

مطالعه اثر تنوع ژنتیکی در پاسخ مورفو- فیزیولوژیکی و آنتی اکسیدانی گونه‌های مختلف آژیلوپس به تنش خشکی

صدیقه فابریکی اورنگ*^۱ و بتول شهیدی^۲

*۱- نویسنده مسئول، استادیار، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه بین‌المللی امام خمینی (ره)، قزوین

پست الکترونیک: s.ourang910@gmail.com

۲- دانشجوی کارشناسی ارشد، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه بین‌المللی امام خمینی (ره)، قزوین

تاریخ دریافت: ۱۳۹۶/۰۸/۲۰ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۶/۱۱/۰۱

چکیده

این آزمایش به منظور بررسی اثر تنش خشکی بر محتوای رنگیزه‌های فتوسنتزی، وزن ریشه و اندام‌هوایی، محتوای پروتئین کل و فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان آنزیمی و غیرآنزیمی در شش گونه مختلف از جنس *Aegilops* به همراه دو رقم گندم نان مقاوم و حساس به تنش خشکی به عنوان شاهد، در قالب فاکتوریل بر پایه طرح بلوک‌های کامل تصادفی با سه تکرار اجرا شد. تیمارهای تنش خشکی در سه سطح عدم تنش (FC=100%)، تنش متوسط (FC=50%) و تنش شدید (FC=25%) اعمال شد. گونه‌های *Ae. caudata*، *Ae. triuncialis* و *Ae. cylindrica* از نظر صفات وزن تر و خشک ریشه در شرایط تنش نسبت به رقم شاهد مقاوم سیروان در رتبه بالاتری قرار گرفتند. بیشترین مقدار کلروفیل کل در شرایط تنش متوسط در *Ae. cylindrica* و *Ae. umbellulata* و در تنش شدید در گونه *Ae. caudata* مشاهده شد. در تمام گونه‌های مورد مطالعه به جز گونه *Ae. umbellulata* در اثر تنش خشکی میزان کاروتنوئید روند کاهشی نشان داد و گونه *Ae. cylindrica* نسبت به سایر گونه‌ها از بیشترین مقدار برخوردار بود. بالاترین مقدار آنزیم سوپراکسید دیسموتاز در خشکی شدید در گونه *Ae. crassa* و رقم مقاوم Sirvan و کمترین مقدار آن در گونه *Ae. neglecta* مشاهده گردید. بیشترین آنزیم آسکوربات پراکسیداز در خشکی شدید در گونه‌های *Ae. triuncialis* و *Ae. caudata* و کمترین مقدار آن در گونه *Ae. neglecta* مشاهده شد. بالاترین مقدار آنزیم گاپاکول پراکسیداز در گونه‌های *Ae. triuncialis* و *Ae. caudata* و رقم مقاوم Sirvan در تنش خشکی مشاهده شد و گونه‌های *Ae. triuncialis*، *Ae. caudata* و *Ae. crassa* بیشترین و گونه *Ae. umbellulata* و رقم حساس Darya کمترین مقدار آنزیم کاتالاز را در خشکی شدید داشتند. در جمع‌بندی کلی، نظر به اینکه سه گونه *Ae. caudata*، *Ae. Triuncialis* و *Ae. Cylindrica* از نظر اغلب صفات مرتبط با تحمل خشکی از جمله حجم ریشه، کارتنوئید و آنزیم‌های CAT، GPX و APX بالاترین مقدار را داشتند و هر سه گونه در ژنوم CC مشترک بودند، از این رو به نظر می‌رسد ژنوم CC بتواند ظرفیت بالایی در برنامه‌های اصلاحی آینده گندم برای افزایش مقاومت به خشکی داشته باشد.

واژه‌های کلیدی: آژیلوپس، آنتی‌اکسیدان، تنش خشکی، رنگیزه‌های فتوسنتزی.

مقدمه

تعادل گیاه، موجب اختلال در مجموعه‌ای از فرایندهای

فیزیولوژیکی - بیوشیمیایی و در نتیجه رشد و نمو (Ober et

تنش خشکی به عنوان یکی از مهمترین عوامل برهم‌زننده

اکسیژن دخالت دارند (Sies & Stahl, 1995; AL-). در بین آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان فعالیت کاتالاز، سوپراکسید دیسموتاز، آسکوربات پراکسیداز و گایاکول پراکسیداز به‌عنوان مهمترین سازوکارهای دفاعی گیاه در برابر تولید و انباشت اکسیژن فعال (Reactive oxygen species: ROS) شناخته شده‌اند (Asada, 2000) تا سطوح ROS در سلول در حد متعادل نگه‌داشته شود (AL-). (Aghabary et al., 2004).

خویشاوندان وحشی گیاهان، به‌دلیل قدمت و سازگاری به شرایط زیستی و عوامل نامساعد محیطی دارای مناسب‌ترین ژن‌ها بوده و تنوع ژنتیکی مورد نیاز اصلاح‌گران را تأمین می‌کنند. جنس *Aegilops* یکی از جنس‌های موجود در تیره *Triticaceae* بوده که گونه‌های موجود در این جنس به‌عنوان یکی از مهمترین خویشاوندان وحشی گندم، منبع با ارزشی برای ژن‌های مقاومت به تنش‌های زیستی و غیرزیستی به‌شمار می‌روند (Schneider et al., 2008). به‌طوری‌که تاکنون ژن‌های مقاومت به بسیاری از این تنش‌ها در گونه‌های آریلوپس شناسایی و به‌ارقام زراعی مدرن انتقال داده شده است (Pour-Aboughadareh et al., 2017).

ارزیابی خویشاوندان وحشی گندم برای مقاومت به تنش خشکی نشان داده است که *Ae. tauschii* و *Ae. peregrina*، *Ae. columnaris*، *Ae. umbellulata* و *Ae. triuncialis* مقاوم‌ترین گونه‌ها به تنش خشکی هستند (Damanian et al., 1992). در آزمایشی ۳۵۹ توده از گونه *Aegilops cylindrica* مطالعه شد و نتایج نشان داد که تنوع ژنتیکی قابل ملاحظه‌ای بین توده‌ها وجود داشت و صفات قطر ساقه، تعداد بذر در سنبلچه و ارتفاع بوته به‌ترتیب بزرگترین ضرایب تغییرات فنوتیپی را در بین صفات کمی نشان دادند (Taghipour et al., 2014). در ارزیابی گونه‌های وحشی گندم در شرایط تنش خشکی قابلیت بالایی از گونه‌های *Ae. triuncialis* و *Ae. cylindrica* در ارتباط با تحمل تنش خشکی گزارش شده است (Pour-Aboughadareh et al., 2017). همچنین کاهش محتوای کلروفیل در گونه *Ae. Tauschi* (Gautam et al., 2011)،

(al., 2005)، کاهش محتوای نسبی آب برگ و ایجاد اختلال در باز و بسته شدن روزنه‌ها، فرایندهای فتوسنتزی و در نتیجه کاهش عملکرد (Yang et al., 2007) خواهد شد. همچنین تنش خشکی تأثیر نامطلوبی بر میزان رنگیزه‌های فتوسنتزی همانند اجزای کلروفیل و کاروتنوئید دارد، به‌طوری‌که با تشدید تنش خشکی میزان رنگیزه‌های فتوسنتزی کاهش یافته که به‌دنبال این کاهش، قابلیت فتوسنتزی گیاه و در نتیجه میزان ساخت مواد غذایی به‌شدت تحت تأثیر قرار می‌گیرد. در نتیجه در مراحل پایانی رشد و دوره پر شدن دانه وزن هزار دانه و به‌دنبال آن عملکرد دانه کاهش می‌یابد (Behra et al., 2002). در بین رنگیزه‌های فتوسنتزی، کاروتنوئیدها از آنتی‌اکسیدان‌های غیرآنزیمی بوده و از سلول در مقابل رادیکال‌های آزاد محافظت می‌کنند (Hidalgo et al., 2006). کاروتنوئیدها افزون بر داشتن نقش به‌عنوان رنگدانه فرعی، به‌عنوان یک عامل آنتی‌اکسیدان مؤثر عمل نموده و نقش منحصر به‌فردی در حفاظت از فرایندهای فتوشیمیایی و حفظ و ادامه آنها ایفا می‌کنند (Farooq et al., 2008).

از جمله تغییرات ثانویه‌ای که گیاه در مواجهه با تنش خشکی ایجاد می‌کند افزایش تولید و انباشت فرم‌های متفاوتی از اکسیژن یا رادیکال‌های آزاد می‌باشد. در چنین شرایطی سلول‌های گیاهی به‌وسیله مجموعه‌ای از آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان غیرآنزیمی و آنزیمی، قادر به کاهش اثرات رادیکال‌های آزاد و از بین بردن آنها هستند، در نتیجه گیاه از آسیب مصون خواهد ماند (Hassanpour & Niknam, 2014). آنتی‌اکسیدان‌های آنزیمی شامل کاتالاز (Catalase: CAT)، سوپراکسید دیسموتاز (Superoxide dismutase: SOD)، آسکوربات پراکسیداز (Ascorbate peroxidase: APX) و گایاکول پراکسیداز (Guaiacol peroxidase: GPX) می‌باشند که رادیکال‌های سوپراکسید، هیدروژن پراکسید و پراکسیدهای آلی را در درون سلول‌ها خنثی می‌کنند (Hassanpour & Niknam, 2014). آنتی‌اکسیدان‌های غیرآنزیمی شامل ویتامین E، کاروتنوئیدها، ویتامین C، پلی‌فنل‌ها و اسیداوریک در خنثی‌سازی بسیاری از رادیکال‌های آزاد و گونه‌های فعال

Aegilops (جدول ۱) به همراه دو رقم شاهد گندم زراعی مقاوم (سیروان) و حساس (دریا) به تنش خشکی، آزمایشی در قالب فاکتوریل بر پایه طرح بلوک‌های کامل تصادفی با سه تکرار در گلخانه و آزمایشگاه دانشگاه بین‌المللی امام خمینی اجرا شد. به‌منظور برطرف کردن خواب بذر، ابتدا بذر تمام گونه‌های مورد بررسی در شرایط دمایی چهار درجه سانتی‌گراد به مدت ۴۸ ساعت نگهداری شدند. پس از این مرحله، بذرها هرگونه در گلدان‌های پلاستیکی پنج کیلوگرمی کشت گردیدند. محتوای هر گلدان شامل مخلوطی از خاک زراعی و ماسه با نسبت ۳:۱ (ماسه : خاک) بود. شرایط رشدی گلخانه با دوره نوری ۱۶:۸ (روشنایی: تاریکی) و شرایط دمایی ۲۵ - ۲۰ درجه سلسیوس در حد مطلوب برای رشد گیاهچه‌ها بهینه شد. پس از رشد و استقرار گیاهچه‌ها، تنش خشکی در مرحله سه‌برگی با شاخص ظرفیت زراعی مزرعه (Field capacity: FC) بر اساس روش پیشنهادی سوزا و همکاران (Souza et al., 2000) در سه سطح بدون تنش (۱۰۰ درصد ظرفیت زراعی)، تنش متوسط (۵۰ درصد ظرفیت زراعی) و تنش شدید (۲۵ درصد ظرفیت زراعی) اعمال شد. پس از گذشت چهار هفته از اعمال تنش، نمونه‌برداری از گیاهان انجام شد و صفات مورفو-فیزیولوژیکی و آنتی‌اکسیدانی اندازه‌گیری گردید.

عدم تغییر فعالیت آنزیم کاتالاز تحت تنش خشکی در ذرت (Bai & sui, 2006)، افزایش فعالیت آسکوربات پراکسیداز در اثر تنش خشکی در برنج (Sharma & Dubey, 2005) و افزایش فعالیت آسکوربات پراکسیداز در گندم تحت تنش خشکی (Talee Ahmad & Haddad, 2010) گزارش شده است.

نظر به اینکه گونه‌های جنس *Aegilops* دارای سطح بالایی از تنوع ژنتیکی و همچنین ظرفیت قابل توجهی در برابر انواعی از تنش‌های محیطی هستند، هدف از این تحقیق بررسی نقش تنوع ژنتیکی در پاسخ به تنش خشکی برخی از گونه‌های جنس *Aegilops* از نظر برخی از صفات مورفو- فیزیولوژیکی و آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان از جمله آنزیم‌های کاتالاز، سوپراکسید دیسموتاز، آسکوربات پراکسیداز و گایاکول پراکسیداز و آنتی‌اکسیدان غیرآنزیمی کاروتنوئید بود.

مواد و روش‌ها

به‌منظور بررسی اثر تنش خشکی بر محتوای رنگیزه‌های فتوسنتزی، وزن تر و خشک ریشه و اندام هوایی و فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان در شش گونه مختلف از جنس

جدول ۱- مشخصات ژنومی و محل جمع‌آوری گونه‌های آژیلوپس مورد مطالعه

محل جمع‌آوری بذر	ژنوم (Genome)	گونه (Species)
حیران گیلان	UUMM	<i>Aegilops neglecta</i>
اسلام‌آباد غرب کرمانشاه	UU	<i>Aegilops umbellulata</i>
شوراب لرستان	CC	<i>Aegilops caudata</i>
بروجرد لرستان	DDMM	<i>Aegilops crassa</i>
دره شهر ایلام	CCUU	<i>Aegilops triuncialis</i>
سنندج کردستان	DDCC	<i>Aegilops cylindrica</i>
مؤسسه اصلاح و تهیه نهال و بذر کرج	AABBDD	<i>Triticum aestivum</i> var. Sirvan
مؤسسه اصلاح و تهیه نهال و بذر کرج	AABBDD	<i>Triticum aestivum</i> var. Darya

اندازه‌گیری توانایی آن برای کاهش مهار فتوشیمیایی نیتروبلوتترازولیوم با استفاده از روش Dhindsa و همکاران (1992) سنجیده شد. مخلوط واکنش حاوی ۳ میلی‌لیتر بافر فسفات ۵۰ میلی‌مولار (pH=7.8)، متیونین ۱۳ میلی‌مولار، NBT ۷۵ میلی‌مولار، ریپوفلاوین ۲ میکرومولار و EDTA ۰/۱ میلی‌مولار به‌همراه صفر (شاهد) یا ۵۰ میکرولیتر عصاره آنزیمی بود. ریپوفلاوین در آخرین مرحله به ترکیب واکنش افزوده شد و لوله‌های حاوی مخلوط واکنش، زیر نور دو لامپ فلورسنت ۱۵ واتی روی شیکر به مدت ۱۰ دقیقه قرار گرفتند. سپس جذب نور در طول موج ۵۶۰ نانومتر با دستگاه اسپکتروفوتومتر قرائت شد.

سنجش آنزیم CAT: فعالیت آنزیم CAT با اندازه‌گیری میزان تجزیه پراکسید هیدروژن، با استفاده از روش Maehly و Chance (1959) سنجیده شد. مخلوط واکنش حاوی ۲/۵ میلی‌لیتر بافر فسفات ۵۰ میلی‌مولار (pH=7.4)، ۰/۱ میلی‌لیتر پراکسید هیدروژن ۱٪ و ۵۰ میلی‌لیتر عصاره آنزیمی بود. تخریب پراکسید هیدروژن با کاهش جذب در طول موج ۲۴۰ نانومتر با دستگاه اسپکتروفوتومتر سنجیده شد.

سنجش آنزیم APX: فعالیت آنزیم APX با استفاده از روش Chen و Asada (1989) محاسبه شد. مخلوط واکنش شامل یک میلی‌لیتر بافر فسفات ۵۰ میلی‌مولار (pH=7.0)، یک میلی‌مولار EDTA، ۰/۵ میلی‌مولار آسکوربات، ۱/۵۴ میلی‌مولار هیدروژن پراکسید و ۵۰ میکرولیتر عصاره آنزیمی بود. تخریب آسکوربات با کاهش جذب در طول موج ۲۹۰ نانومتر با دستگاه اسپکتروفوتومتر سنجیده شد.

سنجش آنزیم GPX: فعالیت آنزیم GPX با استفاده از روش Upadhyaya و همکاران (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 میکرولیتر عصاره آنزیمی بود. افزایش جذب در طول موج ۴۲۰ نانومتر ثبت شد.

اطلاعات به‌دست آمده با استفاده از نرم‌افزارهای SAS و SPSS تجزیه واریانس شدند و برای مقایسه میانگین از

وزن تر و خشک اندام‌های هوایی و ریشه: وزن تر و خشک اندام‌های هوایی و ریشه بر مبنای تک بوته با استفاده از ترازوی دیجیتال (دقت ۰/۰۰۰۱ گرم) اندازه‌گیری شد. پس از توزین وزن تر اندام هوایی، محتوای خاک هر گلدان تخلیه و پس از شستشوی ریشه‌ها و توزین وزن تر آنها، اندام‌های هوایی و ریشه در داخل پاکت‌های کاغذی به درون آون با شرایط دمایی ۷۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۷۲ ساعت منتقل و خشک شدند. پس از این مدت وزن خشک اندام هوایی و ریشه توزین و ثبت شد.

سنجش کلروفیل و کاروتنوئید: برای سنجش میزان کلروفیل a، کلروفیل b، کلروفیل کل و کاروتنوئید، ابتدا ۰/۲ گرم بافت تازه برگ با محلول استون ۸۰ درصد کوبیده شد. سپس بافت کوبیده شده با استفاده از استون ۸۰ درصد به حجم ۲۰ میلی‌لیتر رسانده شده و محلول به‌دست آمده به مدت ۱۰ دقیقه سانتریفیوژ (۱۲۰۰۰ دور در دقیقه) شد. پس از اتمام سانتریفیوژ عصاره به‌دست آمده در طول موج‌های ۴۸۰، ۵۱۰، ۶۶۳ و ۶۴۵ نانومتر با دستگاه اسپکتروفوتومتر برای محاسبه فرمولی (Nogues & Baker, 2000) میزان کلروفیل a، کلروفیل b، کلروفیل کل و کاروتنوئید قرائت شد. استخراج عصاره برای سنجش آنزیم و پروتئین: برای استخراج عصاره آنزیمی، ۰/۵ گرم بافت برگ تازه در ازت مایع کوبیده شد و ۱۵۰۰ میکرولیتر بافر استخراج (0.05 M Tris-HCl buffer (pH=7.5), 3 mM MgCl₂, 1mM EDTA, 1.5% w/v PVPP) به آن افزوده شد. سپس محلول به‌دست آمده به مدت ۲۰ دقیقه در دمای چهار درجه سانتی‌گراد سانتریفیوژ (۱۳۰۰۰ دور) شد. عصاره گیاهی جداسازی و برای سنجش میزان پروتئین و آنزیم‌های آنتی اکسیدان مورد استفاده قرار گرفت (Kang & Saltveit, 2002).

سنجش محتوای پروتئین برگ: محتوای پروتئین کل با استفاده از روش بردفورد (Bradford, 1976) در طول موج ۵۹۵ نانومتر، با استفاده از آلبومین سرم گاوی (BSA) به عنوان یک استاندارد تعیین شد.

سنجش آنزیم SOD: فعالیت آنزیم SOD از طریق

آزمون دانکن در سطح احتمال مربوطه استفاده شد.

نتایج

نتایج تجزیه واریانس (جدول ۲) نشان داد از نظر کلیه صفات به جز محتوای پروتئین کل بین سطوح مختلف تنش خشکی اختلاف معنی داری وجود داشت. همچنین بین گونه‌های مختلف از نظر کلیه صفات اختلاف معنی داری به دست آمد. اثر متقابل تنش و گونه نیز برای کلیه صفات

به جز وزن تر اندام هوایی، وزن تر و خشک ریشه و میزان کاروتنوئید معنی دار بودند که این نتیجه بیانگر پاسخ متفاوت گونه‌های مورد مطالعه به تغییرات سطوح تنش خشکی می‌باشد. بالا بودن درصد ضریب تغییرات صفات نشان داد که کلیه صفات از میزان تغییرات نسبتاً بالایی برخوردارند که این نتیجه می‌تواند بیانگر وجود سطح قابل توجهی از تنوع ژنتیکی موجود در این منابع ژرم پلاسمی مورد مطالعه در پاسخ به تنش خشکی باشد.

جدول ۲- میانگین مربعات حاصل از تجزیه واریانس اثر تنش خشکی بر صفات فیزیولوژیک و آنتی‌اکسیدان‌ها در گونه‌های جنس آژیلوپس

منابع تغییر	D.F.	کلروفیل a	کلروفیل b	کلروفیل کل	کاروتنوئید	پروتئین	کاتالاز (CAT)
تکرار	۲	ns./۰.۰۲	ns./۰.۴۲	ns./۰.۰۶	*۱/۶۴	ns./۰.۴۷	ns./۰.۲۵
تنش خشکی	۲	**۰/۴۳۵	**۳۱/۱	**۴۱/۸	**۲۹/۶	ns/۱/۲۷	**۶/۷
گونه	۷	**۰/۰.۳۷	**۴/۱	**۳/۸۵	*۲/۶۸	**۷/۸۷	*۲/۵۵
تنش × گونه	۱۴	**۰/۰.۲۹	**۲/۳۱	**۲/۴۷	ns/۱/۲۷	**۴/۲۱	*۲/۴۶
خطای آزمایشی	۴۶	۰/۰.۰۱	۰/۱۴	۰/۰.۴۱	۰/۴۹	۰/۴۵	۰/۲۳

ادامه جدول ۲-

منابع تغییر	D.F.	سوپراکسید دیسموتاز (SOD)	آسکوربات پراکسیداز (APX)	گیاکول پروکسیداز (GPX)	وزن تر ریشه	وزن خشک ریشه	وزن تر اندام هوایی	وزن خشک اندام هوایی
تکرار	۲	**۴/۲۵	ns./۰.۱۶	ns./۰.۳۱	ns./۰.۱۱	ns/۱/۴۶	ns/۱/۱۱	ns./۰.۷۷
تنش خشکی	۲	**۳/۲۱	**۲/۴۵	**۸/۵۷	**۱۴/۲	**۱۳/۶	**۸/۵۵	**۱۷/۳۹
گونه	۷	**۲۰/۷	**۵/۵۹	**۵/۶۶	*۲/۱۸	**۲/۴۲	**۵/۵۵	**۱۱/۵
تنش × گونه	۱۴	**۱۰/۲۹	**۵/۴۱	**۲/۸۵	ns/۱/۴	ns./۰.۹۱	ns./۰.۹۵	*۲/۲۲
خطای آزمایشی	۴۶	۰/۴۵	۰/۳۱	۰/۱۱	۰/۵۶	۰/۷۲	۰/۸۵۹	۰/۵۰

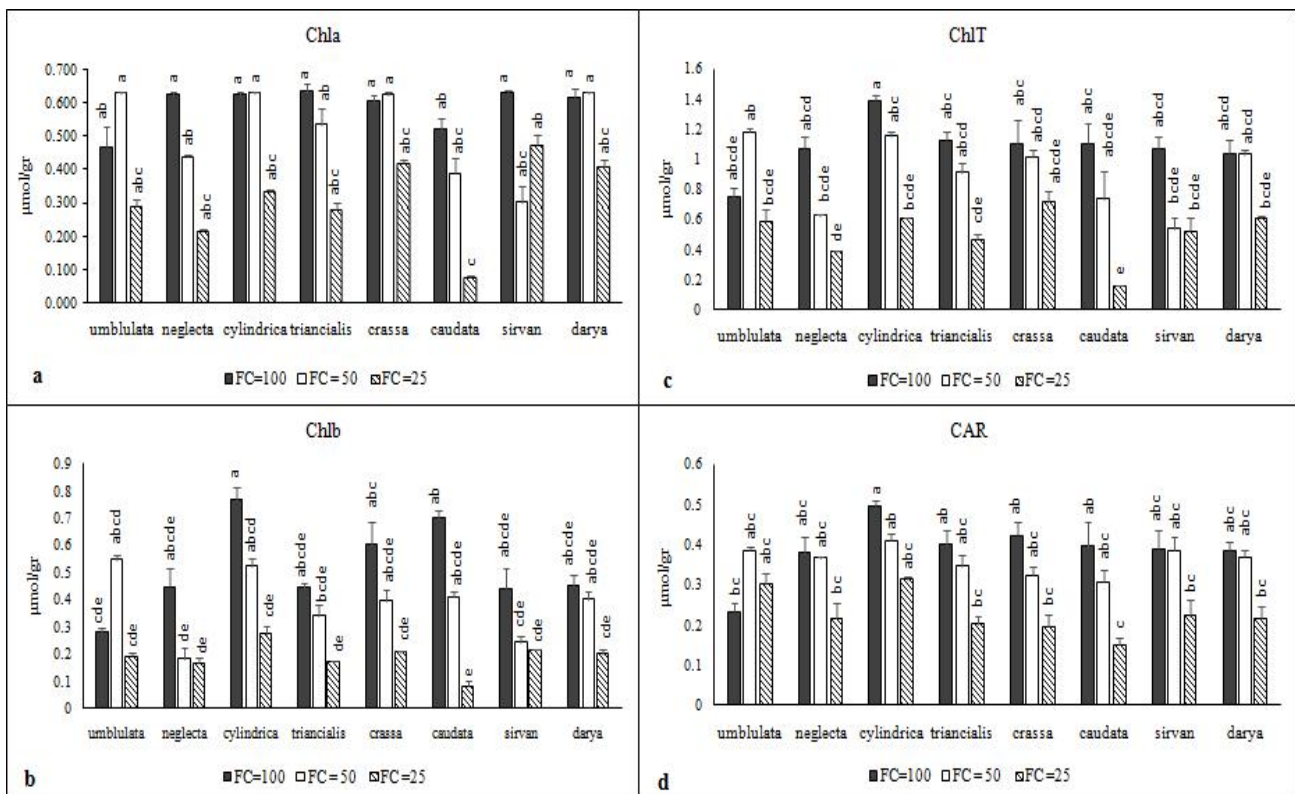
ns, *, **, به ترتیب غیر معنی دار و معنی دار در سطوح احتمال P 0.05 و P 0.01

کاهش وزن تر و خشک اندام هوایی و ریشه بارزترین ویژگی رشدی گیاه در بروز علائم تنش می‌باشد. نتایج مقایسه میانگین صفات برای اثر متقابل گونه در تنش‌های خشکی در شکل‌های ۱ تا ۴ نشان داده شده است. روند

بر اساس نتایج حاصل شده، وزن تر و خشک اندام هوایی، رنگیزه‌های فتوسنتزی (کلروفیل a، کلروفیل b، کلروفیل کل و کاروتنوئید) و محتوای پروتئین برگ با افزایش شدت تنش خشکی دارای روند کاهشی بودند.

به طوری که گونه‌های *Ae. cylindrica* در شرایط عدم تنش و *Ae. caudata* در شرایط تنش شدید به ترتیب دارای بیشترین و کمترین میزان کلروفیل b در مقایسه با سایر گونه‌ها و ارقام شاهد بودند. با این حال، در گونه *Ae. umbellulata* بیشترین میزان این صفت در شرایط تنش متوسط مشاهده شد. همچنین در شرایط تنش شدید گونه *Ae. cylindrica* از بیشترین میزان کلروفیل b برخوردار بود.

تغییرات و تخریب کلروفیل a در تنش‌های متوسط و شدید برای گونه‌های مختلف در شکل ۱-ا نشان داده شده است. به طوری که بیشترین و کمترین میزان کلروفیل a به ترتیب در گونه‌های *Ae. triuncialis* در شرایط بدون تنش و *Ae. caudata* در شرایط تنش شدید مشاهده شد (شکل ۱-ا). از نظر میزان کلروفیل b (شکل ۱-ب) نیز گونه‌های مختلف روند متفاوتی را در هر یک از شرایط تنش نشان دادند،



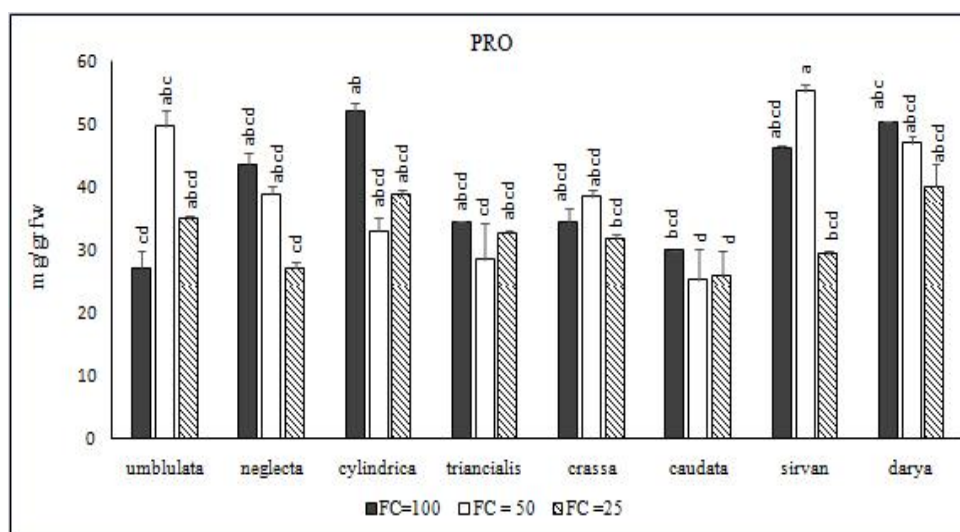
شکل ۱- مقایسه میانگین اثرات متقابل گونه \times تنش برای (a) کلروفیل a، (b) کلروفیل b، (c) کلروفیل کل و (d) کاروتنوئید در شش گونه از جنس آزیلوپس به همراه دو رقم مقاوم (سیروان) و حساس (دریا) به تنش خشکی در شرایط عدم تنش (FC=100)، تنش متوسط (FC=50) و تنش شدید (FC=25). (میانگین‌های با حروف مشترک در بالای هر ستون، تفاوت آماری معنی‌داری ندارند).

Ae. umbellulata و *Ae. cylindrica* در شرایط تنش متوسط و *Ae. caudata* در شرایط تنش شدید بود (شکل ۱-ب). نتایج حاصل از این پژوهش نشان داد که تنش خشکی می‌تواند یکی از عوامل مؤثر در میزان کاروتنوئیدها باشد، زیرا تمام گونه‌های مورد مطالعه به جز گونه

از نظر محتوای کلروفیل کل (شکل ۱-ج) در شرایط عدم تنش، کلیه گونه‌ها به جز گونه‌های *Ae. cylindrica* و *Ae. umbellulata* دارای میزان کلروفیل تقریباً یکسانی بودند. با این حال، در شرایط تنش متوسط و شدید تفاوت بین گونه‌ها معنی‌دار و بیشترین میزان کلروفیل کل مربوط به

پروتئین در هریک از تنش‌های متوسط و شدید بر خلاف کاهش در سایر گونه‌ها، در گونه *Ae. umbellulata* نسبت به شرایط عدم تنش افزایش معنی‌داری داشت. علاوه بر این، در شرایط تنش خشکی متوسط رقم شاهد مقاوم Sirvan و گونه *Ae. crassa* دارای مقدار پروتئین بیشتری بودند.

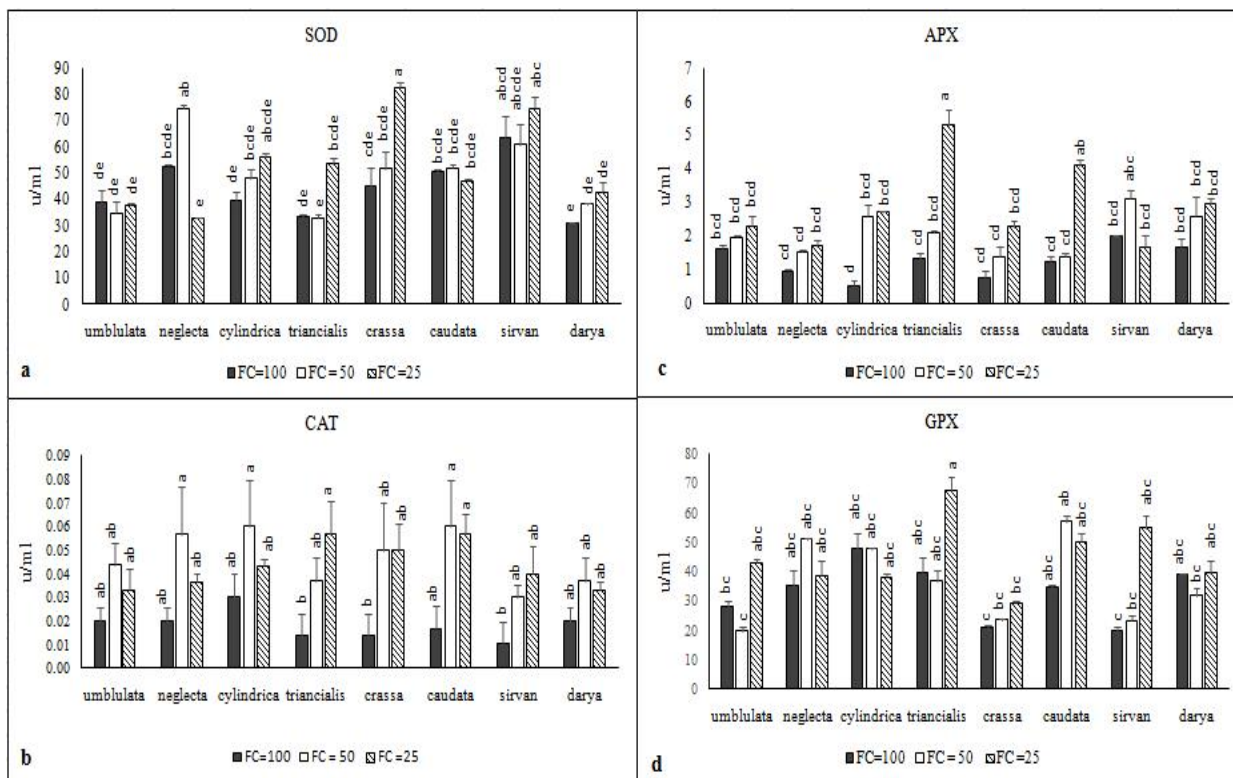
Ae. umbellulata تحت تنش خشکی روند کاهشی نشان دادند (شکل ۱-d). با توجه به شکل ۱-d مشخص شد در شرایط عدم تنش و تنش خشکی متوسط و شدید گونه *Ae. cylindrica* نسبت به سایر گونه‌ها از بیشترین میزان کاروتنوئید برخوردار بود. نتایج (شکل ۲) نشان داد که روند تغییرات میزان



شکل ۲- مقایسه میانگین اثرات متقابل گونه \times تنش برای مقدار پروتئین کل در شش گونه از جنس آزیلوپس به همراه دو رقم مقاوم (سیروان) و حساس (دریا) به تنش خشکی در شرایط عدم تنش (FC=100)، تنش متوسط (FC=50) و تنش شدید (FC=25). (میانگین‌های با حروف مشترک در بالای هر ستون تفاوت آماری معنی‌داری ندارند).

نشان داد (شکل ۳-a). به طوری که بیشترین مقدار آنزیم کاتالاز تحت تنش خشکی شدید به ترتیب در گونه‌های *Ae. crassa*، *Ae. caudata*، *Ae. triuncialis* و *Ae. umbellulata* کمترین مقدار آن در گونه *Ae. umbellulata* و رقم شاهد حساس Darya مشاهده شد (شکل ۳-b). در تمامی گونه‌های مورد بررسی میزان این آنزیم تحت شرایط تنش خشکی بیش از مقدار آن در شرایط بدون تنش بود (شکل ۳-b).

بالاترین میزان فعالیت آنزیم SOD در شرایط خشکی شدید در گونه *Ae. crassa* و رقم شاهد مقاوم Sirvan و کمترین مقدار آن در گونه *Ae. neglecta* مشاهده شد (شکل ۳-a). در گونه‌های *Ae. cylindrica*، *Ae. crassa*، *Ae. triuncialis* و ارقام شاهد Sirvan و Darya میزان آنزیم SOD با افزایش شدت تنش خشکی افزایش یافت، اما در گونه *Ae. neglecta* با افزایش شدت تنش خشکی میزان آنزیم SOD کاهش معنی‌داری

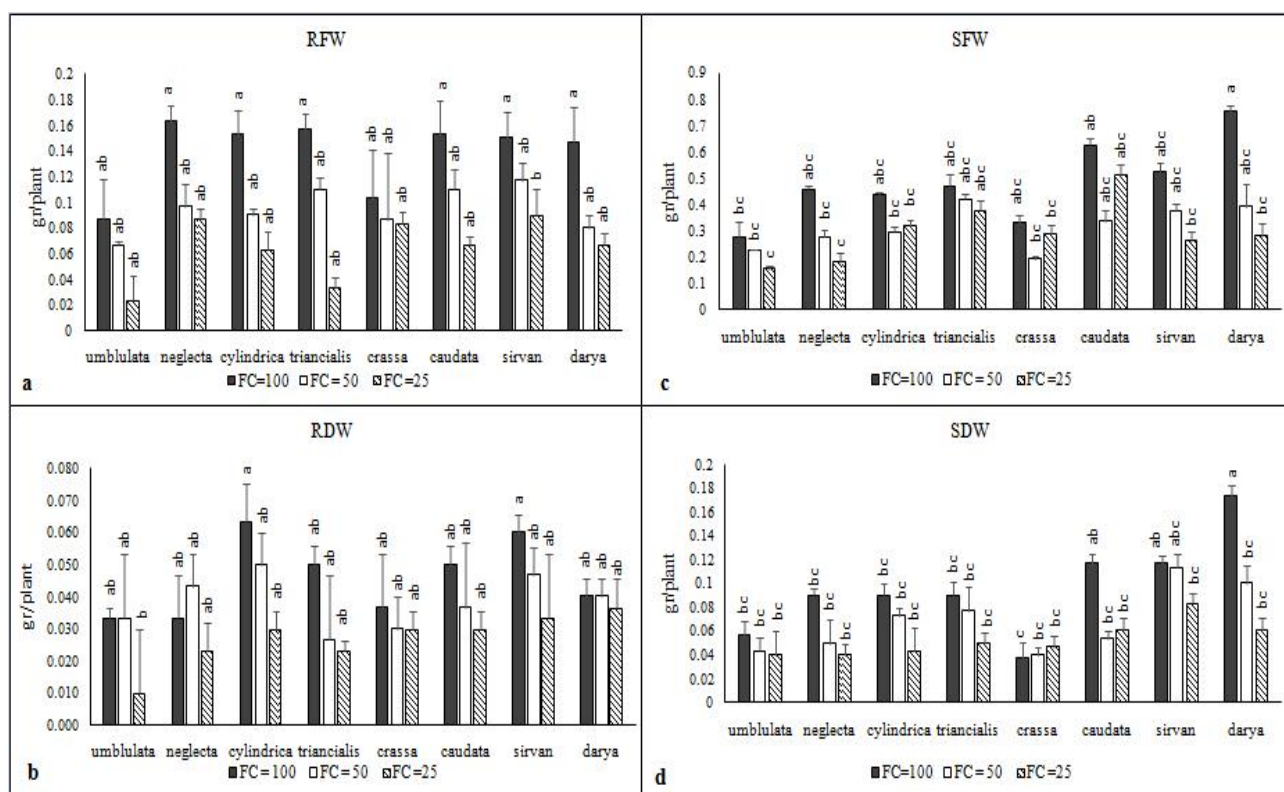


شکل ۳- مقایسه میانگین اثرات متقابل گونه \times تنش برای (a) SOD، (b) CAT، (c) APX و (d) GPX در شش گونه از جنس آزیلوپس به همراه دو رقم مقاوم (سیروان) و حساس (دریا) به تنش خشکی در شرایط عدم تنش (FC=100)، تنش متوسط (FC=50) و تنش شدید (FC=25). (میانگین-های با حروف مشترک در بالای هر ستون تفاوت آماری معنی داری ندارند).

Sirvan تحت تنش خشکی مشاهده شد.

نتایج مقایسه میانگین نشان داد که صفات وزن تر و خشک ریشه و اندام هوایی تحت تأثیر تنش خشکی در تمامی گونه-های مورد بررسی کاهش یافتند و بیشترین وزن تر ریشه در گونه *Ae. neglecta* در تیمار عدم تنش و کمترین مقدار آن در گونه *Ae. umbellulata* در تیمار تنش شدید مشاهده شد (شکل ۴-ا). به طوری که کمترین میزان کاهش و به عبارتی بیشترین میزان وزن تر ریشه در گونه‌های *Ae. triuncialis* مشاهده شد. در تیمار عدم تنش و کمترین مقدار به ترتیب در گونه *Ae. cylindrica* در تیمار عدم تنش و گونه *Ae. umbellulata* در تیمار تنش شدید مشاهده شد (شکل ۴-ب). همچنین بیشترین وزن خشک ریشه در تنش متوسط در گونه *Ae. cylindrica* و رقم شاهد مقاوم Sirvan به دست آمد.

بالاترین میزان فعالیت آنزیم APX تحت تنش خشکی شدید در گونه‌های *Ae. triuncialis* و *Ae. caudata* و کمترین مقدار آن در گونه *Ae. neglecta* مشاهده شد (شکل ۳-ج). در تمام گونه‌های مورد بررسی میزان فعالیت آنزیم APX با افزایش شدت تنش خشکی افزایش نشان داد (به جز رقم Sirvan که این افزایش در گونه‌های *Ae. triuncialis* و *Ae. caudata* از بیشترین مقدار برخوردار بود (شکل ۳-د)). مقایسه میانگین میزان فعالیت آنزیم GPX نشان دهنده بالا بودن مقدار آن در گونه *Ae. triuncialis* تحت تنش خشکی شدید و پایین بودن مقدار آن در گونه *Ae. umbellulata* تحت تنش خشکی متوسط بود (شکل ۳-د). در تمام گونه‌های مورد بررسی به جز رقم شاهد حساس Darya و گونه *Ae. cylindrica*، میزان فعالیت آنزیم GPX با افزایش شدت تنش خشکی افزایش نشان داد (شکل ۳-د)، به طوری که بالاترین میزان افزایش در گونه‌های *Ae. triuncialis* و *Ae. caudata* و رقم شاهد مقاوم



شکل ۴- مقایسه میانگین اثرات متقابل گونه \times تنش برای (a) وزن تر ریشه، (b) وزن خشک ریشه، (c) وزن تر اندام هوایی و (d) وزن خشک اندام- هوایی در شش گونه از جنس آژیلوپس به همراه دو رقم مقاوم (سیروان) و حساس (دریا) به تنش خشکی در شرایط عدم تنش (FC=100)، تنش متوسط (FC=50) و تنش شدید (FC=25). (میانگین‌های با حروف مشترک در بالای هر ستون تفاوت آماری معنی‌داری ندارند).

کمترین درصد کاهش در تنش‌های متوسط و شدید نسبت به عدم تنش مشاهده شد.

بحث

بر اساس مقایسه میانگین صفات، در این تحقیق میزان کلروفیل a، کلروفیل b و کلروفیل کل با افزایش شدت تنش خشکی دارای روند کاهشی بود. از این رو، غلظت رنگیزه‌های فتوسنتزی در شرایط کم آبی می‌تواند به‌عنوان یک عامل محدودکننده غیر روزنه‌ای به حساب آید. یکی از دلایل این کاهش را می‌توان به افزایش میزان فعالیت آنزیم کلروفیلاز نسبت داد که تحت شرایط تنش خشکی بیان آن القاء خواهد شد (Ranjan et al, 2001). از دلایل دیگر کاهش کلروفیل برگ می‌توان به افزایش فعالیت آنزیم پراکسیداز و ترکیبات فنلی و در نتیجه تجزیه کلروفیل اشاره کرد (Talee Ahmad

بیشترین وزن تر اندام هوایی در رقم Darya در تیمار عدم تنش و کمترین مقدار آن در گونه *Ae. umbellulata* در تنش شدید مشاهده شد (شکل ۴- c). رقم شاهد حساس Darya بالاترین درصد کاهش وزن تر ساقه را در تنش‌های متوسط و شدید نشان داد، در حالی‌که گونه *Ae. triuncialis* کمترین میزان کاهش در تنش‌های متوسط و شدید را نسبت به شرایط عدم تنش نشان داد (شکل ۴- c). در صفت وزن خشک اندام هوایی نیز بیشترین مقدار در رقم شاهد حساس Darya در تیمار عدم تنش و کمترین مقدار آن در گونه-های *Ae. neglecta* و *Ae. umbellulata* تحت تنش شدید مشاهده شد (شکل ۴- d). مشابه با وزن تر اندام هوایی، بالاترین درصد کاهش در وزن خشک اندام هوایی در رقم حساس Darya اتفاق افتاد، در حالی‌که در رقم شاهد مقاوم *Ae. cylindrica* و *Ae. triuncialis* Sirvan و گونه‌های

رنگدانه فرعی، به‌عنوان یک عامل آنتی‌اکسیدان مؤثر عمل نموده و نقش منحصربه‌فردی در حفاظت از فرایندهای فتوشیمیایی و حفظ و ادامه آنها ایفا می‌کنند (Farooq *et al.*, 2008). کاهش کاروتنوئیدها ممکن است در کاهش غلظت کلروفیل نقش ایفا کند، زیرا کاروتنوئیدها کلروفیل را از تخریب فتواکسیداتیو حفاظت می‌کنند (Singh & Patel, 1996). گونه‌هایی که بتوانند محتوای کاروتنوئید بیشتری داشته باشند، در مقابل گونه‌های اکسیژن فعال دفاع موفق‌تری داشته و در شرایط تنش کمبود آب تحمل بیشتری از خود نشان می‌دهند (Noctor & Foyer, 1998). البته کاهش میزان کلروفیل در شرایط تنش خشکی می‌تواند یک جنبه سازگاری و مفید داشته باشد و با کاهش کلروفیل میزان انرژی خورشیدی جذب شده کاهش یافته و به‌دنبال آن خسارت‌های ناشی از تشکیل رادیکال‌های آزاد اکسیژن کاهش یابد (Tavakoli *et al.*, 2009).

باتوجه به نتایج به‌دست آمده در این تحقیق مشخص شد که در بین گونه‌های مختلف آزیلویس، *Ae. cylindrica* و *Ae. caudata* در شرایط تنش خشکی نسبت به سایر گونه‌ها و ارقام مقاوم و حساس به تنش خشکی از نظر میزان رنگیزه‌های فتوسنتزی نمود بهتری داشتند که این نتیجه می‌تواند در بکارگیری این گونه‌ها در برنامه‌های اصلاحی مفید واقع شود. پیش از این Pour-Aboughadareh و همکاران (2017) نیز در ارزیابی گونه‌های ژرم‌پلاسمی گندم در شرایط تنش خشکی قابلیت بالایی از گونه‌های *Ae. cylindrica* و *Ae. triuncialis* را گزارش کردند؛ به‌طوری‌که این محققان اظهار داشتند قابلیت فتوسنتزی و فیزیولوژیکی بالای این گونه‌ها می‌تواند مرتبط با ساختار ژنومی C در آنها باشد.

کاهش محتوای پروتئین تحت تنش خشکی با واکنش پروتئین با رادیکال‌های آزاد و افزایش فعالیت آنزیم‌های تجزیه‌کننده پروتئین مرتبط است (Ranjan *et al.*, 2001). نتایج حاصل از این آزمایش نشان داد که میزان پروتئین در هریک از تنش‌های متوسط و شدید بر خلاف کاهش در سایر گونه‌ها، در گونه *Ae. umbellulata* افزایش معنی‌داری

(Haddad, 2010). کاهش میزان فتوسنتز در شرایط تنش خشکی، می‌تواند به‌دلیل تغییر میزان رنگدانه‌های فتوسنتزی از جمله کلروفیل a، کلروفیل b و کاروتنوئید باشد. ممانعت از سنتز کلروفیل و کاهش مقدار پروتئین متصل‌شونده به کلروفیل، سبب کاهش میزان کمپلکس پروتئین-رنگدانه دریافت‌کننده نور می‌شود، در نتیجه میزان فتوسنتز تحت تأثیر تنش خشکی کاهش می‌یابد (Nunes *et al.*, 2008). یکی دیگر از دلایل کاهش غلظت رنگیزه‌های فتوسنتزی در شرایط خشکی را می‌توان به حمله رادیکال‌های آزاد ناشی از تنش اکسیداتیو نسبت داد (Talee Ahmad & Haddad, 2010). بیشتر مطالعات نشان می‌دهد که در شرایط تنش خشکی کاهش میزان فتوسنتز با اختلال در واکنش‌های بیوشیمیایی همراه می‌باشد، فتوسیستم نوری دو (PSII) بسیار حساس به عوامل بازدارنده محیطی بوده و تنش خشکی موجب خسارت به مراکز واکنش PSII می‌شود. در شرایط تنش، کمپلکس‌های دریافت‌کننده نور بیشتر آسیب می‌بینند که باعث کاهش شدید کلروفیل b در کلروپلاست و افزایش نسبت کلروفیل a به b تحت تنش خواهد شد (Taghipour *et al.*, 2014). تحقیقات نشان می‌دهد که میزان رنگیزه‌های فتوسنتزی در بسیاری از گیاهان متأثر از کم‌آبی بوده و می‌تواند به‌عنوان یکی از شاخص‌های تحمل به خشکی مورد توجه قرار گیرد (Kauseri *et al.*, 2006). در تحقیقی برای گیاه *Ae. tauschii* تنش خشکی موجب کاهش ۲۵ درصدی در محتوای کلروفیل آن گردید (Gautam *et al.*, 2011).

بررسی‌ها مؤید این است که کاروتنوئیدها نقش مهمی در پاسخ گیاه به تنش خشکی دارند، بنابراین در افزایش مقاومت به خشکی نقش مؤثری دارند (Jaleel *et al.*, 2008). در این تحقیق نیز مشاهده شد که در گونه *Ae. umbellulata* میزان کاروتنوئید در اثر اعمال تنش خشکی نسبت به عدم تنش افزایش یافت. کاروتنوئیدها طبقه بزرگی از مولکول‌های ایزوپروپونوئیدها هستند که توسط همه اندام‌های فتوسنتزکننده و بسیاری از اندام‌های غیرفتوسنتزی گیاه ساخته می‌شوند. کاروتنوئیدها افزون بر داشتن نقش به‌عنوان

داشت. از این رو به نظر می‌رسد که افزایش در میزان پروتئین در شرایط تنش در گونه *Ae. umbellulata* به دلیل سنتز پروتئین‌های جدید و یا افزایش سطح پروتئین‌های مرتبط با سازگاری و تطابق گیاه به شرایط خشکی باشد، که در این رابطه می‌توان به آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان اشاره نمود (Talee & Ahmad, 2010).

در تنش خشکی به علت عدم توازن بین دریافت نور و مصرف آن، فعالیت فتوسنتزی مختل می‌گردد. تنظیم نامناسب فتوسیستم II موجب عدم توازن بین تولید و مصرف الکترون شده که منجر به تولید گونه‌های فعال اکسیژن می‌شود. رادیکال‌های آزاد اکسیژن علاوه بر صدمه به سلول‌های گیاهی، به عنوان مولکول‌های نشانگر عمل کرده و سبب فعالسازی پاسخ‌های دفاعی موجود زنده در برابر تنش اعمال شده می‌گردند (Arora et al., 2002). گیاهان به منظور خنثی کردن اثرات سمی رادیکال‌های آزاد اکسیژن از دو سیستم ضد اکسندگی آنزیمی و غیر آنزیمی استفاده می‌کنند. برخلاف نتایج حاصل از این تحقیق، در مطالعه‌ای در گیاه ذرت تحت شرایط تنش خشکی تغییر معنی‌داری در میزان فعالیت آنزیم کاتالاز در مقایسه با شرایط عدم تنش مشاهده نگردید (Bai & sui, 2006). همچنین کاهش در فعالیت آنزیم‌های CAT و SOD تحت تنش شوری در گوجه فرنگی گزارش شده است (AL-Aghabary et al., 2004). آنزیم سوپراکسید دیسموتاز (SOD) اولین خط دفاعی سلول در برابر حمله رادیکال‌های آزاد است. تنش خشکی با افزایش در محتوای رادیکال‌های آزاد اکسیژن باعث افزایش در محتوای مالون‌دی‌آلدئید که محصول پراکسیداسیون چربی‌های غشاء است می‌گردد، در اثر این تیمار فعالیت آنزیم SOD کاهش می‌یابد (Liang et al., 2003).

در بافت‌های گیاهی دو آنزیم کاتالاز و آسکوربات-پراکسیداز نقش مهمی در زدودن پراکسید هیدروژن ایفا می‌کنند، در نتیجه در راستای افزایش فعالیت آنزیم SOD، افزایش فعالیت این دو آنزیم نیز قابل پیش‌بینی است. آنزیم CAT قادر است بدون نیاز به عامل احیاءکننده، H_2O_2

موجود در سلول را به H_2O و O_2 تبدیل کند (Brisson et al., 1998). این آنزیم دارای نقش دوگانه بوده و قادر است با اکسیژن نیز واکنش داده و به جای فسفولگیسرات، فسفولگیکولات تولید کند که در نهایت به آزاد شدن CO_2 می‌انجامد. H_2O_2 اضافی در دمای بالا از طریق دکربوکسیلاسیون فسفولگیکولات به آزاد شدن CO_2 و تسریع تنفس نوری کمک می‌کند و از آنجایی‌که تنفس نوری با تولید CO_2 و مصرف ATP همراه است، زائد به نظر می‌رسد (Brisson et al., 1998). بنابراین با افزایش میزان کاتالاز به دلیل نقش آن در زدودن H_2O_2 از محیط، به کاهش تنفس نوری و کاهش نقطه جبرانی CO_2 نیز کمک می‌کند. کاتالاز علاوه بر اینکه H_2O_2 را از محیط حذف می‌کند کمبود اکسیژن حاصل از واکنش را نیز جبران می‌کند. بنابراین ارتباط بین تحمل به خشکی با فعالیت آنزیم کاتالاز ممکن است به نحوه عمل این آنزیم در کاهش تنفس نوری و نقش ضد اکسندگی آن مرتبط باشد. معمولاً فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز در طول فعالیت سایر آنزیم‌های ضد اکسندگی در واکنش به فاکتورهای تنش‌زا افزایش می‌یابد. یکی از منابع تولیدکننده H_2O_2 در سلول‌های گیاهی آنزیم SOD است که از طریق دیسموتاسیون رادیکال سوپراکسید در کلروپلاست منجر به تولید H_2O_2 می‌گردد (Arora et al., 2002). همان‌گونه که ذکر شد آنزیم کاتالاز قادر به زدایش H_2O_2 از محیط می‌باشد، اما از آنجایی‌که این آنزیم در پراکسی‌زوم سلول‌های برگ‌ها واقع شده و در کلروپلاست یافت نمی‌شود، بنابراین H_2O_2 تولید شده در کلروپلاست بوسیله دو فرم tAPX و sAPX از محیط حذف می‌گردند. در این راستا نتایج حاصل از این تحقیق نشان داد که به موازات افزایش فعالیت آنزیم SOD، میزان فعالیت آنزیم APX نیز افزایش می‌یابد. همچنین در این تحقیق فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز در اثر تنش افزایش یافت. این آنزیم کارایی بالایی در محافظت از گیاهان در برابر تنش‌های اکسیداتیو دارد. در توافق با نتایج این آزمایش، افزایش فعالیت آسکوربات پراکسیداز در اثر تنش خشکی در برنج نیز گزارش شده است (Sharma & Dubey, 2003).

موجود در سلول را به H_2O و O_2 تبدیل کند (Brisson et al., 1998). این آنزیم دارای نقش دوگانه بوده و قادر است با اکسیژن نیز واکنش داده و به جای فسفولگیسرات، فسفولگیکولات تولید کند که در نهایت به آزاد شدن CO_2 می‌انجامد. H_2O_2 اضافی در دمای بالا از طریق دکربوکسیلاسیون فسفولگیکولات به آزاد شدن CO_2 و تسریع تنفس نوری کمک می‌کند و از آنجایی‌که تنفس نوری با تولید CO_2 و مصرف ATP همراه است، زائد به نظر می‌رسد (Brisson et al., 1998). بنابراین با افزایش میزان کاتالاز به دلیل نقش آن در زدودن H_2O_2 از محیط، به کاهش تنفس نوری و کاهش نقطه جبرانی CO_2 نیز کمک می‌کند. کاتالاز علاوه بر اینکه H_2O_2 را از محیط حذف می‌کند کمبود اکسیژن حاصل از واکنش را نیز جبران می‌کند. بنابراین ارتباط بین تحمل به خشکی با فعالیت آنزیم کاتالاز ممکن است به نحوه عمل این آنزیم در کاهش تنفس نوری و نقش ضد اکسندگی آن مرتبط باشد. معمولاً فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز در طول فعالیت سایر آنزیم‌های ضد اکسندگی در واکنش به فاکتورهای تنش‌زا افزایش می‌یابد. یکی از منابع تولیدکننده H_2O_2 در سلول‌های گیاهی آنزیم SOD است که از طریق دیسموتاسیون رادیکال سوپراکسید در کلروپلاست منجر به تولید H_2O_2 می‌گردد (Arora et al., 2002). همان‌گونه که ذکر شد آنزیم کاتالاز قادر به زدایش H_2O_2 از محیط می‌باشد، اما از آنجایی‌که این آنزیم در پراکسی‌زوم سلول‌های برگ‌ها واقع شده و در کلروپلاست یافت نمی‌شود، بنابراین H_2O_2 تولید شده در کلروپلاست بوسیله دو فرم tAPX و sAPX از محیط حذف می‌گردند. در این راستا نتایج حاصل از این تحقیق نشان داد که به موازات افزایش فعالیت آنزیم SOD، میزان فعالیت آنزیم APX نیز افزایش می‌یابد. همچنین در این تحقیق فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز در اثر تنش افزایش یافت. این آنزیم کارایی بالایی در محافظت از گیاهان در برابر تنش‌های اکسیداتیو دارد. در توافق با نتایج این آزمایش، افزایش فعالیت آسکوربات پراکسیداز در اثر تنش خشکی در برنج نیز گزارش شده است (Sharma & Dubey, 2003).

در تنش خشکی به علت عدم توازن بین دریافت نور و مصرف آن، فعالیت فتوسنتزی مختل می‌گردد. تنظیم نامناسب فتوسیستم II موجب عدم توازن بین تولید و مصرف الکترون شده که منجر به تولید گونه‌های فعال اکسیژن می‌شود. رادیکال‌های آزاد اکسیژن علاوه بر صدمه به سلول‌های گیاهی، به عنوان مولکول‌های نشانگر عمل کرده و سبب فعالسازی پاسخ‌های دفاعی موجود زنده در برابر تنش اعمال شده می‌گردند (Arora et al., 2002). گیاهان به منظور خنثی کردن اثرات سمی رادیکال‌های آزاد اکسیژن از دو سیستم ضد اکسندگی آنزیمی و غیر آنزیمی استفاده می‌کنند. برخلاف نتایج حاصل از این تحقیق، در مطالعه‌ای در گیاه ذرت تحت شرایط تنش خشکی تغییر معنی‌داری در میزان فعالیت آنزیم کاتالاز در مقایسه با شرایط عدم تنش مشاهده نگردید (Bai & sui, 2006). همچنین کاهش در فعالیت آنزیم‌های CAT و SOD تحت تنش شوری در گوجه فرنگی گزارش شده است (AL-Aghabary et al., 2004). آنزیم سوپراکسید دیسموتاز (SOD) اولین خط دفاعی سلول در برابر حمله رادیکال‌های آزاد است. تنش خشکی با افزایش در محتوای رادیکال‌های آزاد اکسیژن باعث افزایش در محتوای مالون‌دی‌آلدئید که محصول پراکسیداسیون چربی‌های غشاء است می‌گردد، در اثر این تیمار فعالیت آنزیم SOD کاهش می‌یابد (Liang et al., 2003).

در بافت‌های گیاهی دو آنزیم کاتالاز و آسکوربات-پراکسیداز نقش مهمی در زدودن پراکسید هیدروژن ایفا می‌کنند، در نتیجه در راستای افزایش فعالیت آنزیم SOD، افزایش فعالیت این دو آنزیم نیز قابل پیش‌بینی است. آنزیم CAT قادر است بدون نیاز به عامل احیاءکننده، H_2O_2

- Transactions of the Royal Society of London. Series B, 355: 1419-1431.
- Bai, L. and Sui, F., 2006. Effect of soil drought stress on leaf of maize. *Pedosphere*, 16:326-332.
 - Behra, R.K., Mishra, P.C. and Choudhury, N.K., 2002. High irradiance and water stress induce alterations in pigment composition and chloroplast activities of primary wheat leaves. *Plant Physiology*, 159: 967-973.
 - Bradford, M.M., 1976. A rapid and sensitive method for the quantitative titration of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Analytical Biochemistry*, 72:248-254.
 - Brisson, L., Zelitch, I. and Haver, E., 1998. Manipulation of catalase levels produces altered photosynthesis in transgenic tobacco plants. *Plant Physiology*, 116:259-269.
 - Chen, G.X. and 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. and 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. and Thorpe, T.A., 1981. Leaf senescence: correlated with increased levels of membrane permeability and lipid peroxidation, and decreased levels of superoxide dismutase and catalase. *Journal of Experimental Botany*, 32: 93-101.
 - Farooq, M., Basra, S.M.A., Wahid, A., Cheema, Z.A., Cheema, M.A. and Khaliq, A., 2008. Physiological role of exogenously applied glycine betaine in improving drought tolerance of fine grain aromatic rice (*Oryza sativa* L.). *Journal of Agronomy and Crop Science*, 194: 325-333.
 - Gautam, P.P., Fritz, A.K., Kirkham, M.B.K. and Gill, B., 2011. Response of *Aegilops* species to drought stress during reproductive stages of development. *Fundamental for Life: Soil, Crop and Environmental Sciences. International Annual Meetings*, 16-19.
 - Hassanpour, H. and 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.
 - Hidalgo, A., Brandolini, A., Pompei, C. and Piscozzi, R., 2006. Carotenoids and tocopherols of einkorn wheat (*Triticum monococcum* ssp. *monococcum* L.). *Journal of Cereal Science*, 44: 182-193.
 - Jaleel, C.A., Gopi, R., Sankar, B., Gomathinayagam, M. and Panneerselvam, R., 2008. Differential responses in water use efficiency in two varieties of *Catharanthus roseus* under drought stress. *Comptes Rendus Biologies*, 331: 42-47.
 - Kang, H.M. and Saltveit, M.E. 2002. Antioxidant (2005). همچنین گزارش شده است که افزایش فعالیت آسکوربات پراکسیداز در گندم تحت تنش خشکی با واکنش‌های اکسیدان به‌وجود آورنده رادیکال‌های آزاد و پراکسیدهای آلی همبستگی دارد (Talee Ahmad & Haddad, 2010). کاهش وزن خشک گیاه در اثر تنش خشکی عمدتاً ناشی از کاهش تشعشع جذب‌شده توسط سایه‌انداز گیاه و یا کاهش بازده استفاده از تابش و یا ترکیبی از این دو می‌باشد. همسو با نتایج حاصل از این تحقیق، کاهش معنی‌داری در تیمار تنش رطوبتی بر روی صفات طول ساقه و وزن خشک برگ و ساقه و نیز کاهش در وزن خشک ریشه در اثر تنش خشکی در پروانش گزارش شده است (Jaleel et al., 2008; Wu & Cosgrove, 2000).
- در جمع‌بندی کلی، نظر به اینکه سه گونه *Ae. caudata*، *Ae. Triuncialis* و *Ae. cylindrica* از نظر اغلب صفات مرتبط با تحمل خشکی مانند حجم ریشه (وزن تر و خشک ریشه)، کارتنوئید و آنزیم‌های CAT، GPX و APX بالاترین مقدار را داشتند و هر سه گونه در ژنوم CC مشترک هستند، بنابراین به نظر می‌رسد ژنوم CC بتواند قابلیت بالایی در برنامه‌های اصلاحی آینده گندم برای افزایش مقاومت به خشکی داشته باشد.
- ### سپاسگزاری
- بر خود لازم می‌دانیم از زحمات دکتر علی‌اشرف مهرابی (دانشیار دانشگاه ایلام) و علیرضا یورابوقداره بدلیل در اختیار قرار دادن بذره‌های گونه‌های جمع‌آوری شده برای این آزمایش سپاسگزاری نماییم.
- ### منابع مورد استفاده
- AL-Aghabary, K., Zhujun, Z. and Qinhu, S., 2004. Influence of silicon supply on chlorophyll content, chlorophyll fluorescence, and antioxidative enzyme activities in tomato plants under salt stress. *Plant Nutrition*, 27: 2101-2115.
 - Arora, A., Sairam, R.K. and Srivastava, G.C., 2002. Oxidative stress and antioxidant system in plants. *Plant Physiology*, 82: 1227-1237.
 - Asada K., 2000. The water-water cycle as alternative photon and electron sinks. *Philosophical*

- antioxidant enzymes in growing rice seedlings. *Plant Growth Regulation*, 46: 209-221.
- Sies, H. and Stahl, W., 1995. Vitamins E and C, - carotene and other as antioxidants. *American Journal of Clinical Nutrition*, 62:1315-1321.
 - Singh, J. and Patel, A.L., 1996. Dry matter distribution different parts of wheat under water stress at various growth stage. *Field Crop Abstracts*, 49(1): 11-16.
 - Souza, C.C., Oliveira, F.A., Silva, I.F. and Amorim Neto, M.S., 2000. Evaluation of methods of available water determination and irrigation management in terra roxa under cotton crop. *Revista Brasileira de Engenharia Agrícola Ambiental*, 4:338-342.
 - Taghipour, Z., Asghi-zakaria, R., Zare, N. and Sheikhzadeh, P., 2014. Evaluation of some physiological traits in populations of *Aegilops triuncialis* under drought stress. *Iranian Journal of Rangelands and Forests Plant Breeding and Genetic Research*, 22 (1): 55-66. (In Persian)
 - Tavakoli, A., Ahmadi, A. and Alizadeh, H., 2009. Evaluation of some physiological aspects of yield of susceptible and tolerant wheat drought stress under drought stress conditions after pollination. *Journal of Iranian Crop Science*. 4(1):197-211. (In Persian)
 - Talee Ahmad, S. and Haddad, R., 2010. Effect of silicon on the activity of antioxidant enzymes and content of osmotic regulators in two wheat genotypes under drought stress conditions. *Seed and Plant Production Journal*, 26 (2): 207-225. (In Persian)
 - Upadhyaya, A., Sankhla, D., Davis, T.D., Sankhla, N. and 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.
 - Wu, Y. and Cosgrove, D.J., 2000. Adaptation of roots to low water potentials by changes in cell wall extensibility and cell wall proteins. *Journal of Experimental Botany*, 51: 1543-1553.
 - Yang, Y., Liu, Q., Han, C., Qiao, Y.Z., Yao, X.Q. and Yin, H.J., 2007. Influence of water stress and low irradiance on morphological and physiological characteristics of *Picea asperata* seedlings. *Photosynthetica*, 45 (4): 613-619.
 - enzymes and DPPH radical scavenging activity in chilled and heat shocked rice (*Oryza sativa* L.) seedling radicles. *J. Agric. Food Chem.*, 50: 513-518.
 - Kauseri, R.H., Athar, U.R. and Ashraf, M., 2006. Chlorophyll fluorescence: A Potential indicator for rapid assessment of water stress tolerance in Canola. *Pakistan Journal of Botany*, 38:1501-1509.
 - Liang, Y., Chen, Q., Zhang, W. and Ding, R., 2003. Exogenous silicon increases antioxidant enzyme activity and reduces lipid peroxidation in root of salt-stressed barley (*Hordeum vulgare* L.). *Plant Physiology*, 160: 1157-67.
 - Maehly, A.C. and 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.
 - Noctor, G. and Foyer, C.H., 1998. Ascorbate and glutathione: keeping active oxygen under control. *Plant Molecular Biology*, 49: 249-279.
 - Nogues, S. and 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.
 - Nunes-Nesi, A., Sulpice, R., Gibon, Y. and Fernie, A., 2008. The enigmatic contribution of mitochondrial function in photosynthesis. *Journal of Experimental Botany*. 59:1675-1684.
 - Ober, E.S, Le-Bloa, M., Clark, C.J.A., Royal, A. and Jaggard, K.W., 2005. Evaluation of physiological traits as indirect selection criteria for drought tolerance in sugar beet. *Field Crops Research*, 91: 231-249.
 - Pour-Aboughadareh, A., Ahmadi, J., Mehrabi, A., Etminan, A., Moghaddam, M. and Siddique, K.H.M., 2017. Physiological responses to drought stress in wild relatives of wheat: implications for wheat improvement. *Acta Physiologiae Plantarum*, 39:106.
 - Ranjan, R., Bohra, S.P. and Jeet, A.M., 2001. *Book of plant senescence*. Jodhpur, Agrobios, New York. Pp. 18-42.
 - Schneider, A. and Molnar-Lang, M., 2008. Utilization of *Aegilops* species to widen the genetic diversity of cultivated wheat. *Euphytica*, 163:1-19.
 - Sharma, P. and Dubey, R.S., 2005. Drought induces oxidative stress and enhances the activities of

Evaluation of genetic diversity effects on morpho-physiological and antioxidant responses in different species of *Aegilops* under drought stress

S. Fabriki-Ourang^{1*}, B. Shahidi²

1*- Corresponding author, Assist. Prof., Department of Genetics and Plant Breeding, Imam Khomeini International University, Qazvin, I.R. Iran. E-Mail: s.ourang910@gmail.com,

2- M.Sc. Student, Imam Khomeini International University, Qazvin, I.R.Iran

Received: 11.11.2017

Accepted: 21.01.2018

Abstracts

This experiment was conducted to investigate the effect of drought stress on photosynthetic pigments contents, biomass of roots and shoots, total protein content and antioxidant enzymes activity and non-enzymatic antioxidant of six species of *Aegilops* genus along with two drought resistant and susceptible wheat cultivars as checks in a factorial based on randomized complete block design with three replications. Drought stress treatments were applied at three levels of non-stress (FC=100%), moderate stress (FC=50%) and severe stress (FC=25%) conditions. *Ae. caudata*, *Ae. triuncialis* and *Ae. cylindrica* were ranked higher than resistance cultivar, Sirvan, as check in term of root fresh and dry weights under stresses. The highest total chlorophyll content was related to *Ae. cylindrica*, *Ae. umbellulata* and *Ae. caudata* in stresses. Carotenoid showed decreasing trend in all studied species except for *Ae. umbellulata*, and *Ae. cylindrica* had the highest amount at both stress and non- stress conditions. The highest SOD under severe stress was observed in *Ae. crassa* and Sirvan as resistant cultivar. Maximum APX under severe stress was observed in *Ae. triuncialis* and *Ae. caudata* and the lowest activity was in *Ae. neglecta*. The highest level of GPX was observed in *Ae. triuncialis*, *Ae. caudata* and Sirvan cultivar under drought stress. Also the maximum CAT enzyme under severe stress was observed in *Ae. triuncialis*, *Ae. caudata* and *Ae. crassa*, respectively, and *Ae. umbellulata* and Darya cultivar had the lowest amount of CAT enzyme. In conclusion, because the three species *Ae. caudata*, *Ae. triuncialis* and *Ae. cylindrica* had the highest amounts for the traits associated with increased drought tolerance, including root volume, carotenoid, CAT, GPX and APX enzymes, and also these species were same in having CC genome. Therefore, it seems that the CC genome could have a high potential for future wheat breeding programs in increasing of drought tolerance.

Keywords: Aegilops, Antioxidants, Drought stress, Photosynthetic pigments.