‌ها و تحریک مجدد نیتروژن و در نتیجه سنتز مواد محلول سازگار

مقایسه میانگین اثر متقابل ژنوتیپ در تنش نشان داد که گونه‌های *T. urartu* و *T. aestivum* از نظر فعالیت SOD (شکل ۲-د)، *Ae. tauschii* از نظر CAT (شکل ۲-ب)، *T. durum* از نظر APX (شکل ۲-ب) و *Ae. speltoides* از نظر GPX (شکل ۲-ا) به دلیل افزایش بیشتر فعالیت ویژه آنزیم‌های ذکر شده در تنش‌های متوسط و شدید، جزء گونه‌های کاندید برای اصلاح به تحمل خشکی با مکانیسم آنتی‌اکسیدانی مربوطه محسوب می‌شوند. در این رابطه گزارش‌ها نشان می‌دهند که رقم‌های مقاوم به تنش‌های محیطی می‌توانند از طریق القا کردن سیستم‌های دفاع آنتی-اکسیدانی با تنش‌های محیطی مقابله کنند؛ بنابراین، بین سیستم دفاع آنتی‌اکسیدانی و تحمل به شرایط تنش ارتباط



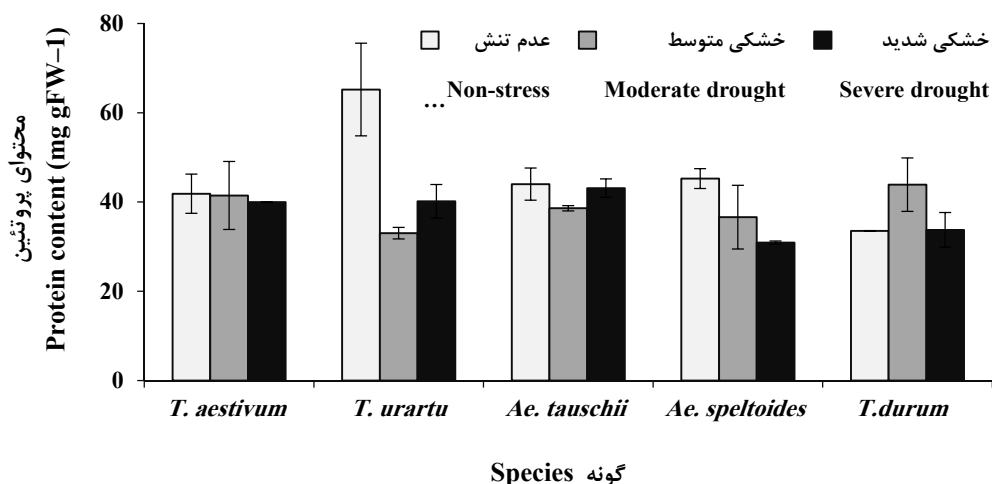
شکل ۱. روند تغییرات صفات مورفولوژیکی (a) وزن تر اندام هوایی، (b) وزن خشک اندام هوایی، (c) وزن تر ریشه و (d) وزن خشک ریشه در گونه‌های اجدادی و تکاملی گندم تحت شرایط عدم تنش، تنش متوسط و تنش شدید خشکی.

Fig. 1. Variations pattern of morphological traits (a) shoot fresh weight, (b) shoot dry weight, (c) root fresh weight, and (d) root dry weight in ancestral and evolutionary species of wheat under non-stress, moderate and severe drought stress.



شکل ۲. روند تغییرات آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان (a) گایاکول پراکسیداز، (b) آسکوربات پراکسیداز، (c) کاتالاز و (d) سوپراکسید دیسموتاز در گونه‌های اجدادی و تکاملی گندم تحت شرایط عدم تنش، تنش متوسط و تنش شدید خشکی.

Fig. 2. The variations pattern of antioxidant enzymes (a) guaiacol peroxidase, (b) ascorbate peroxidase, (c) catalase and (d) superoxide dismutase in ancestral and evolutionary species of wheat under non-stress, moderate and severe drought stress.



شکل ۳. تغییرات محتوای پروتئین کل در گونه‌های اجدادی و تکاملی گندم در شرایط عدم تنش و تنش متوسط و شدید خشکی.  
**Fig. 3.** Total protein content variations in ancestral and evolutionary species of wheat under non-stress, moderate and severe drought stress.

نشان دادند. تامسون و همکاران (Tompson et al., 1987) بیان نمود، در گیاهان علائم بروز تنش‌های اکسیداتیو شامل کاهش محتوای کلروفیل و نفوذپذیری غشاء می‌باشند که منجر به کاهش فتوسنتز و در نتیجه رشد گیاه می‌شوند. در این تحقیق نیز تنش خشکی باعث کاهش رنگ‌دانه‌های فتوسنتزی (کلروفیل a، کلروفیل b، کلروفیل کل) و متعاقباً کاهش فعالیت فتوسنتز گیاه شده و در نتیجه رشد گیاه گندم کاهش می‌یابد. کاهش غلظت کلروفیل در شرایط کم‌آبی می‌تواند به‌عنوان یک عامل محدودکننده غیر روزنه‌ای به حساب آید. یکی از دلایل این کاهش، افزایش میزان فعالیت آنزیم کلروفیلاز است که البته تحت شرایط تنش بیان این آنزیم القاء می‌شود (Ranjan et al., 2001). کاهش میزان فتوسنتز تحت تنش خشکی در گندم و گونه‌های مختلف آژیلوپس گزارش شده است (Dulai et al., 2006; Liu et al., 2006; Shah and Paulsen, 2003). کاهش محتوای رنگیزه‌های سلول‌های گیاهی (کلروفیل‌ها و کارتنوئیدها) تحت تأثیر تنش خشکی، توسط کائوسری و همکاران (Kauseri et al., 2006) و حیدری شریف‌آباد (Heidari Sharif-Abad, 2000) نیز گزارش شده است. آن‌ها اعلام کردند که میزان کلروفیل a و b در بسیاری از گیاهان متأثر از خشکی بوده و می‌تواند به‌عنوان یکی از شاخص‌های تحمل خشکی مورد توجه قرار گیرد. در تحقیقی دیگر کاهش ۲۵ درصدی در محتوای کلروفیل در گونه *A. tauschii* تحت تأثیر تنش خشکی گزارش شده است (Gautam et al., 2011).

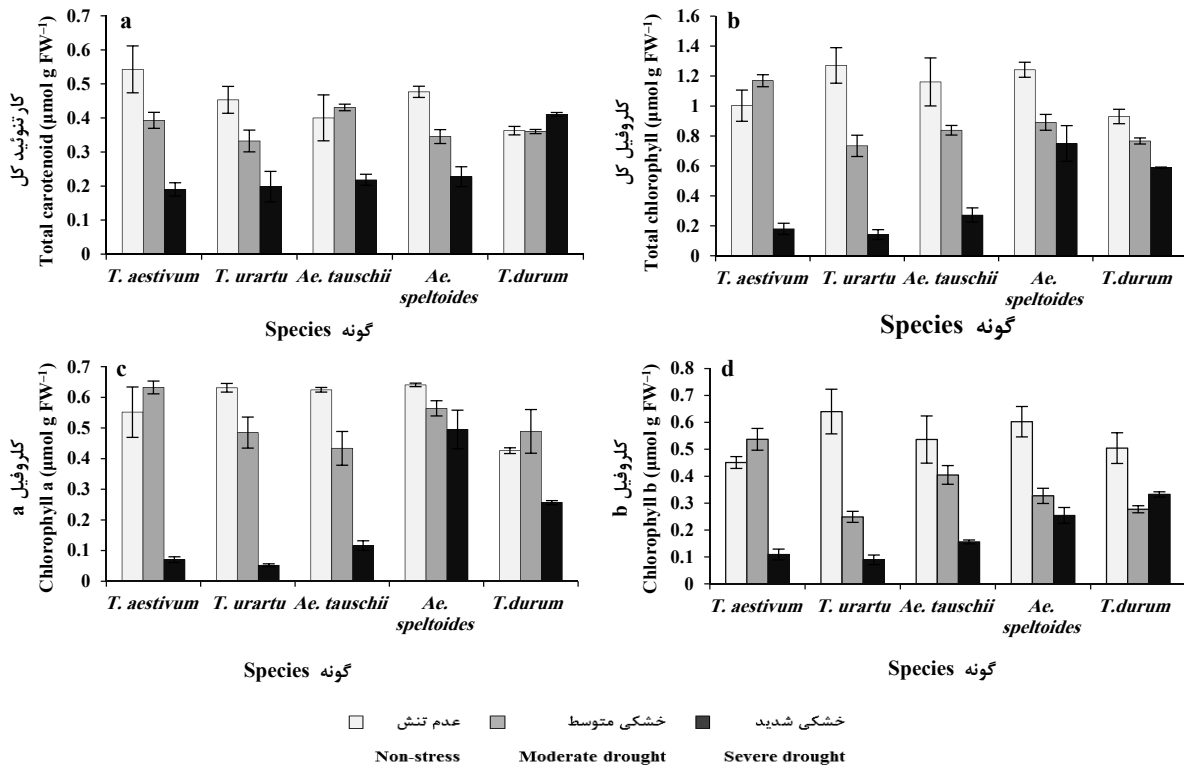
جهت تنظیم اسمزی می‌شود. بر همین اساس کاهش غلظت پروتئین‌های محلول در شرایط تنش خشکی با کاهش سنتز آن‌ها و همچنین افزایش فعالیت آنزیم‌های تجزیه‌کننده پروتئین‌های محلول در ارتباط است. وقوع تنش رطوبتی وضعیت پلی‌ریبوزوم‌های مؤثر در ساخته‌شدن پروتئین‌های بافت گیاهی را تغییر می‌دهد به طوری که در شرایط کمبود رطوبت تعداد پلی‌ریبوزوم‌ها کاهش یافته و میزان آن بستگی به گونه و نیز اندام گیاهی متفاوت است (Scott et al., 1979).

از نظر میزان کلروفیل کل، تنش خشکی باعث کاهش مقدار کلروفیل گرید و همان‌طور که از مقایسه میانگین (جدول ۳) مشاهده می‌گردد مقدار کلروفیل کل کاهش ۱۱/۵ و ۶۶ درصدی به ترتیب در شرایط تنش متوسط و شدید داشته است. تغییرات مقدار کلروفیل a (شکل ۴-c) نشان داد که در هر پنج گونه مورد مطالعه میزان کلروفیل طی تنش شدید کاهش یافت، با این وجود در دو گونه *Aegilops speltoides* و *T. durum* بیشترین میزان کلروفیل برخلاف سه گونه دیگر در تنش شدید و به عبارتی کمترین میزان کاهش نسبت به شرایط نرمال مشاهده شد. در مورد مقدار کلروفیل b (شکل ۴-b) به جز *T. aestivum* سایر گونه‌ها بیشترین میزان کلروفیل b را در شرایط عدم تنش دارا بودند، اما در شرایط تنش به‌طور معنی‌داری مقدار آن کاهش یافته و مشابه با روند کلروفیل a دو گونه *Aegilops speltoides* و *T. durum* کمترین میزان کاهش را نسبت به شرایط نرمال



حفاظتی در مقابل تنش اکسیداتیو در سمیت‌زدایی از کلروفیل نقش داشته و باعث کاهش اثرات سمی رادیکال‌های آزاد می‌شوند (Sanitata and Gabbriella, 1999). گونه‌هایی که بتوانند محتوی کارتنوئید بیشتری داشته باشند، در مقابل گونه‌های اکسیژن فعال، دفاع موفق‌تری داشته و در شرایط تنش کمبود آب تحمل بیشتری از خود نشان می‌دهند (Noctor and Foyer, 1998).

همچنین کاهش قابل‌ملاحظه‌ای در محتوای کلروفیل و کارتنوئید برگ در گونه‌های هگزاپلوئید و دیپلوئید گندم در مواجهه با خشکی گزارش شده است (Liu et al., 2006). بر اساس مقایسه میانگین داده‌ها (جدول ۳) میزان کارتنوئید با افزایش شدت تنش خشکی کاهش داشته است، اما این کاهش در گونه *T. durum* رخ نداده بلکه با شدت تنش بر میزان کارتنوئید که یک آنتی‌اکسیدان غیرآنزیمی نیز محسوب می‌شود افزوده شده است. کارتنوئیدها علاوه بر نقش



شکل ۴. روند تغییرات رنگیزه‌های فتوسنتزی (a) کارتنوئید، (b) کلروفیل کل، (c) کلروفیل a و (d) کلروفیل b در گونه‌های اجدادی و تکاملی گندم تحت شرایط عدم تنش، تنش متوسط و تنش شدید خشکی.

Fig. 4. Variations pattern in photosynthetic pigments (a) Carotenoid, (b) Total chlorophyll, (c) Chlorophyll a and (d) Chlorophyll b in the ancestral and evolutionary forms of wheat dismutase in ancestral and evolutionary species of wheat under non-stress, moderate and severe drought stress.

فعالیت آنزیم GPX (۰/۶) در شرایط تنش برخلاف شرایط عدم تنش مشاهده شد. وزن خشک ریشه در شرایط تنش با آنزیم APX همبستگی مثبت (۰/۸۱) نشان داد، ولیکن در شرایط عدم تنش این همبستگی معنی‌دار نبود. این موضوع بیانگر این است که در شرایط تنش هم‌راستا با افزایش وزن خشک که یک نوع مکانیسم تحمل در برابر تنش خشکی است آنزیم APX نیز که یکی از آنزیم‌های افزایش تحمل در برابر خشکی است افزایش یافته است.

همبستگی ساده پیرسونی بین صفات مختلف فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی در جدول ۴ ارائه شده است. ضرایب همبستگی مثبت بین اجزای کلروفیل و کارتنوئید در هر دو شرایط تنش و عدم تنش مشاهده گردید. در شرایط تنش برخلاف شرایط عدم تنش بین صفات وزن تر و خشک ساقه با آنزیم کاتالاز همبستگی منفی معنی‌داری مشاهده شد که بیانگر افزایش فعالیت کاتالاز با کاهش وزن ساقه در شرایط تنش خشکی بود. همبستگی مثبت بین مقدار کارتنوئید و

جدول ۴. ضرایب همبستگی ساده و معنی‌دار بین صفات فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی در شرایط عدم تنش (پایین قطر اصلی) و تنش خشکی (بالای قطر اصلی) در گونه‌های اجدادی و تکامل‌یافته گندم.

**Table 4. Significant correlation coefficients among physiological and biochemical traits in non-stress condition (below the main diameter) and drought stress (above the main diameter) in ancestral and evolutionary species of wheat.**

	Chla	Chlb	ChIT	CAR	Protein	SOD	CAT	APX	GPX	RFW	RDW	SFW	SDW
Chla		0.74**	0.95**	-	-	-	-	-	0.86**	-	-	-	-
Chlb	0.62*		0.74**	-	-	-	-	-	-0.54*	-	-	-	-
ChIT	0.86**	0.93**		0.68**	-	-0.56*	-	-	-	-	-	-	-
CAR	-	0.64**	0.62*		-	-	-	-	0.6*	-	0.52*	-	-
Protein	-	-	-	-		-	-	-	-	-	-	-	-
SOD	-	-	-	-	-		-	-0.54*	-	-	-	-	-
CAT	-	-	-	-	-	-		-	-	-	-	-0.66**	-0.54*
APX	-	-	-	-	-	-	-0.65**		-	-	0.81**	-	-
GPX	-	-	-	-	-	-	-0.79**	0.75**		-	-	-	-
RFW	-0.66**	-	-0.59*	-	-	-	-	-	-		0.79**	0.57*	-
RDW	-	-	-	-	-	-0.62**	-	-	-	-	-	-	0.53*
SFW	-0.54*	-	-0.51*	-	-	-0.76**	-	-	-	-	-	-	-
SDW	-	-	-	-	-	-0.76**	-	-	-	-	-	0.91**	-

Chla: کلروفیل a, Chlb: کلروفیل b, ChIT: کلروفیل کل, CAR: کارتنوئید, CAT: کاتالاز, SOD: سوپراکسید دیسموتاز, APX: آسکوربات پراکسیداز,

GPX: گایاکول پراکسیداز, RFW: وزن تر ریشه, RDW: وزن خشک ریشه, SFW: وزن تر ساقه, SDW: وزن خشک ساقه.

Chla: chlorophyll a, Chlb: chlorophyll b, ChIT: total chlorophyll, CAR: carotenoid, CAT: catalase, SOD: Superoxide dismutase, APX: Ascorbate peroxidase, GPX: guaiacol peroxidase, RFW: root fresh weight, RDW: root dry weight, SFW: shoot fresh weight, SDW: shoot dry weight.

### نتیجه‌گیری کلی

مربوطه محسوب و معرفی می‌شوند. کمترین میزان کاهش مقدار کلروفیل کل در شرایط تنش نسبت به شرایط عدم تنش در دو گونه *T. durum* و *Aegilops speltoides* مشاهده شد. در این تحقیق میزان کارتنوئید با افزایش شدت خشکی کاهش یافت، اما این کاهش در گونه *T. durum* مشاهده نشد بلکه با شدت تنش بر میزان کارتنوئید که یک آنتی‌اکسیدان غیرآنزیمی نیز محسوب می‌شود افزوده شد. در شرایط تنش برخلاف شرایط عدم تنش همبستگی‌های معنی‌داری بین صفات وزن ساقه با فعالیت آنزیم کاتالاز، مقدار کارتنوئید با فعالیت آنزیم GPX و وزن خشک ریشه با آنزیم APX مشاهده گردید.

در جمع‌بندی، بیشترین میزان فعالیت آنزیم‌های CAT، SOD، APX و GPX طی تنش شدید به ترتیب با میزان افزایش ۸۰، ۳۴، ۸۴ و ۲۹ درصد نسبت به شرایط عدم تنش مشاهده شد. گونه‌های *T. urartu* و *T. aestivum* از نظر فعالیت SOD، *Ae. tauschii* از نظر CAT، *T. durum* از نظر فعالیت APX و *Ae. speltoides* از نظر GPX به دلیل بیشترین افزایش فعالیت آنزیم‌های ذکر شده در هر دو تنش متوسط و شدید جزء گونه‌های مناسب برای برنامه‌های اصلاحی به‌منظور افزایش تحمل به خشکی با مکانیسم آنتی‌اکسیدانی

### منابع

- Bradford, M.M., 1976. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Analytical Biochemistry*, 72, 248-254.
- Bradford, K.J., Hsiao, T.C., 1982. Physiological response to moderate water stress. In: Laneg, O.L., Nobel, P. S., Osmond, C. B., Zeigler, Z. (eds.), *Physiological Plant Ecology. II. Water relation and carbon assimilation Encyclopedia Plant physiques*. Springer Vellage, Berlin and New York, pp. 263-324.
- Bowler, C., Van Montagu, M., Inze, D., 1992. Superoxide dismutase and stress tolerance.

- Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology. 43, 83-116.
- Chen G.X., Asada, K., 1989, Ascorbate peroxidase in tea leaves: occurrence of two isozymes and the differences in their enzymatic and molecular properties. *Plant Cell Physiology*. 30, 987-998.
- Damania, A. B., Hakim, S., Moualla, M.Y., 1992. Evaluation of variation in *Triticum dicoccum* for wheat improvement in stress environments. *Hereditas*. 116, 163-166.
- Dhindsa R.S., Plump- Dhindsa, P., Thorpe, T.A., 1981. Leaf senescence: correlated with increased levels of membrane permeability and lipid peroxidation, and decreased levels of superoxide dismutase and catalase. *Journal of Experimental Botany*. 32, 93-101.
- Dolatabadian, A., Modarres Sanavy, S.A.M., Sharifi, M., 2009. Effect of water deficit stress and foliar application of ascorbic acid on antioxidant enzymes activity and some biochemical changes in leaves of grain corn (*Zea mays* L.). *Journal of Biology*. 22(3), 407-422. [In Persian with English Summary].
- Dulai, S., Molnar, I., Pronay, J., Csernak, A., Tarnai, R., Molnar-Lang, M., 2006. Effects of drought on photosynthetic parameters and heat stability of PSII in wheat and in *Aegilops* species originating from dry habitats. *Acta Biologica Szegediensis*. 50, 11-17.
- Demiral, T., Turkan, I., 2004. Does exogenous glycine betaine affect antioxidative system of rice seedlings under NaCl treatment? *Journal of Plant Physiology*. 161, 1089-1100.
- Farahani, A., Arzani, A., 2008. Study of genetic diversity of durum wheat genotypes with multivariate statistical analysis. *Electronic Journal of Crop Production*, 1(4), 51-64. [In Persian with English Summary].
- Feller, U., 2004. Proteolysis. In: Feller, U. (eds.), *Plant Cell Death Processes*. Elsevier, pp. 107-123.
- Fotouhi Qazvini, R., Heydari, M., Hashempour, A., 2011. *Molecular Physiology and Biology of stress Tolerance in Plants*. Jahad Daneshgahi of Mashhad, 360pp. [In Persian]
- Gautam, P.P., Vara Prasad, P.V., Fritz, A.K., Kirkham, M.B.K., Gill, B., 2011. Response of *Aegilops* species to drought stress during reproductive stages of development. *Functional Plant Biology*. 39(1) 51-59.
- Hardon, J.J., Vosman, B., Van Hintum, T.J.L., 1994. Identifying genetic resources and their ordination: The capabilities and limitations of modern biochemical and legal systems. Background Study Paper, No. 4. FAO, Roma, 20p.
- Hassanpour, H., Niknam, V., 2014. Effect of drought stress on growth and activity of antioxidant Enzymes in *Mentha pulegium* L. in flowering. *Process and Plant Function*, 3(8), 25-34.
- Hassanpour Lescokelaye, K., Ahmadi, J., Daneshyan, J., Hatami, S., 2012. Changes in chlorophyll, protein and antioxidant enzymes on durum wheat under drought stress. *Journal of Crop Breeding*, 7(15), 76-87. [In Persian with English Summary].
- Hernandez, J.A., Jimenez, A., Mullineaux, P., Sevilla, F., 2000. Tolerance of pea (*Pisum sativum* L.) to long term salt stress is associated with induction of antioxidant defences. *Plant, Cell Environment*. 23, 853-862.
- Herbinger, K., Tausz, M., Wonisch, A., Soja, G., Sorger, A., Grill, D., 2002. Complex interactive effects of drought and ozone stress on the antioxidant defence systems of two wheat cultivars. *Plant Physiology and Biochemistry*. 40, 691- 696.
- Heidari Sharif-Abad, H., 2000. *Plants, aridity and drought*. Research Institute of Forests and Rangelands, Tehran, Iran, 200p. [In Persian]
- Jung, S., 2004. Variation in antioxidant metabolism of young and mature leaves of *Arabidopsis thaliana* subjected to drought. *Plant Science*. 166, 459-466.
- Kang, H. and Saltveit, M. 2002. Chilling tolerance of maize, cucumber and rice seedling leaves and roots are differentially affected by salicylic acid. *Physiologia Plantarum*. 115, 571-576.
- Kauseri, R.H., Athar, U.R., Ashraf, M., 2006. Chlorophyll fluorescence: A Potential indicator for rapid assessment of water stress tolerance in Canola. *Pakistan Journal of Botany*. 38, 1501-1509.
- Liu, W.J., Yuan, S., Zhang, N.H., Lei, T., Duan, H.G., Liang, H.G., Lin, H.H., 2006. Effect of water stress on photosystem II in two wheat cultivars. *Biologia Plantarum*. 50, 597-602.
- Maehly, A.C., Chance B., 1959. The assay of catalase and peroxidase. In: Glick, D., (ed.), *Methods of Biochemical Analysis*, Vol. 1 Inter-

- science Publishers, New York, NY, pp 357-425.
- Molnar, I., Schneider, A., Molnar-Lang, M., 2005. Demonstration of *Aegilops biuncialis* chromosomes in a wheat background by genomic in situ hybridization (GISH) and identification of U chromosomes by FISH using GAA sequences. *Cereal Research Communications*. 33(4), 673-680.
- Nogues, S., Baker, N.R., 2000. Effect of drought on photosynthesis in Mediterranean plant grown under enhanced uv- B radiation. *Journal of Experimental Botany*. 51, 1309-1317.
- Noctor, G., Foyer, C.H., 1998. Ascorbate and glutathione: keeping active oxygen under control. *Plant Molecular Biology*. 49, 249-279.
- Ranjan, R., Bohra S.P., Jeet, A.M., 2001. Plant senescence. *Jodhpur Agrobios New York*, 18-42.
- Sairam, R.K., Shukla S.D., Saxena, D.C., 1998. Stress induced injury and antioxidant enzymes in relation to drought tolerance in wheat genotypes, *Biologia Plantarum*, 40(3), 357-364.
- Sanitata, L., Gabbriella, R., 1999. Response to Cd in higher plants. *Environment and Experimental Botany*. 45, 105-130.
- Schwars, K., Bertelsen, G., Nissen, L.R., Gardner, P.T., Heinonen, M.I., Hopia, A., 2001. Investigation of plant extracts for antioxidant assay based on radical scavenging, lipid oxidation and analysis of the principal antioxidant compounds. *Food Research Technology*. 212, 319-328.
- Scott, N. S., Munns, R., Barlow, E.W.R., 1979. Polyribosome content in young and aged wheat leaves subjected to drought. *Experimental Botany*. 30, 905-911.
- Smirnoff, N., 1998. Plant resistance to environmental stress. *Current Opinion in Biotechnology*. 9, 214-219.
- Sies, H., Stahl, W., 1995. Vitamins E and C,  $\beta$ -carotene and other as antioxidants. *American Journal of Clinical Nutrition*, 62, 1315-1321.
- Shah, N.H., Paulsen, G.M., 2003. Interaction of drought and high temperature on photosynthesis and grain-filling of wheat. *Plant and Soil*. 257, 219-226.
- Souza, C.C., Oliveira, F.A., Silva, I.F., AmorimNeto, M.S., 2000. Evaluation of methods of available water determination and irrigation management in "terra roxa" under cotton crop. *Revista Brasileira de Engenharia Agricola e Ambiental*. 4, 338-342.
- Tompson, J.E., Ledge, R.L., Barber, R.F., 1987. The role of free radicals in senescence and wounding. *New Phytologist*. 105, 317-344.
- Turkan, I., Bor, M., Ozdemir, F., Koca, H., 2005. Differential responses of lipidperoxidation and antioxidants in the leaves of drought tolerant *P. acutifolius* Gray and drought sensitive *P. vulgaris* L. subjected to polyethylene glycol mediated water stress. *Plant Science*. 168, 223-231.
- Upadhyaya, A., Sankhla, D., Davis, T.D., Sankhla, N., Smith, B.N., 1985. Effect of paclobutrazol on the activities of some enzymes of activated oxygen metabolism and lipid peroxidation in senescing soybean leaves. *Journal of Plant Physiology*. 121, 453-461.
- Zhang, J.X., Kirkham, M.B., 1994. Drought stress induced changes in activities of superoxide dismutase, catalase, and peroxidase in wheat species. *Plant Cell Physiology*. 35, 785-791.
- Zhuang, L., Chen, Y.N., 2006. Physiological responses of three contrasting plantspecies of groundwater level changes in arid environment. *Integrative Plant Biology*. 48, 520-110.