تأثیر تنش خشکی بر آنزیم‌های آنتی اکسیدانی و صفات مرتبط با مرگ سلولی در مرحله پر شدن دانه در ارقام مقاوم و حساس گندم

حجت هاشمی نسب[1*]، محمد تقی آساد[2] و یحیی امام[2]

(تاریخ دریافت: ۱۳۹۰/۱۰/۱۲ ؛ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۱/۲/۱۶)

چکیده

خشکی یکی از مهم‌ترین عوامل محدودکننده تولید محصولات کشاورزی در ایران می‌باشد. به منظور بررسی چند معیار بیوشیمیایی مقاومت به خشکی در ارقام گندم، ۲۰ رقم گندم ایرانی شامل ۱۸ رقم گندم نان و ۲ رقم گندم ماکارونی در یک آزمایش مزرعه‌ای در سال زراعی ۸۹-۱۳۸۸ در ایستگاه تحقیقاتی دانشکده کشاورزی دانشگاه شیراز واقع در منطقه باجگاه مورد ارزیابی قرار گرفتند. این آزمایش در قالب دو طرح بلوک کامل تصادفی جدا از هم و با دو سطح رطوبتی مطلوب (۱۰۰ درصد ظرفیت مزرعه) و تنش خشکی (۴۵ درصد ظرفیت مزرعه) و با سه تکرار اجرا گردید. تنش خشکی باعث افزایش معنی‌دار فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی در مرحله پر شدن دانه شد و سوپراکسید دیسموتاز (SOD) بیشترین افزایش فعالیت را نشان داد. هم‌چنین میزان لیپیداسیون غشا سلولی (MDA)، پراکسید هیدروژن (H_2O_2)، نشت یونی (LE) و مرگ سلولی (CD) نیز به‌طور معنی‌داری افزایش یافت و میزان پایداری غشا سلولی کاهش معنی‌داری نشان داد. طی این آزمایش مشخص شد که ارقام مقاوم مانند پیشتاز و چمران دارای بیشترین مقدار فعالیت آنتی اکسیدانی و کمترین میزان لیپیداسیون غشا سلولی، تجمع پراکسید هیدروژن، مرگ سلولی و در نتیجه آن بالاترین سطح پایداری غشا سلولی بودند. این روند در ارقام حساس مانند الموت و زرین عکس بود. از میان آنتی اکسیدان‌های مورد ارزیابی پراکسیداز (POD) و سوپراکسید دیسموتاز دارای همبستگی معنی‌داری با شاخص پایداری عملکرد بودند. پراکسید هیدروژن و شاخص پایداری غشا سلولی دارای بالاترین همبستگی با شاخص پایداری عملکرد در میان سایر معیارهای مورد ارزیابی بودند. هم‌چنین پیشتاز و الموت به‌ترتیب به‌عنوان مقاوم‌ترین و حساس‌ترین رقم شناخته شدند.

واژه‌های کلیدی: گندم، تنش خشکی، آنزیم‌های آنتی اکسیدانی، مرگ سلولی، لیپیداسیون غشا سلولی، پراکسید هیدروژن

۱. گروه زراعت و اصلاح نباتات، پردیس کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه رازی کرمانشاه

۲. گروه زراعت و اصلاح نباتات، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شیراز

* : مسئول مکاتبات، پست الکترونیکی: hojathashemi@gmail.com

مقدمه

خشکی یکی از مهم‌ترین عوامل محدودکننده تولید محصولات کشاورزی در دنیاست و امروزه به‌دلیل تغییرات آب و هوایی و گرم‌تر شدن کره زمین به اهمیت آن افزوده شده و به یکی از مهم‌ترین موضوعات در علوم زیستی تبدیل شده است. گندم غذای اصلی بیش از ۳۵ درصد مردم جهان را تشکیل می‌دهد و خشکی مهم‌ترین عامل کاهش تولید آن می‌باشد (۲۸). کشور ایران در کمربند بیابانی جهان قرار دارد و به‌عنوان مناطق خشک و نیمه خشک جهان محسوب می‌شود و ۱/۲ درصد از خشکی‌های جهان را به خود اختصاص داده است. متوسط میزان بارندگی در کشور حدود ۲۵۰ میلی‌لیتر است که این میزان یک سوم متوسط بارندگی در جهان می‌باشد. گرچه مساحت کشور ایران ۱۶۵ میلیون هکتار است ولی فقط ۱۱ میلیون هکتار آن قابل کشت محصولات زراعی است و نزدیک به دو سوم از این مقدار تحت تنش خشکی قرار دارند. به‌دلیل محدود بودن منابع آبی در کشور ۵/۵ میلیون هکتار از زمین‌های زراعی به‌صورت دیم کشت می‌شوند (۲۲).

بیش از ۶۰ درصد مزارع گندم در ایران زیر کشت دیم می‌باشد و تنش خشکی مهم‌ترین عامل محدودکننده کشت آن در ایران محسوب می‌شود (۱۵). مرحله پر شدن دانه یکی از حساس‌ترین مراحل رشد گندم به تنش خشکی می‌باشد. تنش خشکی در این مرحله سبب کاهش شدید عملکرد دانه می‌گردد و این در حالی است که در اکثر مواقع این مرحله از رشد با تنش خشکی روبرو می‌شود (۱۵ و ۲۸). تنش خشکی باعث بسته شدن روزنه‌ها و کاهش میزان فتوسنتز و رشد گیاه می‌گردد. بسته شدن روزنه‌ها باعث کاهش تمرکز دی اکسیدکربن (CO_2) در بافت مزوفیلی برگ و در نتیجه آن افزایش تجمع NADPH می‌شود. تحت چنین شرایطی مقدار محدودی NADP برای پذیرش الکترون وجود خواهد داشت. این در حالی است که واکنش نوری و انتقال الکترون در مقادیر طبیعی خود صورت می‌گیرد. این شرایط در روزهای آفتابی که حداکثر تشعشع وجود دارد شدت می‌یابد. بنابراین اکسیژن می‌تواند به‌عنوان یک گیرنده الکترون جایگزین NADP شود. این امر منجر به تجمع گونه‌های سمی اکسیژن (ROS) مانند سوپر اکسید (O^-_2)، پراکسید هیدروژن(H_2O_2) و هیدروکسیل (HO_2) می‌شود (۶، ۱۲ و ۱۶) که از میان آنها پراکسید هیدروژن دارای طول عمر و خسارت‌زایی بیشتر می‌باشد (۲۷). تجمع گونه‌های فعال اکسیژن که در طی تنش تولید می‌شوند باعث خسارت به بسیاری از ترکیبات سلولی از جمله DNA، پروتئین، چربی، کلروفیل و از همه مهم‌تر غشا سلولی و در نهایت مرگ سلول می‌شوند (۱۴ و ۲۸). گیاهان دارای یک سری سیستم‌های آنزیمی و غیرآنزیمی برای جلوگیری از خسارت رادیکال‌های آزاد اکسیژن و در پی آن سازگاری با تنش خشکی هستند. آنتی اکسیدان‌ها مهم‌ترین سیستم آنزیمی و دفاعی گیاهان در مقابله با تنش خشکی را تشکیل می‌دهند که از مهم‌ترین آنها می‌توان به کاتالاز (CAT)، پراکسیداز (POD)، سوپراکسید دیسموتاز (SOD)، اسکوربیک پراکسیداز (APX) و گلوتاتیون ردوکتاز (GR) اشاره کرد (۱۸ و ۲۵). از مهم‌ترین سیستم‌های غیرآنزیمی می‌توان پرولین، بتائین، اسید اسکوربیک و کاروتنوئیدها را نام برد (۱۲ و ۲۴). هدف از این مطالعه بررسی تأثیر تنش خشکی بر آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی و صفات مرتبط با مرگ سلولی و میزان خسارت به غشا سلولی در مرحله پر شدن دانه در ارقام مقاوم، نیمه مقاوم و حساس گندم بود.

مواد و روش‌ها

هجده رقم اصلاح شده گندم نان (*Triticum aestivum* L.) شامل ۶ رقم مقاوم (آذر۲، پیشتاز، توس، چمران، کویر و کوهدشت)، ۶ رقم حد واسط (روشن، الوند، طبسی، نیک نژاد، کراس عدل و داراب۲) و ۶ رقم حساس (شیراز، شیرودی، فلات، بهار، زرین و الموت) به همراه دو رقم گندم دورم (*Triticum turgidum* L.) شامل یاواروس و سیمره به‌عنوان شاهد، در سال ۱۳۸۹-۱۳۸۸ طی دو آزمایش مزرعه‌ای مجزا و در مجاور هم در قالب دو طرح بلوک کامل تصادفی با سه تکرار، در ایستگاه تحقیقاتی دانشکده کشاورزی دانشگاه

شیراز واقع در منطقه باجگاه (۱۸۱۰ متر ارتفاع از سطح دریا، طول جغرافیایی ۵۲ درجه و ۴۶ دقیقه شرقی و عرض جغرافیایی ۲۹ درجه و ۵۰ دقیقه شمالی) کشت شدند. دو آزمایش فقط از نظر تیمار آبیاری با یک دیگر متفاوت بودند. برای آزمایش اول تیمار آبیاری مطلوب (۱۰۰ درصد ظرفیت مزرعه) و برای آزمایش دوم تیمار آبیاری محدود (۴۵ درصد ظرفیت مزرعه) اعمال شد. میزان آب مورد نیاز برای هر بار آبیاری تا رسیدن رطوبت خاک به حد ظرفیت مزرعه از روش مایکل و اوجا (۲۱) محاسبه شد. در هر دو آزمایش از کود شیمیایی سوپر فسفات تریپل (۴۱ درصد فسفر) و کود اوره (۴۶ درصد نیتروژن) به‌ترتیب به مقدار ۱۵۰ و ۱۱۰ کیلوگرم در هکتار استفاده گردید و اندازه کرت‌ها ۳×۲ متری در نظرگرفته شد. هم‌چنین خاک مزرعه تحقیقاتی دارای pH=۷/۸، هدایت الکتریکی ۰/۳۹۵ دیسی زمنس بر متر، ۵۲ درصد رس، ۴۲/۷۲ درصد سیلت و ۵/۲۸ درصد شن بود. نمونه‌برداری جهت اندازه‌گیری معیارهای مورد ارزیابی در مرحله پر شدن دانه و از برگ پرچمی صورت گرفت.

اندازه‌گیری پرولین

برای اندازه‌گیری غلظت پرولین از روش بیتز و همکاران (۸) استفاده شد. براساس این روش ۰/۵ گرم برگ از هر نمونه را در۱۰ میلی‌لیتر محلول آبی اسید سولفوسالیسیلیک ۳ درصد قرار داده و مخلوط حاصل در حاون چینی به کمک ازت مایع کاملاً هموژنیزه گردید. سپس مخلوط هموژنیزه شده توسط کاغذ صافی کاملاً صاف شد. در مرحله بعد ۲ میلی‌لیتر از این محلول را با ۲ میلی‌لیتر معرف نین هیدرین (برای تهیه این معرف ۱/۲۵ گرم نین هیدرین را در ۳۰ میلی‌لیتر اسید استیک و ۲۰ میلی‌لیتر اسید فسفریک ۶ مولار حل می‌کنند) مخلوط نموده و ۲ میلی‌لیتر اسید استیک به هر لوله اضافه شد. سپس نمونه‌ها به‌مدت یک ساعت در حمام بن ماری در دمای ۱۰۰ درجه سانتی‌گراد قرار داده، و بلافاصله پس از خارج کردن از حمام به‌مدت چند دقیقه درحمام یخ قرار داده شدند. بعد از این مرحله به هر لوله آزمایش ۴ میلی‌لیتر تولوئن اضافه کرده و نمونه‌ها با هم‌زن به‌مدت ۲۰- ۱۵ ثانیه به هم زده شده تا کاملاً یکنواخت شوند. سپس لوله‌ها برای مدتی در محیط آزمایشگاه قرار داده شدند. در این مدت در داخل لوله آزمایش ۲ فاز رویی و زیرین کاملاً از هم قابل تشخیص شده و از فاز رویی برای تعیین غلظت پرولین با توجه به منحنی استاندارد پرولین در دستگاه اسپکتروفتومتر در طول موج ۵۲۰ نانومتر استفاده گردید.

اندازه‌گیری فعالیت آنزیم‌ها آنتی اکسیدانی

برای استخراج آنزیم‌های آنتی اکسیدانی، ۰/۵ گرم برگ پرچمی فریز شده را با بافر فسفات که شامل یک میلی‌مولار EDTA، یک میلی‌مولار PMSF و یک درصد PVP-40 بود کاملاً هموژنیزه کرده و سپس به‌مدت ۱۰ دقیقه در دمای ۴ درجه با ۱۵۰۰۰g سانتریفیوژ نموده و از محلول رویی برای قرائت فعالیت آنتی اکسیدان‌ها استفاده شد.

برای اندازه‌گیری میزان فعالیت کمی سوپر اکسید دیسموتاز (SOD) از روش بیچامپ و فریدوویچ (۹) استفاده شد. اندازه‌گیری براساس توانایی آنزیم SOD در متوقف کردن احیاء فتوشیمیایی نیتروبلوتترازولیوم (NBT)توسط رادیکال‌های سوپر اکسید با کمک ریبوفلاوین در حضور نور صورت می‌گیرد. براساس این روش۵۰ میکرولیتر از عصاره استخراج را با یک میلی‌لیتر محلول اندازه‌گیری سوپراکسید دیسموتاز که شامل ۵۰ میلی‌مولار بافر فسفات پتاسیم (pH=۷/۸)، ۷۵ میکرومولار NBT، ۱۳ میلی‌مولار ال- متیونین، ۰/۱ میلی‌مولار EDAT و ۲ میکرومولار ریبوفلاوین است مخلوط شد. جهت انجام واکنش این مخلوط به‌مدت ۱۵ دقیقه در اتاقک نور قرار گرفت. سپس محلول حاصل را در دستگاه اسپکتروفتومتر قرار داده و میزان جذب نوری آن در طول موج ۵۶۰nm قرائت گردید.

برای اندازه‌گیری میزان غلظت کمی پراکسیداز (POD) از روش چانس و ماهلی (۱۳) استفاده شد. اندازه‌گیری براساس میزان اکسید شدن گوایکول توسط این آنزیم انجام می‌گیرد. در این روش ۳۳ میکرولیتر از عصاره استخراج را با یک میلی‌لیتر از

محلول پراکسیداز که شامل ۱۳ میلی‌مولار گوایکول، ۵ میلی‌مولار پراکسید هیدروژن (H_2O_2) و ۵۰ میلی‌مولار بافر فسفات پتاسیم (pH=۷) است مخلوط شده و به‌مدت یک دقیقه با فواصل ۱۰ ثانیه در طول موج ۴۷۰ nm جذب آن قرائت گردید. برای ساختن ۱۰۰ میلی‌لیتر بافر فسفات پتاسیم، ۳۹ میلی‌لیتر فسفات پتاسیم مونو بازیک ۵۰ میلی‌مولار با ۶۱ میلی‌لیتر فسفات پتاسیم دی بازیک ۵۰ میلی‌مولار ترکیب شد.

برای اندازه‌گیری فعالیت کمی آنزیم کاتالاز (CAT) از روش دهیندزا و همکاران (۱۴) استفاده شد. براساس این روش ۵۰ میکرولیتر از عصاره استخراج را با یک میلی‌لیتر محلول اندازه‌گیری کاتالاز که شامل ۵۰ میلی‌مول بافر فسفات پتاسیم (pH=۷) و ۱۵ میلی‌مول پراکسید هیدروژن (H_2O_2) است مخلوط نموده، سپس جذب آن در طول موج ۲۴۰nm به‌مدت یک دقیقه با دستگاه اسپکتوفتومتر قرائت گردید. یک واحد آنزیمی کاتالاز برابر با تجزیه یک میلی‌مولار پراکسید هیدروژن (H_2O_2) در یک دقیقه است.

برای اندازه‌گیری میزان غلظت کمی آنزیم اسکوربیک پراکسیداز (POD) از روش ناکانو و آسادا (۲۳) استفاده شد. براساس این روش ۵۰ میکرولیتر از عصاره استخراج را با یک میلی‌لیتر محلول اندازه‌گیری اسکوربیک پراکسیداز که شامل ۵۰ میلی‌مول بافر فسفات پتاسیم (pH=۷)، ۰/۱ میلی‌مول EDTA، ۰/۵ میلی‌مولار اسید اسکوربیک (ASA) و ۰/۱۵ میلی‌مولار پراکسید هیدروژن (H_2O_2) است مخلوط نموده، سپس جذب آن در طول موج ۲۹۰nm بعد از مدت یک دقیقه با دستگاه اسپکتروفتومتر قرائت گردید. یک واحد آنزیمی اسکوربیک پراکسیداز برابر با تجزیه یک میلی‌مولار اسید اسکوربیک در یک دقیقه است.

لیپیداسیون غشا سلولی و صفات مرتبط با آن

برای اندازه‌گیری تجمع مالون دی الدهید (MDA) که نشان‌دهنده میزان لیپیداسیون غشا سلولی می‌باشد از روش هیز و پکر (۱۸) استفاده شد. طبق این روش ۰/۲۵ گرم برگ گندم در هاون چینی حاوی ۵ میلی‌لیتر تری کلرو استیک اسید (TCA) ۰/۱ درصد سائیده شد. عصاره حاصل به‌مدت ۵ دقیقه در ۱۰۰۰۰g سانتریفیوژ گردید. در مرحله بعد ۲۵۰ میکرولیتر از محلول رویی حاصل از سانتریفیوژ را با ۱ میلی‌لیتر محلول مالون دی آلدهید که حاوی تری کلرواستیک اسید (TCA) ۲۰ درصد و تیو باربیتوریک اسید (TBA) ۰/۵ درصد است، مخلوط گردید. مخلوط حاصل به‌مدت ۳۰ دقیقه در دمای ۹۵ درجه سانتی‌گراد در حمام بن ماری حرارت داده شد. سپس بلافاصله در یخ سرد شده و دوباره مخلوط به‌مدت ۱۰ دقیقه در ۱۰۰۰۰ g سانتریفیوژ گردید. شدت جذب این محلول با استفاده از اسپکتروفتومتر در طول موج ۵۳۲ نانومتر قرائت شد. جذب بقیه رنگیزه‌های غیراختصاصی در ۶۰۰ نانومتر تعیین و از مقدار حاصل کسر گردید.

برای اندازه‌گیری میزان پراکسید هیدروژن (H_2O_2) از روش الکسیوا و همکاران (۴) استفاده شد. طبق این روش ۰/۲۵ گرم برگ گندم در هاون چینی حاوی ۵ میلی‌لیتر تری کلرو استیک اسید (TCA) ۰/۱ درصد سائیده شد. عصاره حاصل به‌مدت ۵ دقیقه در ۱۰۰۰۰g سانتریفیوژ گردید. در مرحله بعد ۲۵۰ میکرولیتر از محلول رویی حاصل از سانتریفیوژ را با ۲۵۰ میکرولیتر بافر فسفات ۱۰۰ میلی‌مولار و ۵۰۰ میکرولیتر یدید پتاسیم (KI) یک مولار مخلوط کرده و جذب آن را در ۳۹۰nm قرائت گردید.

برای اندازه‌گیری میزان کمی شاخص پایداری غشا سلولی (MSI) و پارامترهای مرتبط با آن از روش سایرام (۲۶) استفاده شد. براساس این روش ۰/۱ گرم برگ را داخل ۱۰ میلی‌لیتر آب دو بار تقطیر شده قرار دادیم. بعد از آن نمونه را به‌مدت ۳۰ دقیقه داخل آب ۴۰ درجه سانتی‌گراد قرار داده و میزان هدایت الکتریک(EC) آن با کمک دستگاه EC متر قرائت گردید (C_1) سپس نمونه را به‌مدت ۱۵ دقیقه داخل حمام بن ماری با دمای ۱۰۰ درجه قرار داده و برای بار دوم هدایت الکتریکی آن قرائت گردید (C_2)، و براساس روابط زیر شاخص‌های مورد نظر محاسبه گردید.

$$MSI = (1 - C_1 / C_2) \times 100$$

$$I\% = 1 - (T - D) / (T - C) \times 100$$

$$EL = C_1 / C_2$$

$$CMS = \left(\frac{1 - (\frac{T_1}{T_2})}{1 - (\frac{C_1}{C_2})}\right) \times 100$$

که در رابطه I% حروف C, D و T به‌ترتیب میزان نشت یونی (EL) در شرایط کنترل، تنش و کل (C + D) را نشان می‌دهند. و در رابطه CMS حروف C و T به‌ترتیب نشان‌دهنده میزان هدایت الکتریکی در شرایط کنترل و تنش می‌باشند.

اندازه‌گیری عملکرد

اندازه‌گیری عملکرد در زمان رسیدگی فیزیولوژیک و با قرار دادن نمونه‌ها در دمای ۷۰ درجه به‌مدت ۷۲ ساعت صورت گرفت. اندازه‌گیری شاخص پایدار عملکرد (YSI) از روش بوسلاما و اسچاپا (۱۱) و با تقسیم عملکرد در شرایط تنش(Ys) بر عملکرد در شرایط نرمال (Yp) محاسبه شد.

$$YSI = (Ys / Yp)$$

نتایج و بحث

پرولین و آنزیم‌های آنتی اکسیدانی

نتایج به‌دست آمده از تجزیه مرکب داده‌ها نشان داد که تنش خشکی باعث افزایش بسیارمعنی‌دار (P<۰/۰۱) پرولین در ارقام مختلف گردید (جدول ۱). این افزایش در بیشتر ارقام نسبت به شاهد معنی‌دار بود. میزان تجمع پرولین در ارقام مقاوم مانند کوهدشت، توس و پیشتاز از افزایش بیشتری برخوردار بود. این ارقام در شرایط تنش خشکی از کاهش عملکرد پایین‌تری نیز برخوردار بودند (شکل ۱). ارقام بهار، زرین و نیک‌نژاد که تجمع پرولین پایین‌تری در شرایط تنش خشکی نشان دادند، دارای پایداری عملکرد (YSI) پایین‌تری در این شرایط بودند (شکل ۲). این افزایش بیشتر در ارقام مقاوم می‌تواند تأییدکننده نقش مؤثر پرولین در مقاومت به خشکی باشد اما این روند افزایش تجمع در همه ارقام مقاوم یکنواخت نبود (۱). پروالتم و همکاران (۲۴) نشان دادند که تنش خشکی باعث افزایش معنی‌دار تجمع پرولین در ارقام مقاوم گندم می‌گردد. آنها این افزایش را دلیل ایجاد مقاومت به خشکی در این ارقام دانستند. از آنجا که پرولین یکی از حساس‌ترین اسمولیت‌های مقاومت به خشکی می‌باشد، تنش خشکی باعث افزایش شدید در تجمع این اسید آمینه می‌گردد. به همین دلیل در بسیاری از پژوهش‌ها از آن به‌عنوان شاهدی برای سایر معیارهای بیوشیمیایی دیگر در جهت تشخیص شدت تنش استفاده می‌شود. پرولین یکی از تنظیم‌کننده‌های اسمزی مؤثر در مقاومت به خشکی می‌باشد. هم‌چنین می‌توان آن را به‌عنوان یک آنتی اکسیدان غیرآنزیمی دانست که با حذف رادیکال‌های آزاد اکسیژن از مرگ سلول‌ها در برابر تنش‌های محیطی جلوگیری می‌کند (۱۲ و ۲۷).

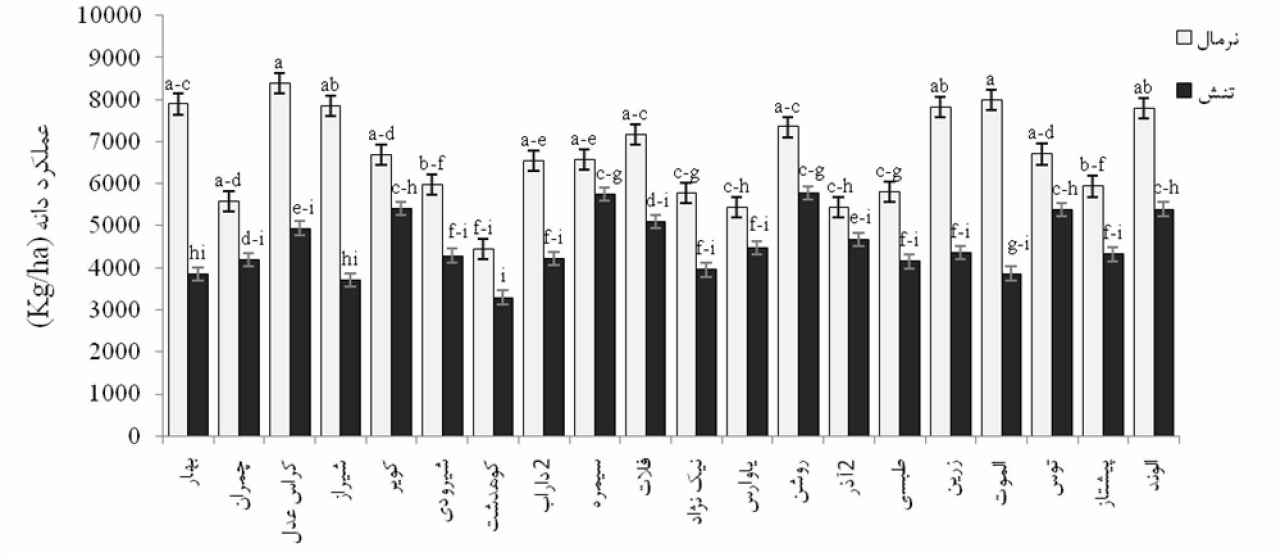
تنش خشکی هم‌چنین فعالیت آنزیم کاتالاز (CAT) را به‌طور بسیار معنی‌داری (P<۰/۰۱) افزایش داد (جدول ۱). این افزایش در ارقام مقاوم بیشتر از ارقام حساس بود به‌طوری‌که در بسیاری از ارقام حساس از جمله زرین و الموت این افزایش معنی‌دار نبود. از آنجا که کاتالاز با حذف پراکسید هیدروژن نقش مؤثری در مقاومت به خشکی دارد وجود فعالیت بیشتر این آنزیم می‌تواند نشان‌دهنده مقاومت بیشتر گیاه باشد (۲ و ۵). دو رقم کوهدشت و الموت به‌ترتیب دارای بیشترین و کمترین فعالیت کاتالاز در بین ارقام گندم نان بودند و این در حالی است که این دو رقم به‌ترتیب جزء مقاوم‌ترین و حساس‌ترین ارقام محسوب می‌شوند. ارقام گندم دورم نیز فعالیت بالایی از این آنزیم را نشان دادند (۳). تنش خشکی هم‌چنین باعث افزایش بسیار معنی‌دار (P<۰/۰۱) اسکوربیک پراکسیداز (APX) گردید(جدول ۱). این افزایش همانند کاتالاز در ارقام مقاوم بسیار بالاتر از ارقام حساس بود. ارقام پیشتاز و طبسی بالاترین میزان فعالیت این آنزیم را دارا بودند و ارقام الموت و زرین نیز کمترین فعالیت را نشان دادند. هم‌چنین ارقام گندم دورم دارای متوسط فعالیت بالاتری نسبت به ارقام گندم نان بودند. از آنجا که اسکوربیک پراکسیداز با کمک اسید اسکوربیک باعث حذف

جدول ۱. میانگین فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدانی و پرولین در مرحله پر شدن دانه در ارقام گندم

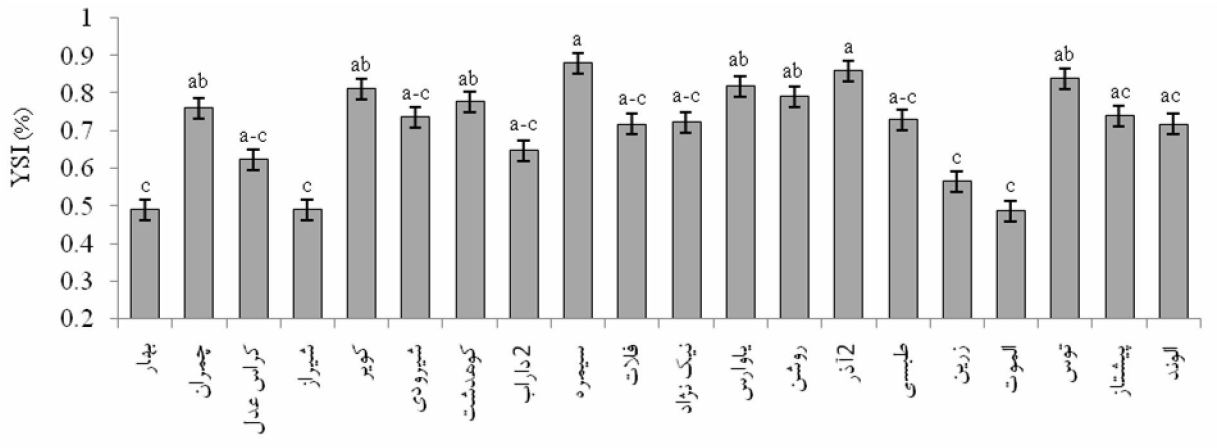
نام رقم	CAT (Ug^{-1} FW)		APX (Ug^{-1} FW)		SOD (Ug^{-1} FW)		POD (Ug^{-1} FW)		پرولین (umol g^{-1} FW)	
	نرمال	تنش	نرمال	تنش	نرمال	تنش	نرمال	تنش	نرمال	تنش
بهار	۳۸ n-q	۴۷ a-f	۱۳۸ l-m	۱۶۷ a-e	۴۳۹ e-k	۴۷۸ d-g	۵۹ m-q	۶۱ k-p	۳/۵۶ i	۱۲/۵۹ ef
چمران	۳۸ n-q	۴۶ c-i	۱۴۸ j-l	۱۷۰ a-d	۴۳۱ e-k	۶۲۴ a	۵۹ m-q	۸۶ ab	۲/۲۱ i	۷/۰۲ g-i
کراس عدل	۳۴ q	۴۴ f-m	۱۲۵ no	۱۶۰ c-i	۳۴۳ l-o	۴۹۶ c-e	۴۵ r	۶۲ j-o	۲/۷۱ i	۲۹/۳ a
شیراز	۳۹ m-q	۴۵ d-k	۱۲۸ m-o	۱۵۶ f-j	۳۸۲ i-n	۴۱۱ f-l	۵۲ qr	۵۴ pq	۵/۹۷ hi	۱۹/۶۸ cd
کویر	۴۲ g-o	۵۱ a-c	۱۲۴ no	۱۶۷ a-f	۴۱۰ f-l	۵۷۷ a-c	۶۰ l-q	۸۵ b	۴/۰۵ i	۱۱/۵۳ fh
شیرودی	۳۹ m-q	۴۶ d-j	۱۳۸ l-m	۱۶۵ b-g	۳۳۲ l-o	۴۵۱ e-j	۶۷ g-l	۷۰ e-i	۴/۱۹ i	۱۹/۷۸ cd
کوهدشت	۴۳ f-m	۵۲ a	۱۴۹ i-l	۱۷۳ ab	۴۰۴ g-l	۵۳۳ b-d	۶۴ i-n	۷۶ c-f	۳/۵ i	۲۹/۰۳ a
داراب ۲	۴۱ j-p	۴۹ a-e	۱۳۴ m-n	۱۸۶ a-c	۳۶۵ k-o	۴۷۳ d-h	۶۵ h-n	۸۲ bc	۳/۲۴ i	۱۹/۷۸ cd
سیمره	۳۹ m-q	۴۸ a-f	۱۳۰ m-o	۱۷۲ b-h	۳۱۴ no	۴۶۲ d-i	۶۱ k-p	۷۵ c-f	۵/۳۹ i	۱۲/۵۹ ef
فلات	۴۰ l-p	۴۷ b-g	۱۳۹ k-m	۱۵۹ d-j	۳۷۶ j-o	۴۲۹ e-k	۷۳ d-g	۷۳ e-h	۳/۲۶ i	۱۷/۳۰ de
نیک نژاد	۳۶ pq	۴۵ e-l	۱۳۲ m-n	۱۶۳ b-g	۴۳۳ e-k	۵۳۸ b-d	۶۴ i-n	۶۸ f-k	۳/۹۵ i	۱۲/۴۴ f
یاوارس	۴۰ m-q	۵۰ a-d	۱۴۰ k-m	۱۷۰ a-d	۳۷۶ j-o	۴۶۲ d-i	۶۴ i-n	۷۰ e-i	۶/۷ g-i	۱۵/۳۳ d-f
روشن	۳۹ o-q	۴۹ a-e	۱۳۴ m-n	۱۶۵ b-f	۳۱۵ m-o	۵۰۵ c-e	۵۸ n-q	۷۰ e-j	۱۰/۶ f-h	۲۰/۵۷ ab
آذر ۲	۴۰ k-p	۴۶ d-j	۱۳۵ m-n	۱۶۳ b-h	۳۷۶ j-o	۵۰۳ c-e	۷۵ c-f	۷۵ c-f	۴/۷۶ i	۱۷/۴۶ d
طبسی	۴۱ i-o	۵۱ ab	۱۴۹ i-l	۱۷۸ a	۲۹۸ o	۴۷۴ d-h	۶۶ g-m	۸۰ b-d	۶/۳۱ hi	۱۹/۱۰ cd
زرین	۳۶ pq	۴۳ g-o	۱۳۰ m-o	۱۵۲ h-k	۳۶۱ k-o	۳۸۰ i-n	۵۵ o-q	۵۸ n-q	۳/۳۴ i	۱۵/۳۶ d-f
الموت	۳۸ o-q	۴۲ h-o	۱۲۵ no	۱۵۳ g-j	۳۹۷ g-l	۴۰۵ g-l	۷۶ c-e	۶۹ e-j	۴/۳۷ i	۱۸/۴۲ cd
توس	۳۹ n-q	۴۳ f-n	۱۲۰o	۱۵۷ e-j	۴۳۸ e-k	۶۱۰ a-b	۷۶ c-f	۸۹ ab	۵/۷۱ i	۲۲/۱۷ bc
پیشتاز	۴۰ l-p	۴۹ a-e	۱۲۵ no	۱۷۸ a	۳۹۶ g-m	۶۴۵ a	۶۸ e-k	۹۴ a	۵/۸۶ hi	۲۵/۱۶ ab
الوند	۴۲ g-o	۴۷ c-h	۱۲۹ m-o	۱۵۶ e-j	۳۶۹ h-n	۴۹۲ d-f	۶۹ e-j	۸۵ b	۴/۹۶ i	۱۱/۹۱ f
میانگین کل	۳۹ a	۵۰ b	۱۳۴ a	۱۶۵ b	۴۲۶ a	۴۹۷ b	۶۴ a	۷۴ b	۴/۷۲ a	۱۸/۲۴ b
اختلاف بین ارقام*	۰۰۰	۰۰۰	۰۰۰	۰۰۰	۰۰۰	۰۰۰	۰۰۰	۰۰۰	۰۰۰	۰۰۰
اختلاف بین سطوح آبیار	۰۰۰		۰۰۰		۰۰۰		۰۰۰		۰۰۰	
اثر متقابل رقم در آبیاری	۰۰۰		۰۰۰		۰۰۰		۰۰۰		۰۰۰	

حروف مشترک در هر ستون و هم‌چنین دو ستون مربوط به یک صفت نشان‌دهنده عدم وجود اختلاف معنی‌دار با آزمون توکی(HSD) است.

*: اعداد پایین جدول نشان‌دهنده سطوح معنی‌داری (P) صفات مورد بررسی می‌باشد.



شکل ۱. میانگین عملکرد دانه ارقام مختلف گندم در شرایط نرمال و تنش خشکی



شکل ۲. میانگین شاخص پایداری عملکرد ارقام مختلف گندم

رادیکال‌های آزاد اکسیژن می‌شود. بالاتر بودن فعالیت این آنزیم به معنی حذف بیشتر رادیکال‌های اکسیژن و در نتیجه آن کاهش مرگ سلولی و افزایش مقاومت به خشکی است. (۲۵). سوپر اکسید دیسموتاز (SOD) یکی دیگر از آنتی اکسیدان‌های مورد ارزیابی بود. سوپر اکسید دیسموتاز در یک واکنش پیچیده دو مولکول سوپر اکسید را به کمک دو مولکول هیدروژن با یک دیگر ترکیب کرده و تبدیل به دو مولکول پراکسید هیدروژن می‌کند. که در مرحله بعد پراکسید هیدروژن توسط دیگر آنتی اکسیدان‌ها حذف می‌شود. هم‌چنین این آنزیم با پایین نگه‌داشتن غلظت سوپراکسید (O^-_2) از تشکیل رادیکال هیدروکسیل (HO_2) جلوگیری کرده و سبب کاهش خسارت به غشا سلولی می‌گردد (۲۷). نتایج به‌دست آمده نشان داد که تنش خشکی باعث افزایش بسیار معنی‌دار ($P<0/01$) فعالیت این آنتی اکسیدن می‌گردد (جدول ۱). این افزایش در ارقام مقاوم بالاتر از ارقام حساس بود.

هم‌چنین افزایش فعالیت سوپر اکسید دیسموتاز در بسیاری از ارقام حساس معنی‌دار نبود. دو رقم سیمره و الموت به‌ترتیب دارای بیشترین و کمترین فعالیت این آنزیم در شرایط تنش خشکی بودند و این در حالی است که این دو رقم به‌ترتیب بیشترین و کمترین مقاومت به خشکی را نیز دارا بودند که این

نشان‌دهنده توانایی بالای این آنزیم در شناسایی ارقام مقاوم از حساس است (۳ و ۷). شاهو و همکاران (۲۸) گزارش نمودند که تنش خشکی در ارقام مختلف گندم سبب افزایش بیشتر فعالیت سوپر اکسید دیسموتاز نسبت به دو آنتی اکسیدان کاتالاز و پراکسیداز می‌شود. آنها نقش مهم‌تر این آنزیم در حذف رادیکال‌های آزاد اکسیژن را دلیل این افزایش بیشتر دانستند. تنش خشکی هم‌چنین میزان فعالیت آنزیم پراکسیداز (POD) را به‌طور بسیار معنی‌داری (P<۰/۰۱) افزایش داد (جدول ۱). فعالیت پراکسیداز همانند سایر آنتی اکسیدان‌های مورد مطالعه در ارقام مقاوم از افزایش بالاتری برخورداد بود (۲۰ و ۲۵). دو رقم پیشتاز و توس بیشترین فعالیت آنزیم پراکسیداز و دو رقم شیراز و زرین کمترین میزان فعالیت را در بین ارقام مورد بررسی نشان دادند. نتایج به‌دست آمده از این پژوهش نشان داد که به‌ترتیب سوپراکسید دیسموتاز، اسکوربیک پراکسیداز، پراکسیداز و کاتالاز دارای بالاترین فعالیت می‌باشند. و این در حالی است که سوپر اکسید دیسموتاز و اسکوربیک پراکسیداز دارای بالاترین توانایی در حذف رادیکال‌های آزاد اکسیژن می‌باشند و این توانایی بالاتر به‌دلیل فعالیت بیشتر این آنزیم‌ها می‌باشد که در مطالعه انجام شده این موضوع به‌طور آشکار مشخص گردید. سوپراکسید دیسموتاز و کاتالاز به‌ترتیب بیشترین و کمترین تغییرات را در اثر تنش خشکی نشان دادند. در بین آنتی اکسیدان‌های مورد ارزیابی، سوپراکسید دیسموتاز بهترین آنتی اکسیدان برای شناسایی ارقام مقاوم از حساس می‌باشد. نتایج به‌دست آمده با یافته‌های رنو و دوارشی (۲۵) و امجد و همکاران (۵) که نشان دادند تنش خشکی سبب افزایش معنی‌دار فعالیت آنتی اکسیدان‌های کاتالاز، پراکسیداز، سوپر اکسید دیسموتاز و اسکوربیک پراکسیداز در ارقام گندم و در مرحله پر شدن دانه می‌گردد و این افزایش در ارقام مقاوم بیشتر از ارقام حساس است مطابقت داشت.

صفات مرتبط با مرگ سلولی

نتایج به‌دست آمده نشان داد که تنش خشکی باعث افزایش بسیار معنی‌دار (P<۰/۰۱) لیپیداسیون غشا سلولی (LPO) در ارقام مورد ارزیابی گردید (جدول ۲). این افزایش در ارقام مقاوم کمتر از ارقام حساس بود. هم‌چنین افزایشی آن در بسیاری از این ارقام مقاوم روند معنی‌دار نشان نداد. از آنجا که لیپیداسیون غشا سلولی با سنجش ماده حد واسطی به نام مالون دی آلدهید (MDA) که در اثر حمله رادیکال‌های آزاد اکسیژن به غشا سلولی به وجود می‌آید، تخمین زده می‌شود، ارقام مقاوم که دارای فعالیت آنتی اکسیدانی بیشتر بودند، مالون دی آلدهید کمتری در مقایسه با ارقام حساس نشان دادند (۱۰). ارقام الموت و پیشتاز به‌ترتیب دارای بیشترین و کمترین مالون دی الدهید در بین ارقام مورد بررسی بودند. تنش خشکی هم‌چنین باعث افزایش بسیار معنی‌دار (P<۰/۰۱) تجمع رادیکال آزاد پراکسید هیدروژن (H_2O_2) در ارقام گندم گردید (جدول ۲). میزان تجمع این رادیکال آزاد اکسیژن که مخرب‌ترین رادیکال آزاد شناخته شده نیز می‌باشد در ارقام مقاوم افزایش معنی‌داری از خود نشان نداد.

اما این افزایش در ارقام حساس معنی‌دار بود. این امر می‌تواند به‌دلیل بالاتر بودن فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدانی در ارقام مقاوم نسبت به حساس باشد که این آنزیم‌ها با حذف رادیکال‌های آزاد اکسیژن از تجمع آنها در گیاه جلوگیری می‌کنند (۲۷). ارقام شیراز و الموت دارای بیشترین و ارقام پیشتاز و آذر۲ دارای کمترین میزان تجمع پراکسید هیدروژن در بین ارقام مورد ارزیابی بودند. همان‌طورکه قبلاً نشان داده شد این ارقام به‌ترتیب دارای حداقل و حداکثر میزان فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدانی نیز بودند. نتایج به‌دست آمده از اندازه‌گیری نشت یونی (EL) نشان داد که میزان آن در اثر تنش خشکی افزایش بسیار معنی‌داری (P<۰/۰۱) می‌یابد (جدول ۲). اما این افزایش در ارقام حساس بیشتر از ارقام مقاوم بود. از آنجا که افزایش میزان نشت یونی نشان‌دهنده افزایش مرگ سلولی می‌باشد، پس میزان مرگ سلولی در ارقام مقاوم پایین‌تر بود (۶). ارقام پیشتاز و توس دارای پایین‌ترین و ارقام زرین و الموت دارای بالاترین میزان نشت یونی در بین ارقام مورد

جدول ۲. میانگین صفات مرتبط با مرگ سلولی در مرحله پر شدن دانه در ارقام گندم

نام رقم	MDA (umolg^{-1} FW)		H2O2 (umolg^{-1} FW)		MSI %		LE %		CMS %	I٪
	نرمال	تنش	نرمال	تنش	نرمال	تنش	نرمال	تنش		
بهار	۶/۴۲ kl	۱۲/۵۱ a-d	۴۶/۳ gh	۵/۳۳ ab	۰/۷۷ a	۰/۴۶ c	۰/۲۳ c	۰/۵۴ a	۰/۵۹ c-e	۰/۵۷ a-e
چمران	۶/۸۹ j-l	۸/۷۱ e-k	۳/۲۰ gh	۴/۱۴ c-h	۰/۸۲ a	۰/۵۶ bc	۰/۱۸ c	۰/۴۴ ab	۰/۶۸ a-d	۰/۵۸ a-e
کراس عدل	۶/۵۵ l	۹/۱۷ e-k	۳/۴۴ gh	۷/۴۳ a-g	۰/۸۲ a	۰/۵۲ bc	۰/۱۷ c	۰/۴۸ ab	۰/۶۲ b-e	۰/۶۴ a-d
شیراز	۸/۰۸ h-l	۱۳/۲۸ a-c	۳/۷۳ f-h	۵/۴۱ a	۰/۸۱ a	۰/۴۶ c	۰/۱۹ c	۰/۵۴ a	۰/۵۷ de	۰/۶۴ a-d
کویر	۷/۰۸ i-l	۸/۲۵ h-l	۳/۱۳ h	۴/۰۳ d-h	۰/۸۱ a	۰/۵۹ b	۰/۱۹ c	۰/۴۱ b	۰/۷۴ ab	۰/۵۲ c-d
شیرودی	۷/۳۳ i-l	۱۰/۱۰ d-i	۴/۰۴ d-h	۴/۷۵ a-f	۰/۸۴ a	۰/۵۰ bc	۰/۱۶ c	۰/۵۰ ab	۰/۶۰ c-e	۰/۶۶ ab
کوهدشت	۷/۳۳ i-l	۸/۱۶ h-l	۳/۴۰ gh	۳/۸۸ e-h	۰/۸۳ a	۰/۶۰ b	۰/۱۷ c	۰/۴۰ b	۰/۷۲ ab	۰/۵۶ b-e
داراب ۲	۸/۳۳ g-l	۸/۸۹ e-k	۳/۸۷ e-h	۴/۱۳ c-h	۰/۸۶ a	۰/۵۶ bc	۰/۱۴ c	۰/۴۳ ab	۰/۶۵ a-e	۰/۶۸ ab
سیمره	۷/۴۱ h-l	۹/۳۵ e-k	۳/۶۷ f-h	۴/۲۵ b-h	۰/۸۱ a	۰/۵۳ bc	۰/۱۸ c	۰/۴۷ ab	۰/۶۵ a-e	۰/۶۱ a-e
فلات	۸/۴۴ f-l	۱۴/۱۱ ab	۳/۶۰ f-h	۴/۹۳ a-e	۰/۸۵ a	۰/۴۶ c	۰/۱۵ c	۰/۵۴ a	۰/۵۴ e	۰/۷۳ a
نیک نژاد	۷/۷۵ h-l	۱۲/۴۷ a-d	۳/۷۰ f-h	۴/۱۱ d-h	۰/۸۱ a	۰/۵۳ bc	۰/۱۹ c	۰/۴۷ ab	۰/۶۵ a-e	۰/۵۹ a-e
یاوارس	۸/۰۰ h-l	۹/۷۲ d-j	۴/۲۱ b-h	۴/۱۸ b-h	۰/۸۶ a	۰/۵۵ bc	۰/۱۴ c	۰/۴۵ ab	۰/۶۳ a-e	۰/۶۹ ab
روشن	۸/۰۱ h-l	۱۰/۴۵ c-h	۳/۵۱ gh	۴/۱۸ b-h	۰/۸۲ a	۰/۵۲ bc	۰/۱۷ c	۰/۴۷ ab	۰/۶۳ a-e	۰/۶۳ a-d
آذر ۲	۸/۱۶ h-l	۱۱/۵۰ b-f	۳/۵۸ gh	۳/۸۷ e-h	۰/۷۸ a	۰/۵۸ bc	۰/۲۱ c	۰/۴۲ ab	۰/۷۴ ab	۰/۴۸ e
طبسی	۸/۰۸ h-l	۱۱/۶۳ b-e	۳/۷۱ f-h	۴/۰۵ d-h	۰/۷۷ a	۰/۵۴ bc	۰/۲۳ c	۰/۴۶ ab	۰/۷۰ a-c	۰/۵۱ de
زرین	۶/۴۷ kl	۱۳/۷۶ ab	۳/۴۲ gh	۵/۱۰ a-d	۰/۷۹ a	۰/۴۵ c	۰/۲۱ c	۰/۵۴ a	۰/۵۷ de	۰/۶۲ a-e
الموت	۸/۱۳ h-l	۱۴/۸۰ a	۴/۰۲ d-h	۵/۲۸ a-c	۰/۸۱ a	۰/۴۵ c	۰/۱۹ c	۰/۵۵ a	۰/۵۶ e	۰/۶۵ a-d
توس	۷/۴۱ h-l	۸/۷۱ e-k	۳/۳۸ gh	۴/۱۶ c-h	۰/۸۱ a	۰/۶۰ b	۰/۲۱ c	۰/۳۹ b	۰/۷۵ a	۰/۵۱ de
پیشتاز	۶/۴۲ kl	۷/۹۷ h-l	۳/۵۲ gh	۳/۸۱ e-h	۰/۸۴ a	۰/۶۱ b	۰/۱۶ c	۰/۳۹ b	۰/۷۲ ab	۰/۶۰ a-e
الوند	۶/۸۸ j-l	۱۱/۳۶ b-g	۳/۶۵ f-h	۴/۴۰ a-g	۰/۸۲ a	۰/۵۳ bc	۰/۱۸ c	۰/۴۹ ab	۰/۶۰ a-e	۰/۶۳ a-e
میانگین کل	۷/۴۱ a	۱۰/۷۵ b	۳/۶۲ a	۴/۴۲ b	۰/۸۲ a	۰/۵۳ b	۰/۱۸ a	۰/۴۷ b	۰/۶۵	۰/۶۱
اختلاف بین ارقام*	۰۰۰	۰۰۰	۰/۰۴	۰۰۰	۰/۰۹	۰۰۰	۰/۰۴۷	۰۰	۰۰۰	۰/۰۱۴
اختلاف بین سطوح آبیاری		۰۰۰		۰۰۰		۰۰۰		۰۰۰		
اثر متقابل رقم در آبیاری		۰۰۰		۰۰۰		۰/۰۰۱		۰۰۰		

حروف مشترک در هر ستون و هم‌چنین دو ستون مربوط به یک صفت نشان‌دهنده عدم وجود اختلاف معنی‌دار با آزمون توکی(HSD) است.

*: اعداد پایین جدول نشان‌دهنده سطوح معنی‌داری (P) صفات مورد بررسی می‌باشد.

جدول ۳. همبستگی بین صفات مورد ارزیابی و شاخص پایداری عملکرد

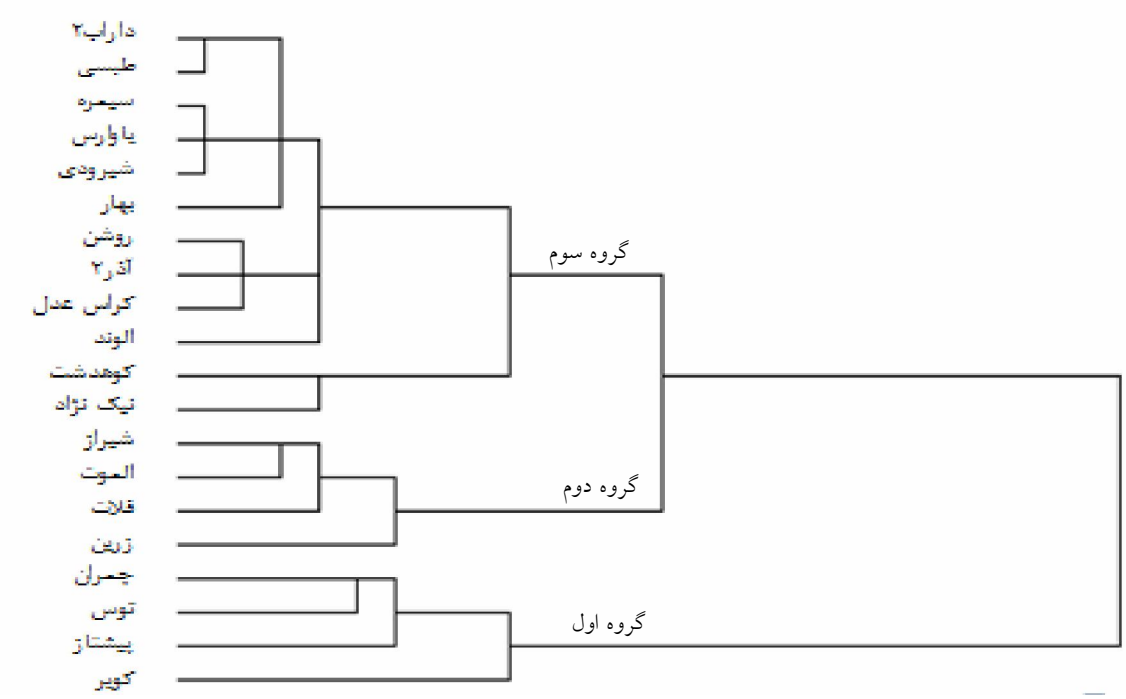
	Proline	POD	SOD	APX	CAT	MDA	H_2O_2	MSI	LE	I%	MSC	YSI
Proline	۱											
POD	−۰/۰۶۹	۱										
SOD	۰/۰۴۹	۰/۷۴۵**	۱									
APX	۰/۱۳۳	۰/۴۸۵*	۰/۵۰۷*	۱								
CAT	۰/۰۹۵	۰/۴۰۶	۰/۲۹۷	۰/۸۱۳**	۱							
MDA	−۰/۲۴۳	-۰/۶۱۵**	-۰/۷۲۹**	-۰/۵۹۶**	-۰/۵۱۶*	۱						
H_2O_2	−۰/۱۶۲	-۰/۷۱۶**	-۰/۷۰۳**	-۰/۶۲۸**	-۰/۵۵۶*	۰/۷۵۲**	۱					
MSI	۰/۱۹۲	۰/۷۸۰**	۰/۸۱۴**	۰/۵۸۸**	۰/۵۱۵*	-۰/۸۴۶**	-۰/۹۱۸**	۱				
LE	-۰/۱۹۲	-۰/۷۸۰**	−۰/۸۱۴**	-۰/۵۸۸**	-۰/۵۱۵*	۰/۸۴۶**	۰/۹۱۸**	-۱/۰۰**	۱			
I%	۰/۰۴۵	−۰/۳۵۳	−۰/۵۰۷*	-۰/۲۲۸	-۰/۱۸۹	۰/۲۷۸	۰/۴۴۶*	−۰/۵۳۷*	۰/۵۳۷*	۱		
MSC	۰/۱۲۱	۰/۷۱۶**	۰/۷۹۲**	۰/۵۳۸*	۰/۴۶۵*	-۰/۷۳۶**	-۰/۸۶۲**	۰/۹۴۸**	-۰/۹۴۸**	−۰/۷۷۵**	۱	
YSI	۰/۰۱۸	۰/۶۰۷**	۰/۵۲۱*	۰/۴۴۲	۰/۳۵۲	-۰/۶۲۰**	-۰/۸۱۹**	۰/۷۳۸**	-۰/۷۳۸**	-۰/۳۳۵	۰/۶۸۳**	۱

* و **: به‌ترتیب نشان‌دهنده همبستگی معنی‌دار در سطح ۰/۰۵ و ۰/۱۰ درصد است.

بررسی بودند. این نتایج با نتایج به‌دست آمده از اندازه‌گیری مالون دی آلدهید مطابقت داشت و این می‌تواند نشان‌دهنده مؤثر بودن لیپیداسیون غشا سلولی در تخمین میزان مرگ سلولی باشد. هم‌چنین تنش خشکی باعث کاهش بسیار معنی‌دار (P<۰/۰۱) میزان پایداری غشا سلولی(MSI) در ارقام گندم گردید اما این کاهش در بیشتر ارقام مقاوم معنی‌دار نبود. بیشترین و کمترین پایداری غشا سلولی به‌ترتیب مربوط به ارقام پیشتاز و الموت بود. نتایج به‌دست آمده نشان‌دهنده آن است که ارقام مقاوم دارای فعالیت آنتی اکسیدان بیشتری و به دنبال آن میزان تجمع رادیکال آزاد اکسیژن کمتر، لیپیداسیون غشا سلولی کمتر، نشت یونی کمتر، شاخص پایداری غشا سلولی بیشتر، درصد خسارت (I%) کمتر و در پایان درصد مرگ سلولی کمتر هستند. این روند در ارقام حساس کاملاً عکس بود. رنو و دوارشی (۲۵) این روند را پیوستگی بیوشیمیائی مقاومت به تنش‌های محیطی دانستند که با نتایج حاصل از این پژوهش مطابقت داشت.

همبستگی بین صفات بیوشیمیایی و پایداری عملکرد

نتایج به‌دست آمده از همبستگی بین صفات نشان داد که پرولین با شاخص پایداری عملکرد (YSI) و هیچ یک از صفات بیوشیمیایی مورد ارزیابی همبستگی معنی‌داری نداشت (جدول ۳). از آنجا که ارقام مورد ارزیابی دارای پتانسیل عملکرد متفاوتی بودند، YSI به‌عنوان بهترین شاخص تحمل تنش شناخته شد (شکل ۲). وجود همبستگی پایین(r=۰/۰۱۸) پرولین با YSI نشان‌دهنده ضریب اطمینان پایین آن به‌عنوان معیار مناسب انتخاب می‌باشد. از میان آنتی اکسیدان‌های مورد ارزیابی پراکسیداز (POD) و سوپراکسید دیسموتاز (SOD) دارای همبستگی معنی‌داری با YSI بودند. باودی و همکاران(۷) با مطالعه روی بیست رقم گندم در شرایط تنش خشکی اظهار داشتند که پراکسیداز و سوپر اکسید دیسموتاز شاخص‌های مناسبی برای انتخاب می‌باشند. کاتالاز (CAT) دارای پایین‌ترین همبستگی (r=۰/۳۵۲) با شاخص پایداری عملکرد بود، هم‌چنین همبستگی پایینی با سوپر اکسید دیسموتاز و پراکسیداز نشان داد اما میان کاتالاز و اسکوربیک پراکسیداز (APX) همبستگی بسیار معنی‌داری(r=۰/۸۱۳) وجود داشت. از آنجا که کاتالاز آنتی اکسیدانی است که به شدت تحت تأثیر سن گیاه قرار می‌گیرد و با افزایش سن گیاه فعالیت آن افزایش می‌یابد در نتیجه تأثیر



شکل ۳. دندوگرام حاصل از تجزیه خوشه‌ای براساس صفات بیوشیمیایی مورد اندازه‌گیری

عوامل دیگر بر افزایش فعالیت این آنزیم می‌تواند دلیلی بر همبستگی پایین این آنتی‌اکسیدان با شاخص پایداری عملکرد باشد (۲۷). مطالعه جباری و همکاران (۱۹) روی ارقام مختلف گندم نشان داد که پراکسیداز (POD) دارای همبستگی معنی‌داری با عملکرد می‌باشد اما همبستگی کاتالاز (CAT) با عملکرد معنی‌دار نبود. پراکسید هیدروژون (H_2O_2) و شاخص پایداری غشا سلولی (MSI) از میان صفات مورد ارزیابی دارای بالاترین همبستگی با شاخص پایداری عملکرد بود. پراکسید هیدروژن، مالون دی آلدهید و نشت یونی دارای همبستگی منفی بسیار معنی‌داری با شاخص پایداری عملکرد بودند. دو شاخص پایداری غشا سلولی و شاخص پایداری سلولی نیز دارای همبستگی مثبت و بسیار معنی‌داری با شاخص پایداری عملکرد (YSI) بودند. وجود همبستگی منفی و معنی‌دار میان آنتی اکسیدان‌ها و میزان تجمع رادیکال‌های آزاد اکسیژن و شاخص‌های مرتبط با میزان خسارت غشا سلولی نشان‌دهنده نقش مؤثر آنها در حذف رادیکال‌های آزاد اکسیژن و مقاومت به خشکی می‌باشد (۲۸).

از میان آنتی اکسیدان‌های مورد ارزیابی سوپراکسید دیسموتاز (SOD) دارای بالاترین همبستگی مثبت (r=۰/۸۱۴) با شاخص پایداری غشا سلولی (MSI) و بالاترین همبستگی منفی(۰/۷۲۹-r=) با لیپیداسیون غشا سلولی (MDA) بود که این می‌تواند به‌دلیل فعالیت بالاتر آن و در نتیجه مؤثرتر بودن این آنتی اکسیدان در مقاومت به خشکی باشد (۲۵). هم‌چنین پراکسید هیدروژن دارای بالاترین همبستگی مثبت(r=۰/۷۵۲) با لیپیداسیون غشا سلولی و بالاترین همبستگی مثبت (r=۰/۹۴۸) با شاخص پایداری سلول بود که این نشان‌دهنده نقش مؤثر این رادیکال آزاد اکسیژن در خسارت به سلول و در نهایت مرگ سلولی است (۲۷).

گروه‌بندی ارقام

نتایج به‌دست آمده از تجزیه خوشه ارقام براساس معیارهای مورد اندازه‌گیری نشان‌دهنده آن است که ارقام مورد مطالعه را می‌توان در سه گروه اصلی تقسیم‌بندی کرد (شکل ۳). با توجه به معیارهای مورد اندازه‌گیری ارقام کویر، پیشتاز، توس و

چمران در یک گروه قرار گرفتند. همان‌طورکه در قبل نشان داده شد این ارقام از فعالیت آنتی اکسیدانی بالا و میزان پراکسید هیدروژن و لیپیداسیون غشا سلولی پایینی برخوردار بودند و در نتیجه از پایداری عملکرد بالایی در شرایط تنش برخوردار بودند. این روند در گروه دوم که شامل ارقام زرین، الموت، شیراز و فلات بود کاملاً عکس بود و این ارقام جزء گروه ارقام حساس محسوب می‌شوند. ارقامی که در گروه سوم قرار گرفتند دارای متوسطی از فعالیت آنتی اکسیدانی، تجمع رادیکال آزاد پراکسید هیدروژن و لیپیداسیون غشا سلولی نسبت به دو گروه اول بودند. ارقام سیمره و یاورس که جزء ارقام دورم محسوب می‌شوند در یک زیر گروه قرار گرفتند. هم‌چنین ارقام روشن، کراس عدل و الوند که جزء ارقام پر عملکرد و با مقاومت به خشکی متوسط محسوب می‌شوند نیز در یک زیر گروه دسته‌بندی شدند. این نتایج نشان می‌دهد که صفات بیوشیمیایی مورد مطالعه برای گروه‌بندی و غربال‌گری ارقام مختلف گندم بسیار کارآمد هستند احمد زاده و همکاران (۳) با مطالعه روی ۳۷ ژنوتیپ گندم دروم آنها با را در سه گروه اصلی دسته‌بندی کردند.

منابع مورد استفاده

1. Aghaee-Sarbarzeh, M., R. Rajabi. R. Haghparast and R. Mohammadi. 2010. Evaluation of proline content, cell membrane damage, and drought tolerance in durum wheat (*Triticum turgidum* var. *durum*) genotypes under controlled conditions. *Iranian Journal of Seed and Plant Improvement* 25(2): 345-352. (In Farsi).
2. Ahmadi, A., Y. Emam and M. Pessarakli. 2010. Biochemical changes in maize seedling exposed to drought stress conditions at different nitrogen levels. *Journal of Plant Nutrition* 33: 541.556.
3. Ahmadizadeh, M., M. Valizadeh, M. Zaefizadeh and H. Shahbazi. 2011. Antioxidative protection and electrolyte leakage in durum wheat under drought stress condition. *Journal of Applied Sciences Research*. 7(3): 236-246.
4. Alexieva, V., I. Sergiev, S. Mapelli and E. Karanov. 2001. The effect of drought and ultraviolet radiation on growth and stress markers in pea and whea*t. Plant Cell Environment* 24: 1337-1344.
5. Amjad, H., B. Noreen, A. Javed and I. Nayyer. 2011. Differential changes in antioxidants, proteases, and lipid peroxidation in flag leaves of wheat genotypes under different levels of water deficit conditions. *Plant Physiology and Biochemistry* 49: 178-185.
6. Asada, K. 1999. The waterewater cycle in chloroplasts: scavenging of active oxygens and dissipation of excess photons. Annual Review. *Plant Physiology and Plant Molecular Biology* 50: 601-639.
7. Baodi, D., M. Liu, H. Shao, Q. Li, L. Shi, F. Du and Z. Zhang. 2008. Investigation on the relationship between leaf water use efficiency and physio-biochemical traits of winter wheat under rained condition. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces* 62: 280–287.
8. Bates, L. S., R. P. Waldern and I. D. Teave. 1973. Rapid determination of free proline for water stress standies. *Plant and Soil* 39: 205-107.
9. Beauchamp, C. and I. Fridovich. 1971. Superoxide dismutases: improved assays and an assay predictable to acrylamide gels. *Annals of Clinical Biochemistry* 44: 276–287.
10. Behnamnia, M., Kh. M. Kalantari and F. Rezanejad. 2009. Exogenous application of brassinosteroid alleviates drought-induced oxidativestress in *Lycopersicon esculentum* L. *General and Application Plant Physiology* 35: 22–34.
11. Bouslama, M. and W. T. Schapaugh. 1984. Stress tolerance in soybean. Part 1: evaluation of three screening techniques for heat and drought tolerance. *Crop Science* 24: 933-937.
12. Cadenas, S. E. 1989. Biochemistry of oxygen toxicity. Annual Review. *Biochemistry* 58: 79-110.
13. Chance, B. and A. C. Maehly. 1995. Assay of Catalase and Peroxidase. Academic Press., New York.
14. Dhindsa, R. S., P. Plumb-Dhindsa and T. A. Thorpe. 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.
15. Emam, Y. 2007. Cereal Production. Shiraz Press., Shiraz.
16. Foyer, C. H., P. Descourvieres and K. J. Kunert. 1994. Protection against oxygen radicals: an important defense mechanism studied in transgenic plants. *Plant Cell Environment* 17: 507–523.
17. Golestani, S. and M. T. Assad. 1998. Evaluation of four screening techniques for drought resistance and their relationship to yield reduction ratio in wheat. *Euphytica* 103: 293-299.

18. Heath, R. L. and L. Packer, 1969. Photoperoxidation in isolated chloroplast. I. Kinetics and stoichiometry of fatty acid peroxidation. *Archives of Biochemistry and Biophysics* 125: 189-198.
19. Jabbari, F., A. Ahmadi, K. Poostini and H. Alizadeh. 2006. Study of relationship of activities of some antioxidant enzymes with cell membrane stability and chlorophyll of drought-resistant and drought-sensitive bread wheat cultivars. *Iranian Journal of Agricultural Sciences* 37(1): 316-307. (In Farsi).
20. Kafi, M., A. Borzoee, M. salehi, A. Kamandi, A. Masoumi and J. Nabati. 2010. Physiology of Environmental Stress in Plants. Mashhad University Press., Mashhad.
21. Micheal, A. M. and T. P. Oija. 1987. Principles of Agricultural Engineering. New Delhi Jain Brothers Pub., Delhi.
22. Mohammadi, R., R. Haghparast, M. Aghaee-Sarbarze and A. V. Abdollahi. 2006. An evaluation of drought tolerance in advanced durum wheat genotypes based on physiologic characteristics and other related indices. *Iranian Journal of Agricultural Sciences* 37: 561-567. (In Farsi)
23. Nakano, Y. and K. Asada. 1981. Hydrogen peroxide is scavenged by ascorbate-specific peroxidase in spinach chloroplasts. *Plant Cell Physiology* 22: 867–880.
24. Pireivatloum, J., N. Qasimov and H. Maralian. 2010. Effect of soil water stress on yield and proline content of four wheat lines. *African Journal of Biotechnology* 9: 036-040.
25. Renu, K. C. And S. Devarshi. 2007. Acclimation to drought stress generates oxidative stress tolerance in drought-resistant than susceptible wheat cultivar under field conditions. *Environmental and Experimental Botany* 60: 276–283.
26. Sairam, R. K. 1994. Effect of moisture stress on physiological activities of two contrasting wheat genotypes. *Indian Journal of Experimental Biology* 32: 584-593.
27. Sarvajeet, S. G. and T. Narendra. 2010. Reactive oxygen species and antioxidant machinery in a biotic stress tolerance in crop plants. Annual Review. *Plant Physiology and Biochemistry* 3: 1-22.
28. Shao, H. B., Z. S. Liang and M. A. Shao. 2005. Changes of some anti-oxidative enzymes under soil water deficits among 10 wheat genotypes at maturation stage. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*. 45: 7–13.