



## "مقاله پژوهشی"

# مقایسه بین رنگیزه‌های فتوستنتزی، تنظیم‌کننده‌های اسمزی و آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی ارقام نیمروز و نومار جو بومی منطقه سیستان تحت تنش خشکی

لیلا فهمیده<sup>۱</sup>، ایوب مزارعی<sup>۲</sup>، شهین مددی<sup>۳</sup> و پریسا پهلوان<sup>۴</sup>

۱- دانشیار گروه اصلاح نباتات و بیوتکنولوژی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، گرگان، ایران  
(نویسنده مسئول: l.fahmideh@gau.ac.ir)

۲- دانشجوی دکتری بیوتکنولوژی، گروه اصلاح نباتات و بیوتکنولوژی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه زابل، ایران

۳- دانشجوی دکتری اصلاح نباتات، گروه اصلاح نباتات و بیوتکنولوژی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه زابل، ایران

۴- دانشجوی کارشناسی ارشد بیوتکنولوژی، گروه اصلاح نباتات و بیوتکنولوژی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه زابل، ایران

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۹/۰۹/۱۸

تاریخ دریافت: ۱۳۹۹/۰۶/۰۱

صفحه: ۵۱ تا ۶۲

## چکیده

خشکی یکی از مهمترین تنش‌هایی است که از رشد گیاهان ممانعت نموده و با ایجاد اختلال در تعادل بین تولید گونه‌های فعال اکسیژن و فعالیت‌های دفاعی آنتی‌اکسیدان گیاه، سبب ایجاد تنش اکسیداتیو و واکنش‌های بیوشیمیایی و فیزیولوژیک متفاوتی در گیاهان می‌گردد. بنابراین، ارزیابی تحمل به خشکی گیاهان به‌منظور کشت در مناطق خشک از اهمیت ویژه‌ای برخوردار است. در این راستا پژوهش حاضر با هدف بررسی و مقایسه دو رقم جو بومی منطقه سیستان براساس اندازه‌گیری برخی خصوصیات فیزیولوژیکی، میزان فعالیت برخی آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی، رنگیزه‌های فتوستنتزی، میزان پروتئین، محتوی نسبی آب برگ (RWC) و همچنین برخی تنظیم‌کننده‌های اسمزی تحت تنش خشکی بود. این آزمایش به‌صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار در آزمایشگاه تحقیقاتی مرکز زیست‌فناوری کشاورزی دانشگاه زابل و به‌صورت گلدانی انجام شد. تیمارهای آزمایشی شامل تنش خشکی (۵۰، ۷۵ و ۱۰۰ درصد ظرفیت زراعی) و دو رقم جو بومی منطقه سیستان (نیمروز و نومار) بود. نتایج تجزیه واریانس نشان داد اثر رقم، تنش خشکی و برهم‌کنش رقم و تنش خشکی در سطح احتمال یک درصد برصفات مورد بررسی معنی‌دار شد. همچنین نتایج مقایسه میانگین نشان داد با افزایش سطوح تنش خشکی نسبت به سطح نرمال، میزان رنگیزه‌های فتوستنتزی، محتوی نسبی آب برگ و پروتئین کاهش یافت ولی غلظت پرولین و کربوهیدرات، میزان کاروتنوئید و فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی آسکوربات پراکسیداز، پلی‌فنول اکسیداز و کاتالاز افزایش یافت. بر اساس نتایج برهم‌کنش رقم و تنش خشکی، مشخص شد که رقم نیمروز عکس‌العمل بهتری از نظر میزان پروتئین، محتوی نسبی آب برگ، کاروتنوئید، تنظیم‌کننده‌های اسمزی و آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی کاتالاز و آسکوربات پراکسیداز نسبت به رقم نومار در طول تنش خشکی نشان داد. در حالی‌که رقم نومار دارای بالاترین میانگین از نظر میزان کلروفیل a، کلروفیل b، کلروفیل کل، پروتئین و آنزیم پلی‌فنل اکسیداز نسبت به رقم نیمروز در طول تنش خشکی بود.

واژه‌های کلیدی: ارقام جو، محتوی نسبی آب برگ، میزان پروتئین، واکنش‌های بیوشیمیایی و فیزیولوژیک

## مقدمه

روزنه‌ها، کاهش فتوستنتز تخریب آنزیم‌ها و پروتئین‌ها (۶۸)، تخرق (۴۳) و تغییر در سنتز پروتئین (۴۵) می‌شود. گیاهان در مواجهه با کمبود آب از ساز و کارهای مختلفی سود می‌جویند. تنظیم اسمزی و افزایش ترکیبات آنتی‌اکسیدانی از مهمترین ساز و کارها به‌شمار می‌رود. در شرایط تنش خشکی وقتی پتانسیل آب خاک کاهش می‌یابد، برای حفظ قدرت جذب آب داخل ریشه‌ها، مکانیسم تنظیم اسمزی فعال می‌شود که با هدف، حفظ تورژسانس سلولی، تداوم جذب از محیط ریشه و پایداری غشاهای صورت می‌گیرد (۵۴). مواد تنظیم‌کننده فشار اسمزی بیشتر شامل یون‌های غیرآلی (مثل پتاسیم، کلسیم و کلر) و ترکیبات غیر باردار آلی (مثل اسیدهای آمینه، قندها و کربوهیدرات‌ها، هورمون‌ها و پروتئین‌ها) هستند (۵۷). پرولین یکی از اسیدآمینه‌های فعال در پدیده تنظیم اسمزی است که در ایجاد و حفظ فشار اسمزی درون گیاه نقش به‌سزایی دارد (۵۷). پرولین در همه اندام‌های گیاه در طی تنش خشکی تجمع می‌یابد ولی سریع‌ترین

جو (*Hordeum vulgare* L.) از مهم‌ترین گونه‌های زراعی غلات است و در بیش از صد کشور جهان به‌عنوان یک گیاه سودآور کشت می‌شود و پس از گندم، برنج و ذرت بیشترین میزان تولید را داشته و نزدیک به ۳۰ درصد تولیدات غله جهان را به‌خود اختصاص داده است (۳۸،۳۳). یکی از مهمترین عوامل محدودکننده کاهش رشد و عملکرد گیاهان در بین تنش‌های غیرزنده، تنش خشکی است که هر ساله خسارت‌های زیان‌باری بر رشد رویشی و زایشی محصولات زراعی و باغی در جهان (۸۳) و به‌ویژه ایران که به‌عنوان کشوری خشک و نیمه‌خشک محسوب می‌شود، وارد می‌کند (۴۶،۱۹). تنش‌خشکی موجب تغییرات مورفوبیژیکی، فیزیوبیژیکی و بیوشیمیایی متعددی در گیاهان می‌گردد و واکنش گیاهان به تنش خشکی وابسته به میزان کمبود آب است (۶۹). تنش ناشی از کمبود آب سبب کاهش رشد قسمت‌های مختلف گیاه از جمله ریشه‌ها و اندام‌های هوایی که شامل کاهش سطح برگ، ارتفاع، وزن خشک (۵۹)، بسته‌شدن

حوزه تحقیقات وسیعی را برای بهبود عملکرد گیاهی می‌طلبد (۵۶). لذا پژوهش حاضر با هدف بررسی و مقایسه اثر تنش خشکی بر برخی خصوصیات فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی دو رقم جو بومی منطقه سیستان (نیمریز و نومار) انجام شد.

### مواد و روش‌ها

در این تحقیق اثر تنش خشکی بر برخی خصوصیات فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی ارقام جو، در قالب آزمایش فاکتوریل بر پایه طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار به صورت گلدانی مورد بررسی قرار گرفت. گلدان‌های مورد استفاده از نوع پلاستیکی با قطر دهانه ۲۳ سانتی‌متری و ارتفاع ۲۰ سانتی‌متر بودند. تیمارهای آزمایشی شامل دو رقم جو بومی منطقه سیستان (نیمریز و نومار) و سطوح مختلف تنش خشکی شامل: آبیاری کامل (ظرفیت زراعی)، آبیاری در زمان تخلیه ۵۰ و ۷۵ درصد آب قابل استفاده خاک بود. برای اندازه‌گیری رطوبت خاک از دستگاه TDR استفاده شد (۲۸). بذره‌های مورد نظر از مرکز تحقیقات کشاورزی شهرستان زابل تهیه و در ۱۳۹۹-۱۳۹۸ در آزمایشگاه تحقیقاتی مرکز زیست‌فناوری کشاورزی دانشگاه زابل و به صورت گلدانی کشت شد. در هر گلدان ۱۰ عدد بذراکاشته شد و بعد از رسیدن بوته‌ها به مرحله ۳ الی ۴ برگی عمل تنک کردن انجام و درون هر گلدان ۵ بوته یک‌سان نگهداری شد. پس از استقرار کامل بوته‌ها در مرحله گیاهچه‌ای (مرحله ۳ الی ۴ برگی بودن گیاهچه‌ها) تیمارهای تنش خشکی به مدت زمان سه هفته اعمال شد. نمونه‌برداری از همه برگ‌های گیاه (مخلوطی از همه برگ‌های گیاه) بعد از اعمال تنش و در یک‌زمان انجام شد. صفات مورد بررسی شامل میزان پرولین، رنگیزه‌های فتوسنتزی (کلروفیل a، کلروفیل b، کلروفیل کل و کاروتنوئید)، میزان کربوهیدرات، محتوی نسبی آب برگ، میزان پروتئین و فعالیت آنتی‌اکسیدانی آنزیم‌های CAT، PPO و APX بود.

### اندازه‌گیری میزان پرولین:

ابتدا مقدار ۰/۱ گرم بافت برگی با ۱۰ میلی‌لیتر سولفوسالسیلیک اسید ۳/۳ درصد مخلوط و محلول حاصل پس از صاف کردن با سرعت ۴۰۰۰ دور در دقیقه و دمای ۴ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱۰ دقیقه سانتریفیوژ شد و سپس دو میلی‌لیتر از عصاره به دو میلی‌لیتر معرف ناین هیدرین و دو میلی‌لیتر اسید گلاسیال استیک خالص اضافه گردید. پس یک ساعت قرارگیری لوله‌ها در بن‌ماری، مقدار چهار میلی‌لیتر تولوئن به هرکدام از لوله‌ها اضافه و به مدت ۱۵ تا ۲۰ ثانیه ورتکس گردیدند. پس از تشکیل دو بخش جداگانه، بخش بالایی رنگی (به رنگ زرد متمایل به قرمز)، با دقت جدا و بوسیله دستگاه اسپکتروفتومتری با طول‌موج ۵۲۰ نانومتر اندازه‌گیری شد. میزان پرولین با استفاده از منحنی استاندارد و برحسب میلی‌گرم بر گرم وزن تر محاسبه شد (۱۰).

### محتوای رنگیزه‌های فتوسنتزی برگ:

باروش Prochazka و همکاران (۷۰) و از فرمول‌های زیر بر حسب میلی‌گرم بر گرم وزن تر محاسبه گردید.

انباشت را در برگ‌ها دارد (۳۹). میزان پرولین آزاد در گیاهانی که در حد مطلوب آبیاری می‌شوند بسیار کم و در حدود ۰/۶-۰/۲ میلی‌گرم در گرم ماده خشک است. مقدار این ماده پس از کاهش آب بافت‌ها تا ۵۰-۴۰ میلی‌گرم در هر گرم ماده خشک افزایش می‌یابد (۷۱). پرولین در شرایط تنش علاوه بر حفظ تعادل اسمزی گیاه به عنوان پایدارکننده پروتئین‌ها، کلات‌کننده فلزی، مهارکننده پراکسیداسیون لیپیدی و حذف‌کننده رادیکال‌های آزاد شناخته می‌شود (۶۱). تنش خشکی با برهم‌زدن تعادل بین تولید محصولات نوری فتوسنتز و مصرف آن‌ها توسط چرخه کالوین یا کاهش نسبت  $NADP^+/NADPH$ ، تولید انواع اکسیژن فعال (ROS) را در کلروپلاست افزایش می‌دهد (۸۸). رادیکال سوپراکسید، پراکسید هیدروژن و رادیکال هیدروکسیلاز مهمترین انواع اکسیژن فعال هستند که تولید آن‌ها به‌هنگام تنش خشکی افزایش می‌یابد. گونه‌های فعال اکسیژن از طریق پراکسیداسیون لیپیدها، تخریب پروتئین‌ها و اسیدهای نوکلئیک موجب جهش در توالی نوکلئوتیدها، پراکسیداسیون لیپیدی و دنا توره شدن ترکیبات یاد شده می‌گردد. برآیند این آسیب سبب اختلال متابولیسمی و در نهایت بروز تنش اکسیداتیو خواهد شد (۹۱). همچنین، این ترکیبات ضمن آسیب به کلروفیل و تخریب آن سبب کاهش فعالیت آنزیم‌های بی‌فسفاتاز در چرخه کالوین در پی تجمع پراکسید هیدروژن می‌گردد (۴). در پژوهشی حسن‌پور لسکوکلایه همکاران (۳۷) اثر تنش خشکی را بر پنج رقم گندم دوروم آریا، دنا، سمیره، کرخه و D-79-15 بررسی و بیان کردند طی تنش خشکی میزان رنگیزه‌های گیاهی کاهش می‌یابد، به‌طوری‌که بیشترین میزان کلروفیل‌های a، b و کل طی شرایط نرمال مربوط به رقم آریا بود.

سلول گیاهی برای مقابله با اثرات منفی ناشی از انواع اکسیژن فعال به مکانسیم‌های دفاعی ویژه‌ای متشکل از آنتی‌اکسیدان‌های غیرآنزیمی (اسکوربات، گلوکاتینون، آنتوسیانین، ترکیبات فنولی و فلاونوئیدی و...) و آنتی‌اکسیدان‌های آنزیمی (کاتالاز، سوپراکسید دیسموتاز، آسکوربات پراکسیداز، پراکسیداز و برخی دیگر) مجهز هستند. از همکاری آنتی‌اکسیدان‌های آنزیمی و غیرآنزیمی، چرخه‌های گلوکاتینون-اسکوربات، ملهر و گزانتوفیل به‌وجود می‌آیند که مانع از تولید انواع اکسیژن فعال می‌شود و یا آن‌ها را به‌طور کامل احیا و به آب تبدیل می‌کند (۲۲). در پژوهشی که قلی‌پور و عبادی (۲۹) بر روی رقم‌های گندم انجام دادند بیان کردند با افزایش سطوح تنش خشکی میزان فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی کاتالاز، پلی‌فنول اکسیداز و پراکسیداز افزایش می‌یابد.

طبق نظر Shao و همکاران (۷۷) تنش خشکی مهم‌ترین تنش غیرزنده است که بر رشد، توسعه و عملکرد گیاهان به‌شدت تأثیر دارد. همچنین کم‌آبی نه تنها در اثر کمبود آب، بلکه در اثر تنش‌هایی مثل دمای پایین یا شوری نیز حاصل می‌شود، بنابراین در این فرآیندها فعل و انفعالات و ترکیبات مولکولی زیادی دخالت دارند. همه این تنش‌ها واجد یک اثر منفی بر روی تولید و عملکرد گیاه می‌باشند که این خود،

برگی با استفاده از هاون چینی کاملاً سرد و نیتروژن مایع هموزن شده و سپس به آن ۵ میلی‌لیتر بافر فسفات سرد (pH=۷/۵) محتوی ۰/۵ میلی‌مولار EDTA اضافه شد. نمونه‌ها پس از انتقال به لوله‌های آزمایش با سرعت ۱۵۰۰۰ دور در دقیقه و در دمای ۴ درجه سلسیوس به مدت ۱۵ دقیقه سانتریفوژ شدند.

**سنجش آنزیم کاتالاز:** برای اندازه‌گیری آنزیم کاتالاز با روش Sizer و (11 Beers)، ابتدا ۵۰ میکرولیتر عصاره آنزیمی، ۶۰۰ میکرولیتر بافر فسفات سدیم (15/0 pH=7، EDTA، ۵۴۹/۸۵ میکرولیتر آب مقطر را در تیوپ ریخته و ۳۸۲/۵ میکرولیتر آب اکسیژنه به آن اضافه شد (۳۸۲/۵ میکرولیتر آب اکسیژنه را در ۲/۵ سی‌سی آب مقطر ریخته که آب اکسیژنه ۰/۷۵ مولار به دست آید، سپس ۳۰ میکرولیتر در مخلوط واکنش ریخته شد تا آب اکسیژنه ۱۵ میلی‌مولار به دست می‌آید) و بلافاصله در دستگاه طیف‌سنج نوری با طول‌موج ۲۴۰ نانومتر میزان جذب آن ثبت گردید و پس از سپری شدن زمان یک دقیقه دوباره میزان جذب یادداشت گردید و سپس میزان آن بر حسب میلی‌گرم بر گرم وزن تر محاسبه شد.

**سنجش آنزیم اسکوربات پراکسیداز:** برای سنجش فعالیت آنزیم اسکوربات پراکسیداز بر اساس روش Nakano و همکاران (۶۶) مقدار ۵۰ میکرولیتر عصاره آنزیمی، ۳۷/۵ میکرولیتر اسکوربات، ۱۸/۸۵ میکرولیتر آب در تیوپ ریخته شد و ۱۵۳ میکرولیتر آب اکسیژنه به آن اضافه شد (آب اکسیژنه ۰/۵ میلی‌مولار = ۱۵۳ میکرولیتر آب اکسیژنه را در ۱ سی‌سی آب ریخته که آب اکسیژنه ۱/۵ مولار به دست آید سپس ۱۰۰ میکرولیتر از آن برداشته و به حجم ۱۰ سی‌سی رسانده شد) و بلافاصله در دستگاه طیف‌سنج نوری با طول‌موج ۲۹۰ نانومتر، میزان جذب آن یادداشت و پس از سپری شدن مدت‌زمان یک دقیقه، به ضریب خاموشی مولی این واکنش که برابر ۲۸۰ میلی‌مول بر سانتی‌متر است تقسیم شد و در نهایت میزان آنزیم اسکوربات پراکسیداز بر حسب میلی‌گرم بر وزن تر بیان شد.

**سنجش آنزیم پلی فنل اکسیداز:** فعالیت آنزیم پلی فنل اکسیداز بر اساس روش Mishra و Kar (47) اندازه‌گیری شد. بدین منظور، ابتدا ۲/۸ میلی‌لیتر بافر فسفات پتاسیم، ۱۰۰ میکرولیتر عصاره آنزیمی و ۱۰۰ میکرولیتر پیرو گالول اضافه گردید. تغییرات جذب نور در طول موج ۴۲۰ نانومتر اندازه‌گیری شد. تعیین فعالیت آنزیم پلی فنل اکسیداز بر اساس تولید پورپور گالین محاسبه شد که ضریب خاموشی این تبدیل برابر با ۲/۷۴ لیتر بر میلی‌مول بر سانتی‌متر است. پس از اندازه‌گیری صفات مورد بررسی، داده‌های حاصله بصورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار تجزیه واریانس و مقایسه میانگین (روش دانکن) شدند. برای این منظور از نرم‌افزار EXCELL و SAS ver 9.1 استفاده شد.

[۱]

$$\text{Chlorophyll a} = (19.3A_{663} - 0.86A_{646})V/100W$$

[۲]

$$\text{Chlorophyll b} = (19.3A_{646} - 3.6A_{663})V/100W$$

$$\text{Total Chlorophyll} = \text{Chl a} + \text{Chl b}$$

[۴]

$$\text{Carotenoides} = ((1000 * A_{470}) - (3.27 * \text{mg chl. a} - (104 * \text{mg chl. B}))) / 227$$

**اندازه‌گیری میزان محتوای نسبی آب برگ (RWC):** ابتدا از گیاه، نمونه‌های برگ تهیه و از برگ‌ها ۵ قطعه به مساحت تقریبی ۹-۱۰ میلی‌متر مربع تهیه و سریعاً وزن تازه آنها (WF) تعیین گردید. سپس تکه‌های برگ در پتری‌های درب‌دار داخل آب مقطر در شرایط آزمایشگاه و نور کم به مدت ۴ ساعت شناور شدند، پس از این مدت تکه‌های برگ از آب مقطر خارج و سطح آن‌ها به آرامی بوسیله دستمال کاغذی خشک و سریعاً وزن آماس آن‌ها (WT) تعیین شد. بعد از آن نمونه‌ها به مدت ۴۸ ساعت در دمای ۷۵ درجه سانتی‌گراد در آون قرار داده شدند و وزن خشک آن‌ها (WD) گرفته شد و سپس میزان محتوای آب نسبی برگ از رابطه زیر و بر حسب درصد محاسبه شد (۲۵).

(معادله ۱)

$$\text{RWC} (\%) = [(WF - WD) / (WT - WD)] \times 100$$

**اندازه‌گیری میزان کربوهیدرات محلول:** جهت اندازه‌گیری کربوهیدرات، ۰/۲ گرم بافت سبز گیاه به همراه ۱۰ سی‌سی الکل اتانول ۹۵٪ به مدت ۱ ساعت در حمام بن‌ماری در دمای ۸۰ درجه سانتی‌گراد حرارت داده شد و پس از سرد شدن ۱ سیسی از نمونه‌ها برداشت شد و به آن ۱ سی‌سی فنل ۵ درصد و ۵ سیسی اسید سولفوریک ۹۸٪ اضافه گردید و در نهایت با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر ۱۶۰-UV در طول موج ۴۸۳ نانومتر خوانده و میزان آن بر حسب میلی‌گرم بر گرم وزن تر محاسبه شد (۴۲).

**اندازه‌گیری میزان پروتئین:** ابتدا ۰/۵ گرم نمونه تر برگ را در هاون چینی کوبیده و سپس ۳ میلی‌لیتر بافر استخراج که شامل ۵ میلی‌لیتر تریس-اسید کلریدریک یک مولار، ۲۰۰ میکرولیتر Na<sub>2</sub>EDTA یک مولار و ۰/۰۴ درصد (v/v) مرکاپتو اتانول می‌باشد مخلوط شده و مخلوط حاصل به مدت ۲۱ دقیقه با سرعت ۱۱۵۰۰ دور در دقیقه در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد سانتریفیوژ شد. سپس برای خارج کردن تمام ناخالصی‌های موجود در نمونه، قسمت بالایی داخل لوله مجدداً به مدت ۲۰ دقیقه در ۴۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفیوژ شد و ۵۰۰۰ میکرولیتر از محلول برادفورد و ۲۹۰ میکرولیتر بافر استخراج و ۱۰ میکرولیتر عصاره استخراج را مخلوط کرده و بعد از ورتکس میزان جذب در طول موج ۵۹۵ نانو متر قرائت شد. میزان پروتئین بر حسب میلی‌گرم بر گرم وزن تر محاسبه شد (۱۵).

**اندازه‌گیری فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی**

**عصاره آنزیمی:** تهیه عصاره آنزیمی به روش Sairam و همکاران (۷۴) انجام شد، در این روش ۰/۵ گرم از نمونه

## نتایج و بحث

### رنگیزه‌های فتوسنتزی

نتایج تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد که اثر سطوح مختلف تنش خشکی، رقم و برهم‌کنش آن‌ها بر میزان رنگیزه‌های فتوسنتزی در سطح یک درصد معنی‌دار گردید (جدول ۱). نتایج مقایسه میانگین برهم‌کنش اثر رقم و تنش خشکیشان داد که با افزایش سطوح تنش از میزان رنگیزه‌های فتوسنتزی ارقام مورد بررسی کاسته شد به‌طوری که بیشترین میزان کلروفیل a، b و کل مربوط به رقم نومار بود که طی آبیاری کامل حاصل شد. از طرفی با افزایش سطوح خشکی بر میزان کاروتنوئید هر دو رقم نیمریز و نومار افزوده شد به‌طوری‌که بیشترین مقدار کاروتنوئید با میانگین ۰/۷۲۷ میلی‌گرم بر وزن تر مربوط به رقم نیمریز بود که طی تنش شدید (۵۰ درصد) حاصل شد (جدول ۲).

محتوی کلروفیل‌ها در گیاهان زنده یکی از فاکتورهای مهم حفظ ظرفیت فتوسنتزی (۴۶) و تعیین‌کننده سرعت فتوسنتز است (۳۱). عوامل محدودکننده فتوسنتز در تنش خشکی در دو گروه عوامل محدودکننده روزنه‌ای و غیر روزنه‌ای قرار می‌گیرند. از عوامل محدودکننده غیر روزنه‌ای می‌توان به کاهش و یا توقف سنتز رنگیزه‌های فتوسنتزی از جمله کلروفیل‌ها و کاروتنوئیدها اشاره کرد (۶۸).

کاهش محتوی کلروفیل‌های a، b و کل با یافته‌های محققان در جو (۳) و جو بهاره (۶۴) مبنی بر اینکه تنش خشکی سبب کاهش رنگیزه‌های فوق می‌شود هم‌خوانی دارد. کاهش میزان کلروفیل طی تنش خشکی در این تحقیق ممکن است، به علت افزایش تولید رادیکال‌های اکسیژن باشد، که این رادیکال‌های آزاد باعث تخریب غشاهای تیلاکوئید کلروپلاست (۸۷)، اکسیداسیون نوری کلروفیل (۷۳) و در نتیجه تجزیه این رنگیزه می‌گردد (۷۷). این مسئله ممکن است به دلیل افزایش فعالیت کلروفیل‌از به هنگام تنش خشکی باشد (۳۷). در حالی که با توجه به مشترک بودن پیش ماده کلروفیل و پرولین، شاید یکی از دلایل کاهش میزان کلروفیل در شرایط تنش خشکی، افزایش سنتز پرولین باشد (۴۸).

از بین رنگدانه‌های فتوسنتزی نشان داده شده است که کاروتنوئیدها در مقاومت بر علیه تنش خشکی در گیاهان مؤثرتر هستند که از جمله نقش‌های آن‌ها جذب و انتقال فوتون‌های نوری و حفاظت بر علیه آسیب‌های اکسیداتیو ایجاد شده توسط خشکی می‌باشد و همچنین به عنوان یک آنتی‌اکسیدان مؤثر عمل نموده و موجب حذف رادیکال‌های آزاد می‌شوند (۲). این رنگیزه نقش مهمی در فتوسنتز از طریق رفع کمبود کلروفیل‌های سه گانه و اکسیژن مشق شده از انرژی نورانی بازی می‌کنند و از طرفی مهارکننده یون‌های اکسیژن هستند (۴۹). نتایج این مطالعه نشان داد که غلظت کاروتنوئید با افزایش سطوح تنش خشکی

به طور قابل توجهی افزایش یافت به طوری که بیشترین میزان این رنگیزه طی تنش ۵۰ درصد ظرفیت زراعی حاصل شد که با یافته‌های مطالعه محققان در گندم (۲۱) و تریکاله (۴۰) مبنی بر اینکه با افزایش شدت تنش میزان کاروتنوئید افزایش می‌یابد هم‌خوانی دارد. افزایش کاروتنوئیدها طی تنش خشکی ممکن است به دلیل نقش آنتی‌اکسیدانی بالای آن باشد که سبب خنثی کردن اثر سمی گونه‌های اکسیژن فعال شده و محافظت از سیستم جمع‌کننده نوری دستگاه فتوسنتزی می‌شود و از طریق مکانیسمی که چرخه گزانتوفیل نامیده می‌شود، باعث مصرف اکسیژن و حفاظت از کلروفیل در مقابل فتواکسیداسیون می‌گردند (۴۱).

### محتوی نسبی آب برگ

یافته‌های حاصل از تجزیه واریانس نشان داد که محتوای نسبی آب برگ تحت تاثیر سطوح مختلف تنش خشکی، رقم و برهم‌کنش آن‌ها قرار گرفت و اختلاف از نظر آماری در سطح یک درصد معنی‌دار شد. مقایسه میانگین برهم‌کنش اثرات متقابل رقم در هر سطح تنش نشان داد که بیشترین میزان محتوی نسبی آب برگ مربوط به رقم نیمریز بود که طی آبیاری کامل حاصل شد (جدول ۲).

محتوی نسبی آب برگ در حقیقت برآوردی از وضعیت آب گیاه است و توانایی یک رقم را در جذب آب از خاک نشان می‌دهد (۶) و به دلیل وجود رابطه نزدیک با سرعت تعرق به عنوان یک شاخص قابل اطمینان برای شناسایی ژنوتیپ‌های متحمل به خشکی شناخته شده است (۴۸) و کاهش آن از بارزترین علایم فیزیولوژیک کمبود رطوبت خاک می‌باشد (۶۷). کاهش محتوای رطوبت نسبی آب برگ طی تنش خشکی بر اساس نظر Khan و همکاران (۵۱) ممکن است ناشی از اسید آسبیزیک تولیدی در ریشه طی تنش خشکی باشد که با تجمع در سلول‌های روزنه‌ای، سبب بسته شدن سلول‌های روزنه‌ای شده و این امر متعاقباً سبب کاهش RWC می‌شود. در حالی که Venkateswarlu و Ramesh (86) بیان کردند در شرایط تنش خشکی، احتمالاً گیاهان در شرایط تنش با تولید و افزایش محافظت‌کننده‌های اسمزی درون بافت‌ها و فضای بین سلولی سبب منفی تر شدن پتانسیل اسمزی سلول‌ها و افزایش فشار اسمزی سیتوپلاسم می‌شوند که این امر باعث بالا رفتن جریان آب در بافت‌ها و اندام‌های گیاهی و به طبع آن آب از بافت خاک با نیروی بیشتری وارد آن‌ها شود که این امر موجب کاهش میزان نسبی آب در شرایط تنش خشکی می‌شود. نتایج این تحقیق نشان داد که افزایش سطوح تنش خشکی به ترتیب سبب کاهش ۵۸/۰۸ و ۷۱/۴ درصدی محتوای نسبی آب برگ به ترتیب در رقم‌های نومار و نیمریز مورد مطالعه شد که با نتایج ارائه شده در ژنوتیپ‌های مختلف گندم (۸۱،۳۳) مبنی بر این که در شرایط تنش خشکی محتوای نسبی آب در گیاهان مورد بررسی کاهش می‌یابد، مطابقت دارد.

جدول ۱- نتایج تجزیه واریانس صفات مورد مطالعه دو رقم جو تحت تأثیر تنش خشکی

Table 1. Analysis of variance of the traits of barley varieties underdrought stress condition

منابع تغییرات	درجه آزادی	کلروفیل a	کلروفیل b	کلروفیل کل	کاروتنوئید	محتوی نسبی آب برگ	پروتئین
تنش خشکی	۲	۰/۰۲۷ <sup>***</sup>	۰/۰۰۰۲۱ <sup>***</sup>	۰/۰۱۳ <sup>***</sup>	۰/۰۲۲ <sup>***</sup>	۰/۰۲۲۱ <sup>***</sup>	۰/۰۶۷ <sup>***</sup>
رقم	۱	۰/۰۲۸ <sup>***</sup>	۰/۰۰۰۱۸ <sup>*</sup>	۰/۰۱۶ <sup>***</sup>	۰/۰۰۳ <sup>***</sup>	۰/۰۱۵ <sup>***</sup>	۰/۰۸ <sup>***</sup>
تنش خشکی×رقم	۳	۰/۰۱ <sup>***</sup>	۰/۰۰۰۳۳ <sup>*</sup>	۰/۰۰۹۳ <sup>***</sup>	۰/۰۰۴۶ <sup>***</sup>	۰/۰۱۶ <sup>***</sup>	۰/۰۱ <sup>***</sup>
خطا	۱۲	۰/۰۰۰۱۵	۰/۰۰۰۰۳۳	۰/۰۰۰۰۱	۰/۰۰۰۰۲۴	۰/۰۰۰۰۵	۰/۰۰۰۶۲
ضریب تغییرات		۶/۶۹	۶/۵۴	۳/۸۸	۳/۵۶	۶/۳۳	۵/۵۴

ns، \* و \*\*\* به ترتیب عدم اختلاف معنی دار، اختلاف معنی دار در سطح ۰/۵ و ۱ درصد

#### ادامه جدول ۱

Continued Table 1.

منابع تغییرات	درجه آزادی	کربوهیدرات محلول	پرولین	کاتالاز	آسکوربات پراکسیداز	پلی فنول اکسیداز
تنش خشکی	۲	۰/۰۳۲ <sup>***</sup>	۰/۰۳۵ <sup>***</sup>	۰/۰۱۵ <sup>***</sup>	۰/۰۰۸ <sup>***</sup>	۰/۰۲۶ <sup>***</sup>
رقم	۱	۰/۰۴۵ <sup>***</sup>	۰/۰۱۶ <sup>***</sup>	۰/۰۰۲۴ <sup>***</sup>	۰/۰۰۱۸ <sup>***</sup>	۰/۰۰۶ <sup>***</sup>
تنش خشکی×رقم	۳	۰/۰۰۰۱۵ <sup>*</sup>	۰/۰۷۳ <sup>***</sup>	۰/۰۰۳ <sup>***</sup>	۰/۰۰۴۴ <sup>***</sup>	۰/۰۰۱۹ <sup>***</sup>
خطا	۱۲	۰/۰۰۰۱۷	۰/۰۰۰۰۴۱	۰/۰۰۰۰۱۳	۰/۰۰۰۰۰۴	۰/۰۰۰۱۴
ضریب تغییرات		۵/۴۵	۳/۷۲	۵/۵۵	۷/۵۳	۹/۹۹

ns، \* و \*\*\* به ترتیب عدم اختلاف معنی دار، اختلاف معنی دار در سطح ۰/۵ و ۱ درصد

جدول ۲- مقایسه برهم کنش رقم و تنش خشکی بر صفات مورد مطالعه

Table 2. Means comparisons of cultivars and drought stress interaction for the traits in barley varieties

رقم	تنش خشکی	کلروفیل a	کلروفیل b	کلروفیل کل	کاروتنوئید	محتوی نسبی آب برگ	پروتئین
(درصد ظرفیت زراعی)	(میلی گرم بر گرم وزن تر)	(میلی گرم بر گرم وزن تر)	(میلی گرم بر گرم وزن تر)	(میلی گرم بر گرم وزن تر)	(میلی گرم بر گرم وزن تر)	(%)	(میلی گرم بر گرم وزن تر)
ظرفیت زراعی	۳/۴۲ <sup>ab</sup>	۰/۱۱۵ <sup>ab</sup>	۰/۳۶۸ <sup>ab</sup>	۰/۳۷۶ <sup>ab</sup>	۰/۵۶۳ <sup>ab</sup>	۰/۱۷۸ <sup>ab</sup>	
۷۵ درصد (تنش ملایم)	۰/۱۹۷ <sup>b</sup>	۰/۰۸ <sup>c</sup>	۰/۲۰۵ <sup>c</sup>	۰/۴۴۲ <sup>c</sup>	۰/۴۴۲ <sup>c</sup>	۰/۴۴۲ <sup>c</sup>	۱/۴۱ <sup>d</sup>
۵۰ درصد (تنش شدید)	۰/۱۳۰ <sup>d</sup>	۰/۰۷۹ <sup>c</sup>	۰/۳۱۰ <sup>d</sup>	۰/۵۹۸ <sup>d</sup>	۰/۲۳۶ <sup>d</sup>	۰/۱۸۷ <sup>c</sup>	
ظرفیت زراعی	۰/۱۷۵ <sup>b</sup>	۰/۱۰۳ <sup>ab</sup>	۰/۲۵۵ <sup>b</sup>	۰/۲۵۵ <sup>b</sup>	۰/۶۱۲ <sup>ab</sup>	۰/۱۷۲ <sup>ab</sup>	
۷۵ درصد (تنش ملایم)	۰/۱۳۳ <sup>cd</sup>	۰/۰۸۰ <sup>c</sup>	۰/۲۳۳ <sup>c</sup>	۰/۲۴۳ <sup>c</sup>	۰/۲۷۸ <sup>c</sup>	۰/۱۴۱ <sup>d</sup>	
۵۰ درصد (تنش شدید)	۰/۱۲۵ <sup>d</sup>	۰/۰۶۵ <sup>d</sup>	۰/۲۱۰ <sup>e</sup>	۰/۲۷۲ <sup>d</sup>	۰/۱۷۵ <sup>c</sup>	۰/۱۳۱ <sup>d</sup>	

میانگین هایی با حروف مشابه در هر ستون اختلاف معنی داری با هم ندارند.

#### ادامه جدول ۲

Continued Table 2.

رقم	تنش خشکی	کربوهیدرات	پرولین	کاتالاز	آسکوربات پراکسیداز	پلی فنول اکسیداز
(درصد ظرفیت زراعی)	(میلی گرم بر گرم وزن تر)	(میلی گرم بر گرم وزن تر)	(میلی گرم بر گرم وزن تر)	(میلی گرم بر گرم وزن تر)	(میلی گرم بر گرم وزن تر)	(میلی گرم بر گرم وزن تر)
ظرفیت زراعی	۰/۱۳۲ <sup>c</sup>	۰/۵۱ <sup>d</sup>	۰/۱۰۳ <sup>c</sup>	۰/۲۳۸ <sup>cd</sup>	۰/۱۴۳ <sup>d</sup>	
۷۵ درصد (تنش ملایم)	۰/۱۶۵ <sup>d</sup>	۰/۴۶۲ <sup>c</sup>	۰/۱۹۶ <sup>c</sup>	۰/۲۳۴ <sup>d</sup>	۰/۳۳۳ <sup>c</sup>	
۵۰ درصد (تنش شدید)	۰/۲۷۵ <sup>d</sup>	۰/۵۶۵ <sup>bc</sup>	۰/۲۰۶ <sup>c</sup>	۰/۳۲۵ <sup>d</sup>	۰/۸۴۸ <sup>a</sup>	
ظرفیت زراعی	۰/۲۴۳ <sup>c</sup>	۰/۵۴۱ <sup>c</sup>	۰/۱۱۹ <sup>d</sup>	۰/۱۱۴ <sup>c</sup>	۰/۱۸۴ <sup>d</sup>	
۷۵ درصد (تنش ملایم)	۰/۲۵۶ <sup>bc</sup>	۰/۵۷۳ <sup>ab</sup>	۰/۲۸۰ <sup>b</sup>	۰/۲۷۲ <sup>c</sup>	۰/۳۳۴ <sup>c</sup>	
۵۰ درصد (تنش شدید)	۰/۳۷۵ <sup>a</sup>	۰/۶ <sup>a</sup>	۰/۳۲۹ <sup>a</sup>	۰/۵۴۸ <sup>a</sup>	۰/۴۵۹ <sup>d</sup>	

سازوکارهای تنظیم اسمزی ناشی از تجمع مواد محلول سازگار در سیتوپلاسم اشاره کرد (۸۰). این تجمع مواد درون سلول نه تنها به عنوان اسمولیت در تسهیل نقل و انتقال آب و نگهداری آن در سلول ها نقش دارند بلکه در حفاظت و پایدار کردن ماکرو مولکول ها، اندامک ها، ساختارها نظیر غشاء ها، کلروپلاست و غیره در مقابل تنش نقش مهمی دارند (۳۵). اسمولیت های سازگار مانند اسید آمینه های پرولین، گلیسین بتائین قندهای محلول، اعمالی مانند تنظیم اسمزی، حفاظت از ساختار درون سلولی و کاهش خسارت اکسیداتیو به واسطه رادیکال های آزاد تولید شده را در پاسخ به تنش خشکی و شوری را میانجی گری می کنند (۲۰). که در این بین به احتمال زیاد فراوان ترین و عمومی ترین ماده حل شده سازگار پرولین است که در طول زمان تنش تجمع می یابد (۵۸، ۵۵).

#### تنظیم کننده های اسمزی

نتایج تجزیه واریانس داده های (جدول ۱) نشان داد که سطوح مختلف تنش خشکی، رقم و برهم کنش رقم و تنش بر میزان کربوهیدرات محلول و پرولین در سطح یک درصد معنی دار گردید (جدول ۱). نتایج مقایسه میانگین برهم کنش اثرات رقم و تنش نشان داد که با افزایش سطوح تنش، میزان پرولین و کربوهیدرات در ارقام مورد بررسی نسبت به سطوح شاهد افزایش یافت به طوری که در مدت زمان اعمال تنش شدید (۵۰ درصد)، بیشترین مقدار پرولین (۰/۶ میلی گرم بر وزن تر) و کربوهیدرات (۰/۳۷۵ میلی گرم بر وزن تر) مربوط به رقم نیمروز بود (جدول ۲).

هنگامی که گیاه تحت تأثیر شرایط نامساعد رشدی قرار می گیرند جهت مقابله با تنش ها، راهبردهای حفاظتی متفاوتی را در پیش می گیرند که از آن جمله می توان به

افزایش فعالیت آنزیم آمیلاز باعث افزایش غلظت قندهای محلول می‌شود.

#### پروتئین

نتایج تجزیه واریانس داده‌های جدول ۱ نشان داد که میزان پروتئین تحت تاثیر سطوح مختلف تنش خشکی، رقم و اثر متقابل تنش و رقم قرار گرفت و از نظر آماری در سطح یک درصد دارای اختلاف معنی‌دار بود. مقایسه میانگین برهم‌کنش رقم در هر سطح تنش نشان داد که با افزایش سطوح تنش از میزان پروتئین ارقام مورد بررسی کاسته شد به‌طوری‌که بیشترین میزان پروتئین با میانگین  $1/78$  میلی‌گرم بر وزن تر مربوط به رقم نومار بود که طی آبیاری کامل حاصل شد هرچند که بین نومار و نیمریز در حالت ظرفیت زراعی اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد (جدول ۲).

بررسی‌ها نشان داده است پاسخ محتوی پروتئین برگ به تنش خشکی متغیر بوده و می‌تواند افزایشی، کاهش یا بدون تغییر باشد (۲۷،۳). کاهش چشمگیر پروتئین طی شرایط تنش خشکی در مطالعات قلی‌پور و عبادی (۲۹) در برخی رقم‌های گندم، گنجی و همکاران (۲۷) رقم‌های وحشی جو، مولودی و همکاران (۶۴) در جو بهاره و امینی و حداد (۳) در گیاه جو گزارش شده است که با یافته‌های این مطالعه مبنی بر این‌که تنش خشکی سبب کاهش  $51/12$  و  $24/71$  درصدی میزان پروتئین به‌ترتیب در هر دو رقم نومار و نیمریز می‌شود همخوانی دارند. کاهش چشمگیر پروتئین طی شرایط تنش خشکی شدید کاملاً محسوس است که این امر ممکن است با کاهش زیرواحد روبیسکو و افزایش در اکسیداسیون پروتئین (۸۳) یا افزایش فعالیت آنزیم‌های پروتئاز (۳۰) مرتبط می‌باشد از طرفی بر اساس نظر Ranjan و همکاران (۷۲) و Bajji و همکاران (۹) به‌نظر می‌رسد که کاهش محتوی پروتئین تحت تنش کم‌آبی در نتیجه واکنش پروتئین با رادیکال‌های آزاد، افزایش فعالیت آنزیم‌های تجزیه‌کننده پروتئین، کاهش سنتز پروتئین و تجمع اسیدهای آمینه آزاد از جمله پروتئین مرتبط است.

#### آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانت

نتایج تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد که اثر سطوح مختلف تنش خشکی، رقم و برهم‌کنش آن‌ها بر میزان فعالیت آنزیم آنتی‌اکسیدانی در سطح یک درصد معنی‌دار گردید (جدول ۱). نتایج مقایسه میانگین برهم‌کنش اثر رقم و تنش خشکی نشان داد که با افزایش سطوح تنش به‌میزان فعالیت آنزیم‌های کاتالاز، پلی‌فنول اکسیداز و آسکوربات پراکسیداز ارقام مورد بررسی افزوده شد به‌طوری‌که بیشترین میزان آنزیم‌های کاتالاز و آسکوربات پراکسیداز با میانگین  $0/329$  و  $0/548$  میلی‌گرم بر گرم وزن تر مربوط به رقم نیمریز بود که طی تنش شدید (۵۰ درصد) حاصل شد و از طرفی بیشترین میزان فعالیت آنزیم پلی‌فنول اکسیداز با میانگین  $0/848$  میلی‌گرم بر گرم وزن تر طی تنش شدید (۵۰ درصد) مربوط به رقم نومار بود.

تنش‌های محیطی از جمله شوری و خشکی علاوه بر تغییرات فیزیولوژیکی که در گیاه ایجاد می‌کنند با افزایش تولید انواع اکسیژن فعال موجب آسیب اکسیداتیو به

تجمع بالای پرولین گیاه را قادر می‌سازد تا تورژسانس و در نتیجه پتانسیل آب را حفظ کند. در بررسی‌ها مشخص شده است که پرولین مهم‌ترین آنتی‌اکسیدان غیرآنزیمی تحت شرایط تنش آبی است که منجر به مقاومت به استرس از طریق توانایی پالایندگی گونه‌های اکسیژن فعال می‌شود (۳۵). نتایج این پژوهش نشان داد که با افزایش تنش خشکی میزان پرولین در هر دو رقم نومار و نیمریز نسبت به شاهد به‌ترتیب افزایش  $9/73$  و  $9/83$  درصدی نشان دادند که با یافته‌های مطالعه نیممی و همکاران (۶۵) در پنج رقم گندم دوروم و یوسفی راد و همکاران (۸۹) در هفت رقم جو مبنی بر افزایش پرولین طی تنش خشکی هم‌راستا می‌باشد.

تجمع پرولین طی تنش خشکی ممکن است ناشی از تحریک سنتز آن یا جلوگیری از تجزیه آن و یا تجزیه پروتئین‌ها باشد (۳۴). افزایش میزان پرولین در شرایط تنش خشکی بر اساس نظر Kariola و همکاران (۵۰) ممکن است به‌علت افزایش فعالیت آنزیم پیروکسیداز (۵) کربوکسیلات سنتتاز (P5CS) در مسیر گلوتامات باشد این آنزیم گلوتامات را به گلوتامات سمی آلدئید (GSA) احیا و سپس به پیروکسیداز (P5C) تبدیل می‌کند. بر اساس گزارش Fujita و همکاران (۲۶) و Girija و همکاران (۳۲) افزایش پرولین طی تنش خشکی ممکن است ناشی از تجمع پرولین به موازات افزایش فعالیت آنزیم‌های شرکت‌کننده در سنتز پرولین از طریق مسیر گلوتامیت شامل  $\gamma$ -گلوتامین کیناز، گلوتامیل فسفات ردوکتاز  $\Delta^1$ -پیروکسیداز (۵) کربوکسیلات ردوکتاز باشد.

کربوهیدرات‌های محلول نیز مانند پرولین نقش مهمی در فرآیند تنظیم اسمزی دارند (۷۵). افزایش غلظت کربوهیدرات‌های محلول ازجمله واکنش‌هایی است که گیاهان در مواجهه با تنش خشکی از خود نشان می‌دهند (۱۴). کربوهیدرات‌های محلول و قندها از طریق تشکیل باندهای هیدروژنی با دنباله‌های قطبی پلی‌پپتیدها (۱۷) و گروه‌های فسفات فسفولیپیدهای غشا (۵۳) سبب پایداری غشاهای پروتئین‌ها در شرایط تنش می‌شوند. گزارش‌های زیادی از تجمع کربوهیدرات‌ها در طی وقوع انواع تنش‌های غیرزنده بخصوص تنش خشکی در غلات و گراس‌های معتدل وجود دارد (۶۵،۲۷،۱).

نتایج به‌دست آمده از این تحقیق نشان داد که افزایش سطوح تنش خشکی سبب افزایش  $52$  و  $35/2$  درصدی کربوهیدرات‌های محلول به‌ترتیب در هر دو رقم نومار و نیمریز شد که با نتایج ارائه شده در رقم‌های گندم (۲۹) و رقم‌های جو وحشی (۲۷) مبنی بر افزایش قندهای محلول و تفاوت در میزان آن در رقم‌های مختلف در شرایط تنش خشکی مطابقت دارد. افزایش محتوای قندهای محلول تحت تنش خشکی بر اساس نظر محققین احتمالاً به‌علت افزایش فعالیت آنزیم آمیلاز (۹۰)، هیدرولیز نشاسته و کربوهیدرات‌های مرکب به قندهای ساده (۴۵،۱۶) و کاهش انتقال ساکارز از برگ‌ها به سایر قسمت‌های گیاه می‌باشد (۷۸،۱۴). از طرفی در پژوهشی Anderson و Kohorn (۵) بیان کردند که تنش خشکی با تجزیه و کاهش نشاسته در اثر

و اکسیژن بدون نیاز به سوبسترای کمکی انجام و مانع فعالیت پراکسید هیدروژن در سلول می‌شود (۳۶) و کاهش فعالیت آن می‌تواند سبب تجمع پراکسید هیدروژن شده و سبب کاهش فعالیت برخی از آنزیم‌های چرخه کالوین نظیر ریبولوز مونوفسفات، کیناز و بی‌فسفاتازها گردد (۸). در این مطالعه فعالیت آنزیم کاتالاز در هر دو رقم نیمروز و نوما در تنش خشکی در مقایسه با شاهد بیشتر بود، به‌طوری‌که بیشترین میزان فعالیت آنزیم کاتالاز در گیاهان آبیاری شده تحت تنش خشکی ۵۰ درصد مربوط به رقم نیمروز بود. تحقیقات نشان داده است که میزان فعالیت آنزیم کاتالاز در پنج رقم گندم زراعی (۱۸) و دوروم (۶۵) در شرایط تنش خشکی در مقایسه با شاهد افزایش یافت که با نتایج این تحقیق مبنی بر افزایش آنزیم کاتالاز طی تنش خشکی هم‌خوانی دارد.

آنزیم پلی‌فنول اکسیداز در شرایط تنش خشکی، از تولید بیش از حد اجزای خطی انتقال الکترون در واکنش مهملر جلوگیری می‌کند (۸۴). این آنزیم با اکسید کردن ترکیبات فنلی مضر تولید شده طی تنش خشکی، باعث تحمل گیاه به تنش خشکی می‌شود (۱۳). نتایج تحقیق حاضر نشان داد که با افزایش سطوح خشکی میزان آنزیم پلی‌فنول اکسیداز در هر دو رقم نوما و نیمروز افزایش یافت، به‌طوری‌که بیشترین میزان این آنزیم طی تنش ۵۰ درصد مربوط به رقم نوما بود. افزایش فعالیت آنزیم پلی‌فنل اکسیداز تحت تنش اکسیداتیو ناشی از خشکی با یافته‌های مطالعه دلارام‌پور و همکاران (۱۸) در پنج رقم گندم هم‌خوانی دارد که بیان کردند با افزایش شدت تنش خشکی میزان آنزیم پلی‌فنول اکسیداز در هر پنج رقم (شبرنگ، بهرنک، کرخه، آریا و دنا) نسبت به سطوح شاهد روند افزایشی داشتند که تاییدی بر یافته‌های مطالعه فوق می‌باشد. افزایش فعالیت این آنزیم در شرایط خشکی به دلیل افزایش سوبسترای آن از جمله ترکیبات اکسیژن فعال هست که نشان‌دهنده نقش مهم این آنزیم جهت مقابله با رادیکال‌های آزاد اکسیژن است.

نتایج حاصل از این آزمایش نشان داد که تنش خشکی در هر دو رقم جو بومی منطقه سیستان، سبب کاهش صفات فیزیولوژیک شامل رنگیزه‌های فتوسنتزی، محتوی نسبی آب برگ و پروتئین شد در حالی که با افزایش سطوح تنش خشکی محتوی کربوهیدرات، پرولین، کاروتنوئید و میزان فعالیت آنزیم‌های کاتالاز، آسکوربات پراکسیداز و پلی‌فنول اکسیداز افزایش یافت. بر این اساس رقم نوما بالاترین میانگین را از نظر میزان کلروفیل a، کلروفیل b، کلروفیل کل، پروتئین و آنزیم پلی‌فنل اکسیداز نسبت به رقم نیمروز طی تنش خشکی برخوردار بود، در حالی که رقم نیمروز از نظر پروتئین، محتوی نسبی آب برگ، کاروتنوئید، تنظیم‌کننده‌های اسمزی و آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی کاتالاز و آسکوربات پراکسیداز دارای بالاترین میانگین بود.

بیومولکول‌های مختلف از جمله چربی‌ها، پروتئین‌ها و اسیدهای نوکلئیک درون سلول می‌شوند (۵۲). این صدمات اکسیداتیو از جمله عوامل مهم محدودکننده رشد و تولیدات گیاهی هستند که طی شرایط نامناسب رشدی ایجاد می‌شود (۷۴). گیاهان برای مقابله با تنش اکسیداتیو ایجاد شده دارای سیستم دفاع آنتی‌اکسیدانی با کارایی بالا می‌باشند که می‌توانند رادیکال‌های آزاد تولید شده را از بین برده و یا خنثی کنند (۶۲). آنزیم‌های کاتالاز، پلی‌فنول اکسیداز و آسکوربات پراکسیداز از جمله مهمترین آنزیم‌های دخیل در فرآیند جمع‌آوری و خنثی‌سازی گونه‌های فعال اکسیژن هستند (۸۲).

در این مطالعه فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانت در هر دو رقم نیمروز و نوما در تنش خشکی در مقایسه با شاهد بیشتر بود، به‌طوری‌که بیشترین میزان فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانت در گیاهان آبیاری شده تحت تنش خشکی ۵۰ درصد بود. این نتایج با یافته‌های گنجی و همکاران (۲۷) در رقم‌های وحشی جو، ارزانی و اکبریان (۷) در رقم‌های تریکاله و حسن‌پورسکوکلايه و همکاران (۳۷) در برخی ارقام گندم دروم، مبنی بر افزایش فعالیت آنزیم آنتی‌اکسیدانت طی تنش خشکی مطابقت دارد.

آسکوربات پراکسیداز دارای چندین نقش اساسی در فرآیندهای فیزیولوژیکی گیاه مانند رشد و نمو و متابولیسم است و همچنین به‌عنوان یک احیاکننده برای خیلی از رادیکال‌های آزاد و به‌خصوص پراکسید هیدروژن عمل می‌کند. بنابراین خسارت ناشی از تنش اکسیداتیو را به کمترین مقدار می‌رساند (۸۸). این آنزیم با استفاده از مولکول آسکوربات به عنوان دهنده الکترون موجب احیاء پراکسید هیدروژن به آب و اکسیژن می‌شوند. کاهش فعالیت این آنزیم در چرخه کالوین می‌تواند با کاهش نسبت  $NADP^+/NADPH$ ،  $H^+$  در کلروپلاست سبب افزایش آسیب به بیومولکول‌ها (از جمله لیپیدها) و تولید فرم‌های فعال اکسیژن شود (۶۳). نتایج این تحقیق نشان داد که با افزایش سطوح تنش خشکی میزان فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز در هر دو رقم نوما و نیمروز نسبت به شاهد افزایش چشمگیری داشتند. افزایش فعالیت این آنزیم تحت تنش خشکی در گیاهانی چون گندم (۷۹) و رقم‌های وحشی جو (۲۷) گزارش شده است که این خود تاییدی بر نتایج مطالعه فوق می‌باشد. افزایش فعالیت آنزیم APX در شرایط تنش بر اثر افزایش گونه‌های فعال اکسیژن است که با فعال کردن مسیرهای انتقال پیام باعث افزایش بیان ژن‌های آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی و افزایش فعالیت این آنزیم می‌شود (۱۲).

آنزیم کاتالاز از دسته پروتئین‌های آهن‌دار محسوب می‌شود و هنگامی در سلول‌های گیاهی و جانوری وارد عمل می‌شود که مقدار ماده پراکسید هیدروژن در محیط زیاد باشد. این آنزیم، فرآیند تبدیل پراکسید هیدروژن را به آب

## منابع

1. Ajithkumarand, P. and R. Panneerselvam. 2013. Osmolyte accumulation, photosynthetic pigment and growth of *Vetaria italica* under drought stress. *Asian Pacific Journal*, 2: 220-224.
2. Akbari, V. and R. Jalili Marandi. 2014. Effect of Cycocel on Growth and Photosynthetic Pigments of Two Olive Cultivars under Different Irrigation Intervals. *Journal of Horticultural Science*, 27(4): 460-469 (In Persian).
3. Amini, Z. and R. Haddad. 2013. Role of photosynthetic Pigments and antioxidant enzymes against oxidative stress. *Journal of Molecular and Cellular Research (Iranian Journal of Biology)*, 26(3): 251-265 (In Persian).
4. Amudha, J. and G. Balasubramani. 2010. Recent molecular advances to combat abiotic stress tolerance in crop plants. *Biotechnology and Molecular Biology Review*, 6(2): 31-58.
5. Anderson, C.M. and B.D. Kohorn. 2001. Inactivation of Arabidopsis SIP1 leads to reduced levels of sugars and drought tolerance. *Plant Physiology*, 158: 1215-1219.
6. Arvin, P., J. Vafa bakhsh and D. Mazaheri. 2018. Study of Plant Growth Promoting Rhizobacteria (PGPR) and Drought on Physiological Traits and Ultimate Yield of Cultivars of *Oilseed Rape (Brassica spp. L.)* *Journal of Agroecology*, 9(4): 1208-1226 (In Persian).
7. Arzani, A. and A.Gh. Akbarian. 2015. Effects of Drought Stress on Antioxidant Enzymes Activity in Triticale Lines. *Journal of Crop Breeding*, 16(7): 158-167 (In Persian).
8. Asada, K. 2000. The water-water cycle as alternative photon and electron sinks. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences*, 355:1419-1431.
9. Bajji, M., S. Lutts and J.M. Kinet. 2001. Water deficit effects on solute contribution to osmotic adjustment as a function of leaf ageing in three durum wheat (*Triticum durum* Desf) cultivars performing differently in arid conditions. *Plant Science*, 160: 669-681.
10. Bates, L.S., R.P. Waldern and I.D. Teave. 1973. Rapid determination of free proline for water stress studies. *Plant and Soil*, 39: 205-107.
11. Beers, G.R. and I.V. Sizer. 1952. A spectrophotometric method for measuring the break down of hydrogen peroxide by catalase. *Journal of Biological Chemistry*, 195: 133-140.
12. Bian, S. and Y. Jiang. 2009. Reactive oxygen species, antioxidant enzyme activities and gene expression patterns in leaves and roots of *Kentuckybluegrass* in response to drought stress and recovery. *Scientia Horticulturae*, 120(2): 264-270.
13. Blum, A., G. Gozlan and J. Mayer. 1981. The Manifestation of Dehydration Avoidance in Wheat Breeding Germplasm 1. *Crop Science*, 21(4): 495-499.
14. Bohnert, H.J. and B. Shen. 1999. Transformation and compatible solutes. *Scientia Horticulturae*, 78: 237-260.
15. Bradford, M.M. 1976. *Analytical Biochemistry*, 72: 248-254.
16. Chaves, M.M., O. Zarrouk, R. Francisco, J.M. Costa and C.M. Lopes. 2010. Grapevine under deficit irrigation: hints from physiological and molecular data. *Annals of Botany*, 105(5): 661-676.
17. Crowe, J.H., F.A. Hoekstra and L.M. Crowe. 1992. Anhydrobiosis. *Annual Review of Physiology*, 54: 579-599.
18. Delarampoor, M.A., L. Fahmideh and Z. Fooladvand. 2019. Effect of drought stress on NAC gene expression in some bread wheat cultivars of Sistan region. *Environmental Stresses in Crop Sciences*, 12(3): 649-662 (In Persian).
19. Dshtaki, M., M.R. Bihamta, E. Majidi and R. Azizinezhad. 2020. Study of seed germination indices in bread wheat genotypes (*Tritium aestivum* L.) under drought stress simulated with polyethylene glycol. *Environmental Stresses in Crop Sciences*, 13(1): 197-210 (In Persian).
20. De Lacerda, C.F., J. Cambraia, M.A. Oliva and H.A. Ruiz. 2005. Changes in growth and in solute concentrations in *Sorghum* leaves and roots during salt stress recovery. *Environmental and Experimental Botany*, 54: 69-76.
21. Emam, Y., H.A. Karimzadeh, S. Mori and K. Maghsudi. 2013. Biochemical responses of two wheat cultivars to late season drought stress and auxin and cytokinin application. *Journal of Plant Process and Function*, 2(3): 65-74 (In Persian).
22. 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.
23. FAO. 2010. Land and plant nutrition management service. <http://www.fao.org/ag/agl/agll/spush>.
24. Fazeli, F., M. Ghorbanli and V. Niknam. 2007. Effect of drought on biomass, protein content, lipid peroxidation and antioxidant enzymes in two sesame cultivars. *Biologia Plantarum*, 51(1): 98-103.
25. Filella, I., J. Llusia, J.O. Pin and J.U. Pen. 1998. Leaf gas exchange and fluorescence of *Phillyrea latifolia*, *Pistacia lentiscus* and *Quercus ilex* saplings in severe drought and high temperature conditions. *Environmental and Experimental Botany*, 39: 213-220.
26. Fujita, T., A. Maggio, M.G. Rios, C. Stauffacher, R.A. Bressan and L.N. Csonka. 2003. Identification of regions of the tomato – glutamyl kinase that are involved in allosteric regulation by proline. *Journal of Biological Chemistry*, 278: 14203-14210.



27. Ganji, M., E. Farahmandfar, M. Shahbazi and M. Zahravi. 2016. Biochemical characterization and grain yield of selected genotypes of wild barley (*Hordeum vulgare* ssp. spontaneum) Different levels of drought stress. *Journal of Plant Process and Function*, 5(15):75-90.
28. Ghaderi, A.A., B. Fakheri and N. Mahdi Nezhad. 2017. Evaluation of the morphological and physiological traits of thyme (*Thymus vulgaris* L.) under water deficit stress and foliar application of ascorbic acid. *Journal of Agricultural Crops Production*, 19(4): 817-835.
29. Gholipour, S. and A. Ebadie. 2017-2018. Study change compatibility metabolites and antioxidant enzyme activities of wheat cultivars under water stress. *Journal of Plant Process and Function*, 6(19): 219-232 (In Persian).
30. Ghorbanli, M., M. Gafarabad, T. Amirkian and M.B. Allahverdi. 2013. Investigation of proline, total protein, chlorophyll, ascorbate and dehydroascorbate changes under drought stress in Akria and Mobil tomato cultivars. *Iranian Journal of Plant Physiology*, 3(2): 651-658 (In Persian).
31. Ghosh, P.K., K.K. Ajay, M.C. Bandyopadhyay, K.G. Manna, A.K. Mandal and K.M. Hati. 2004. Comparative affective of cattle manure, poultry manure, phosphocompost and fertilizer- NPK on three cropping system in vertisols of semi- arid tropics. Dry matter yield, nodulation, chlorophyll. Content and Enzyme Activity. *Bioresours Technology*, 95: 85-93.
32. Girija, C., B.N. Smith and P.M. Swamy. 2002. Interactive effects of sodium chloride and calcium chloride on the accumulation of proline and glycinebetaine in peanut (*Arachishypogaea* L.). *Environmental and Experimental Botany*, 43: 1-10
33. Golabadi, M., Z. Abbasi and A.R. Golparvar. 2014. Variations in physiological indices of bread wheat flag leaf in response to drought stress. *Environmental Stresses in Crop Sciences*, 7(1): 1-11 (In Persian).
34. Gomes, F.P., M.A. Oliva, M.S. Mielke, A.A.F. Almeida and L.A. Aquino. 2010. Osmotic adjustment, proline accumulation and membrane stability in leaves of *Cocosnuciera* submitted to drought stress. *Scientia Horticulturae*, 126: 379-384.
35. Guha, A., D. Sengupta, G.K. Rasineni and A.R. Reddy. 2012. Non-enzymatic antioxidant defence in drought-stressed mulberry (*Morusindica* L.) genotypes. *Trees*, 26: 903-918.
36. Habibi, D., M. Mashdi Akbar Boojar, A. Mahmoudi, M.R. Ardakani and D. Taleghani. 2004. Antioxidative enzyme in sunflower subjected to drought stress. In: 4<sup>th</sup> International Crop Science Congress, Brisbane, Australia.
37. Hassanpour Lescokelaye, K., J. Ahmadi, J. Daneshyan and S. Hatami. 2015. Changes in Chlorophyll, Protein and Antioxidant Enzymes on Durum Wheat under Drought Stress. *Journal of Crop Breeding*, 7(15): 76-87 (In Persian).
38. Hashemi, S.E., Y. Emam and H. Pirasteh Anosheh. 2015. The Effect of Time and Type of Salicylic Acid Application on Growth Trend, Yield and Yield Components of Barley (*hordeum Vulgare* L.) Under Salinity Tension Conditions. *Crop Physiology Journal*, 6(24): 5-18 (In Persian).
39. Heidari Sharifabadi, H. 2001. Methods to deal with dryness and drought drought. Volume1, Publishing Research Institute of Forests and Rangelands, Tehran, 171 pp (In Persian).
40. Hoseini, S.S., M. Cheniany, M. Lahouti and A. Ganjeali. 2016. Evaluation of resistance to drought stress in seedlings of two lines of Triticale (Triticosecale × Wittmack) with emphasis on some enzymatic and non-enzymatic antioxidants. *Iranian Journal of Plant Biology*, 8(30): 27-42 (In Persian).
41. Ilektra, S. and M. Michael. 2012. Interaction of proline, sugars and anthocyanins during photosynthetic acclimation of Arabidopsis thaliana to drought stress. *Plant Physiology*, 169: 577-585.
42. Irigoyen, J.J., D.W. Emerich and M. Sanchez-Diaz. 1992. Water stress induced changes in concentrations of proline and total soluble sugars in nodulated alfalfa plant. *Physiol Plant*, 84: 55-60.
43. Jiang, Y. and B. Huang. 2000. Effects of drought or heat stress alone and in combination on Kentucky bluegrass. *Crop Science*, 40: 1358-1362.
44. Jiang, Y. and B. Huang. 2001. Drought and heat stressinjury to two cool-season turfgrasses in relation toantiaxdant metabolism and lipid peroxidation. *CropScience*, 41: 436-442.
45. Jiang, Y. and B. Huang. 2002. Protein alterations in tall fescue in response to water stress and abscisic acid. *Crop Science*, 42: 202-208.
46. Kaphi, M. and A. Mahdavi damghani. 2000. Mechanisms of plant resistance to drought stress. University of Ferdosi Mashhad Publications, 472 pp (In Persian).
47. Kar, M. and D. Mishra 1976. Catalase, peroxidase and polyphenoloxidase activities during rice leaf senescence. *Plant physiology*, 57(2): 315-319.
48. Karimi Afshar, A., A. Baghizadeh and Gh. Mohammadi-Nejad. 2015. Physiological assessment of drought tolerance of two ecotypes of cumin (*Cuminumcyminum* L.) under greenhouse conditions. *Journal of Science and Technology of Greenhouse Culture*, 6(3): 175-185(In Persian).
49. Karimi, N. and Z. Sour. 2015. Investigating the interaction between arsenic and phosphorus on chlorophyll content and accumulation of malondialdehyde in Isatis cappadocica. *Journal of Plant Process and Function*, 4(11): 1-12 (In Persian).
50. Kariola, T., G. Brader, J. Li and E.T. Palva. 2005. A damage control enzyme, affects the balance between defense pathways in plant. *The Plant Cell*, 282-294.

51. Khan, H.U., W. Link, T. Hocking and F. Stoddard. 2007. Evaluation of physiological biomembranes. *Methods in Enzymology*, 148: 350-382.
52. Kruk, J., H.H. Czytko, W. Oettmeier and A. Trebest. 2005. Tocopherol as singlet oxygen scavenger in photosystem II. *Journal Plant Physiology*, 162: 749-757.
53. Lang-Mladek, C., O. Popova, K. Kiok, M. Berlinger, B. Rakic and W. Aufastez. 2010. Transgenerational inheritance and resetting of stress-induced loss of epigenetic in *Arabidopsis*. *Molecular Plant*, 3: 594-602.
54. Ma, Q.S.H., R. Niknam and D.W. Turner. 2006. Response of osmotic adjustment and seed yield of *Brassicajounce* to soilwater deficit at different growth stages. *Australian Journal of Agricultural Research*, 57: 221-226.
55. Mandhanis, S., S. Madan and V. Whney. 2006. Antioxidant defence mechanism under salt stress in wheat seedling. *Biologia Plantarum*, 52(6): 22-27.
56. Mardeh, A.S.S., A. Ahmadi, K. Poustini and V. Mohammadi. 2006. Evaluation of drought resistance indices under various environmental conditions. *Field Crops Research*, 98(2): 222-229.
57. Martin, M., F. Micell, J.A. Morgan, M. Scalet and G. Zerbi. 1993. Synthesis of osmotically active substances in winter wheat leaves as related to drought resistance of different genotypes. *Journal of Agronomy and Crop Science*, 171: 176-184.
58. Masinde, P.W., H. Stützel, S.G. Agong and A. Frickle. 2005. Plant growth, water relations and transpiration of spider plant (*Gynandropsisgynandra*) under water limited conditions. *Journal of the American Society for Horticultural Science*, 130: 469-477.
59. Mazarie, A., A.R. Sirousmehr and Z. Babaei. 2017. Effect of mycorrhizal fungi on some morphological & physiological characteristics of Milk thistle (*Silybummarianum* (L.) Gaertn.) under drought stress. *Iranian Journal of Medicinal and Aromatic Plants*, 33(4): 620-635 (In Persian).
60. Mazarie, A., A.R. Sirousmehr, M. Broshaki, Z. Babaei and A.A. Mahmmody. 2019. Effect of irrigation interval and chitosan spraying on some physiological characteristics and Antioxidant enzymes activity of common Mallow (*Malvasylvestris*). *Iranian Journal of Plant Biology*, 11(2): 77-102 (In Persian).
61. Mishra, S. and R.S. Dubey. 2006. Heavy metal uptake and detoxification mechanisms in plants. *International Journal of Agricultural Research*, 1(2): 122-141.
62. Mittler R. 2002. Oxidative stress, antioxidants and stress tolerance. *Tren Plant Science*, 7: 405-410.
63. Mittler, R., S. Vanderauwera, M. Gollery and F. Vanbreusegem. 2004. Reactive oxygen gene network of plants. *Trends Plant Science*, 9: 490-498.
64. Molodi, A., A. Ebadi and S. Gahanbakhsh. 2015. Effect of nitrogen application on some characteristics of drought tolerance in spring barley. *Journal of Crop Production*, 8(3): 95-114 (In Persian).
65. Naeemi, T., F. Fahmideh and B.A. Fakheri. 2018. The impact of drought stress on antioxidant enzymes activities, containing of proline and carbohydrate in some genotypes of durum wheat (*TriticumturgiduL.*) at seedling stage. *Journal of Crop Breeding*, 10(26): 22-31 (In Persian).
66. Nakano, Y. and K. Asada. 1981. Hydrogen peroxide is scavenged by ascorbate specific peroxidases in spinach Chloroplasts. *Plant cell physiology*, 22: 867-880
67. Nautical, P.C., N.R. Rachaputi and Y.C. Joshi. 2002. Moisture-deficit-induced changes in leafwater content, leaf carbon exchange rate and biomass production in groundnut cultivars differing in specific leaf area. *Field Crop Research*, 74: 67-79.
68. Oliviera-Neto, C.F., A.K. Silva-Lobato, M.C. Goncalves-Vidigal, R.C.L. Costa, B.G. Santosfilho, G. A.R. Alves, W.J.M. Silva-Maia, F.J.R. Cruz, H.K.B. Neres and M.J. Santos Lopes. 2009. Carbon compounds and chlorophyll contents in sorghum submitted to water deficit during three growth stages. *Science and Technology*, 7: 588-593.
69. Pessarkli, M. 1999. Hand book of Plant and Crop Stress. Marcel Dekker Inc. 697 Pages Ajithkumar and, P., and Panneerselvam, R. 2013. Osmolyte accumulation, photosynthetic pigment and growth of *setariaitalica* under droght stress. *Asian Pacific Journal*, 2: 220-224.
70. Prochazka, S., I. Machaackova, J. Kreekule and J. Sebanek. 1998. *Plant physiology Academia Praha*, 484 pp.
71. Rajinder, S.D. 1987. Glutathione status and protein synthesis during drought and subsequent dehydration in *Torula rulis*. *Plant Physiology*, 83: 816-819.
72. Ranjan, R., S.P. Bohra and A.M. Jeet. 2001. *Book of plant senescence*. Jodhpur, Agrobios New York, 18-42.
73. Reddy, A.R., K.V. Chaitanya and M. Vivekanandan. 2004. Drought-induced responses of photosynthesis and antioxidant metabolism in higher plants. *Journal of Plant Physiology*, 161(11): 1189-1202.
74. Sairam, R.K., K.V. Rao and G.C. Srivastava. 2002. Differential response of wheat genotypes to long term salinity stress in relation to oxidative stress, antioxidant activity and osmolyte concentration. *Plant Science*, 163: 1037-1046.

75. Sanchez-Blanco, J., T. Fernandez, A. Morales, A. Morte and J. Alarcon. 2006. Variation in water stress, gas exchange, and growth in *Rosmarinus officinalis* plants infected with *Glaucium deserticola* under drought conditions. *Journal of Plant Physiology*, 161: 675-682.
76. Schutz, H. and E. Fangmier. 2001. Growth and yield responses of spring wheat (*Triticum aestivum* L.) to elevated CO<sub>2</sub> and water limitation. *Environmental Pollution*, 114: 187-194.
77. Shao, H.B., L.Y. Chu, C.A. Jaleel, P. Manivannan, R. Panneerselvam and M.A. Shao. 2009. Understanding water deficit stress-induced changes in the basic metabolism of higher plants-biotechnologically and sustainably improving agriculture and the Eco environment in arid regions of the globe, *Crit. Biotechnol*, 29: 131-151.
78. 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 Biointerfaces*, 42: 187-195.
79. Sharifi, P. and N. Mohammadkhani. 2018. Effects of Drought Stress on Enzymatic and Non-Enzymatic Antioxidants in Flag Leaf and Spikes of Tolerant and Sensitive Wheat Genotypes. *Journal of Plant Productions (Scientific Journal of Agriculture)*, 41(3): 37-51 (In Persian).
80. Sofo, A., B. Dichio, C. Xiloyannis and A. Masia. 2004. Lipxygenase activity and praline accumulation in leaves and roots of olive tree in response to drought stress. *Plant Physiology*, 121: 56-58.
81. Soleimani, Z., H. Ramshini, S.M.M. Mortazaviyan and B. Foghi. 2015. Screening of Bread Wheat Genotypes for Stem Reserves Remobilization, Relative Water Content and Osmotic Adjustment under Drought Stress. *Journal of Crop Ecophysiology*, 9(1): 79-92 (In Persian).
82. Sunkar, R. 2010. Plant stress tolerance methods and protocols, Humana Press.
83. Taheri, Gh. 2015. The effect of chitosan foliar application on physiological characteristics of Binaloud under drought stress. *Iranian Journal of Agricultural Research* 1, 3(4): 728-737 (In Persian).
84. Tahkokorpi, M. 2010. Anthocyanins under drought and drought-related stresses in blueberry (*Vaccinium myrtillus* L.). Faculty of Science, Department of Biology, University of Oulu, Finland, 46 pp.
85. Thipyapong, P., J. Melkonian, D.W. Wolfe and J.C. Steffens. 2004. Suppression of polyphenol oxidases increases stress tolerance in tomato. *Plant Science*, 167(4): 693-703.
86. Venkateswarlu, B. and K. Ramesh. 1993. Cell membrane stability and biochemical response of cultured cells of groundnut under polyethylene glycol-induced water stress. *Plant Science*, 90: 179-185.
87. Wise, R.R. and W. Naylor. 1998. Chilling enhanced photo-oxidation, the peroxidative destruction of lipids during chilling injury to photosynthesis and ultrastructure. *Plant physiology*, 83: 278-282.
88. Yong, T., L. Zongsuo, S. Hongbo and D. Feng. 2006. Effect of water deficits on the activity of anti-oxidative enzymes and osmoregulation among three different genotypes of *Radix astragali* at seeding stage. *Colloids and Surfaces Biointerfaces*, 49: 60-65.
89. Yousefi Rad, M., M. Asghari, M. Mohammadi and A. Masoumi Zavarian. 2016. Effect of drought stress on yield, yield components and some physiological characteristics of seven barley varieties. *Journal of Crop Production Breeding*, 7(4): 297-309 (In Persian).
90. Zhang, J., Y. Yao, G.S. John and C.F. David. 2010. Influence of soil drought stress on photosynthesis, carbohydrates and the nitrogen and phosphorus absorb in different section of leaves and stem of Fuji/M.9 EML, a young apple seedling. *African Journal of Biotechnology*, 9: 5320-532.
91. Zhang, Z., X. Pang, X. Duan, Z.L. Ji and Y. Jiang. 2005. Role of peroxidase in anthocyanin degradation in litchi fruit pericarp. *Food Chemistry*, 90: 47-52.

## Comparison between of Photosynthetic Pigments, Osmotic Regulators and Antioxidant Enzymes of Nimroz and Nomar Barley Cultivars of Sistan Region under Drought Stress

**Leila Fahmideh<sup>1</sup>, Ayoub Mazarie<sup>2</sup>, Shahin Madadi<sup>3</sup> and Paris Pahlevan<sup>4</sup>**

1- Associate Professor, Department of Plant Breeding and Biotechnology, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources, Gorgan, Iran (Corresponding author: l.fahmideh@gau.ac.ir)

2- Ph.D. Student of Biotechnology, Department of plant Breeding and Biotechnology, University of Zabol, Zabol, Iran

3- Ph.D. Student of Plant Breeding, Department of plant Breeding and Biotechnology, University of Zabol, Zabol, Iran

4- M.Sc. Student of Biotechnology, Department of Plant Breeding and Biotechnology, University of Zabol, Zabol, Iran

Received: August 22, 2020

Accepted: December 8, 2020

### Abstract

Drought is one of the most important stresses that inhibit growth of plants and due to mainly disturbance of the balance between the production of reactive oxygen species and antioxidant defense, causes oxidative stress and different biochemical and physiological responses in plants. So, the evaluation of plants for drought tolerance to cultivate in dry regions is very important. In this way, the present study aimed to investigate and compare two native barley cultivars of Sistan region (Nimroz and Nomar) based on measurement of some defense mechanisms and physiological properties including Antioxidant enzymes activity (Catalase (CAT), Ascorbate Peroxidase (APX), Polyphenol oxidase (PPO)) photosynthetic pigments (chlorophyll a, chlorophyll b, total chlorophyll and carotenoids), protein content, relative leaf water content (RWC) and some Osmotic regulators (proline and carbohydrate) were under drought stress. This experiment was performed as a factorial in a completely randomized design with three replications, conducted at the Institute for Biotechnological Research in the University of Zabol. Experimental treatments included drought stress (50%, 75% and 100% of the field capacity (control)) and two cultivars native to Sistan region (Nimroz and Nomar). Analysis of variance showed that the effect of cultivar, drought stress and interaction of cultivar and drought stress were significant at 1% probability levels, on all studied traits. Results indicated that with increasing drought stress levels compared to normal levels, the amount of photosynthetic pigments (chlorophyll a, chlorophyll b, total chlorophyll and carotenoids), protein content and relative leaf water content (RWC) decreased. However, proline and carbohydrate concentration, carotenoid content, the activity of antioxidant enzymes CAT, PPO and APX were increased. Based on the results of the interaction, it was identified that Nimroz cultivar had a better reaction than Nomar cultivar in terms of protein, relative leaf water content, carotenoids, osmotic regulators and antioxidant enzymes (catalase and ascorbate peroxidase) during drought stress. While the Nomar cultivar was the highest average in terms of chlorophyll a, chlorophyll b, total chlorophyll, protein and enzyme polyphenol oxidase compared to the Nimroz cultivar during drought stress.

**Keywords:** Barley cultivars, Biochemical and Physiological responses, Protein content, Relative leaf water content