



تأثیر تنش خشکی روی فعالیت آنزیمی آنتی اکسیدان در لاین های تربیتکاله

ابوالقاسم اکبریان^۱ و احمد ارزانی^۲

۱- کارشناس ارشد، دانشگاه صنعتی اصفهان

۲- استاد، دانشگاه صنعتی اصفهان، (نویسنده مسؤول: a_arzani@cc.iut.ac.ir)

تاریخ دریافت: ۹۱/۵/۲۳ تاریخ پذیرش: ۹۳/۶/۲۵

چکیده

تربیتکاله به عنوان غله دست ساز بشر از ظرفیت بالای تحمل به تنش های محیطی برخوردار بوده و برای کاشت در مناطق حاشیه ای توصیه شده است. این آزمایش به منظور ارزیابی واکنش ۱۸ لاین تربیتکاله مشتمل بر ۹ لاین دابل هاپلوئید و ۹ لاین ۸-۷۷ به همراه دو رقم گندم نان (روشن و کویر)، در محیط های دارای تنش و بدون تنش از لحاظ فعالیت آنزیمی آنتی اکسیدان، در مزرعه تحقیقاتی و آزمایشگاه دانشکده کشاورزی دانشگاه صنعتی اصفهان در سال زراعی ۸۸-۱۳۸۷ اجرا شد. هردو طرح آزمایشی تا اواسط مرحله به ساقه رفتن، به طور یکسان و همزمان آبیاری شدند و بعد از آن آبیاری براساس تبخیر از تشت تبخیر کلاس A انجام شد. ژنوتیپ های مورد مطالعه، بیشترین میزان تجمع و افزایش فعالیت آنزیم های آنتی اکسیدانی در شرایط تنش خشکی را داشتند. مقایسات اورتوگنال نشان داد که لاین های تربیتکاله و ارقام گندم دارای اختلاف معنی داری از لحاظ عملکرد و فعالیت آنتی اکسیدانی بوده به طوری که تربیتکاله در هر دو شرایط محیطی برتر بود. میزان پرولین در مرحله اعمال تنش خشکی افزایش یافت. به عنوان نتیجه گیری کلی، لاین دابل هاپلوئید شماره ۴، با داشتن محتوای پرولین بالا و کاهش کمتر عملکرد دانه در شرایط تنش خشکی، به عنوان ژنوتیپ برتر متحمل به خشکی مطرح است.

واژه های کلیدی: فعالیت آنزیمی آنتی اکسیدان، پرولین، تنش خشکی، لاین های اصلاحی تربیتکاله

مقدمه

ایجاد ارقام متحمل به خشکی در محیط های خشک و نیمه خشک به عنوان یکی از مهم ترین عوامل افزایش پتانسیل گیاه با افزایش عملکرد و بهبود پایداری آنها، شناخته شده است (۲۴). تربیتکاله گونه گیاهی ایجاد شده از تلاقی میان گندم و چاودار بوسيله انسان است (۲۲). هدف از اصلاح تربیتکاله ایجاد ارقام تجاری تربیتکاله می باشد که به عنوان مکمل گندم و سایر غلات دانه ای عمل نموده و همچنین گیاهی سودمند با توانایی افزایش تولید غذا در کشورهای در حال توسعه باشد (۱۱).

خشکی از جمله تنش های فیزیکی است که به علت تنوع زیاد شرایط بارندگی به عنوان مهم ترین عامل محدود کننده رشد و تولید گیاهان زراعی در ایران شناخته شده است (۳۱). گیاهان در هنگام تنش خشکی، با تغییراتی که در برخی از خصوصیات فیزیولوژیک خود ایجاد می کنند به تنش های محیطی واکنش نشان می دهند. از جمله واکنش های گیاهان در شرایط محیطی متفاوت، افزایش تجمع مواد محلول با وزن مولکولی کم، که به طور کلی مواد محلول سازگار نامیده می شوند (شامل اسیدهای آمینه، قندها و بتائین) می باشد (۶). در بین مواد محلول سازگار شناخته شده احتمالاً پرولین گسترده ترین نوع آنها است و به نظر می رسد تجمع آن در فرآیند

سازگاری به تنش خشکی برتری دارند. هدف از این مطالعه بررسی اثر تنش خشکی روی محتوی کاروتنوئید، فعالیت آنزیمی آنتی اکسیدان و محتوی پرولین در لاین های تربیتکاله در مقایسه با دو رقم گندم نان (روشن و کویر) در محیط های دارای تنش و بدون تنش آبیاری بوده است که در نهایت بتوان با استفاده از این صفات فیزیولوژیک، متحمل ترین لاین را انتخاب کرد.

مواد و روش ها

این آزمایش به منظور ارزیابی واکنش ۱۸ لاین تربیتکاله مشتمل بر ۹ لاین دابل هاپلوئید و ۹ لاین ۸-۷۷ به همراه دو رقم گندم نان (روشن و کویر)، در شرایط تنش و بدون تنش رطوبتی از لحاظ صفات مرتبط با محتوی کاروتنوئید، پرولین و فعالیت آنزیمی آنتی اکسیدان در مزرعه تحقیقاتی دانشکده کشاورزی دانشگاه صنعتی اصفهان در سال زراعی ۸۸-۱۳۸۷ اجرا شد. لاین دابل هاپلوئید شماره ۳ با عنوان رقم الینور در کشور استرالیا آزاد شده است. مزرعه تحقیقاتی واقع در لورک نجف آباد در ۴۰ کیلومتری جنوب غربی اصفهان در عرض جغرافیایی ۲۲ درجه و ۳۲ دقیقه شمالی و طول جغرافیایی ۵۱ درجه و ۳۲ دقیقه شرقی واقع شده است و ارتفاع آن از سطح دریا ۱۶۳۰ متر می باشد. بر پایه طبقه بندی کوپن

گردیدند (۲۱):

$$c_{(x+c)} \text{ (mg/g fw)} = [(1000 A_{470} - 1.82 c_a - 85.02 c_b) / 198] \times \text{ml Acetone } 80\% / \text{mg leaf tissue}$$

که در این فرمول Cx+c, Cb, Ca به ترتیب غلظت کلروفیل a، کلروفیل b و کاروتنوئید هاست.

آنتی اکسیدان SOD^۲: فعالیت سوپراکسیددسموتاز (SOD) مطابق روش لاسپینا و همکاران (۲۰) مورد سنجش قرار گرفت. در نهایت اعداد جذب نوری نمونه‌ها در طول موج ۵۶۰ نانومتر ثبت شد. قابل ذکر است که یک واحد از فعالیت آنزیمی به عنوان میزانی از آنزیم است که موجب می‌گردد، مقدار جذب نمونه‌ها در طول موج ذکر شده به ۰.۵٪ در مقایسه با نمونه شاهد کاهش یابد.

آنتی اکسیدان APX^۳: فعالیت آسکوربات پراکسیداز (APX) مطابق با روش گوستاوو و همکاران (۱۴) سنجیده شد. واکنش اکسیداسیون بستگی به حضور آسکوربیت در این محلول دارد که در طول موج ۲۹۰ nm اندازه‌گیری شد. ثبت تغییرات جذب نوری نمونه‌ها هر ۲۰ ثانیه و به مدت ۵ دقیقه انجام گردید، و عدد نهایی از ضرب عدد بدست آمده در این طول موج در ضریب جذبی زیر بدست آمد:

$$(\epsilon: 2.8 \text{ mM}^{-1} \text{ cm}^{-1})$$

آنتی اکسیدان GR: فعالیت گلووتاتیون ردوکتاز^۴ با روش استپاین و گرازینا (۳۲) سنجیده شد. واکنش GR به صورت اکسیداسیون با NADPH در طول موج ۳۴۰ nm اندازه‌گیری شد. عدد بدست آمده از این مرحله در ضریب زیر ضرب شده و واکنش GR به صورت mmol NADPH oxidized per min گزارش می‌شود: ($\epsilon: 6.2 \text{ mM}^{-1} \text{ cm}^{-1}$)
آنتی اکسیدان LP^۵: فعالیت لیپید پراکسیداز (LP) مطابق روش استپاین و گرازینا مورد سنجش قرار گرفت (۳۲). غلظت TBARS با استفاده از ضریب جذبی ۱۵۵ $\text{mM}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ محاسبه شد.

تجزیه واریانس داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار SAS در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی برای هر رژیم رطوبتی در هر سال به صورت جداگانه و سپس به صورت مرکب انجام شد. مقایسه میانگین ژنوتیپ‌ها با استفاده از روش حداقل اختلاف معنی‌دار (LSD) محاسبه شد (۱۰) و به منظور مقایسه لاین‌های دابل هاپلوئید و F۷ خواهری آنها از مقایسات متعامد (اورتوگنال) استفاده گردید. به منظور تجزیه مرکب داده‌ها ابتدا آزمون بارتلت برای اطمینان از متجانس بودن خطای آزمایش‌ها انجام شد (۳۵). ضرائب همبستگی فنوتیپی بین صفات با استفاده از نرم‌افزار SAS محاسبه شد.

(۱۷) این منطقه دارای اقلیم نیمه خشک و خنک، با تابستان‌های خشک است. متوسط بارندگی و درجه حرارت منطقه به ترتیب ۱۴۰/۵ میلی‌متر و ۱۴/۵ درجه سانتی‌گراد می‌باشد. خاک مزرعه دارای بافت لومی رسی با جرم مخصوص ظاهری ۱/۴ گرم بر سانتی‌مترمکعب و pH=۷/۸ می‌باشد.

این بررسی در قالب دو آزمایش جداگانه به صورت طرح بلوک‌های کامل تصادفی با ۳ تکرار در دو محیط تنش و غیرتنش رطوبتی، با دو رژیم رطوبتی مختلف شامل آبیاری بر اساس ۷۰±۳ و ۱۳۰±۳ میلی‌متر تبخیر از تشت تبخیر کلاس A انجام شد. صفات در هر کرت آزمایشی با رعایت اثر حاشیه مورد ارزیابی قرار گرفتند. هر کرت شامل ۴ ردیف کاشت به طول ۳ متر، با فاصله ردیف ۲۵ سانتی‌متر و با تراکم کاشت ۴۰۰ بوته در متر مربع بود. فاصله کرت‌های آزمایشی ۵۰ سانتی‌متر در نظر گرفته شد. در زمان به ساقه‌رفتن بوته‌ها مقدار ۵۰ کیلوگرم در هکتار کود اوره به صورت سرک مورد استفاده قرار گرفت. هردو طرح آزمایشی تا اواسط مرحله به ساقه رفتن^۱، به طور یکسان و همزمان آبیاری شدند و بعد از آن آبیاری بر اساس تبخیر از تشت تبخیر کلاس A انجام شد.

محتوای ۴۰۰ میلی‌گرم برگ تازه در مرحله گرده‌افشانی استخراج شد و غلظت پرولین نمونه‌ها با استفاده از اسپکتروفتومتر (Beckman UD-530) به کمک غلظت‌های مشخص پرولین خالص به عنوان شاهد در طول موج ۵۲۰ نانومتر تعیین شد (۷).

جهت اندازه‌گیری محتوای کاروتنوئید (زانتوفیل و کاروتن (x+c))، ۱۰۰ میلی‌گرم بافت برگ از ۱۰ برگ که به طور تصادفی از هر کرت برداشت شده بود تهیه شد. بافت برگی درون هاون چینی به همراه ۱۰ میلی‌لیتر استون ۸۰ درصد به طور کامل له گردید. نمونه حاصل با استفاده از قیف بوخنر متصل به پمپ خلأ صاف گردید و مجدداً این عمل تکرار شد، به طوری که مواد باقیمانده در بالای صافی کاملاً سفید شد. در مرحله بعد با اضافه نمودن استون، حجم محلول واکنش به ۳۰ میلی‌لیتر رسانیده شد. سپس عصاره حاصل به مدت ۱۰ دقیقه در دستگاه سانتریفیوژ با سرعت ۲۷۰۰ دور در دقیقه (rpm) سانتریفیوژ شد. در نهایت میزان جذب نوری هریک از عصاره‌ها توسط دستگاه اسپکتروفتومتر (Beckman UD-530) در طول موج ۴۷۰ نانومتر خوانده شد (از استون ۸۰ درصد به عنوان محلول شاهد (blank) استفاده شد. داده‌های حاصل جهت محاسبه غلظت کاروتنوئید (میلی‌گرم در گرم برگ تازه) در معادله زیر وارد

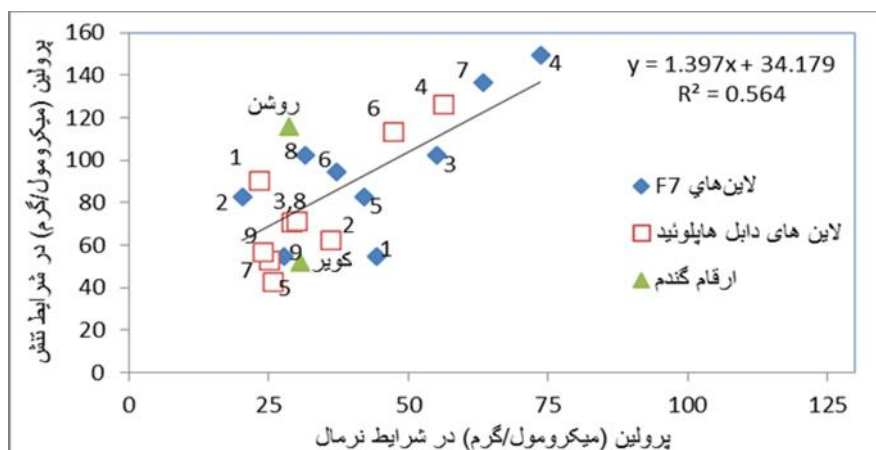
1- Mid-Joining Stage

4- Glutathione Reductase (GR)

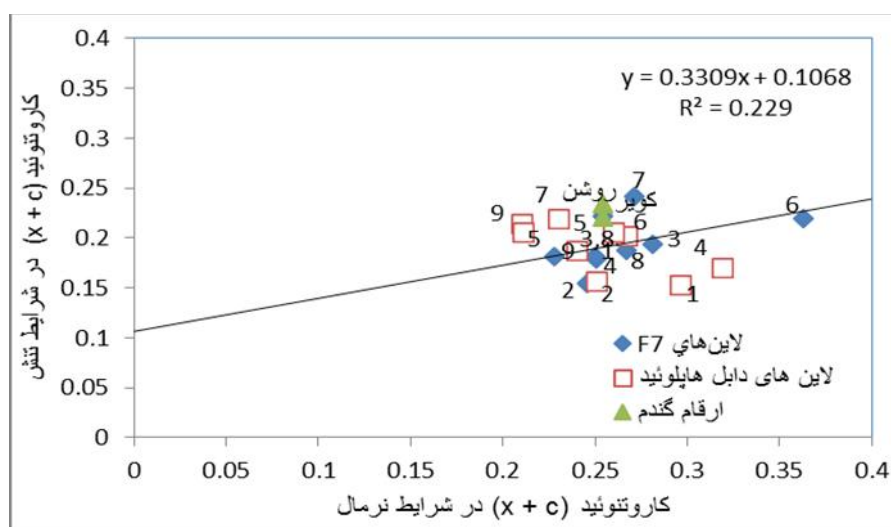
2- Superoxide Dismutase

5- Lipid Peroxidation (LP)

3- Ascorbate Peroxides (APX)



شکل ۱- میزان پرولین در ژنوتیپ‌های گندم و تریتیکاله مورد مطالعه در شرایط تنش رطوبتی و نرمال



شکل ۲- میزان کاروتنوئید (X + C) در ژنوتیپ‌های گندم و تریتیکاله مورد مطالعه در شرایط تنش و بدون تنش رطوبتی

نتایج و بحث

نتایج تجزیه واریانس مرکب داده‌ها بیانگر اختلاف بسیار معنی‌دار تنش رطوبتی و اثر متقابل بین ژنوتیپ و محیط برای همه صفات مورد آزمایش بود (جدول ۱). تفاوت بین لاین‌ها از نظر فعالیت آنزیمی آنتی‌اکسیدان

بسیار معنی‌دار بود ($P > 0.01$) (جدول ۲). نتایج حاصل از مقایسه میانگین‌ها نشان داد که خشکی سبب تغییر در فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان برگ در ژنوتیپ‌های مورد مطالعه شده است (جدول ۳).

جدول ۱- تجزیه واریانس صفات مرتبط با فعالیت آنزیمی آنتی اکسیدان*، کاروتنوئید (X + C) و پرولین در ژنوتیپ‌های گندم و تریتیکاله مورد مطالعه در شرایط تنش و بدون تنش رطوبتی.†

منابع تغییرات	درجه آزادی	میانگین مربعات				پرولین
		SOD ($\mu\text{mol ascorbate } \text{U min}^{-1} \text{g}^{-1}$) (FW)	APX ($\mu\text{mol ascorbate } \text{oxidized min}^{-1}$) ($\text{g}^{-1} \text{FW}$)	GR ($\text{mmol } \text{NADPH } \text{oxidized min}^{-1}$) ($\text{g}^{-1} \text{FW}$)	LP ($\text{nmol } \text{g}^{-1}$) (FW)	کاروتنوئید (X + C)
بلوک	۲	۰/۱۷	۰/۰۱**	۰/۰۰۹**	۱/۴۶	۷/۵۹ (۸/۰۰)
ژنوتیپ	۱۹	۱۱/۱۹**	۰/۱۴**	۰/۱۲**	۶۴۴/۵۷**	۰/۰۰۳۸** ۶۵۸/۶۰**
لاین‌های FV	۸	۱۵/۹۱**	۰/۱۹**	۰/۱۴**	۵۰۰/۰۹**	۰/۹۶** ۹۰۶/۱**
لاین‌های DH	۸	۹/۲۴**	۰/۰۹**	۰/۰۷۲**	۷۲۸/۷۴**	۰/۴۳** ۴۰۱/۱۸**
DH vs. F7	۱	۰/۱۳	۰/۰۸**	۰/۰۰۲	۲۲۰/۰۴**	۰/۰۶ ۱۶۲۷**
ارقام گندم	۱	۵/۲۷**	۰/۴۲**	۰/۱۳**	۱۲/۹۹*	۰/۱۱ ۴۸۷۵**
گندم	۱	۲/۷۴**	۰/۰۰۳	۰/۰۹**	۳۸/۲۳**	۰/۰۴ ۶۱۹۵**
در مقابل تریتیکاله	۱	۲/۰۳۱	۰/۰۱۷**	۰/۰۰۳**	۰/۱	۰/۰۸۶** ۴۲۲/۷**
خطای آزمایشی	۳۸	۰/۰۹	۰/۰۰۲	۰/۰۰۱	۲/۲۴	۰/۰۰۰۳ ۹/۹۶
ضریب تغییرات (CV%)		۲/۹۷	۵/۵۳	۴/۵۹	۳/۸۵	۶/۴۸ ۸/۴۰
		(۲/۳۳)	(۵/۹۸)	(۴/۳۱)	(۲/۳۱)	(۶/۰۰) (۴/۲۸)

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

†: اعداد داخل پرانتز مربوط به شرایط تنش رطوبتی می‌باشد.

*: فعالیت آنزیمی سوپراکسید دسموتاز (SOD)، آسکوربات پراکسیداز (APX)، گلوکاتینون ردوکتاز (GR)، لیپید پراکسیداز (LP)

جدول ۲- مقایسه میانگین‌های صفات سوپراکسید دسموتاز (SOD)، آسکوربات پراکسیداز (APX)، گلوکاتیون ردوکتاز (GR)، و لیپید پراکسیداز (LP) در ژنوتیپ‌های گندم تربیتکاله مورد مطالعه در شرایط تنش و بدون تنش

LP (nmol g ⁻¹ FW)		GR (mmol NADPH oxidized min ⁻¹ g ⁻¹ FW)		APX (μmol ascorbate oxidized min ⁻¹ g ⁻¹ FW)		SOD (U min ⁻¹ g ⁻¹ FW)		ژنوتیپ
تنش	بدون تنش	تنش	بدون تنش	تنش	بدون تنش	تنش	بدون تنش	
لاین‌های FV								
۳۴/۱ ^j	۳۷/۲۶ ^{lg}	۱/۱۷ ^e	۰/۶۶ ^{gh}	۱/۶۳ ^c	۰/۶۴ ^g	۱۳/۶۵ ^{cd}	۱۰/۷۳ ^d	۱
۳۶/۲۷ ⁱ	۵۳/۸۳ ^{bc}	۱/۴ ^{cd}	۰/۷۴ ^g	۱/۸۵ ^{ab}	۰/۶۲ ^{gh}	۹/۶۷ ⁱ	۹/۸۸ ^{gh}	۲
۴۴/۰۰ ^e	۵۲/۲۹ ^c	۱/۱۷ ^e	۱/۰۸ ^a	۱/۳۲ ^{ef}	۰/۸۸ ^c	۱۵/۹۵ ^a	۱۱/۲۳ ^c	۳
۳۸/۸۸ ^{gh}	۱۳/۸۵ ^m	۱/۸۷ ^a	۰/۹۹ ^b	۰/۹۲ ^{gh}	۰/۷۳ ^{det}	۱۳/۲۵ ^{de}	۹/۴۷ ^h	۴
۳۳/۰۰ ^j	۲۴/۵۵ ^{jk}	۰/۹۹ ^t	۰/۸۶ ^{de}	۱/۳ ^{ef}	۱/۲۹ ^a	۱۰/۵۹ ^g	۶/۰۳ ^k	۵
۵۸/۱۲ ^b	۲۷/۹۳ ^{hi}	۰/۹۷ ^{lg}	۱/۰۰ ^b	۱/۳ ^{ef}	۰/۶۵ ^g	۱۴/۹۸ ^b	۱۰/۰۷ ^{efg}	۶
۴۳/۵۲ ^e	۲۷/۰۰ ^{hi}	۰/۶۹ ^t	۰/۶۲ ^{hi}	۱/۳۳ ^{ef}	۰/۹۴ ^{bc}	۹/۹۴ ^{hi}	۱۴/۶۷ ^a	۷
۴۱/۴۶ ^t	۳۵/۰۰ ^g	۱/۳۸ ^d	۰/۴۳ ^k	۱/۲۳ ^t	۰/۴۸ ^l	۱۰/۱۷ ^{gh}	۱۰/۲۹ ^{d-g}	۸
۴۳/۴۷ ^e	۳۷/۹۴ ^{ef}	۰/۷ ⁱ	۰/۸۵ ^e	۰/۹۸ ^g	۱/۰۰ ^b	۸/۰۴ ^j	۸/۴۳ ⁱ	۹
لاین‌های دابل‌هاپلوئید								
۳۷/۹۴ ^h	۴۰/۰۰ ^e	۱/۱۸ ^e	۰/۶۹ ^g	۱/۳ ^{ef}	۰/۷۸ ^d	۱۳/۰۱ ^e	۱۳/۰۷ ^b	۱
۴۸/۲۸ ^d	۵۸/۷۱ ^a	۰/۹۱ ^{gh}	۰/۵۲ ^j	۰/۸۱ ^h	۰/۶۶ ^{lg}	۱۰/۰۳ ^{hi}	۱۱/۶۷ ^c	۲
۲۶/۷۹ ^l	۲۳/۲۳ ^k	۱/۱۷ ^e	۰/۶۹ ^g	۱/۳ ^{ef}	۰/۶۸ ^{efg}	۱۲/۱۳ ^t	۸/۲۷ ⁱ	۳
۴۹/۸۵ ^d	۱۹/۶۵ ^l	۰/۹ ^{gh}	۰/۹۹ ^b	۰/۶۵ ^l	۰/۳۴ ^j	۱۳/۸ ^c	۷/۶۶ ^j	۴
۲۹/۴۲ ^k	۲۹/۲۶ ^h	۰/۷ ^l	۰/۷۵ ^t	۱/۴۶ ^d	۰/۷۴ ^{de}	۱۳/۸۱ ^c	۱۰/۵۲ ^{de}	۵
۳۹/۸۵ ^{fg}	۴۳/۸۵ ^d	۱/۵ ^b	۰/۹۳ ^c	۰/۹ ^{gh}	۰/۹۷ ^b	۱۴/۷۹ ^b	۸/۶ ⁱ	۶
۳۸/۹۸ ^{gh}	۲۶/۵۵ ^{lj}	۱/۲۴ ^e	۰/۸۷ ^{de}	۱/۹۲ ^a	۰/۵۵ ^h	۱۳/۷۸ ^c	۱۰/۰۲ ^{lg}	۷
۵۸/۶ ^b	۵۵/۵۱ ^b	۰/۸۵ ^h	۰/۹۳ ^{cd}	۱/۳۶ ^{de}	۰/۷۶ ^d	۱۳/۸۳ ^c	۱۰/۵ ^{det}	۸
۴۱/۱۸ ^t	۵۸/۶۷ ^a	۱/۴۶ ^{bc}	۰/۶۷ ^{gh}	۱/۰۳ ^g	۰/۶۲ ^g	۱۲/۸۳ ^e	۸/۷۴ ⁱ	۹
۶۰/۳۱ ^a	۶۰/۰۲ ^a	۰/۹۶ ^{lg}	۰/۳۹ ^k	۰/۹۵ ^g	۰/۶۵ ^g	۱۰/۲۴ ^{gh}	۸/۷ ^l	روشن
۵۳/۰۱ ^c	۵۲/۱۴ ^c	۰/۹۶ ^{lg}	۰/۵۸ ^l	۱/۷۸ ^b	۰/۴۳ ^l	۸/۰۳ ^j	۱۱/۴ ^c	کوبر
۱/۶۴	۲/۴۸	۰/۰۸	۰/۰۶	۰/۱۳	۰/۰۷	۰/۴۷	۰/۴۹	LSD

در هر ستون تفاوت بین میانگین‌هایی که حداقل دارای یک حرف مشترک باشند، بر اساس آزمون LSD در سطح احتمال ۵٪ معنی‌دار نمی‌باشد.

جدول ۳- مقایسه میانگین‌های صفات سوپراکسید دسموتاز (SOD)، آسکوربات پراکسیداز (APX)، گلوکاتیون ردوکتاز (GR)، و لپید پراکسیداز (LP) در ژنوتیپ‌های گندم و تریتیکاله مورد مطالعه در شرایط تنش و بدون تنش

SOD(U min-1 g-1 FW)		APX (μmol ascorbate oxidized min-1 g-1 FW)		GR (mmol NADPH oxidized min-1 g-1 FW)		LP (nmol g-1 FW)	
بدون تنش	تنش	بدون تنش	تنش	بدون تنش	تنش	بدون تنش	تنش
F لاین‌های ۷							
۱	۱۰/۷۳ ^d	۱۳/۶۵ ^{cd}	۰/۶۴ ^g	۱/۶۳ ^c	۰/۶۶ ^{gh}	۳۷/۲۶ ^{tg}	۳۴/۱ ^j
۲	۹/۸۸ ^{gh}	۹/۶۷ ⁱ	۰/۶۳ ^{gh}	۱/۸۵ ^{ab}	۰/۷ ^{fg}	۵۳/۸۳ ^{bc}	۳۶/۲۷ ⁱ
۳	۱۱/۲۳ ^c	۱۵/۹۵ ^a	۰/۸۸ ^c	۱/۳۲ ^{ef}	۱/۰۸ ^a	۵۲/۲۹ ^c	۴۴/۰۰ ^e
۴	۹/۴۷ ^h	۱۳/۲۵ ^{de}	۰/۷۲ ^{def}	۰/۹۲ ^{gh}	۰/۹۹ ^b	۱۳/۸۵ ^m	۳۸/۸۸ ^{gh}
۵	۶/۰۳ ^k	۱۰/۵۹ ^g	۱/۲۹ ^a	۱/۳ ^{ef}	۰/۸۶ ^{de}	۲۴/۵۵ ^{jk}	۳۳/۰۰ ^j
۶	۱۰/۰۷ ^{efg}	۱۴/۹۸ ^b	۰/۶۵ ^g	۱/۳ ^{ef}	۱/۰۰ ^b	۲۷/۹۳ ^{hi}	۵۸/۱۳ ^b
۷	۱۴/۶۷ ^a	۹/۹۴ ^{hi}	۰/۹۴ ^{bc}	۱/۳۳ ^{et}	۰/۶۳ ^{hi}	۲۷/۰۷ ^{hi}	۴۳/۵۳ ^e
۸	۱۰/۲۹ ^{d-g}	۱۰/۱۷ ^{gh}	۰/۴۸ ⁱ	۱/۲۳ ^t	۰/۴۳ ^k	۲۵/۰۰ ^g	۴۱/۴۶ ^t
۹	۸/۴۲ ⁱ	۸/۰۴ ^j	۱/۰۰ ^b	۰/۹۸ ^g	۰/۸۵ ^e	۳۷/۹۴ ^{ef}	۴۳/۴۷ ^e
لاین‌های دابل‌هاپلوئید							
۱	۱۳/۰۷ ^b	۱۳/۰۱ ^e	۰/۷۸ ^d	۱/۳ ^{et}	۰/۶۹ ^g	۴۰/۰۰ ^e	۳۷/۹۴ ^h
۲	۱۱/۶۷ ^c	۱۰/۰۳ ^{hi}	۰/۶۶ ^{tg}	۰/۸۱ ^h	۰/۵۲ ^j	۵۸/۷۱ ^a	۴۸/۲۸ ^d
۳	۸/۲۷ ⁱ	۱۲/۱۳ ^f	۰/۶۸ ^{efg}	۱/۳ ^{ef}	۰/۶۹ ^g	۲۳/۲۳ ^k	۲۶/۷۹ ⁱ
۴	۷/۶۶ ^j	۱۳/۸ ^c	۰/۳۴ ^j	۰/۶۵ ⁱ	۰/۹۹ ^b	۱۹/۶۵ ⁱ	۴۹/۸۵ ^d
۵	۱۰/۵۳ ^{de}	۱۳/۸۱ ^c	۰/۷۴ ^{de}	۱/۴۶ ^d	۰/۷۵ ^t	۲۹/۲۶ ^h	۲۹/۴۲ ^k
۶	۸/۶ ^j	۱۴/۷۹ ^b	۰/۹۷ ^b	۰/۹ ^{gh}	۰/۹۳ ^c	۴۳/۸۵ ^d	۳۹/۸۵ ^{fg}
۷	۱۰/۰۲ ^{tg}	۱۳/۷۸ ^c	۰/۵۵ ^h	۱/۹۲ ^a	۰/۸۷ ^{de}	۲۶/۵۵ ^{lj}	۳۸/۹۸ ^{gh}
۸	۱۰/۵ ^{def}	۱۳/۸۳ ^c	۰/۷۶ ^d	۱/۳۶ ^{de}	۰/۹۲ ^{cd}	۵۵/۵۱ ^b	۵۸/۶ ^b
۹	۸/۷۴ ⁱ	۱۲/۸۳ ^e	۰/۶۲ ^g	۱/۰۲ ^g	۰/۶۷ ^{gh}	۵۸/۶۷ ^a	۴۱/۱۸ ^t
روشن	۸/۷ ⁱ	۱۰/۲۴ ^{gh}	۰/۶۵ ^g	۰/۹۵ ^g	۰/۳۹ ^k	۶۰/۰۳ ^a	۶۰/۳۱ ^a
کویر	۱۱/۴ ^c	۸/۰۳ ^j	۰/۴۳ ⁱ	۱/۷۸ ^b	۰/۵۸ ⁱ	۵۲/۱۴ ^c	۵۳/۰۱ ^c
LSD	۰/۴۹	۰/۴۷	۰/۰۷	۰/۱۳	۰/۰۶	۲/۴۸	۱/۶۴

در هر ستون تفاوت بین میانگین‌هایی که حداقل دارای یک حرف مشترک باشند، بر اساس آزمون LSD در سطح احتمال ۵٪ معنی‌دار نمی‌باشد.

ژنوتیپ‌های متحمل به خشکی گندم تحت شرایط تنش رطوبتی در مقام مقایسه با ارقام حساس، فعالیت بیشتری از آنزیم‌های آنتی اکسیدان داشته‌اند. ضمن اینکه تنش شکی نیز میزان فعالیت آنزیم گلوکاتایون ردوکتاز و سوپراکسید دسموتاز را افزایش داده است (۱۹).

در هر دو شرایط محیطی، لاین F۷ شماره ۴ دارای بیشترین میزان پرولین بود (شکل ۱) و این ژنوتیپ کمترین کاهش عملکرد دانه را دارا بود. تغییرات محتوی پرولین در برگ گیاهان مورد آزمایش تحت هر دو شرایط محیطی نرمال و تنش خشکی اندازه‌گیری شد. نتایج نشان‌دهنده شده در شکل ۱، بیانگر افزایش تجمع میزان پرولین در لاین‌های تربیتکاله با پیشرفت تنش خشکی بوده است. محتوای پرولین از میانگینی برابر با ۲۰/۳ میکرومول در گرم وزن تر (لاین F۷ شماره ۲) تا ۷۳/۷ میکرومول در گرم وزن تر (لاین F۷ شماره ۴) در شرایط بدون تنش رطوبتی و میانگین ۴۲/۸ میکرومول در گرم وزن تر (لاین دابل هاپلوئید شماره ۵) تا ۱۴۹/۶ میکرومول در گرم وزن تر (لاین F۷ شماره ۴) در شرایط تنش رطوبتی برخوردار بود (شکل ۱). اگرچه اختلاف معنی‌داری میان لاین‌های تربیتکاله و ارقام گندم در شرایط تنش خشکی برای محتوای پرولین مشاهده نشد اما لاین‌های تربیتکاله به طور معنی‌داری در شرایط بدون تنش رطوبتی برای این صفت برتر بودند.

محتوای کاروتنوئید در اثر تنش خشکی کاهش یافت (شکل ۲). میانگین کاروتنوئید از ۰/۲۱۰ میلی گرم/گرم وزن تر (دابل هاپلوئید شماره ۵) تا ۰/۳۶۳ میلی گرم/گرم وزن تر (لاین F۷ شماره ۶) و ۰/۱۵۳ میلی گرم/گرم وزن تر (دابل هاپلوئید شماره ۱) تا ۰/۲۴۱ میلی گرم/گرم وزن تر (لاین F۷ شماره ۷) به ترتیب در شرایط بدون تنش و تنش محیطی متغیر بود (شکل ۲). میانگین لاین‌های تربیتکاله و ارقام گندم در شرایط بدون تنش رطوبتی برای محتوای کاروتنوئید دارای تفاوت معنی‌داری نبود اما ارقام گندم به طور معنی‌داری از لحاظ این صفت تحت شرایط تنش برتری نشان دادند (جدول ۲ و شکل ۲). رابطه معنی‌دار و معکوسی میان کاهش عملکرد و محتوای کاروتنوئید در شرایط تنش شوری گزارش شده است (۳).

نتایج حاصل از این بررسی نشان داد که میزان فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدان در ژنوتیپ‌های گندم و تربیتکاله مورد مطالعه در شرایط تنش و بدون تنش رطوبتی افزایش معنی‌داری داشت. ارتباط بین تنش خشکی و آنزیم‌های آنتی اکسیدان در برخی گیاهان مورد مطالعه قرار گرفته است (۳۳). در این مطالعه، مقایسات اورتوگنرال نشان‌دهنده اختلاف معنی‌داری میان لاین‌های تربیتکاله و

میانگین ژنوتیپ‌های مورد آزمایش در شرایط بدون تنش رطوبتی به ترتیب (10 g-1 FW min-1 U، 76/0 (mmol NADPH min-1 g-1 FW) μ mol) و 72/0 (ascorbate oxidized min-1 g-1 FW) و 87/38 (FW) برای SOD، GR، APX و LP بدست آمد. در شرایط تنش رطوبتی به ترتیب ۱۲/۱۳، ۱/۱۱، ۱/۲۷ و ۴۲/۸۵ بود. بنابراین نتایج نشان می‌دهد که در اثر تنش خشکی فعالیت آنتی اکسیدان‌های ژنوتیپ‌های مورد بررسی افزایش یافته است. لاین F۷ شماره ۵ با میانگین ۶/۰۳ و لاین F۷ شماره ۷ با ۱۴/۶۷ (U min-1 g-1 FW) به ترتیب دارای کمترین و بیشترین مقادیر SOD در شرایط بدون تنش رطوبتی و گندم رقم کویر (۸/۰۳) و لاین F۷ شماره ۳ (۱۵/۹۵) به ترتیب از کمترین و بیشترین مقادیر SOD در شرایط تنش رطوبتی برخوردار بودند (جدول ۳). گزارش شده که سوپراکسید دسموتاز (SOD) یک آنتی اکسیدان قوی است که اولین ماده تولید شده از احیاء یک ظرفیتی اکسیژن، یعنی رادیکال سوپراکسید را از بین می‌برد، بنابراین SOD به دفاع اولیه در مقابل رادیکال‌های آزاد اکسیژن اطلاق می‌شود (۲). گزارش‌های موجود نیز حاکی از افزایش فعالیت آنزیم SOD در سلول‌ها، در پاسخ به تنش‌های مختلف محیطی مانند شوری (۲۹) و خشکی (۵) بوده است. در شرایط بدون تنش رطوبتی، گندم رقم روشن با میانگین ۰/۳۹ و لاین F۷ شماره ۳ با میانگین ۱/۰۸ و در شرایط تنش رطوبتی لاین F۷ شماره ۷ با ۰/۶۹ و لاین F۷ شماره ۴ با میانگین ۱/۸۷ (mmol NADPH min-1 g-1 FW) به ترتیب از کمترین و بیشترین مقادیر GR برخوردار بودند. لاین F۷ شماره ۵ دارای بیشترین (۱/۲۹) و لاین دابل هاپلوئید ۱۳ با میانگین ۰/۳۴ کمترین مقدار XAP در شرایط بدون تنش و دابل هاپلوئید ۱۶ با میانگین ۱/۹۲ و لاین دابل هاپلوئید ۱۳ با میانگین ۰/۶۵ (μmol ascorbate oxidized min-1 g-1 FW) دارای بیشترین و کمترین این آنتی اکسیدان در شرایط تنش بودند. لاین F۷ شماره ۴ با میانگین ۱۳/۸۵ از کمترین و گندم رقم روشن با ۶۰/۰۲ دارای بیشترین مقدار LP (nmol g-1 FW) در شرایط بدون تنش رطوبتی و لاین دابل هاپلوئید ۱۲ با میانگین ۲۶/۷۹ و گندم رقم روشن با ۶۰/۳۱ (nmol g-1 FW) به ترتیب دارای کمترین و بیشترین مقدار LP در شرایط تنش رطوبتی بودند. نتایج نشان داد که فعالیت آنزیمی آنتی اکسیدان در بین لاین‌های مورد بررسی به طور معنی‌داری افزایش یافت که با بررسی برزویی (۹) روی ارقام مختلف گندم مطابقت دارد. نتایج حاصل از تحقیقات (۲۹، ۲۸) نشان داده است

تریتیکاله دارای میزان بیشتری فعالیت آنزیمی در مقایسه با ارقام گندم تحت شرایط تنش بود. بنابراین پیشنهاد می‌شود که افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان می‌تواند عامل مهمی در بالا بردن میزان مقاومت گیاهان به تنش رطوبتی باشد.

به طور کلی در این شرایط آزمایشی، لاین دابل هاپلوئید شماره ۴ بیشترین میزان GR در شرایط تنش خشکی را به خود اختصاص داد، همچنین این لاین با دارا بودن محتوای پرولین بالا و کاهش کمتر عملکرد دانه در اثر تنش خشکی به عنوان ژنوتیپی متحمل به خشکی در این مطالعه شناخته شده است.

ارقام گندم با برتری لاین‌های تریتیکاله برای فعالیت آنزیمی آنتی‌اکسیدانی بود. تغییرات میزان فعالیت آنتی‌اکسیدان مرتبط با تنش خشکی در این آزمایش در موافقت با یافته‌های اصغری و همکاران (۴) بود که با قرار دادن گیاهچه‌های دو رقم گندم در معرض تنش خشکی گزارش کردند که رقم مقاوم به تنش از فعالیت بالاتر آنزیم اسکوربات پراکسیداز در مقایسه با رقم حساس برخوردار بود. افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی شامل سوپراکسید دسموتاز (SOD) و آسکوربات پراکسیداز (APX)، با ایجاد مکانیسم دفاعی مؤثر در مقابل گونه‌های اکسیژن فعال در لاین‌های تریتیکاله، آنها را در مقابل واکنش اکسیداتیو و تخریبی محافظت می‌کند. به طوری که

منابع

- Allen, R.D. 1995. Dissection of oxidative stress tolerance using transgenic plants. *Plant Physiology* 57: 1049-1054.
- Alscher, R.G., N. Erturk and L.S. Heath. 2002. Role of superoxide dismutases (SOD) in controlling oxidative stress in plant. *Journal of Experimental Botany* 153: 1331-1341.
- Arzani, A. and M. Salehi. 2012. antioxidant activity and oxidative stress due to salinity in triticales and wheat lines in field condition. *Journal of Plant Process and Function* 1: 39-50. (In Persian)
- Asgherri, C.L.M., M. Maffei and F. Navari-Izzo. 2000. Antioxidative enzymes in wheat subjected to increasing water deficit and rewatering. *Journal of Plant Physiology*. 157: 273-279.
- Badawi, G.H., Y. Yamauchi, E. Shimada, R. Sasaki, N. Kawano, Ku. Tanaka and Ki. Tanaka. 2003. Enhanced tolerance to salt stress and water deficit by overexpressing speroxide dismutase in tobacco (*Nicotiana tabacum*) chloroplasts. *Plant Science*, 166: 919-928.
- Bajji, M., S. Lutts and J.M. Kient. 2001. Water deficit effects on solute contribution to osmotic adjustment as a function of leaf ageing in three durum wheat (*Triticum durum*) cultivars performing differently in arid conditions. *Plant Science*, 160: 669-681.
- Bates, L.S., R.P. Waldren and L.D. Teare. 1973. Rapid determination of free proline for water-stress studies. *Plant and Soil*, 39: 205-207.
- Blokhin, O., E. Virolainen and K. Fagerstedt. 2003. Antioxidant oxidative damage and oxygen deprivation stress. *Annals of Botany* 91: 179-194.
- Borzoei, A., H. Khazaei and F. Shahriari. 2006. Effect of drought stress on physiological traits and antioxidant of wheat cultivars (*Triticum aestivum* L.) after pollination under greenhouse conditions. *Agriculture Economy Science*, 5: 65-74.
- Carmer, S.G., W.E. Nyquist and W.M. Walker. 1989. Least significant differences for combined analysis of experiments with two or three factor treatment design. *Agronomy Journal*, 81: 665-672.
- Del-Ángel, A.R. and A. Sotelo. 2009. Nutritive value of mixtures using chick-peas with wheat, triticales, normal and opaque-2 corns. *Journal of Nutrition* 10: 1474-1480.
- Fazeli, F., M. Ghorbanly and V. Niknam. 2007. Effect of drought on biomass, protein content, lipid peroxidation and antioxidant enzymes in two sesame cultivars. *Biologia Plantarum* 51: 98-103.
- Gambel, P.E. and J.J. Burke. 1984. Effect of water stress on the chloroplast antioxidant system. Alteration in glutathione reductase activity. *Plant Physiology* 76: 615-621.
- Gustavo, G.Y., M.G. Susana and L.T. Maria. 2006. Effect of UV-B radiation on the activity and isoforms of enzymes with peroxidase activity in sunflower cotyledons. *Environmental and Experimental Botany* 56: 174-181.
- Habibi, D., M. Mashdi Akbar Boogar, A. Mahmoudi, M.R. Ardakani and D. Taleghani. 2004. Antioxidative enzyme in sunflower subjected to drought stress. 4th International Crop Science Congress, Brisbane, Australia, 26 September-1 October pp: 1-4.
- Jones, H.G. 2007. Monitoring plant and soil water status: established and novel methods revisited and their relevance to studies of drought tolerance. *Journal of Experimental Botany* 58: 119-130.
- Karimi, M. 1997. Report climate of central region of Iran. Isfahan University of Technology Press.
- Kuznetsov, V. and N.I. Shevyakova. 1999. Proline under stress: Biological role, metabolism and regulation. *Russian Journal of Plant Physiology* 46: 274-287.
- Lascano, H.R., G.E. Antoniceln, C.M. Luna, M.N. Melchlone, L.D. Gomez and M. Caseno. 2005. Antioxidant system response of different wheat cultivars under drought: field and in vitro studies. *Australian Journal of Plant Physiology* 28: 1095-1102.
- Laspina, N.V., M.D. Groppa, M.L. Tomaro and M.P. Benavides. 2005. Nitric oxide protects sunflower leaves against Cd-induced oxidative stress. *Plant Science*, 169: 323-330.

21. Lichtenthaler, H.K. and C. Buschman. 2001. Chlorophylls and carotenoids: measurement and characterization by UV-VIS Spectroscopy. Current Protocols in Food Analytical Chemistry F4.3.1-F4.3.8.
22. Maluszynski, M., I. Szarejko, P. Barriga and A. Balcerzyk. 2001. Heterosis in crop mutant crosses and production of high yielding lines using doubled haploid systems. Euphytica 120: 387-398.
23. Mittler, R. 2002. Oxidative stress, antioxidant and stress tolerance. Ann. Rev. Plant Science, 7: 405-415.
24. Moayedi, A., B.A. Nasrulhaq and S.S. Barakbah. 2010. The performance of durum and bread wheat genotypes associated with yield and yield component under different water deficit conditions Australian Journal of Basic. Applied Science, 4: 106-113.
25. Mohanty, N. 2003. Photosynthetic characteristic and enzymatic antioxidant capacity of flag leaf and the grain yield in two cultivars of *Triticum aestivum* (L.) exposed to warmer growth conditions. Journal of Plant Physiology 160: 71-74.
26. Sairam, R.K. and D.C. Saxena. 2000. Oxidative stress and antioxidant in wheat genotypes: possible mechanism of water stress tolerance. Journal of Agronomy and Crop Science, 184: 55-61.
27. Sairam, R.K. and G.C. Srivastava. 2001. Water stress tolerance of wheat (*Triticum aestivum* L.) variation in hydrogen peroxide accumulation and antioxidant activity in tolerant and susceptible genotype. Journal of Agronomy and Crop Science 186: 63-70.
28. Sairam, R.K. and G.C. Srivastava. 2002. Changes in antioxidant activity in sub-cellular fraction of tolerant and susceptible wheat genotypes in response to long term salt stress. Plant Science, 162: 897-904.
29. 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.
30. Scandalios, J.G. 1993. Oxygen stress and superoxide dismutase. Plant Physiology, 101: 7-12.
31. Shiranirad, A. and A. Abbasian. 2011. Evaluation of drought tolerance in winter rapeseed cultivars based on tolerance and sensitivity indices. Journal of Agriculture, 98: 41-48.
32. Stepien, P. and K. Grazyna. 2005. Antioxidant defense in the leaves of C3 and C4 plants under salinity stress. Physiologia Plantarum 125: 31-40.
33. Terzi, R. and A. Kadioglu. 2006. Drought stress tolerance and the antioxidant enzymes system in *Ctenathea setosa*. Journal of Botany, 48: 89-96.
34. Van den Berg, H., R. Faulks, H.F. Granado, J. Hirschberg, B. Olmedilla, G. Sandmann, S. Southon and W. Stahl. 2000. The potential for the improvement of carotenoids level in foods and the likely systemic effects. Journal of Science Food and Agriculture, 80: 880-912.
35. Yazdi Samadi, B., A. Rezaei and M. Valyzadeh. 2008. Statistical designs in agricultural research. Tehran University Publications. 764 pp. (In Persian)
36. Yoshiba, Y., T. Kiyosue, K. Nakashima, Z. Kamayushi-Shino and K. Shinizaki. 1997. Regulation of levels of proline as an osmolyte in plants under water stress. Plant Cell Physiology 38: 1095-1102.

Effects of Drought Stress on Antioxidant Enzymes Activity in Triticale Lines

Aboulghasem Akbarian¹ and Ahmad Arzani²

1- M.Sc., Isfahan University of Technology

2- Professor, Isfahan University of Technology (Corresponding author: a_arzani@cc.iut.ac.ir)

Received: August 13, 2012

Accepted: September 16, 2014

Abstract

Triticale as a man-made cereal is well known for having tolerance to environmental stresses and thus recommended for planting in marginal lands. This experiment was conducted to evaluate the antioxidant enzyme activity of 18 triticale lines comprising 9 doubled haploid (DH) and 9 corresponding advanced lines (F₇) and two bread wheat cultivars (Rowshan and kavar) in research farm and laboratory of Agricultural College of Isfahan university of technology during growing season of 2008-2009 under normal and stress conditions. Both the experimental design was equally and simultaneously irrigated until the mid-jointing stage, then irrigation was performed by evaporation from class A evaporation pan. The highest accumulation and antioxidant activities was obtained under stressed condition. The orthogonal comparisons showed that triticale lines and wheat cultivars differed significantly for yield and antioxidant activity with triticale being significantly superior than wheat cultivars under both environmental conditions. Free proline content during water stress condition was increased. As a general conclusion, DH line number 4 by having high proline content and low grain yield reduction under drought stress was ranked as superior drought tolerant genotype.

Keywords: Antioxidant enzyme activity, Proline, Drought stress, Breeding lines of triticale