



بررسی تغییرات میزان کلروفیل، پروتئین و آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانت در گندم دوروم تحت تنش خشکی

کیوان حسن پور لسکو کلابه^۱، جعفر احمدی^۲، جهانفر دانشیان^۳ و صدیقه حاتمی^۴

۱- کارشناس ارشد، دانشگاه بین‌المللی امام خمینی (ره)، (نویسنده مسئول: key.hasanpoor@yahoo.com)

۲- دانشیار، دانشگاه بین‌المللی امام خمینی (ره)

۳- دانشیار، موسسه تحقیقات اصلاح و تهیه نهال و بذر کرج

۴- کارشناس ارشد، موسسه تحقیقاتی پاستور ایران

تاریخ دریافت: ۹۱/۷/۱۱ تاریخ پذیرش: ۹۲/۲/۲۸

چکیده

تنش خشکی یک تنش غیرزنده است که سبب ایجاد واکنش‌های بیوشیمیایی و فیزیولوژیک متفاوتی در گیاه می‌گردد. به منظور بررسی اثر تنش خشکی بر روند تغییرات کلروفیل، فعالیت آنتی‌اکسیدانتی و محتوای پروتئین محلول کل برگ در پنج رقم گندم دوروم آزمایشی در گلخانه تحقیقاتی دانشگاه بین‌المللی امام خمینی (ره) در سال ۱۳۸۹ اجرا گردید. پنج ژنوتیپ مختلف گندم دوروم شامل سیمره، کرخه، دنا، آریا و لاین ۱۵-۷۹-D در یک آزمایش فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی در شش تکرار و در دو شرایط نرمال و تنش خشکی ارزیابی شدند. در مرحله پنج برگی نمونه‌گیری جهت اندازه‌گیری مقدار پروتئین محلول و فعالیت آنزیم‌های ضد اکسند کاتالاز، پراکسیداز، سوپراکسید دیسموتاز و آسکوربیت پراکسیداز صورت گرفت. نتایج نشان داد که میزان پروتئین محلول در ژنوتیپ‌های مختلف مورد مطالعه در اثر تنش خشکی بطور معنی‌داری افزایش یافت ولی میزان کلروفیل کل گیاه کاهش پیدا کرد. از نظر کلروفیل a، b و کلروفیل کل رقم آریا بالاترین رتبه را در میان ارقام داشت. نتایج حاکی از آن بود که فعالیت آنزیم‌های ضد اکسند کاتالاز (CAT)، پراکسیداز (POX) و سوپراکسید دیسموتاز (SOD) در واکنش به تنش خشکی معنی‌دار گردید و افزایش نشان داد، در حالی که در اثر تنش کم آبی میزان فعالیت آنزیم آسکوربیت پراکسیداز کاهش یافت. رقم آریا بیشترین فعالیت آنزیم CAT را در برابر تنش خشکی از خود نشان داد و رقمی مقاوم در برابر تنش خشکی محسوب شد. رقم سیمره دارای فعالیت آنزیم POX زیادتری در شرایط تنش بود. کمترین فعالیت آنزیم POX در لاین ۱۵-۷۹-D مشاهده شد که رقمی حساس نسبت به سایر ارقام در برابر تنش خشکی محسوب می‌شود. رقم دنا بیشترین افزایش فعالیت آنزیم SOD و رقم کرخه دارای بیشترین افزایش فعالیت آنزیم APX در شرایط تنش بود.

واژه‌های کلیدی: گندم ماکارونی، تنش کم آبی، آنتی‌اکسیدانت، آنزیم

مقدمه

هیدروکسیل صورت می‌گیرد (۷). گیاهان برای کاهش دادن اثر مخرب گونه‌های اکسیژن فعال مکانیسم‌های مختلفی دارند. از جمله این مکانیسم‌ها می‌توان به سیستم دفاع آنتی‌اکسیدان اشاره کرد. آنزیم‌هایی که به‌عنوان آنتی‌اکسیدان در پاکسازی رادیکال‌های آزاد اکسیژن سلول نقش دارند شامل کاتالاز، سوپراکسید دیسموتاز، آسکوربات پراکسیداز و غیره می‌باشند (۲). کاهش فعالیت کاتالاز و آسکوربات پراکسیداز می‌تواند سبب تجمع پراکسید هیدروژن شده و سبب کاهش فعالیت برخی از آنزیم‌های چرخه کالوین نظیر ریبولوز مونوفسفات، کیناز و بی‌فسفاتازها گردد (۲). آنزیم سوپراکسید دیسموتاز رادیکال سوپراکسید را به پراکسید هیدروژن تبدیل می‌کند و کاهش فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز، تجمع رادیکال سوپراکسید را در پی دارد. این رادیکال می‌تواند با پراکسید هیدروژن ترکیب و رادیکال فوق‌العاده خطرناک هیدروکسیل را بوجود آورد

یکی از راه‌های تأمین نیاز غذایی جمعیت در حال افزایش کشور و جهان افزایش تولید محصولات کشاورزی است. بطوری که تا سال ۲۰۲۰ میلادی عملکرد گندم بایستی هر ساله در حدود ۱/۶٪ در دنیا افزایش یابد (۲۰). خشکی از مهم‌ترین عوامل محدودکننده تولید گیاهان زراعی از جمله گندم به شمار می‌آید که برای غلبه بر این محدودیت علاوه بر روش‌های به‌زراعی، می‌توان نسبت به اصلاح ارقام سازگار به تنش‌های محیطی اقدام نمود. جهت رسیدن به این هدف شناخت ویژگی‌های فیزیولوژیک و بیوشیمیایی گیاه از اهمیت ویژه‌ای برخوردار است. تنش خشکی می‌تواند باعث اختلالات متابولیسمی در سلول‌های گیاهی و افزایش تولید فرم‌های فعال اکسیژن شود (۱۶). یکی از اثرات تنش کم آبی، آسیب‌های اکسیداتیو می‌باشد که این کار توسط رادیکال‌های آزاد اکسیژن مانند رادیکال‌های سوپراکسید هیدروژن و رادیکال‌های

است (۸). اندازه‌گیری پروتئین محلول، کلروفیل کل و کلروفیل a و b در شرایط تنش خشکی و شرایط معمولی می‌تواند در انتخاب ارقام مقاوم گندم کمک نماید. ژای و همکاران (۲۶) مشاهده کردند که سرعت فتوسنتز خالص و پروتئین‌های محلول برگ پرچم گندم، بعد از گلدهی و با شروع پدیده پیری کاهش می‌یابد. سی و سه مرده و همکاران (۲۳) گزارش کردند که اعمال تنش خشکی غلظت کلروفیل a را بطور متوسط در حدود ۳۵٪ و کلروفیل b را ۳۸٪ کاهش داد. اشرف و همکاران (۴). هدف از این تحقیق بررسی اثر تنش خشکی بر روند تغییرات آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانتی و صفات پروتئین کل و میزان کلروفیل و نیز مقایسه آنها با شرایط بدون تنش خشکی در گندم دوروم بود.

مواد و روش‌ها

این آزمایش در شرایط کنترل شده در گلخانه تحقیقاتی دانشگاه بین‌المللی امام خمینی (ره) در سال ۱۳۸۹ انجام گرفت. در این تحقیق پنج رقم گندم دوروم (سیمره، کرخه، دنا، آریا و ۱۵-۷۹-D) انتخاب شده (بر اساس اقلیم‌های مختلف کشت و میزان عملکردهای متفاوت) از موسسه تحقیقات اصلاح و تهیه نهال و بذر کرج (جدول ۱) در یک آزمایش فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با شش تکرار و در دو شرایط نرمال (عدم تنش خشکی) و تنش کم آبی (تنش با مقدار آب‌دهی برابر با ۳۰ درصد آب مصرفی شرایط نرمال) ارزیابی شدند. پس از کشت بذور ارقام، تنش‌دهی از مرحله سه برگی آغاز شده و در مرحله پنج برگی که گیاهان تیمار تنش علائم ظاهری تنش به ویژه لوله‌شدگی برگ را نشان دادند، نمونه‌گیری جهت اندازه‌گیری میزان کلروفیل، پروتئین محلول کل و سنجش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانت انجام گرفت. برای اندازه‌گیری میزان کلروفیل a و کلروفیل b و کلروفیل کل از روش آرنون (۳) استفاده شد.

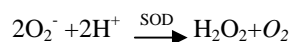
اندازه‌گیری میزان پروتئین محلول کل به روش برفورد صورت گرفت. برای این منظور ۲۰ میکرولیتر از عصاره استخراجی نمونه با یک میلی‌لیتر از محلول Bradford مخلوط شده و بعد از پنج دقیقه میزان جذب مخلوط در طول موج ۵۹۵ نانومتر قرائت شد. با قراردادن عدد بدست آمده در منحنی استاندارد میزان پروتئین نمونه مجهول بر حسب میکروگرم بر میلی‌لیتر بدست آمد.

سنجش میزان فعالیت آنزیمی

بمنظور اندازه‌گیری فعالیت آنزیم کاتالاز از روش آبی (۱) استفاده شد. مخلوط سه محلول (شامل ۷۵۰ میکرولیتر پراکسید هیدروژن ۷۰ میلی‌مولار محلول در فسفات پتاسیم ۱۰۰ میلی‌مولار با pH=7، ۷۵۰ میکرولیتر بافر فسفات پتاسیم ۱۰۰ میلی‌مولار با pH=7 و

(۱۷). آنتی‌اکسیدان‌های آسکوربات و گلوتاتیون توانایی واکنش مستقیم با رادیکال سوپراکسید و سایر فرم‌های فعال اکسیژن را دارند که می‌توانند شدت آسیب را کاهش دهند (۱۵). در ارقام الوند و زرین گندم کاهش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان از عوامل اصلی محدودکننده مکانیسم‌های دفاعی به شمار آمده و سبب افزایش پراکسیداسیون لیپیدی گردید (۱۲).

آنزیم کاتالاز پراکسید هیدروژن تولید شده در سلول را به شکل $2H_2O_2 \rightarrow 2H_2O + O_2$ تجزیه می‌کند. حداکثر جذب H_2O_2 در طول موج ۲۴۰ نانومتر می‌باشد. لذا زمانی که آنزیم کاتالاز در محیط بوده و فعالیت می‌کند پراکسید هیدروژن به تدریج تجزیه شده و رفته رفته که از مقدار H_2O_2 محیط کاسته می‌گردد از میزان جذب H_2O_2 در طول موج ۲۴۰ نانومتر نیز کم می‌شود (۱). آنزیم پراکسیداز با استفاده از گوئیکول به‌عنوان سوبسترا، پراکسید هیدروژن را به صورت H_2O تجزیه می‌کند. حداکثر جذب تتراگوئیکول در ۴۷۰ نانومتر می‌باشد. لذا وقتی که آنزیم پراکسیداز در محیط بوده و فعالیت نشان می‌دهد گوئیکول تدریجاً به تتراگوئیکول اکسید شده و رفته رفته غلظت تتراگوئیکول در محیط افزایش پیدا می‌کند (۹). آنزیم آسکوربیت پراکسیداز، پراکسیداز هیدروژن را با استفاده از آسکوربیت به‌عنوان سوبسترا $2H_2O$ تجزیه می‌کند. حداکثر جذب آسکوربیت در ۲۹۰ نانومتر می‌باشد. لذا زمانی که آنزیم آسکوربیت پراکسیداز در محیط بوده و فعالیت دارد به تدریج آسکوربیت اکسید شده و به تبع آن از میزان آسکوربیت محیط کاسته شده و میزان جذب در طول موج ۲۹۰ نانومتر کاهش می‌یابد (۱۸). آنزیم سوپراکسید دیسموتاز رادیکال سوپراکسید تولید شده در سلول را به شکل ذیل خنثی می‌کند.



نیتروبلوتترازولیوم (NBT) موجود در مخلوط واکنش در اثر تابش نور سفید احیاء شده و به یک ماده رنگی به نام فورمازون تبدیل می‌شود. حداکثر جذب این ماده (فورمازون) در طول موج ۵۶۰ نانومتر می‌باشد. از طرف دیگر آنزیم سوپراکسید دیسموتاز با مصرف H^+ موجود در محیط موجب کاهش میزان احیاء نیتروبلوتترازولیوم می‌شود. لذا به ترتیب افزایش غلظت عصاره آنزیمی در محیط احیاء NBT و به تبع آن تشکیل ماده رنگی فورمازون کاهش یافته و در نتیجه میزان جذب در ۵۶۰ نانومتر کاهش می‌یابد (۵).

همچنین تنش خشکی باعث تجزیه و کاهش غلظت پروتئین‌ها در برگ‌های بالغ شده و در نتیجه اسیدهای آمینه آزاد از جمله پرولین افزایش می‌یابد (۴). کاهش محتوای کلروفیل تحت تنش خشکی گزارش شده

آنزیم آسکوربات پراکسیداز در طول موج ۲۹۰ نانومتر و مدت زمان واکنش ۱۸۰ ثانیه اندازه‌گیری گردید. به‌منظور سنجش فعالیت آنزیم و پراکسیددیسموتاز از روش بیوشامپ و فریدوویچ (۵) استفاده شد. برای ترسیم منحنی فعالیت این آنزیم از فتومتری دستگاه اسپکتروفتومتر استفاده شد. فعالیت ویژه این آنزیم در مخلوط واکنشی حاوی ۲۵۰ میکرولیتر اتیلن دی‌نیتربلو تتراستیک اسید (EDTA) ۰/۱ میلی‌مولار محلول در فسفات پتاسیم ۱۰۰ میلی‌مولار با $pH=7$ ، یک میلی‌لیتر نیتروبلوتترازولیوم (NBT) ۷۵ میکرومولار محلول در آب دوبار تقطیر استریل شده، یک میلی‌لیتر ریبولوین ۲ میلی‌مولار محلول در آب دوبار تقطیر استریل شده و ۷۵۰ میکرولیتر میتونین (Met) ۱۳ میلی‌مولار محلول در آب دو بار تقطیر استریل شده اندازه‌گیری شد. در این روش در ۸ عدد کیبوت شیشه‌ای در هرکدام ۳ میلی‌لیتر از مخلوط واکنش بالا ریخته شد. یکی از این کیبوت‌ها برای کالیبره شدن دستگاه استفاده شده و بوسیله آن اسپکتروفتومتر بلنک (صفر) شد. برای بقیه کیبوت‌ها به ترتیب صفر، ۱۵، ۳۰، ۴۵، ۶۰، ۷۵ و ۹۰ میکرولیتر عصاره آنزیمی اضافه شده و کیبوت‌ها در فاصله ۲۰ سانتی‌متری از یک منبع نور فلورسانت ۱۵ وات به مدت ۵ دقیقه قرار گرفتند. سپس نمونه‌ها به ترتیب در داخل دستگاه اسپکتروفتومتر قرار گرفته و میزان جذب آنها در طول موج ۵۶۰ نانومتر اندازه‌گیری شد.

پس از بدست آوردن داده‌های آزمایش، تجزیه و تحلیل‌های آماری با استفاده نرم‌افزارهای SAS و EXCEL انجام گرفت.

۱۵۰۰ میکرولیتر آب دو بار تقطیر) به اضافه ۲۰ میکرولیتر عصاره آنزیمی در یک کیبوت کوارتز ۳ میلی‌لیتری ریخته شده و با قراردادن در دستگاه اسپکتروفتومتر فعالیت آنزیم کاتالاز در طول موج ۲۴۰ نانومتر و در مدت زمان واکنش ۱۸۰ ثانیه بر حسب abs/min اندازه‌گیری شد.

فعالیت آنزیم پراکسیداز با استفاده از روش چانس و مهلی (۹) اندازه‌گیری شد. مخلوط واکنشی که برای سنجش فعالیت ویژه این آنزیم استفاده شد شامل ۷۵۰ میکرولیتر پراکسیدهیدروژن ۷۰ میلی‌مولار محلول در فسفات پتاسیم ۱۰۰ میلی‌مولار با $pH=7$ ، ۷۵۰ میکرولیتر بافر فسفات پتاسیم ۱۰۰ میلی‌مولار با $pH=7$ ، ۷۵۰ میکرولیتر گلیکول ۱۰ میلی‌مولار محلول در آب دوبار تقطیر استریل شده بود. در این روش مخلوط واکنش فوق به اضافه ۲۰ میکرولیتر از عصاره آنزیمی در یک کیبوت شیشه‌ای ۳ میلی‌لیتری ریخته شده و با قرار گرفتن در دستگاه اسپکتروفتومتر فعالیت آنزیم پراکسیداز در طول موج ۴۷۰ نانومتر و در مدت زمان واکنش ۱۸۰ ثانیه اندازه‌گیری شد.

برای سنجش فعالیت آنزیم آسکوربیت پراکسیداز از روش ناکونو و آسادا (۱۸) استفاده شد. مخلوط واکنش شامل ۲۵۵۰ میکرولیتر آسکوربیت ۰/۵ میلی‌مولار محلول در فسفات پتاسیم ۱۰۰ میلی‌مولار با $pH=7$ ، ۴۵۰ میکرولیتر پراکسیدهیدروژن ۲ میلی‌مولار محلول در آب دوبار تقطیر استریل شده به اضافه ۳۰ میکرولیتر از عصاره آنزیمی در یک کیبوت کوارتز ۳ میلی‌لیتری ریخته شد و با قراردادن در دستگاه اسپکتروفتومتر فعالیت

جدول ۱- خصوصیات زراعی ارقام انتخابی گندم دوروم مورد استفاده در این تحقیق

رقم	تیپ رشد	میانگین عملکرد در هکتار (kg)	میانگین وزن هزاردانه (gr)	میانگین ارتفاع بوته (cm)	اقلیم کاشت
آریا	بهاره	۶۷۸۲	۴۵	۱۰۰	مناطق معتدل
کرخه	بهاره	۶۶۰۰	۴۲-۴۵	۹۰-۱۰۰	گرم و خشک
دنا	بهاره	۶۸۰۰	۴۴	۹۴	گرم و معتدل
سیمره	بهاره	۴۰۰۰	۳۷	۸۵-۱۰۰	مناطق گرمسیر
D-79-15	بهاره	۳۸۰۰-۴۵۰۰	۴۲-۴۴	۹۰	گرم و خشک

نتایج و بحث

اثر تنش خشکی بر پروتئین محلول

نتایج تجزیه واریانس پروتئین محلول کل (جدول ۲) نشان داد که منبع تغییر تنش خشکی و رقم در سطح احتمال (P 0.01) اختلاف آماری معنی‌داری داشتند. همچنین اثر متقابل تنش خشکی در رقم در سطح احتمال (P 0.01) معنی‌دار شده و مشخص شد که ارقام مختلف در برابر تنش خشکی رفتارهای متفاوتی نشان دادند. مقایسه میانگین میزان پروتئین محلول کل (شکل ۱) نشان داد که مقدار پروتئین در اثر تنش خشکی بطور

معنی‌داری از ۶/۴۴ میلی‌گرم بر گرم در شرایط نرمال به ۷/۶۷ میلی‌گرم بر گرم (۱۴/۵ درصد) در شرایط تنش افزایش یافت. از نظر میزان پروتئین محلول کل در مجموع دو شرایط رقم سیمره بالاترین و رقم D-79-15 کمترین مقدار را دارا بودند. بر اساس مقایسه میانگین اثر متقابل تنش در رقم (شکل ۲) رقم آریا در شرایط تنش بالاترین مقدار پروتئین (۸ میلی‌گرم بر گرم) را دارا بود، این در حالی است که رقم آریا در شرایط بدون تنش حاوی کمترین مقدار پروتئین بود که می‌تواند بیانگر انعطاف‌پذیری رقم آریا در پاسخ به تنش و به تبع آن

معنی دار گردید و مقایسه میانگین اثر متقابل انجام گرفت. از نظر مقدار کلروفیل a (شکل ۶) تنش خشکی باعث کاهش کلروفیل a در هر پنج رقم شد و رقم آریا با ۰/۳۱ میلی گرم بر گرم در شرایط تنش بالاترین مقدار را به خود اختصاص داد. تامسون (۲۴) بیان نمود، که 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. تنش خشکی باعث کاهش کلروفیل a گردیده و کاهش کلروفیل منجر به کاهش فتوسنتز شده و در نتیجه رشد گیاه گندم و متعاقب آن عملکرد محصول کاهش می‌یابد. کاهش غلظت کلروفیل در شرایط کم آبی می‌تواند به‌عنوان یک عامل محدودکننده غیر روزه‌ای به حساب آید. یکی از دلایل این کاهش افزایش میزان فعالیت آنزیم کلروفیلاز است که البته تحت شرایط تنش بیان این آنزیم القاء می‌شود (۱۹). از عوامل دیگر می‌توان به رادیکال‌های آزاد ناشی از تنش اکسیداتیو اشاره کرد. نتایج حاصل از این تحقیق نشان داد که تنش خشکی باعث کاهش رنگدانه‌های فتوسنتزی (کلروفیل a، کلروفیل b و کلروفیل کل) و متعاقباً کاهش فعالیت فتوسنتز گیاه می‌گردد.

مقاومت بالا به تنش خشکی باشد. نتایج بدست آمده از این تحقیق با نتایج بهبودی و همکاران (۶)، قاسم پور و کیانیان (۱۳) و ابراهیمی و همکاران (۱۱) مطابقت دارد. بهبودی (۶) نیز در تحقیق خود نشان داد که تنش خشکی محتوای پروتئین کل را افزایش داده و این افزایش در رقم مقاوم بیشتر بود.

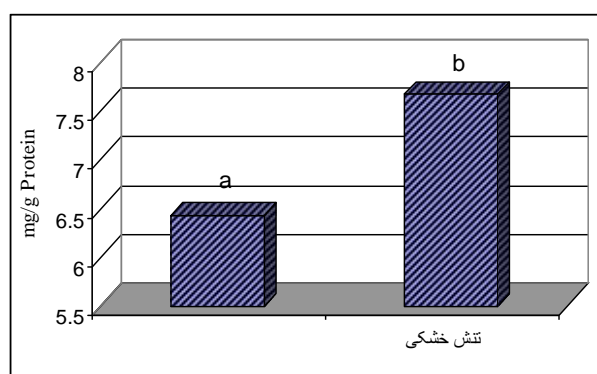
اثر تنش خشکی بر رنگیزه‌های گیاهی

از نظر میزان کلروفیل کل، تنش خشکی باعث کاهش مقدار کلروفیل گردید و همانطور که از مقایسه میانگین (شکل ۳) مشاهده می‌گردد مقدار کلروفیل کل از ۳۹۹ میلی گرم بر گرم در شرایط بدون تنش به ۳۰۷ میلی گرم بر گرم (کاهش ۲۲/۱ درصدی) در شرایط تنش کاهش یافت. منبع تغییر رقم (جدول ۲) به طور معنی‌داری (P 0.01) برای صفت کلروفیل b معنی‌دار شده و اختلاف ارقام را از نظر آن صفت نشان داد. تغییرات میزان کلروفیل کل تحت دو شرایط عدم تنش و تنش خشکی در پنج رقم گندم دوروم در شکل ۴ نشان داده شده است. در مورد مقدار کلروفیل b در مجموع دو شرایط تنش و بدون تنش رقم آریا بالاترین و رقم سیمره کمترین مقدار را شامل بود (شکل ۵). همان‌طور که از جدول ۲ مشاهده می‌شود اثر متقابل تنش × رقم برای صفت کلروفیل a و کلروفیل کل

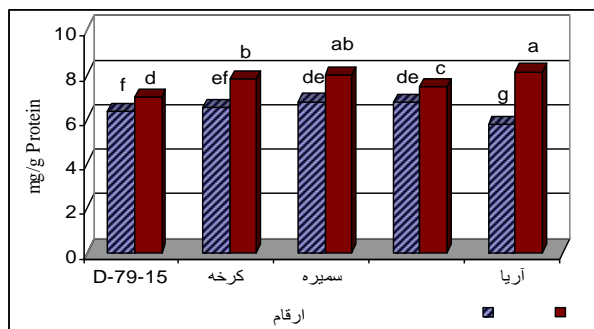
جدول ۲- تجزیه واریانس مقدار پروتئین محلول کل و کلروفیل گندم دوروم تحت دو شرایط تنش و بدون تنش خشکی

منابع تغییر (s.o.v)	درجه آزادی (df)	پروتئین محلول	کلروفیل a	کلروفیل b	کلروفیل کل
تنش خشکی	۱	۲۲/۵**	۰/۰۰۰	۰/۰۰۵	۰/۱۱۳
رقم	۴	۰/۸۹۳**	۰/۰۱۱	۰/۱۲۷**	۰/۰۱۳
تنش × رقم	۴	۱/۴۱**	۰/۰۴۰**	۰/۰۶۷	۰/۲۴۵*
خطای آزمایش	۵۰	۰/۱۰۸	۰/۰۱	۰/۰۳۸	۰/۰۷۱

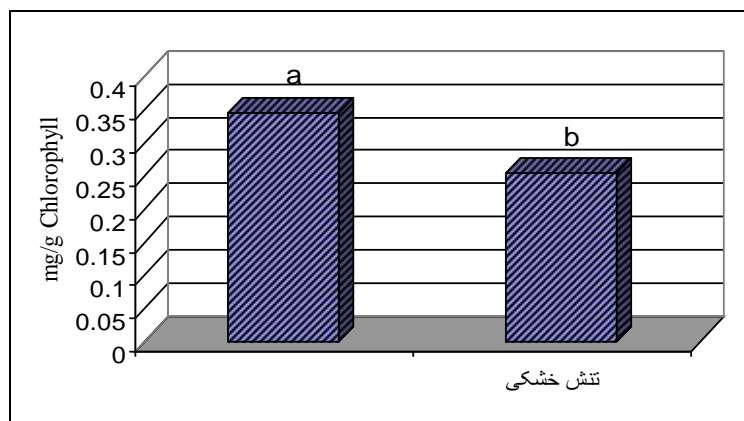
* و ** به ترتیب غیرمعنی دار و معنی‌دار در سطح احتمال ۵ و ۱ درصد.



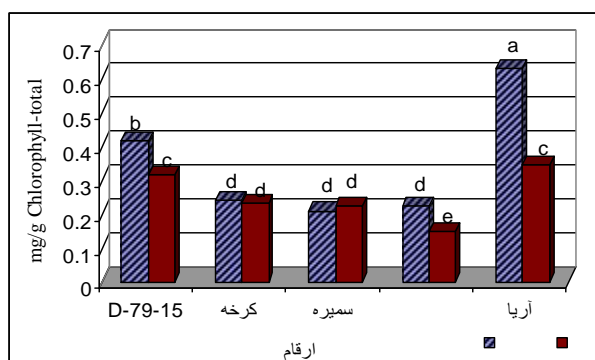
شکل ۱- تغییرات میزان پروتئین کل تحت دو شرایط تنش و بدون تنش خشکی در پنج رقم گندم دوروم



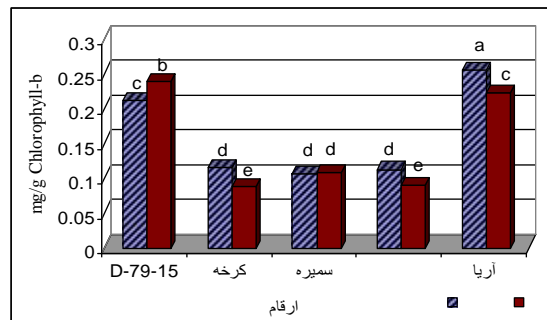
شکل ۲- تاثیر تنش خشکی روی میزان تغییرات پروتئین محلول کل در پنج رقم گندم دوروم (حروف مشترک در بالای ستون‌ها اختلاف آماری معنی‌دار در سطح احتمال یک درصد ندارد).



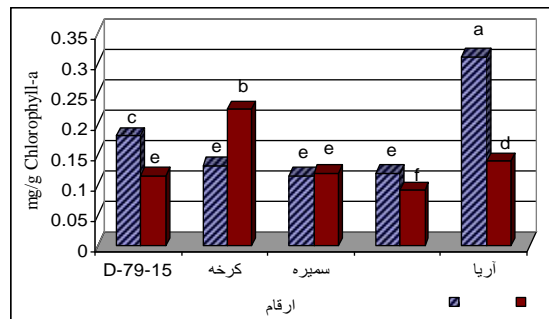
شکل ۳- تغییرات میزان کلروفیل کل تحت دو شرایط تنش و بدون تنش خشکی در پنج رقم گندم دوروم



شکل ۴- تغییرات میزان کلروفیل کل تحت دو شرایط عدم تنش و تنش خشکی در پنج رقم گندم دوروم



شکل ۵- تغییرات میزان کلروفیل b در دو شرایط تنش و عدم تنش خشکی در پنج رقم گندم دوروم



شکل ۶- تغییرات میزان کلروفیل a در دو شرایط تنش و عدم تنش خشکی در پنج رقم گندم دوروم

می‌شود.

همان‌طور که مشاهده شد، در این آزمایش نیز تنش خشکی باعث افزایش فعالیت آنزیم کاتالاز گردید. بنابراین رقم دنا با توجه به بیشترین فعالیت آنزیم کاتالاز در مقابل تنش خشکی رقم مقاوم محسوب می‌گردد. بی و همکاران (۲۷) نیز نشان دادند تنش خشکی فعالیت آنزیم کاتالاز را افزایش داده و در نتیجه مقاومت گیاه و در نهایت عملکرد محصول افزایش یافت.

فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز (SOD)

با تجزیه واریانس (جدول ۳) اثر تنش خشکی، ارقام و اثر متقابل بین دو فاکتور روی آنزیم سوپراکسید دیسموتاز در سطح احتمال (P 0.01) معنی‌دار گردید. با بررسی میانگین آنزیم SOD در دو شرایط مشاهده شد که فعالیت آنزیم SOD در شرایط عدم تنش از ۱۵/۵ (unit/mg protein) به ۱۷/۵۳۵ (unit/mg protein) در شرایط تنش (۱۵ درصد) افزایش یافت. بر اساس مقایسه میانگین ارقام (جدول ۴) لاین D-79-15 و رقم آریا به ترتیب با میانگین ۱۷/۱۱ و ۱۷/۰۶ (unit/mg protein) در رتبه اول و سایر ارقام در کلاس‌های بعدی قرار گرفتند. آنزیم سوپراکسید دیسموتاز نیز یک آنزیم ضد اکسنده است

فعالیت ویژه آنزیم کاتالاز (CAT)

با توجه به نتایج تجزیه واریانس (جدول ۳)، اثر تنش خشکی، ارقام و اثر متقابل رقم × تنش روی آنزیم کاتالاز در سطح احتمال (P 0.01) معنی‌دار گردید. با مقایسه میانگین ارقام (جدول ۳) رقم سمیره با میانگین فعالیت ۷۰/۵۵ میکرومول بر دقیقه در میلی‌گرم پروتئین در رتبه اول و سایر ارقام با اختلاف چشمگیر در کلاس‌های بعدی قرار گرفتند. همان‌طور که در شکل (۷) مشاهده می‌گردد رقم دنا بیشترین افزایش فعالیت آنزیم کاتالاز را در شرایط تنش نسبت به شرایط نرمال نشان داده و پس از آن رقم آریا بیشترین فعالیت آنزیم کاتالاز در اثر تنش را دارا بود. در حالی که در دو رقم D-79-15 و کرخه آنزیم کاتالاز کاهش فعالیت نشان داد و بیانگر عدم مقاومت و پاسخ این دو رقم به تنش خشکی می‌باشد. نتایج بدست آمده از این تحقیق در خصوص تأثیر تنش بر آنزیم کاتالاز در توافق با نتایج امینی و همکاران (۲)، بی و همکاران (۲۷) و شارما و دویی (۲۲) می‌باشد. کاتالاز یکی از مهم‌ترین آنزیم‌های جمع‌آوری‌کننده پراکسید هیدروژن به‌شمار می‌آید که افزایش فعالیت این آنزیم باعث مقاومت گیاه در شرایط تنش و در نتیجه موجب افزایش عملکرد محصول

میانگین ارقام (جدول ۴) رقم سیمره با میانگین ۱۱۱/۴ (میکرومول POX بر دقیقه در میلی‌گرم پروتئین) در رتبه اول و سایر ارقام با اختلاف در کلاس‌های بعدی قرار گرفتند. با توجه به شکل ۹ رقم سیمره دارای بیشترین افزایش فعالیت آنزیم پراکسیداز در شرایط تنش بوده و بعد از آن رقم آریا بیشترین مقدار فعالیت آنزیم POX در شرایط تنش را دارا بود. لذا هر دو رقم از جهت افزایش فعالیت این آنزیم در مقابل تنش ایجاد مقاومت نموده است. کمترین فعالیت آنزیم POX مربوط به رقم D-79-15 بوده و رقمی حساس نسبت به سایر ارقام در برابر تنش محسوب می‌شود، هرچند که تحت شرایط تنش فعالیت آنزیم پراکسیداز در این رقم نیز افزایش نشان داده است. همان‌طور که مشاهده شد فعالیت آنزیم پراکسیداز برخلاف سایر آنزیم‌های ضد اکسنده در تمام ارقام افزایش یافت. از آنجا که فعالیت ویژه آنزیم نشان‌دهنده فراوانی نسبی پروتئین می‌باشد این امر می‌تواند ناشی از افزایش بیان ژن‌های کدکننده آنزیم پراکسیداز و یا پایداری مولکولهای پروتئین این آنزیم در مقابل تخریب اکسنده باشد (۲).

که 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. همچنین افزایش فعالیت این آنزیم موجب جلوگیری از تشکیل رادیکال خطرناک هیدروکسیل شده و از تخریب غشاء سلولی جلوگیری کرده و لذا در محافظت سلول‌های گیاهی نقش زیادی را ایفا می‌کند. مقایسه میانگین اثر متقابل (شکل ۸) نشان داد که رقم دنا بیشترین افزایش فعالیت آنزیم را در شرایط تنش دارا بوده و رقم کرخه در کلاس بعدی قرار گرفت. نتایج بدست آمده در این آزمایش با نتایج پی و همکاران (۲۷)، شارما و دویی (۲۲)، ترکان و همکاران (۲۵) و شائو و همکاران (۲۱) مطابقت دارد. همچنین شائو و همکاران (۲۰) نشان دادند کاهش فعالیت سوپراکسیددیسموتاز عامل کاهش فعالیت کاتالاز و آسکوربیت پراکسیداز نیز می‌باشد.

فعالیت آنزیم پراکسیداز (POX)

نتایج تجزیه واریانس (جدول ۳) نشان داد که اثر تنش خشکی، ارقام و اثر متقابل رقم × تنش روی آنزیم POX در سطح احتمال (P 0.01) معنی‌دار شد. با مقایسه

جدول ۳- تجزیه واریانس اثر تنش خشکی بر فعالیت آنزیم‌های ضد اکسنده سوپراکسید ديسموتاز، پراکسیداز، کاتالاز و آسکوربیت پراکسیداز

منابع تغییر (s.o.v)	درجه آزادی (df)	پراکسیداز	سوپراکسید ديسموتاز	کاتالاز	آسکوربیت پراکسیداز
تنش	۱	۱۷۸۸۲۵/۰۵۳**	۸۵/۳۴۷**	۱۳۴/۴۱۳**	۴۲۸۰۰۸/۴۷۴**
رقم	۴	۳۰۱۸/۶۹۷**	۱۲/۰۶۵**	۵۳۵/۶۱۵**	۳۶۳۱/۸۷۵**
تنش × رقم	۴	۸۹۵۵/۳۴۴**	۱۶/۵۴۴**	۱۱۸۲/۲۵۸**	۱۶۳۴۶/۷۰۲**
خطا	۵۰	۴۰/۳۰۰	۰/۸۱۲	۳/۱۴۵	۶۴/۲۹۴
cv/		۶/۹۳	۵/۵۱	۲/۹۰	۳/۰۱

* و **: به ترتیب غیرمعنی دار و معنی‌دار در سطح احتمال ۵ و ۱ درصد.

جدول ۴- مقایسه میانگین پنج رقم گندم دوروم از نظر آنزیم‌های ضد اکسنده SOD، POX، APX، CAT

رقم	کاتالاز ($\mu\text{mol CAT min}^{-1} \text{mg}^{-1} \text{protein}$)	آسکوربیت پراکسیداز ($\mu\text{mol APX min}^{-1} \text{mg}^{-1} \text{protein}$)	پراکسیداز ($\mu\text{mol POX min}^{-1} \text{mg}^{-1} \text{protein}$)	سوپراکسیددیسموتاز (unit/mg protein)
D-79-15	۵۶/۵۳ ^{cd}	۲۷۱/۴ ^b	۷۰/۳۴ ^d	۱۷/۱۱ ^a
کرخه	۶۵/۶۷ ^d	۲۸۶/۴ ^a	۹۵/۹۷ ^d	۱۴/۷۶ ^c
سیمره	۷۰/۵۵ ^a	۲۷۵/۸ ^b	۱۱۱/۴ ^a	۱۵/۹۴ ^d
دنا	۵۸/۰۵ ^c	۲۴۱/۲ ^d	۸۱/۸۶ ^c	۱۶/۸۵ ^{ab}
آریا	۵۴/۹۴ ^d	۲۵۸/۷ ^c	۹۸/۵۴ ^b	۱۷/۰۶ ^a

میانگین‌هایی که در هر ستون برای هر صفت دارای حرف مشترک می‌باشد بر اساس آزمون چنددامنه‌ای دانکن (DMRT) اختلاف معنی‌داری ندارد.

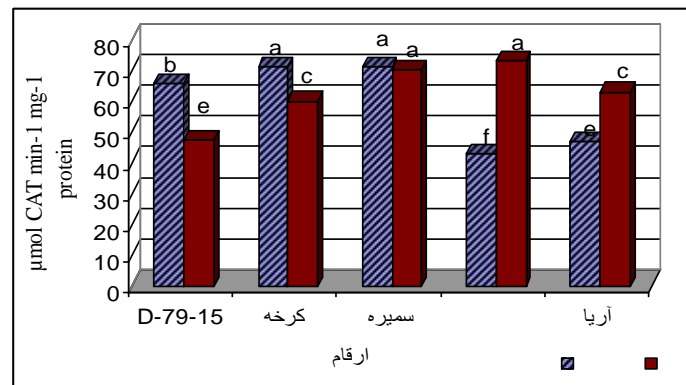
فعالیت آنزیم آسکوربیت پراکسیداز (APX)

تجزیه واریانس آنزیم آسکوربیت پراکسیداز (جدول ۳) نشان داد که هر سه منبع تنش، رقم و نیز اثر متقابل رقم × تنش در سطح احتمال (P 0.01) معنی‌دار گردید. با مقایسه میانگین (جدول ۴) بین ارقام از نظر آنزیم APX مشاهده گردید که رقم کرخه با میانگین ۲۸۶/۴

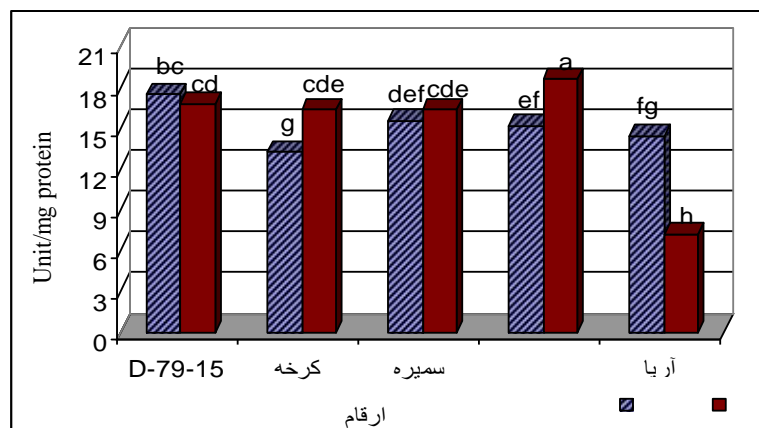
نتایج حاصله از این تحقیق با نتایج بدست آمده شائو و همکاران (۲۱)، امینی و همکاران (۲) و دولت آبادیان و همکاران (۱۰) همخوانی دارد. در این تحقیق مشاهده گردید که در شرایط تنش خشکی گندم دوروم با افزایش فعالیت آنزیم پراکسیداز در مقابل تنش اکسنده مقاومت بیشتری از خود نشان می‌دهد.

آن‌ها می‌شود. بدین ترتیب با تجمع فرم‌های فعال اکسیژن، نقاط کلیدی متابولیسم و مکانیسم‌های دفاعی سلول مورد حمله قرار گرفته و این عوامل سبب کاهش فعالیت آنزیم APX شده است. ضرایب همبستگی بین صفات مختلف در دو شرایط تنش و بدون تنش در جدول ۵ ارائه شده است. در شرایط تنش همبستگی بسیار بالا و معنی‌داری (۰/۹۷) بین دو آنزیم آسکوربیت پراکسیداز و سوپراکسید دیسموتاز مشاهده گردید، در حالی‌که در شرایط بدون تنش بین دو آنزیم آسکوربیت پراکسیداز و کاتالاز همبستگی بالا و معنی‌دار (۰/۸۹) مشاهده گردید. همچنین در شرایط تنش همبستگی مثبت و معنی‌داری بین کلروفیل کل با آنزیم‌های سوپراکسید دیسموتاز، آسکوربیت پراکسیداز و کاتالاز مشاهده گردید.

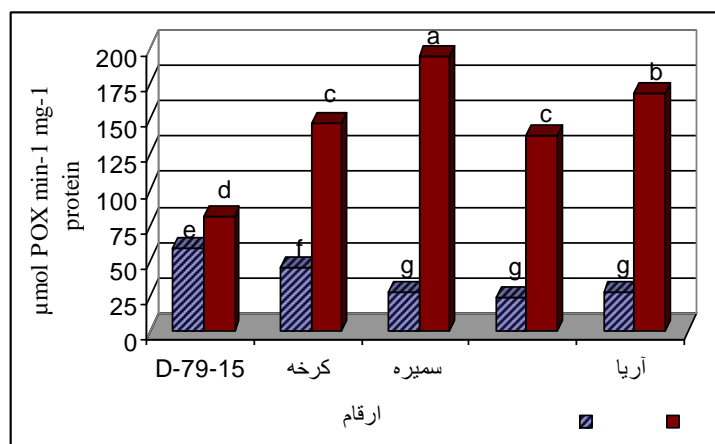
(میکرومول بر دقیقه در میلی‌گرم پروتئین) در رتبه اول و سایر ارقام در کلاس‌های بعدی قرار گرفتند. رقم آریا به دلیل اینکه کاهش فعالیت آنزیم را در شرایط تنش متحمل شده است و کمترین کاهش APX در اثر تنش را دارا بوده، لذا رقمی مقاوم از لحاظ فعالیت این آنزیم می‌تواند محسوب شود. از طرفی رقم دنا کمترین میزان آنزیم APX را تحت شرایط تنش داشته است و رقم حساس از نظر APX می‌باشد (شکل ۱۰). همان‌طور که مشاهده شد، با افزایش تنش خشکی میزان فعالیت آنزیم آسکوربیت پراکسیداز کاهش می‌یابد که این نتیجه با نتایج هوجز و فورنی (۱۴) و اسفندیاری و همکاران (۱۲) همخوانی دارد. علت کاهش فعالیت این آنزیم عدم تعادل اجزای مکانیسم‌های دفاعی است که سبب عملکرد ضعیف



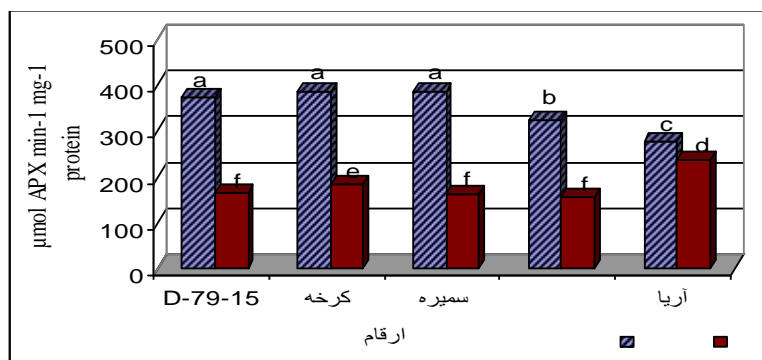
شکل ۷- تغییرات فعالیت ویژه آنزیم کاتالاز در تیمار تنش و عدم تنش خشکی در پنج رقم گندم دوروم



شکل ۸- تغییرات فعالیت ویژه آنزیم سوپراکسید دیسموتاز در تیمار تنش و عدم تنش خشکی



شکل ۹- تغییرات فعالیت ویژه آنزیم پراکسیداز در تیمار تنش و عدم تنش خشکی در پنج رقم گندم دوروم



شکل ۱۰- تغییرات فعالیت ویژه آنزیم آسکوربیت پراکسیداز در تیمار تنش و عدم تنش خشکی

جدول ۵- ضرایب همبستگی ساده بین آنزیم‌های ضد اکسنده، کلروفیل و پروتئین در پنج رقم گندم دوروم در دو شرایط تنش و بدون تنش خشکی (+ اعداد ردیف بالا شرایط بدون تنش و اعداد ردیف پایین شرایط تنش خشکی)

کلروفیل کل	کلروفیل b	کلروفیل a	SOD	CAT	POX	APX	
						۰/۵۲+	پر اکسیداز (POX)
						۰/۲۸	
					۰/۵۵	۰/۸۹**	کاتالاز (CAT)
					۰/۷۶*	-۰/۱۲	
				۰/۰۷	۰/۴۴	۰/۱۸	سوپراکسید دیسموتاز (SOD)
				۰/۰۸	-۰/۳۳	۰/۹۷**	
			-۰/۰۵	-۰/۴۴	-۰/۰۳	-۰/۷۶*	کلروفیل a
			-۰/۱۴	-۰/۳۴	۰/۱۲	۰/۳۳	
		۰/۹۸**	۰/۲۷	-۰/۳۴	۰/۲۵	-۰/۶۱	کلروفیل b
		-۰/۲۴	-۰/۵۷	-۰/۷*	-۰/۴۶	۰/۴۹	
	۰/۹۸**	۰/۹۸*	۰/۰۹	-۰/۴	۰/۰۹	۰/۷۱*	کلروفیل کل
	۰/۸۹**	۰/۱۵	۰/۷۵*	۰/۶۸*	-۰/۱۹	۰/۷۲*	
	-۰/۹۷**	-۰/۹۳**	۰/۰۹	۰/۳۲	-۰/۱۳	۰/۶۶	پروتئین کل
۰/۰۷	-۰/۲۸	۰/۳۵	-۰/۵۹	۰/۵۷	۰/۹۳**	۰/۵۹	

* و **: به ترتیب غیرمعنی دار و معنی‌دار در سطح احتمال ۵ و ۱ درصد.

در پاکسازی رادیکال‌های آزاد اکسیژن در سلول نقش دارند، لذا با افزایش فعالیت این آنزیم‌ها در اثر تنش خشکی از تولید گونه‌های اکسیژن فعال جلوگیری شده و این عمل موجب می‌شود تا از پراکسیداسیون لیپیدهای غشاء، تخریب پروتئین‌ها و اسیدهای نوکلئیک جلوگیری شده و در نهایت میزان ماده خشک گیاه بالا رفته و عملکرد محصول بالا برود. بنابراین ارقام مقاوم مثل دنا و سیمره به ترتیب با افزایش فعالیت آنزیم کاتالاز، سوپر اکسید دسموتاز و پراکسیداز چنین نتایجی را نشان خواهند داد.

همچنین می‌توان از این تحقیق نتیجه گرفت که عدم تعادل در بین فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانت باعث کاهش کارایی مکانیسم‌های جمع‌آوری‌کننده فرم‌های فعال اکسیژن می‌گردد. عدم تعادل حاصله موجب تجمع رادیکال‌های اکسیژن در سلول شده و تجمع انواع اکسیژن فعال نیز نقاط کلیدی متابولیسم و مکانیسم‌های دفاعی سلول را مورد حمله قرار می‌دهند. در نتیجه این امر تنش اکسیداتیو در سلول شدت بیشتری می‌یابد.

تنش خشکی میزان کلروفیل a را ۱۹/۸ درصد، میزان کلروفیل b را ۶/۹ درصد و میزان کلروفیل کل را ۲۵ درصد نسبت به شرایط عدم تنش کاهش داد. در شرایط تنش رقم آریا به‌عنوان یک رقم مقاوم از لحاظ شاخص کلروفیل شناخته شد زیرا سیر نزولی کاهش کلروفیل در این رقم کمتر بود. همچنین تحت شرایط تنش میزان پروتئین محلول کل در حدود ۱۹ درصد افزایش نشان داد. در تحقیق حاضر فعالیت آنزیم‌های ضد اکسند CAT، SOD و POX در اثر تنش خشکی در اکثر رقم‌ها به طور معنی‌داری افزایش یافت. در حالی که تحت تنش خشکی در میزان فعالیت آنزیم APX کاهش دیده شد. رقم دنا بیشترین افزایش فعالیت آنزیم کاتالاز را در شرایط تنش نشان داد و با توجه به بیشترین افزایش فعالیت آنزیم کاتالاز در مقابل تنش خشکی رقم مقاوم محسوب گردید. رقم سیمره دارای فعالیت آنزیم پراکسیداز زیادتری تحت شرایط تنش بود و به‌عنوان یک رقم مقاوم محسوب شد. همچنین رقم دنا بیشترین فعالیت آنزیم سوپر اکسید دسموتاز را داشته و رقمی مقاوم محسوب گردید. با توجه به اینکه این آنزیم‌ها

منابع

1. Aebi, H. 1984. Catalase in vitro. *Methods Enzymol*, 105: 121-126. (In Persian)
2. Amini, Z., R. Haddad and F. Moradi. 2008. Effect of water deficit on the activity of antioxidant enzymes in plant reproductive development Barley. *Science and Technology of Agriculture and Natural Resources*, 12: 46-58. (In Persian)
3. Arnon, D.I. 1949. Copper enzymes in isolated chloroplast. *Polypheol oxide in Beta vulgaris*. *Plant Physiology*, 24: 1-15.
4. Ashraf, M.Y., A.R. Azmi, A.H. Khan and S.A. Ala. 1994. Effect of water stress on total phenols, peroxidase activity and chlorophyll content in wheat. *Acta Physiology Planta*, 16(3): 185-191. (In Persian)
5. Beachamp, C. and F. Fridovich. 1971. Superoxide dismutase: cadmium assay and an assay applicable to acryl amide gels. *Annual Biochemistry*, 44: 276-27.
6. Behbodi, S., J. Ahmadi, A. Shanjat and R. Haddad. 2010. Study protein profiles of wheat during germination under abiotic non-stress conditions. M.Sc. thesis, Imam Khomeini International University. (In Persian)
7. Blokhina, O., E. Virolainen and K.V. Fagerstedt. 2003. Antioxidants, oxidative damage and oxygen deprivation stress: A review. *Ann Botany*, 91: 179-194.
8. Castrillo, M. and I. Turujillo. 1994. Ribulose-1, 5-bisphosphate carboxylase activity and chlorophyll and protein contents in two cultivares of French bean plants under water stress and rewatering. *Photosynthetica*, 30: 175-181.
9. Chance, B. and A. Maehly. 1955. Assay of catalase and peroxidase. *Methods Enzymology*, 2: 764-817.
10. Dolatabadiyan, A., S.A. Modarres Sanvi and M. Sharifi. 2008. Effects of water deficit stress and foliar application of ascorbic acid on antioxidant enzymes and some biochemical changes in the leaves of corn. *Journal of Biology*, 22(3): 131-133. (In Persian)
11. Ebrahimi, A., M.R. Naqvi and M. Sabokdast. 2010. Comparison of different species of barely landraces in terms of chlorophyll, carotenoids, protein and enzyme. *Iranian Journal of Crop Science*, 41(1): 57-65. (In Persian)
12. Esfandiari, E.A., M.R. Shakiba, S.A. Mahboob, H. Alyari and S. Shahabivand. 2009. The effect of water stress on the antioxidant content, protective enzyme activities, proline content and lipid peroxidation in wheat seedling. *Pakistan Journal of Biological Sciences*, 11: 1916-1922. (In Persian)
13. Ghasempour, H.R. and J. Kianian. 2001. Effect of drought stress on free proline, total protein, soluble sugar and protein, plant profiles resurrection grass *Sporobolus elongates* with high drought tolerance. *Journal of Science*, 1(2): 75-81. (In Persian)
14. Hodges, D.M. and C.F. Forney. 2000. The effects of ethylene, depressed oxygen and elevated carbon dioxide on antioxidant profiles of senescing spinach leaves. *Journal Experimental Botany*, 344: 645-655.
15. Israr, M. and S.V. Sahi. 2006. Antioxidative responses to mercury in the cell cultures of *Sesbaniadrummondii*. *Plant Physiol Biochem*, 44: 590-595.
16. Mittler, R. 2002. Oxidative stress, antioxidants and stress tolerance. *Tren Plant Science*, 7: 405-416.

17. Mittler, R., S. Vanderauwera, M. Gollery and F.V. Breusegem. 2004. Reactive oxygen gene Net work of plants. *Tren Plant Science*, 9: 490-498.
18. Nakano, Y. and K. Asada. 1987. Purification of ascorbate peroxidase in spinach chloroplast in inactivation in ascorbate-depleted medium and reactivation by monodehydroascorbate radical. *Plant Cell Physiology*, 28: 131-133.
19. Ranjan, R., S.P. Bohra and A.M. Jeet. 2001. *Plant senescence*. Jodhpur. Agrobios New York. 18-42.
20. Shao, H.B., Z.S. Liang, M.A. Shao and Q. Sun. 2005. Dynamic changes of anti-oxidative enzymes of 10 wheat genotypes at soil water deficits. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 42: 187-195.
21. Shao, H.B., Z.S. Liang and M.A. Shao. 2006. Osmotic regulation of 10 wheat (*Triticum aestivum* L.) genotypes at soil water deficits, *Colloids Surf. B: Biointerf*, 47: 132-139.
22. Sharma, P. and R.S. Dubey. 2005. Drought induces oxidative stress and enhances the activities of antioxidant enzymes in growing rice seedlings. *Plant Growth Reg.*, 46: 209-221.
23. Syosamardha, A.A., K. Ahmadi, V.H. Postini and H. Ebrahimzadeh. 2004. Factor controlling stomatal aperture and photosynthesis and its relationship with drought resistance in wheat cultivars. *Journal of Agricultural Science*, 35(1): 93-106. (In Persian)
24. Tompson, J.E., R.L. Ledge and R.F. Barber. 1987. The role of free radicals in senescence and wounding. *New Phytologist*, 105: 317-344.
25. Turkan, I., M. Bor, F. Ozdemir and H. Koca. 2005. Differential responses of lipid peroxidation and antioxidants in the leaf stress conditions. *Plant Science*, 163: 769-779.
26. Xie, Z., D. Jiang, T. Dai and W. Cao. 2004. Effect of exogenous ABA and cytokinin on leaf photosynthesis and grain protein accumulation in wheat ears cultured in vitro. *Plant Growth Regular*, 44: 25-32.
27. Ye, Z., R. Rodriguez and A. Tran. 2000. The development transition of flowering represses ascorbate peroxidase activity and induces enzymatic lipid peroxidation in leaf tissue in *Arabidopsis thaliana*. *Plant science*, 158: 115-127.

Changes in Chlorophyll, Protein and Antioxidant Enzymes on Durum Wheat under Drought Stress

Keyvan Hassanpour Lescokelaye¹, Jafar Ahmadi², Jahanfar Daneshyan³
and Sedigheh Hatami⁴

1- M.Sc., Imam Khomeini International University

(Corresponding author: key.hasanpoor@yahoo.com)

2- Associate Professor, Imam Khomeini International University

3- Associate Professor, Research Institute of Seed Improvement, Karaj

4- M.Sc., Pastor Research Institute of Iran

Received: October 2, 2012

Accepted: May 18, 2013

Abstract

Drought stress as an abiotic stress causes different biochemical and physiological responses in plants. To study changes in chlorophyll, total soluble protein and antioxidant activity due to drought stress, we conducted an experiment on five durum wheat varieties (selected from the Seed and Plant Improvement Institute in Karaj) at research greenhouse of Imam Khomeini International University in 2010. Five varieties (Seymareh, Karkheh, Dena, Aria and D-79-15) were cultivated in a factorial experiment based on completely randomized design with six replicates in both normal and water stress conditions. The sampling was done at five leaf stage for measuring total soluble protein, catalase (CAT), peroxidase (POX), ascorbate peroxidase (APX) and super oxid dismutas (SOD) enzymes activity. Results showed that total soluble protein increased significantly, but total amount of chlorophyll decreased due to drought stress. Amount of chlorophyll a, b and total chlorophyll for cultivar Aria, was maximum. Also, the results showed that activity of CAT, SOD and POX increased due to stress, while stress caused a decrease in the activity of APX. Cultivar Aria had the highest catalase enzyme activity against drought stress and was considered as drought resistant cultivar. Seymareh had the highest POX activity under stress. The lowest POX activity was for line D-79-15 and was recorded more sensitive to stress than other varieties. Dena and Karkheh showed the highest increase in super oxid dismutas and ascorbate peroxidase enzyme activity under stress condition, respectively.

Keywords: Antioxidant, Durum wheat, Drought stress, Enzyme