

بررسی و مقایسه برخی خصوصیات بیوشیمیایی در ژنوتیپ‌های مختلف آجیلوپس تائوچی (*Aegilops tauschii*) ایران

حمدی حسینیان خوشرو^{۱*}، محمد رضا بی‌همتا^۲، ارغوان علی سلطانی^۳ و محمد جعفر آقایی^۳
۱، ۲، ۳، دانشجوی کارشناسی ارشد، استاد و دانشجوی کارشناسی ارشد پردیس کشاورزی و منابع طبیعی
دانشگاه تهران، کرج، ۴، استادیار بانک ژن مؤسسه اصلاح نهال و بذر کرج
(تاریخ دریافت: ۸۹/۷/۴ - تاریخ تصویب: ۹۰/۲/۲۸)

چکیده

این تحقیق به منظور بررسی و مقایسه برخی خصوصیات بیوشیمیایی ۵۰ ژنوتیپ آجیلوپس تائوچی (*Aegilops tauschii*) ایرانی و رقم کوهدشت به عنوان شاهد زراعی انجام گرفت. هشت صفت مرتبط با عملکرد و مقاومت به تنشهای زنده و غیرزنده در یک طرح کاملًّا تصادفی با ۳ تکرار در گلخانه گروه زراعت و اصلاح نباتات دانشگاه تهران در سال ۱۳۸۸ مورد مطالعه قرار گرفت. این صفات شامل فعالیت آنزیم‌های کاتالاز، پراکسیداز، پلی فنل اکسیداز، اندازه‌گیری محتوی کلروفیل، کارتنتوئید و پروتئین محلول کل بود که بر روی بافت برگ انجام و داده‌ها با استفاده از نرمافزار SPSS مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفتند. نتایج تجزیه واریانس نشان داد که ژنوتیپ‌ها از نظر تمامی صفات دارای اختلاف معنی‌داری بودند. در تمامی ژنوتیپ‌ها همبستگی معنی‌دار و مثبتی بین میزان کلروفیل ^a و کارتنتوئید وجود داشت، ولی همبستگی بین میزان آنزیم، محتوی کلروفیل و کارتنتوئید معنی‌دار نبود. همبستگی مثبت و معنی‌داری بین پروتئین، آنزیم‌های کاتالاز، پلی فنل اکسیداز و پراکسیداز وجود داشت. همچنین یک رابطه منفی و معنی‌دار بین آنزیم کاتالاز با دو آنزیم دیگر (پلی فنل اکسیداز و پراکسیداز) مشاهده گردید، اما هیچ همبستگی بین دو آنزیم پلی فنل اکسیداز و پراکسیداز وجود نداشت. تجزیه به مؤلفه‌های اصلی ۸ متغیر اولیه را در قالب دو مؤلفه جدید گروه‌بندی نمود که در مجموع این دو مؤلفه ۶۹/۳ درصد از تغییرات کل را توجیه کردند. مؤلفه اول ۴۲/۹ درصد از تغییرات کل را توجیه کرد که عمدتاً محتوای کلروفیل و کارتنتوئید را در بر می‌گرفت. در حالی که متغیر دوم ۲۶/۴ درصد از کل تغییرات را توجیه کرد که عمدتاً پروتئین، آنزیم پراکسیداز، پلی فنل اکسیداز و کاتالاز را شامل می‌شد. همچنین تجزیه خوشه‌ای به روش UPGMA ژنوتیپ‌ها را به ۵ گروه تقسیم کرد. نتایج این تحقیق نشان داد که ژنوتیپ‌ها از لحاظ کلیه صفات به طور معنی‌داری متفاوت بودند، برخی از ژنوتیپ‌ها نسبت به ژنوتیپ‌های دیگر و شاهد زراعی دارای میزان بالاتری از این صفات بودند، بنابراین می‌توان از این ژنوتیپ‌های وحشی (بخصوص ژنوتیپ‌ها با میزان بالایی از این صفات) در برنامه‌های اصلاحی استفاده نمود.

واژه‌های کلیدی: آجیلوپس تائوچی، آنزیم، کارتنتوئید، کلروفیل

مقدمه

گندم از حدود ۱۵ هزار سال پیش از نظر سطح زیر کشت و میزان تولید مهمترین گیاه زراعی دنیا محسوب می‌شود. گندم غذای حدود یک سوم مردم جهان، بیش از نیمی از کالری و نزدیک به نیمی از پروتئین مورد نیاز بشر را تأمین می‌کند (Satorre & Slafer, 1999). موفقیت گذشته، حال و آینده بهنژادگران به میزان تنوع موجود در گیاهان زارعی و خویشاوندان وحشی آنها بستگی داشته و دارد (Omidbakhshfard et al., 2005) حضور آجیلوپس تائوچی (*Aegilops tauschii*) در تکامل گندم نان بعنوان منبع ژنوم D توسط مطالعات پیشین (Kihara, 1949; Mcfadden & Sears, 1946). بسیاری از خصوصیات ارزشمند زراعی از جمله کیفیت پخت نان (Orth & Bushuk, 1973)، تحمل سرما (Limin & Fowler, 1981) و تحمل خشکی، (Schachtman 1991) ببر روی ژنوم D قرار دارند. تنوع ژنتیکی داخل ژنوم D گندم نان بسیار کمتر از آجیلوپس تائوچی گزارش شده است (Appels & Laguada 1990). در سال‌های اخیر به علت استفاده از ارقام اصلاح شده و یکنواختی ژنتیکی، خویشاوندان وحشی گندم در معرض انقراض قرار گرفته‌اند بنابراین، بررسی و شناسایی تنوع برای صفات مورد نظر در گیاهان در برنامه‌ریزی اصلاحی و استفاده از دامنه ژنتیکی متنوع در انتقال ژن اهمیت فراوانی دارد (Omidbakhshfard et al., 2005).

(Dat et al., 1998; Mjibashd (polyphenol oxidase) Jagtab et al., 1995; Zhang et al., 1994) محتوی کلروفیل برگ یک فاکتور مهم تعیین‌کننده در تعیین ظرفیت فتوسنتری برگ است (Jiang & Huang, 2001) و در آزمایشات مختلف بین میزان فتوسنتری برگ و محتوی کلروفیل در واحد سطح برگ همبستگی مثبتی بdst آمده است (Hesketh et al., 1981; Evans et al., 1983) و غلظت کلروفیل بعنوان یک شاخص برای ارزیابی قدرت منبع شناخته شده است (Herzog, 1986). در برنامه‌های اصلاحی CIMMYT برای افزایش ظرفیت منبع در گندم از لاین‌هایی با محتوی کلروفیل بالا استفاده می‌شود (Reynolds et al., 1994). همچنین یک همبستگی معنی‌دار بین محتوی کلروفیل و عملکرد دانه در گندم شناسایی شده است (Fischer et al., 2001). علاوه بر کلروفیل‌ها، غشاء‌های تیلاکوئیدی دارای رنگدانه‌های جذب نور ثانویه (رنگدانه‌های فرعی) یعنی کارتنوئیدها هستند. رنگدانه‌های کارتنوئیدی نور را در طول موجی جذب می‌کنند که توسط کلروفیل‌ها جذب نمی‌شوند و بنابراین گیرنده‌های نوری مکمل هستند (Habkins et al., 1999).
کاتالاز یک آنزیم آهن‌دار است که در تمام یوکاریوت‌ها یافت می‌شود. این آنزیم باعث تجزیه پراکسید هیدروژن به آب و اکسیژن می‌شود (Huang & Jiang, 2001). آنزیم کاتالاز یک آنزیم مهم برای مقابله با پراکسیدهیدروژن تولید شده در شرایط تنفس است. به طوری که برخی مطالعات نشان‌دهنده بالاتر بودن فعالیت این آنزیم در ارقام مقاوم به تنفس است. آنزیم پراکسیداز به طور وسیع در همه گیاهان وجود دارد این آنزیم در رشد و تقسیم سلول گیاهان نقش دارد (Egley et al., 1983; Hustee et al., 1987). علاوه بر آن آنزیم پراکسیداز مانند کاتالاز باعث تجزیه پراکسید هیدروژن می‌شود ولی بر خلاف آنزیم کاتالاز این آنزیم با اکسیدآسیون یک پیش ماده مانند ترکیبات فنلیک یا آنتی اکسیدانت‌های دیگر باعث تجزیه پراکسید هیدروژن می‌شود (Asada et al., 1994). افزایش فعالیت آنزیم پراکسیداز در تنفس‌ها گزارش شده است. همچنین مطالعات انجام شده نشان‌دهنده این است که ارقام مقاوم

یا همبستگی بین پارامترهای ذکر شده در بین ژنتوتیپ‌های آجیلوپس تأویچی ایرانی به منظور معرفی منابع ژنتیکی جدید جهت انتخاب ژنتوتیپ‌های برتر از نظر صفات نامبرده انجام شد.

مواد و روش‌ها

مواد گیاهی

این آزمایش در سال ۱۳۸۸ در گلخانه گروه زراعت و اصلاح نباتات دانشگاه تهران (دما ۲۵ درجه سانتی‌گراد، رطوبت ۶۰٪) انجام شد. در این آزمایش از ۵۰ نمونه خویشاوند وحشی گندم (جدول ۱) که از مناطق مختلف ایران جمع آوری شده بودند به صورت ژنتوتیپ و از هر ژنتوتیپ تنها یک سنبله استفاده گردید. رقم کوهدهشت بعنوان شاهد زراعی (در مطالعات قبلی این رقم خصوصیات بیوشیمیابی خوبی در مواجه با تنش سرما از خود نشان داده بود 2010 (Alisoltani et al., 2010) از مؤسسه اصلاح و نهال بذر کرج، استفاده گردید. برای جلوگیری از آلودگی بذور با آب ژاول ۱۰٪ ضدغونی شدند و از هر ژنتوتیپ تعداد ۵ بذر در ۳ تکرار در گلدان کشت گردید. سپس در مرحله اولیه رشد گیاهچه (گیاهچه‌های ۴ یا ۵ برگی) از برگ‌های کامل‌تأزه در بالای گیاهان (۲ تا ۳ عدد برگ) نمونه‌برداری انجام گرفت و پس از قرار دادن نمونه‌ها در ازت مایع برای استخراج عصاره مورد نظر به آزمایشگاه منتقل گردیدند. اندازه‌گیری فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدانت

استخراج عصاره

برای تهیه عصاره استخراج از روش Chang & Koa (1988) استفاده شد. به این ترتیب که نیم گرم برگ (فریز شده بوسیله ازت مایع) کاملاً پودر شده و سپس ۶ میلی‌لیتر بافر استخراج (باfr Tris-HCl ۰/۰۵ مولار pH=۷، ۳ میلی‌مolar MgCl₂ و ۱ میلی‌مolar EDTA) به آن اضافه و سپس بمدت ۱۵ دقیقه در دما ۴ درجه سانتی‌گراد با ۱۰۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفیوژ شد. پس از آن محلول رویی برای اندازه‌گیری آنزیم استفاده شد. کلیه آنزیم‌ها توسط دستگاه اسپکتروفوتومتر (shimadzu uv ۱۸۰) با ۳ تکرار سنجش شدند.

آنزیم کاتالاز

فعالیت کاتالاز به روش Aebi (1984) اندازه‌گیری

نسبت به ارقام حساس به تنش دارای فعالیت بالاتر آنزیم پراکسیداز هستند که باعث تجزیه بیشتر پراکسید هیدروژن و کاهش خسارت‌های ناشی از آن می‌شود (Scalet et al., 1995).

پلی‌فنل اکسیدازها در اکسیداسیون فنل‌ها به کئینون‌ها و تشکیل لیگنین در سلول‌های گیاهی نقش موثری دارند. در ارتباط با امکان موثر بودن فعالیت اکسیداسیون آنزیم‌های فنل اکسیداز در واکنش‌های دفاعی گیاه از جمله واکنش فوق حساسیت (HR) برخی تحقیقات نشان‌دهنده این است که آنزیم‌هایی مانند پلی‌فنل اکسیداز ممکن است در فعالیت‌های دفاعی و HR در مقابل ویروس‌ها، باکتری‌ها و قارچ‌ها دخالت داشته باشد. این آنزیم همچنین در واکنش‌های قهوه‌ای شدن بافت زخمی و تشکیل سدهای دفاعی در مقابل بیمارگرها دخالت دارد (Mohammadi et al., 2002).

در پژوهشی گزارش شد که بین ارقام گندم در شرایط تنش خشکی تفاوت بسیار معنی‌داری از لحاظ کلروفیل a و b، کلروفیل کل و پراکسیداز وجود دارد، همچنین در این پژوهش تفاوت معنی‌داری بین ارقام از لحاظ صفات نامبرده در شرایط عادی نیز دیده شده است. البته این تفاوت‌ها در ارقام تاریخته نیز دیده شده است (Jabbari et al., 2006). آنها عنوان کردن که در شرایط تنش خشکی رابطه معنی‌داری بین میزان پراکسیداز و کلروفیل کل و b وجود ندارد. در تحقیق دیگری تفاوت معنی‌داری بین ارقام کلزای تاریخت و شاهد از لحاظ صفات پروتئین، کلروفیل a, b و کارتوئید در مراحل مختلف رشد گزارش شده است (Jalali Jalali et al., 2004)

Javaran et al., 2004) همچنین در پژوهش دیگری همبستگی بسیار بالا و معنی‌داری بین کلروفیل a و b و کلروفیل کل گزارش شده است (Enferad et al., 2003).

با توجه به نقش سه آنزیم پراکسیداز، پلی‌فنل اکسیداز و کاتالاز در مقاومت به انواع تنش‌های گرمایی، شوری، خشکی، سرما، بیماری‌ها و همچنین نقش مهم محتابی کلروفیل و کارتوئیدی در مواجه گیاه با انواع تنش‌های مذکور، این پژوهش با هدف مطالعه و بررسی میزان فعالیت آنزیم‌های یاد شده و میزان رنگیزه‌های مهم درگیر در فرآیند فتوسنتز، و همچنین تعیین رابطه

جدول ۱- مقایسه میانگین محتوی کلروفیل و کاروتینوئید نمونه‌های (آزمون دانکن به همراه SE) *Ae. tauschii*

شماره	نمونه‌ها	منشاء	a کلروفیل (گرم بافت/ میلی‌گرم)	b کلروفیل (گرم بافت/ میلی‌گرم)	کلروفیل کل (گرم بافت/ میلی‌گرم)	کاروتینوئید (گرم بافت/ میلی‌گرم)
۱	TN-01005	کرمان	.۰/۱۱۸±۰/۱۲۲	.۰/۰۰۴ st±۰/۰۰۶۲	.۰/۰۱۵ r±۰/۱۸۱	.۰/۰۰۳ tu±۰/۰۳۷
۲	TN-0702	گلستان	.۰/۱۷۸ h-k±۰/۱۲۲	.۰/۰۶۸ h-q±۰/۰۰۶۲	.۰/۲۴۶ k±۰/۱۸۱	.۰/۰۷۵ b-e±۰/۰۳۷
۳	TN-00705	گلستان	.۰/۱۸۳ hi±۰/۱۲۲	.۰/۱۱۷ c-h±۰/۰۰۶۲	.۰/۰۱۰ d-g±۰/۱۸۱	.۰/۰۱a±۰/۰۳۷
۴	TN-2033	اردبیل	.۰/۲۸ l-ab±۰/۱۲۲	.۰/۱۵۸ bc±۰/۰۰۶۲	.۰/۰۴۴ ab±۰/۱۸۱	.۰/۰۲۱ m-s±۰/۰۳۷
۵	TN-00707	گلستان	.۰/۲۹۹ a±۰/۱۲۲	.۰/۱۳۹ b-f±۰/۰۰۶۲	.۰/۰۴۸ ab±۰/۱۸۱	.۰/۰۸۶ bc±۰/۰۳۷
۶	TN-2036	اردبیل	.۰/۱۲۹ l-n±۰/۱۲۲	.۰/۰۷۹ g-n±۰/۰۰۶۲	.۰/۰۲۰ l-i-l±۰/۱۸۱	.۰/۰۲۲ m-r±۰/۰۳۷
۷	TN-1340	سمنان	.۰/۲۱۶ fg±۰/۱۲۲	.۰/۱۷۷ a±۰/۰۰۶۲	.۰/۳۹۳ bc±۰/۱۸۱	.۰/۰۴۳ h-l±۰/۰۳۷
۸	TN-2028	اردبیل	.۰/۱۳۳ l-n±۰/۱۲۲	.۰/۰۵۱ c-g±۰/۰۰۶۲	.۰/۲۵۵ g-j±۰/۱۸۱	.۰/۰۶۱ e-g±۰/۰۳۷
۹	TN-2031	اردبیل	.۰/۲۵۶ b-e±۰/۱۲۲	.۰/۱۳۹ b-d±۰/۰۰۶۲	.۰/۰۴۹ ab±۰/۱۸۱	.۰/۰۵۲ f-h±۰/۰۳۷
۱۰	TN-1984	گلستان	.۰/۲۴۶ c-f±۰/۱۲۲	.۰/۱۰۴ d-i±۰/۰۰۶۲	.۰/۳۵۱ cd±۰/۱۸۱	.۰/۰۶۹ de±۰/۰۳۷
۱۱	TN-1964	قزوین	.۰/۲۰۱ gh±۰/۱۲۲	.۰/۰۶۳ i-r±۰/۰۰۶۲	.۰/۲۶۵ f-i-g±۰/۱۸۱	.۰/۰۴۵ g-k±۰/۰۳۷
۱۲	TN-02012	گلستان	.۰/۰۲۲ q-s±۰/۱۲۲	.۰/۰۳۹ st±۰/۰۰۶۲	.۰/۰۲۶ qr±۰/۱۸۱	.۰/۰۱۸ n-t±۰/۰۳۷
۱۳	TN-2004	مازندران	.۰/۰۲۷ p-s±۰/۱۲۲	.۰/۰۴۴ k-t±۰/۰۰۶۲	.۰/۰۲۲ o-r±۰/۱۸۱	.۰/۰۰۹ r-u±۰/۰۳۷
۱۴	TN-2017	گیلان	.۰/۰۱۱ s±۰/۱۲۲	.۰/۰۰۳ t±۰/۰۰۶۲	.۰/۰۱۴ r±۰/۱۸۱	.۰/۰۰۱ u±۰/۰۳۷
۱۵	TN-01970	قزوین	.۰/۰۴۶ p-s±۰/۱۲۲	.۰/۰۴۳ k-t±۰/۰۰۶۲	.۰/۰۸۹ n-p±۰/۱۸۱	.۰/۰۱۲ p-u±۰/۰۳۷
۱۶	TN-2000	گلستان	.۰/۰۳۴۷ p-s±۰/۱۲۲	.۰/۰۱۱ r-t±۰/۰۰۶۲	.۰/۰۴۶ o-r±۰/۱۸۱	.۰/۰۰۷ q-u±۰/۰۳۷
۱۷	TN-02013	گلستان	.۰/۰۲۷ p-s±۰/۱۲۲	.۰/۰۲۱ o-t±۰/۰۰۶۲	.۰/۰۴۸ o-r±۰/۱۸۱	.۰/۰۰۸ q-u±۰/۰۳۷
۱۸	TN-1988	گلستان	.۰/۲۴۱ d-f±۰/۱۲۲	.۰/۱۰۱ e-j±۰/۰۰۶۲	.۰/۳۴۲ cd±۰/۱۸۱	.۰/۰۲۶ i-m±۰/۰۳۷
۱۹	TN-1420	خراسان	.۰/۰۵۳ pq±۰/۱۲۲	.۰/۰۴۷ k-t±۰/۰۰۶۲	.۰/۱۰۱ no±۰/۱۸۱	.۰/۰۲۲ m-r±۰/۰۳۷
۲۰	TN-844	مازندران	.۰/۰۱ no±۰/۱۲۲	.۰/۰۶۱ i-r±۰/۰۰۶۲	.۰/۱۶۱ lm±۰/۱۸۱	.۰/۰۴۹ g-k±۰/۰۳۷
۲۱	TN-852	مازندران	.۰/۱۳۴ l-n±۰/۱۲۲	.۰/۰۵۸ i-s±۰/۰۰۶۲	.۰/۱۹۲ k-m±۰/۱۸۱	.۰/۰۴۴ f-h±۰/۰۳۷
۲۲	TN-845	مازندران	.۰/۱۸۱ h-j±۰/۱۲۲	.۰/۰۹۲ f-k±۰/۰۰۶۲	.۰/۲۷۳ fg±۰/۱۸۱	.۰/۰۵۲ r-u±۰/۰۳۷
۲۳	TN-841	مازندران	.۰/۰۳۱ p-s±۰/۱۲۲	.۰/۰۱۶ p-t±۰/۰۰۶۲	.۰/۰۴۷ o-r±۰/۱۸۱	.۰/۰۰۵ p-u±۰/۰۳۷
۲۴	TN-847	مازندران	.۰/۰۵۳ p±۰/۱۲۲	.۰/۰۳۳ m-t±۰/۰۰۶۲	.۰/۰۹۱ n-p±۰/۱۸۱	.۰/۰۱۳ b-d±۰/۰۳۷
۲۵	TN-851	مازندران	.۰/۱۶۲ i-l±۰/۱۲۲	.۰/۰۳۹ l-t±۰/۰۰۶۲	.۰/۱۹۸ j-l±۰/۱۸۱	.۰/۰۸۳ i-m±۰/۰۳۷
۲۶	TN-846	مازندران	.۰/۱۵۱ i-m±۰/۱۲۲	.۰/۰۴ k-t±۰/۰۰۶۲	.۰/۱۶۲ lm±۰/۱۸۱	.۰/۰۳۴ j-o±۰/۰۳۷
۲۷	TN-01993	گلستان	.۰/۰۹۶ o±۰/۱۲۲	.۰/۰۶۱ i-r±۰/۰۰۶۲	.۰/۱۵۶ lm±۰/۱۸۱	.۰/۰۲۲ k-o±۰/۰۳۷
۲۸	TN-843	مازندران	.۰/۱۲۴ m-o±۰/۱۲۲	.۰/۰۱۸ o-t±۰/۰۰۶۲	.۰/۱۳۸ mn±۰/۱۸۱	.۰/۰۳۰ f-i±۰/۰۳۷
۲۹	TN-853	مازندران	.۰/۱۸۳ hi±۰/۱۲۲	.۰/۰۲۹ n-t±۰/۰۰۶۲	.۰/۲۱۳ h-k±۰/۱۸۱	.۰/۰۴۹ o-u±۰/۰۳۷
۳۰	TN-850	مازندران	.۰/۱۴۷ j-m±۰/۱۲۲	.۰/۰۳۷ l-t±۰/۰۰۶۲	.۰/۱۸۴ lm±۰/۱۸۱	.۰/۰۱۶ tu±۰/۰۳۷
۳۱	TN-1251	خراسان	.۰/۰۱۸ rs±۰/۱۲۲	.۰/۰۰۱ t±۰/۰۰۶۲	.۰/۰۲۰ r±۰/۱۸۱	.۰/۰۰۲ m-q±۰/۰۳۷
۳۲	TN-2021	گیلان	.۰/۰۵۶ pq±۰/۱۲۲	.۰/۰۲۸ n-t±۰/۰۰۶۲	.۰/۰۸۴ n-q±۰/۱۸۱	.۰/۰۲۳ f-i±۰/۰۳۷
۳۳	TN-1366	گلستان	.۰/۲۶۴ b-d±۰/۱۲۲	.۰/۰۷۲ g-o±۰/۰۰۶۲	.۰/۳۳۷ de±۰/۱۸۱	.۰/۰۵۱ m-p±۰/۰۳۷
۳۴	TN-836	مازندران	.۰/۱۳۸ lm±۰/۱۲۲	.۰/۰۳۸ l-t±۰/۰۰۶۲	.۰/۱۷۷ lm±۰/۱۸۱	.۰/۰۲۶ p-t±۰/۰۳۷
۳۵	TN-1222	مازندران	.۰/۲۲۷ e-g±۰/۱۲۲	.۰/۰۶۹ g-p±۰/۰۰۶۲	.۰/۲۹۷ d-g±۰/۱۸۱	.۰/۰۱۲ g-j±۰/۰۳۷
۳۶	TN-1007	آذربایجان	.۰/۱۴۶ k-m±۰/۱۲۲	.۰/۰۵۱ j-t±۰/۰۰۶۲	.۰/۱۹۷ j-l±۰/۱۸۱	.۰/۰۴۷ q-u±۰/۰۳۷
۳۷	TN-2014	مازندران	.۰/۰۳۱ p-s±۰/۱۲۲	.۰/۰۲ o-t±۰/۰۰۶۲	.۰/۰۵۱ o-r±۰/۱۸۱	.۰/۰۰۷ tu±۰/۰۳۷
۳۸	TN-1991	گلستان	.۰/۲۸۶ ab±۰/۱۲۲	.۰/۰۶۵ l-t±۰/۰۰۶۲	.۰/۳۲۳ d-f±۰/۱۸۱	.۰/۰۵۳ tu±۰/۰۳۷
۳۹	TN-1986	گلستان	.۰/۰۱۳ s±۰/۱۲۲	.۰/۰۱ r-t±۰/۰۰۶۲	.۰/۰۲۴ r±۰/۱۸۱	.۰/۰۰۲ h-m±۰/۰۳۷
۴۰	TN-1349	گیلان	.۰/۱۶۳ i-l±۰/۱۲۲	.۰/۰۸۶ g-m±۰/۰۰۶۲	.۰/۲۴۹ g-k±۰/۱۸۱	.۰/۰۳۸ m-s±۰/۰۳۷
۴۱	TN-1358	خراسان	.۰/۱۳۹ lm±۰/۱۲۲	.۰/۰۸۳ b-e±۰/۰۰۶۲	.۰/۲۸۳ e-g±۰/۱۸۱	.۰/۰۲۱ g-j±۰/۰۳۷
۴۲	TN-1338	مازندران	.۰/۱۱۸ m-o±۰/۱۲۲	.۰/۰۶۳ i-r±۰/۰۰۶۲	.۰/۱۸۲ lm±۰/۱۸۱	.۰/۰۴۷ c-e±۰/۰۳۷
۴۳	TN-312	آذربایجان	.۰/۱۸۱ h-j±۰/۱۲۲	.۰/۰۸۹ f-l±۰/۰۰۶۲	.۰/۲۷۱ f-h±۰/۱۸۱	.۰/۰۲۴ ab±۰/۰۳۷
۴۴	TN-2043	آذربایجان	.۰/۱۴۵ c-f±۰/۱۲۲	.۰/۱۴۲ ab±۰/۰۰۶۲	.۰/۴۵ a±۰/۱۸۱	.۰/۰۹۰ f-j±۰/۰۳۷
۴۵	TN-1954	سمنان	.۰/۲۷۴ a-c±۰/۱۲۲	.۰/۱۳۹ b-f±۰/۰۰۶۲	.۰/۴۱۴ ab±۰/۱۸۱	.۰/۰۴۹ l-p±۰/۰۳۷
۴۶	TN-1983	گلستان	.۰/۱۲۸ l-n±۰/۱۲۲	.۰/۱۲۱ c-g±۰/۰۰۶۲	.۰/۲۵۰ g-k±۰/۱۸۱	.۰/۰۲۷ s-u±۰/۰۳۷
۴۷	TN-1958	سمنان	.۰/۰۴۳ s±۰/۱۲۲	.۰/۰۱۶ p-t±۰/۰۰۶۲	.۰/۰۳۰ qr±۰/۱۸۱	.۰/۰۰۴ ef±۰/۰۳۷
۴۸	TN-1011	گیلان	.۰/۱۸۱ h-j±۰/۱۲۲	.۰/۰۸۹ f-l±۰/۰۰۶۲	.۰/۲۷۱ f-h±۰/۱۸۱	.۰/۰۴۴ s-u±۰/۰۳۷
۴۹	TN-1989	سمنان	.۰/۰۱۷ rs±۰/۱۲۲	.۰/۰۲۳ o-t±۰/۰۰۶۲	.۰/۰۴۱ p-r±۰/۱۸۱	.۰/۰۰۴ s-u±۰/۰۳۷
۵۰	TN-2020	گیلان	.۰/۰۵۱ p-r±۰/۱۲۲	.۰/۰۱۵ q-t±۰/۰۰۶۲	.۰/۰۶۶ o-r±۰/۱۸۱	.۰/۰۰۴ s-u±۰/۰۳۷
۵۱	کوهدهشت		.۰/۱۱۷ m-o±۰/۱۲۲	.۰/۱۰۵ e-j±۰/۰۰۶۲	.۰/۲۱۶ h-k±۰/۱۸۱	.۰/۰۴۷ o-u±۰/۰۳۷

در هر ستون حروف مختلف نشان‌دهنده تفاوت معنی‌دار بین نمونه‌ها در سطح ۵ درصد می‌باشد.

مایکرومول تتراگویاکول تشکیل شده در دقیقه در میلی‌گرم پروتئین بیان شد.

اندازه‌گیری محتوای کلروفیل و کارتنتوئید

برای این منظور از روش تغییر یافته Arnon (1949) استفاده شد. به این ترتیب که $0.5 \text{ g} / 5 \text{ mL} = 0.1 \text{ g} / 1000 \text{ mL}$ را در $5 \text{ mL} / 1000 \text{ mL}$ در دقیقه و دمای 4°C درجه سانتی‌گراد به مدت 15 دقیقه مایع روئی برداشته شد و حجم آن با استن به $10 \text{ mL} / 1000 \text{ mL}$ سپس میزان جذب نور با استفاده از دستگاه اسپکتروفوتومتر (Shimadzu uv 180) و در طول موج‌های 480 , 510 , 545 و 663 نانومتر تعیین گردید و غلظت کلروفیل a, b و مجموع آنها و کارتنتوئید از طریق روابط زیر بدست آمد:

$$a = \frac{\text{گرم بافت} / \text{میلی‌گرم کلروفیل}}{12/7} \quad (A 663) \pm 2/69 \quad (A 645) \times V / 1000 \times W$$

$$b = \frac{\text{گرم بافت} / \text{میلی‌گرم کلروفیل}}{22/9} \quad (A 645) \pm 4/69 \quad (A 663) \times V / 1000 \times W$$

$$= \frac{\text{گرم بافت} / \text{میلی‌گرم کلروفیل کل}}{20/2} \quad (A 645) + 8/02 \quad (A 663) \times V / 1000 \times W$$

$$= \frac{\text{گرم بافت} / \text{میلی‌گرم کارتنتوئید}}{7/6} \quad (A 480) \pm 14/9 \quad (A 510) \times V / 1000 \times W$$

در روابط بالا V حجم نهایی نمونه استخراج شده و W وزن تر نمونه است.

اندازه‌گیری پروتئین محلول کل

جهت اندازه‌گیری پروتئین محلول کل از روش Bradford (1973) استفاده شد. برای این منظور پروتئین‌های استانداردی با غلظت‌های $5, 10, 20, 25, 50, 60, 70$ و $125 \text{ }\mu\text{g/mL}$ در میلی‌لیتر تهیه شده و میزان جذب نور در نمونه‌ها با استفاده از دستگاه اسپکتروفوتومتری در طول موج 595 نانومتر مورد سنجش قرار گرفت. با استفاده از داده‌های به دست آمده در این مرحله معادله خط رگرسیونی محاسبه و منحنی مربوطه ترسیم گردید. آلبومین‌های نمونه سرم گاوی به عنوان پروتئین استاندارد به کار برده شد. پس

شد که بر پایه تجزیه پراکسید هیدروژن توسط آنزیم کاتالاز استوار بود. مخلوط واکنش شامل $3 \text{ mL} / 1000 \text{ mL}$ فسفات 50 mM میلی‌مولار ($\text{pH}=7/0$), $10 \text{ }\mu\text{l}$ میکرولیتر پراکسید هیدروژن 15 mM میلی‌مولار و $50 \text{ }\mu\text{l}$ میکرولیتر عصاره موج 240 نانومتر به مدت 1 دقیقه توسط دستگاه اسپکتروفوتومتر اندازه‌گیری شد. میزان پراکسید هیدروژن تجزیه شده با استفاده از ضریب خاموشی $F=39.4 \text{ Mm}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ محاسبه شد (Rahnama, 2009).

فعالیت ویژه آنزیم بر اساس میکرومول پراکسید هیدروژن تجزیه شده در دقیقه در هر میلی‌گرم پروتئین بیان شد.

آنزیم پراکسیداز

فعالیت پراکسیداز به روش Chance & Maehly (1955) اندازه‌گیری شد. اندازه‌گیری فعالیت آنزیم بر پایه تشکیل تتراگویاکول از گویاکول در حضور پراکسید هیدروژن و سوبسترا گویاکول است. مخلوط واکنش شامل $3 \text{ mL} / 1000 \text{ mL}$ فسفات 50 mM میلی‌مولار ($\text{pH}=7/0$), $3 \text{ }\mu\text{l}$ میکرولیتر گویاکول 20 mM میلی‌مولار، $50 \text{ }\mu\text{l}$ میکرولیتر پراکسید هیدروژن 15 mM میلی‌مولار و $7/6 \text{ mL}$ میکرولیتر عصاره بود. پس از اضافه کردن عصاره افزایش جذب در طول موج 470 نانومتر به مدت 2 دقیقه توسط دستگاه اسپکتروفوتومتر اندازه‌گیری شد. میزان تتراگویاکول تشکیل شده با استفاده از ضریب خاموشی $F=26.6 \text{ Mm}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ محاسبه شد (Rahnama, 2009).

فعالیت ویژه آنزیم به صورت مایکرومول تتراگویاکول تشکیل شده در دقیقه در میلی‌گرم پروتئین بیان شد.

آنزیم پلی فنل اکسیداز

برای این منظور از روش Singh et al. (1999) استفاده شد. مخلوط واکنش شامل $3 \text{ mL} / 1000 \text{ mL}$ فسفات 50 mM میلی‌مولار ($\text{pH}=7/0$), $20 \text{ }\mu\text{l}$ میکرولیتر پیروگالول 20 mM میلی‌مولار، $10 \text{ }\mu\text{l}$ میکرولیتر هیدروژن 15 mM میلی‌مولار و $50 \text{ }\mu\text{l}$ میکرولیتر عصاره بود. پس از اضافه کردن عصاره افزایش جذب در طول موج 420 نانومتر به مدت 2 دقیقه توسط دستگاه اسپکتروفوتومتر اندازه‌گیری شد. میزان تتراگویاکول تشکیل شده با استفاده از ضریب خاموشی $F=26.6 \text{ Mm}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ محاسبه شد (Rahnama, 2009).

TN-۰۰۷۰۵ و TN-۲۰۴۳ (به ترتیب با مقادیر ۱۰۱/۰ و ۰/۰۹۰ میلی گرم/ گرم بافت) دارای بیشترین میزان بودند. ژنوتیپ‌های نامبرده در مقایسه با شاهد زراعی که دارای ۱۱۷/۰ (میلی گرم/ گرم بافت) کلروفیل a، ۱۰۵/۰ (میلی گرم/ گرم بافت) کلروفیل b، ۰/۲۱۶ (میلی گرم/ گرم بافت) کلروفیل کل و ۰/۰۴۷ (میلی گرم/ گرم بافت) کاروتوئید بود، نیز دارای مقادیر بیشتری بودند، که می‌توان برای افزایش ظرفیت منبع و انتخاب لاینهای با عملکرد بالا در گندم، در برنامه‌های اصلاحی از ژنوتیپ‌های فوق استفاده نمود (جدول ۱).

از لحاظ آنزیم پراکسیداز دو ژنوتیپ TN-۰۷۰۲ و TN-۰۰۱۳ (به ترتیب با مقادیر ۰/۱۴۵ و ۰/۱۳۲) از مایکرومول تتراگویاکول/دقیقه/میلی گرم پروتئین، از لحاظ آنزیم پلی فنل اکسیداز دو ژنوتیپ TN-۰۱۰۰۵ و TN-۸۵۳ (به ترتیب با مقادیر ۰/۰۰۶۷ و ۰/۰۰۶۲) از مایکرومول تتراگویاکول/دقیقه/میلی گرم پروتئین و از لحاظ آنزیم کاتالاز دو ژنوتیپ TN-۱۳۵۸ و TN-۱۹۸۳ (به ترتیب با مقادیر ۰/۰۸۰ و ۰/۰۸۸) میکرومول

پراکسید هیدروژن/ دقیقه/ میلی گرم پروتئین) دارای بیشترین میزان بودند. ژنوتیپ‌های نامبرده در مقایسه با شاهد زراعی که دارای ۰/۰۵۷ (مایکرومول تتراگویاکول/ دقیقه/ میلی گرم پروتئین) پراکسیداز، ۰/۰۰۴۹ (مایکرومول تتراگویاکول/ دقیقه/ میلی گرم پروتئین) پلی فنل اکسیداز و ۰/۰۵۱ (میکرومول پراکسید هیدروژن/ دقیقه/ میلی گرم پروتئین) کاتالاز بود، نیز دارای مقادیر بیشتری بودند (جدول ۲). برخی مطالعات نشان می‌دهد که فعالیت آنزیم‌های کاتالاز، پراکسیداز و پلی فنل اکسیداز در ار quam مقاوم به تنش‌های زنده و غیرزنده بالاست (Scalet et al., 1995; Jagtab et al., 1995; Asada et al., 1994) ۱۹۹۵. در شرایط تنفس خشکی و شوری (Frank et al., 1962; Reddy et al., 2004) آفات و بیماری (Stahmann et al., 1973) میزان آنزیم‌های کاتالاز، پراکسیداز و پلی فنل اکسیداز افزایش معنی‌داری دارند و احتمالاً نمونه‌هایی که دارای مقادیر بیشتری از این آنزیم‌ها باشند مقاومت بیشتری به تنش‌های غیرزنده، آفات و بیماری از خود نشان می‌دهند (Frank et al., 1962)

آنزیم کاتالاز یک آنزیم مهم برای مقابله با پراکسید

از تعیین معادله خط رگرسیون بر حسب نمونه، مقادیر ۵ تا ۱۰ میکرولیتر از عصاره‌های گیاهی به ۳ میلی لیتر برادرفورد اضافه گردید و مقادیر جذب در ۵۹۵ نانومتر با استفاده از اسپکتروفوتومتر به دست آمد. برای هر نمونه ۳ تکرار در نظر گرفته و میانگین آنها در معادله خط رگرسیون حاصله قرار داده شدند و سرانجام مقدار پروتئین کل محلول نمونه‌ها محاسبه شد.

تجزیه و تحلیل داده‌ها

به منظور تجزیه و تحلیل داده‌ها ابتدا تجزیه واریانس یک طرفه انجام شد (ژنوتیپ‌ها هر کدام با سه تکرار به عنوان تیمار). برای تعیین تنوع بین نمونه‌ها، میانگین هر ژنوتیپ مشخص گردید و میانگین‌ها با آزمون دانکن موردن مقایسه قرار گرفت (جدول ۱). از طرفی به منظور تعیین ارتباط بین صفات، همبستگی پیرسون بین صفات انجام شد. برای بررسی وضعیت پراکنش ژنوتیپ‌های مختلف از تجزیه مؤلفه‌های اصلی و تجزیه خوشای استفاده گردید.

نتایج و بحث

نتایج حاصل از تجزیه واریانس داده‌ها، نشان داد که تفاوت بسیار معنی‌داری بین ژنوتیپ‌ها در تمامی صفات مورد بررسی وجود داشت. همانطور که از جدول مقایسه میانگین مشخص است (جدول‌های ۱ و ۲) مقادیر اندازه‌گیری شده برای تمامی صفات در ژنوتیپ‌های مختلف با هم متفاوتند. با توجه به این که غلظت کلروفیل عنوان یک شاخص برای ارزیابی قدرت منبع شناخته شده است (Herzog et al., 1986). همچنین یک همبستگی معنی‌دار بین محتوی کلروفیل با عملکرد دانه، عملکرد بیولوژیک و شاخص برداشت در گندم (Tavakoli, 2008; Fischer et al., 2001) از لحاظ میزان کلروفیل a دو ژنوتیپ TN-۱۹۹۱ و TN-۰۰۷۰۷ (به ترتیب با مقادیر ۰/۲۹۹ و ۰/۲۸۶ میلی گرم/ گرم بافت)، میزان کلروفیل b دو ژنوتیپ TN-۲۰۳۳ و TN-۱۳۴۰ (به ترتیب با مقادیر ۰/۱۵۸ و ۰/۱۷۷ میلی گرم/ گرم بافت)، از لحاظ میزان کلروفیل کل دو ژنوتیپ TN-۲۰۳۳ و TN-۲۰۴۳ (به ترتیب با مقادیر ۰/۴۴۰ و ۰/۴۵۱ میلی گرم/ گرم بافت) و در نهایت از لحاظ میزان کاروتوئید دو ژنوتیپ

جدول ۲- مقایسه میانگین پروتئین، پراکسیداز، پلی فنل اکسیداز و کاتالاز نمونه‌های Ae. tauschii (آزمون دانکن به همراه SE)

شماره	نمونه ها	پروتئین (میکرو گرم/amilی لیتر)	پراکسیداز $\mu\text{mol Tet. min}^{-1} \text{mg}^{-1} \text{protein}$	پلی فنل اکسیداز $\mu\text{mol Tet. min}^{-1} \text{mg}^{-1} \text{protein}$	کاتالاز $\mu\text{mol H}_2\text{O}_2 \text{min}^{-1} \text{mg}^{-1} \text{protein}$
۱	TN-01005	۷۷/۵۲ab ± ۱/۸۶	۰/۰۹۱ bc ± ۰/۰۰۴۸	۰/۰۰۶۷ a ± ۰/۰۰۱۳	۰/۰۵۵ bc ± ۰/۰۰۲۸
۲	TN-0702	۸۱/۳۲a ± ۱/۸۶	۰/۱۴۵ b ± ۰/۰۰۴۸	۰/۰۰۴۹ c-k ± ۰/۰۰۱۳	۰/۰۴۱ bc ± ۰/۰۰۲۸
۳	TN-00705	۵۳/۶۳ g-p ± ۱/۸۶	۰/۱۳۱ bc ± ۰/۰۰۴۸	۰/۰۰۴۴ f-n ± ۰/۰۰۱۳	۰/۰۳۵ bc ± ۰/۰۰۲۸
۴	TN-2033	۵۰/۱۰ k-r ± ۱/۸۶	۰/۱۹۲ a ± ۰/۰۰۴۸	۰/۰۰۴۹ c-k ± ۰/۰۰۱۳	۰/۰۳۱ bc ± ۰/۰۰۲۸
۵	TN-00707	۴۳/۷۷ o-t ± ۱/۸۶	۰/۱۱۱ bc ± ۰/۰۰۴۸	۰/۰۰۵۷ a-e ± ۰/۰۰۱۳	۰/۰۲۶ bc ± ۰/۰۰۲۸
۶	TN-2036	۵۴/۹۶f-o ± ۱/۸۶	۰/۱۲۸ bc ± ۰/۰۰۴۸	۰/۰۰۵۲ b-g ± ۰/۰۰۱۳	۰/۰۴۰ bc ± ۰/۰۰۲۸
۷	TN-1340	۵۳/۵۶ g-p ± ۱/۸۶	۰/۰۷۹ bc ± ۰/۰۰۴۸	۰/۰۰۵۵ b-f ± ۰/۰۰۱۳	۰/۰۱۱ c ± ۰/۰۰۲۸
۸	TN-2028	۴۲/۲۰ p-t ± ۱/۸۶	۰/۰۶۷ bc ± ۰/۰۰۴۸	۰/۰۰۴۴ f-n ± ۰/۰۰۱۳	۰/۰۴۳ bc ± ۰/۰۰۲۸
۹	TN-2031	۴۸/۸۵ k-r ± ۱/۸۶	۰/۰۸۶ bc ± ۰/۰۰۴۸	۰/۰۰۴۴ f-n ± ۰/۰۰۱۳	۰/۰۲۸ bc ± ۰/۰۰۲۸
۱۰	TN-1984	۴۱/۸۴ p-t ± ۱/۸۶	۰/۱۰۱ bc ± ۰/۰۰۴۸	۰/۰۰۵۱ b-j ± ۰/۰۰۱۳	۰/۰۳۸ bc ± ۰/۰۰۲۸
۱۱	TN-1964	۴۱/۶۸ p-t ± ۱/۸۶	۰/۱۰۳ bc ± ۰/۰۰۴۸	۰/۰۰۴۲ g-o ± ۰/۰۰۱۳	۰/۰۷۱ bc ± ۰/۰۰۲۸
۱۲	TN-02012	۲۶/۹۶ uv ± ۱/۸۶	۰/۰۴۵ bc ± ۰/۰۰۴۸	۰/۰۰۴۶ e-m ± ۰/۰۰۱۳	۰/۰۴۹ bc ± ۰/۰۰۲۸
۱۳	TN-2004	۴۶/۲۰ l-r ± ۱/۸۶	۰/۰۷۱ bc ± ۰/۰۰۴۸	۰/۰۰۳۷ k-q ± ۰/۰۰۱۳	۰/۰۴۷ bc ± ۰/۰۰۲۸
۱۴	TN-2017	۴۵/۱۸ n-s ± ۱/۸۶	۰/۰۷۱ bc ± ۰/۰۰۴۸	۰/۰۰۳۷ k-q ± ۰/۰۰۱۳	۰/۰۴۶ bc ± ۰/۰۰۲۸
۱۵	TN-01970	۵۸/۵۶ d-l ± ۱/۸۶	۰/۰۹۸ bc ± ۰/۰۰۴۸	۰/۰۰۳۲ n-q ± ۰/۰۰۱۳	۰/۰۴۶ bc ± ۰/۰۰۲۸
۱۶	TN-2000	۳۳/۶۲ s-v ± ۱/۸۶	۰/۰۳۱ bc ± ۰/۰۰۴۸	۰/۰۰۴۱ b-j ± ۰/۰۰۱۳	۰/۰۴۸ bc ± ۰/۰۰۲۸
۱۷	TN-02013	۳۳/۴۰ s-v ± ۱/۸۶	۰/۱۳۱ bc ± ۰/۰۰۴۸	۰/۰۰۴۵ e-n ± ۰/۰۰۱۳	۰/۰۴۶ bc ± ۰/۰۰۲۸
۱۸	TN-1988	۵۵/۱۴f-o ± ۱/۸۶	۰/۰۸۰ bc ± ۰/۰۰۴۸	۰/۰۰۳۹ h-q ± ۰/۰۰۱۳	۰/۰۶۹ bc ± ۰/۰۰۲۸
۱۹	TN-1420	۶۸/۷۶ b-d ± ۱/۸۶	۰/۱۱۸ bc ± ۰/۰۰۴۸	۰/۰۰۴۲ f-o ± ۰/۰۰۱۳	۰/۰۷۲ ab ± ۰/۰۰۲۸
۲۰	TN-844	۵۵/۹۸ e-o ± ۱/۸۶	۰/۰۶۴ bc ± ۰/۰۰۴۸	۰/۰۰۴۹ pq ± ۰/۰۰۱۳	۰/۰۶۶ bc ± ۰/۰۰۲۸
۲۱	TN-852	۴۶/۶۵ l-r ± ۱/۸۶	۰/۰۴۷ bc ± ۰/۰۰۴۸	۰/۰۰۳۶ m-q ± ۰/۰۰۱۳	۰/۰۴۲ bc ± ۰/۰۰۲۸
۲۲	TN-845	۲۶/۹۷ uv ± ۱/۸۶	۰/۰۴۱ bc ± ۰/۰۰۴۸	۰/۰۰۳۸ k-q ± ۰/۰۰۱۳	۰/۰۴۴ bc ± ۰/۰۰۲۸
۲۳	TN-841	۲۶/۵۳ v ± ۱/۸۶	۰/۰۲۶ bc ± ۰/۰۰۴۸	۰/۰۰۴۸ c-l ± ۰/۰۰۱۳	۰/۰۴۸ bc ± ۰/۰۰۲۸
۲۴	TN-847	۳۹/۲۳ q-u ± ۱/۸۶	۰/۰۵۸ bc ± ۰/۰۰۴۸	۰/۰۰۵۲ b-h ± ۰/۰۰۱۳	۰/۰۱۸ bc ± ۰/۰۰۲۸
۲۵	TN-851	۲۶/۶۳ v ± ۱/۸۶	۰/۰۱۵ c ± ۰/۰۰۴۸	۰/۰۰۶۰ a-d ± ۰/۰۰۱۳	۰/۰۱۱ c ± ۰/۰۰۲۸
۲۶	TN-846	۶۳/۰۷ b-e ± ۱/۸۶	۰/۰۸۷ bc ± ۰/۰۰۴۸	۰/۰۰۳۹ i-q ± ۰/۰۰۱۳	۰/۰۳۱ bc ± ۰/۰۰۲۸
۲۷	TN-01993	۶۴/۴۹ c-h ± ۱/۸۶	۰/۰۳۸ bc ± ۰/۰۰۴۸	۰/۰۰۵۱ b-I ± ۰/۰۰۱۳	۰/۰۶۷ bc ± ۰/۰۰۲۸
۲۸	TN-843	۶۴/۱۰ c-i ± ۱/۸۶	۰/۰۸۱ bc ± ۰/۰۰۴۸	۰/۰۰۴۸ d-f ± ۰/۰۰۱۳	۰/۰۷۹ a ± ۰/۰۰۲۸
۲۹	TN-853	۳۳/۰۴ t-v ± ۱/۸۶	۰/۰۴۳ bc ± ۰/۰۰۴۸	۰/۰۰۶۲ ab ± ۰/۰۰۱۳	۰/۰۲۱ bc ± ۰/۰۰۲۸
۳۰	TN-850	۳۴/۸۳ r-u ± ۱/۸۶	۰/۰۴۴ bc ± ۰/۰۰۴۸	۰/۰۰۵۹ a-d ± ۰/۰۰۱۳	۰/۰۳۶ bc ± ۰/۰۰۲۸
۳۱	TN-1251	۴۶/۱۰ m-r ± ۱/۸۶	۰/۰۳۸ bc ± ۰/۰۰۴۸	۰/۰۰۵۱ b-j ± ۰/۰۰۱۳	۰/۰۲۲ bc ± ۰/۰۰۲۸
۳۲	TN-2021	۵۸/۱۹ d-m ± ۱/۸۶	۰/۰۶۷ bc ± ۰/۰۰۴۸	۰/۰۰۶۱ a-c ± ۰/۰۰۱۳	۰/۰۵۰ bc ± ۰/۰۰۲۸
۳۳	TN-1366	۵۶/۲۰ e-n ± ۱/۸۶	۰/۰۴۱ bc ± ۰/۰۰۴۸	۰/۰۰۳۶ l-q ± ۰/۰۰۱۳	۰/۰۲۲ bc ± ۰/۰۰۲۸
۳۴	TN-836	۵۲/۷۶ h-p ± ۱/۸۶	۰/۰۵۸ bc ± ۰/۰۰۴۸	۰/۰۰۴۱ g-p ± ۰/۰۰۱۳	۰/۰۴۶ bc ± ۰/۰۰۲۸
۳۵	TN-1222	۵۱/۱۴ j-q ± ۱/۸۶	۰/۰۶۵ bc ± ۰/۰۰۴۸	۰/۰۰۳۳ n-q ± ۰/۰۰۱۳	۰/۰۴۸ bc ± ۰/۰۰۲۸
۳۶	TN-1007	۴۲/۳۰ p-t ± ۱/۸۶	۰/۰۴۱ bc ± ۰/۰۰۴۸	۰/۰۰۴۴ f-n ± ۰/۰۰۱۳	۰/۰۳۱ bc ± ۰/۰۰۲۸
۳۷	TN-2014	۴۸/۰۵ k-r ± ۱/۸۶	۰/۰۴۵ bc ± ۰/۰۰۴۸	۰/۰۰۴۰ g-p ± ۰/۰۰۱۳	۰/۰۲۸ bc ± ۰/۰۰۲۸
۳۸	TN-1991	۵۰/۴۵ d-m ± ۱/۸۶	۰/۰۹۱ bc ± ۰/۰۰۴۸	۰/۰۰۲۷ q ± ۰/۰۰۱۳	۰/۰۳۱ bc ± ۰/۰۰۲۸
۳۹	TN-1986	۶۲/۷۹ c-j ± ۱/۸۶	۰/۰۹۱ bc ± ۰/۰۰۴۸	۰/۰۰۳۱ o-q ± ۰/۰۰۱۳	۰/۰۶۴ bc ± ۰/۰۰۲۸
۴۰	TN-1349	۵۱/۱۴ j-q ± ۱/۸۶	۰/۰۳۳ bc ± ۰/۰۰۴۸	۰/۰۰۳۳ n-q ± ۰/۰۰۱۳	۰/۰۲۳ bc ± ۰/۰۰۲۸
۴۱	TN-1358	۵۹/۷۶ d-k ± ۱/۸۶	۰/۰۹۲ bc ± ۰/۰۰۴۸	۰/۰۰۳۰ o-q ± ۰/۰۰۱۳	۰/۰۸۰ a ± ۰/۰۰۲۸
۴۲	TN-1338	۵۷/۶۲ d-m ± ۱/۸۶	۰/۰۹۱ bc ± ۰/۰۰۴۸	۰/۰۰۳۵ m-q ± ۰/۰۰۱۳	۰/۰۷۲ ab ± ۰/۰۰۲۸
۴۳	TN-312	۴۴/۲۱ n-t ± ۱/۸۶	۰/۰۴۸ bc ± ۰/۰۰۴۸	۰/۰۰۴۴ f-n ± ۰/۰۰۱۳	۰/۰۵۳ bc ± ۰/۰۰۲۸
۴۴	TN-2043	۵۲/۰۴ i-p ± ۱/۸۶	۰/۰۴۸ bc ± ۰/۰۰۴۸	۰/۰۰۲۹ i-q ± ۰/۰۰۱۳	۰/۰۷۶ bc ± ۰/۰۰۲۸
۴۵	TN-1954	۶۵/۵۹ c-g ± ۱/۸۶	۰/۰۸۹ bc ± ۰/۰۰۴۸	۰/۰۰۳۸ j-q ± ۰/۰۰۱۳	۰/۰۷۱ b ± ۰/۰۰۲۸
۴۶	TN-1983	۷۴/۷۲ a-c ± ۱/۸۶	۰/۰۹۲ bc ± ۰/۰۰۴۸	۰/۰۰۳۱ o-q ± ۰/۰۰۱۳	۰/۰۸۸ a ± ۰/۰۰۲۸
۴۷	TN-1958	۷۲/۸۷ a-c ± ۱/۸۶	۰/۰۴۹ bc ± ۰/۰۰۴۸	۰/۰۰۳۷ k-q ± ۰/۰۰۱۳	۰/۰۴۸ bc ± ۰/۰۰۲۸
۴۸	TN-1011	۶۶/۵۳ b-f ± ۱/۸۶	۰/۰۹۶ bc ± ۰/۰۰۴۸	۰/۰۰۲۸ pq ± ۰/۰۰۱۳	۰/۰۷۰ bc ± ۰/۰۰۲۸
۴۹	TN-1989	۶۴/۴۲ c-h ± ۱/۸۶	۰/۰۸۳ bc ± ۰/۰۰۴۸	۰/۰۰۳۵ m-q ± ۰/۰۰۱۳	۰/۰۷۱ bc ± ۰/۰۰۲۸
۵۰	TN-2020	۶۴/۸۸ c-h ± ۱/۸۶	۰/۰۹۱ bc ± ۰/۰۰۴۸	۰/۰۰۳۲ n-q ± ۰/۰۰۱۳	۰/۰۶۸ bc ± ۰/۰۰۲۸
۵۱	کوهدشت	۴۵/۱۰ m-r ± ۱/۸۶	۰/۰۵۷ bc ± ۰/۰۰۴۸	۰/۰۰۴۹ f-n ± ۰/۰۰۱۳	۰/۰۵۱ bc ± ۰/۰۰۲۸

در هر ستون حروف مختلف نشان‌دهنده تفاوت معنی‌دار بین نمونه‌ها در سطح ۵ درصد می‌باشد.

مايهزني از لحاظ ميزان پروتئين و پراکسیداز وجود داشت (Potpour et al., 1999).

نتایج حاصل از تجزیه و تحلیل همبستگی داده‌ها نشان داد که همبستگی مثبت و معنی‌داری بین صفات کلروفیل a، b، کلروفیل کل و کارتوتئید وجود دارد (جدول ۳). در چند مطالعه نیز نشان داده شده که همبستگی بسیار بالا و معنی‌داری بین صفات کلروفیل a، b، کلروفیل کل وجود دارد (Ebrahimi et al., 2009; Enferad et al., 2003) در این پژوهش همبستگی بین میزان آنزیم و محتوی کلروفیل و کارتوتئید معنی‌دار نبود. این امر نشان می‌دهد که فعالیت رنگیزه‌ها مستقل از فعالیت این آنزیم‌ها می‌باشد. این نتایج با نتایج مطالعات قبلی که گزارش کرده بودند رابطه معنی‌داری بین میزان پراکسیداز و کلروفیل کل و کلروفیل b وجود ندارد، همخوانی دارد (Jabbari et al., 2006; Ebrahimi et al., 2009). همبستگی مثبت و معنی‌داری بین پروتئین، آنزیم‌های کاتالاز، پلی‌فنل اکسیداز و پراکسیداز مشاهده شد که بیانگر این است که احتمالاً با افزایش میزان پروتئین میزان این سه آنزیم افزایش می‌یابد و همچنین یک رابطه منفی و معنی‌داری بین آنزیم کاتالاز با دو آنزیم دیگر (پلی‌فنل اکسیداز و پراکسیداز) وجود دارد اما هیچ رابطه بین دو آنزیم پلی‌فنل اکسیداز و پراکسیداز دیده نمی‌شود. در تحقیقات قبلی همبستگی معنی‌داری بین پروتئین و آنزیم‌ها گزارش شده است (Ebrahimi et al., 2009; Jagtab et al., 1995).

به منظور گروه‌بندی ژنتیک‌ها و ارزیابی میزان تنوع و پراکنش ژنتیک‌ها بر اساس صفات و شاخص‌های مورد مطالعه از روش تجزیه خوش‌های و از نمودار بای‌پلات بر اساس تجزیه به مؤلفه‌های اصلی استفاده گردید.

هیدروژن تولید شده در شرایط تنش است به طوری که در شرایط تنش خشکی ایزوفرم‌های جدیدی از آن تولید شده و مقدار ایزوفرم‌های قبلی نیز افزایش یافته است (Srivalli et al., 2003). همچنین برخی مطالعات نشان‌دهنده بالاتر بودن فعالیت این آنزیم در ارقام مقاوم (Khanna-Chopra & Selote, 2007; Srivalli et al., 2003) آنزیم کاتالاز مقادیر بالاتر را به خود اختصاص داده‌اند می‌توان به عنوان یک منبع ژنتیکی جدید در غنی‌سازی منابع ژنتیکی گندم نان و همچنین در برنامه‌های اصلاحی مربوطه بهره برد.

در پژوهشی بین ارقام گندم مورد مطالعه در شرایط تنش خشکی و عادی تفاوت بسیار معنی‌داری در میزان کلروفیل a، b و کل و فعالیت پراکسیداز وجود داشت. همچنین در این پژوهش ارقام متحمل مقادیر بالاتر از صفات یاد شده را به خود اختصاص داده‌اند (Jabbari et al., 2006) در یک پژوهش دیگر که با هدف مقایسه دوره‌های کوتاه مدت و دراز مدت سرماسازگاری بر روی ارقام بهاره و زمستانه گندم نان صورت گرفت نشان داده شد که بین میزان محتوای کلروفیل و آنزیم‌ها (کاتالاز، پراکسیداز و پلی‌فنل اکسیداز) با میزان مقاومت به تنش سرما یک رابطه مستقیم و معنی‌داری وجود دارد یعنی ارقامی که دارای مقادیر بالاتری از صفات یاد شده بودند مقاومت بیشتری به تنش سرما داشتند. عکس موضوع نیز صادق بود (Alisoltani et al., 2010).

مختلف جوی بومی ایران از لحاظ صفات کلروفیل a، b، کلروفیل کل، کارتوتئید، پلی‌فنل اکسیداز و پراکسیداز با هم متفاوت بوده‌اند (Ebrahimi et al., 2009). تفاوت بسیار معنی‌داری بین ارقام جو مورد بررسی بعد از

جدول ۳- ضرایب همبستگی بین خصوصیات بیوشیمیایی بررسی شده در نمونه‌های *Ae. tauschii*

	کاتالاز	پلی‌فنل اکسیداز	پراکسیداز	کلروفیل a	کلروفیل b	کلروفیل کل	کارتوتئید	پلاکسیداز	$\mu\text{mol Tet. min}^{-1}\text{mg}^{-1}$ protein	$\mu\text{mol Tet. min}^{-1}\text{mg}^{-1}$ protein	$\mu\text{mol H}_2\text{O}_2 \text{min}^{-1}\text{mg}^{-1}$ protein
a											
کلروفیل b	۰/۹۸**										
کلروفیل کل	۰/۹۶۴**	۰/۹۰۹**									
کارتوتئید	۰/۷۱۷**	۰/۶۰۸**	۰/۷۲۱**								
پراکسیداز	۰/۱۵۳	۰/۲۶۸	۰/۱۹۲	۰/۱۳۰							
پلی‌فنل اکسیداز	-۰/۰۲۲	-۰/۰۷۹	-۰/۰۵	۰/۰۶۷				-۰/۱۱۷			
کاتالاز	-۰/۱۱۸	۰/۰۰۸	-۰/۰۴۶	-۰/۰۱۰				-۰/۲۸۹*	-۰/۳۸۹**		
پروتئین	-۰/۰۲۶	۰/۰۷۵	۰/۰۰۶	۰/۰۸۱				۰/۴۸۴**	۰/۳۰۲*		
											۰/۵۴۹**

**: معنی‌دار در سطح ۵ و ۱ درصد.

زیادی با نتایج مطالعات قبلی هم خوانی دارد (Jabbari et al., 2006; Ebrahimi et al., 2009). نمایش بای‌پلات بر اساس دو مؤلفه (شکل ۱) اگرچه بیانگر تشابه بیشتر بین برخی از ژنوتیپ‌هایی که در تجزیه خوش‌های در یک گروه قرار گرفته‌اند می‌باشد، ولی در مجموع نشان می‌دهد که ژنوتیپ‌های مختلف از لحاظ دو مؤلفه قابل تفکیک از همدیگر نمی‌باشند.

جدول ۴- نتایج تجزیه به مؤلفه‌های اصلی روی ۸ صفت

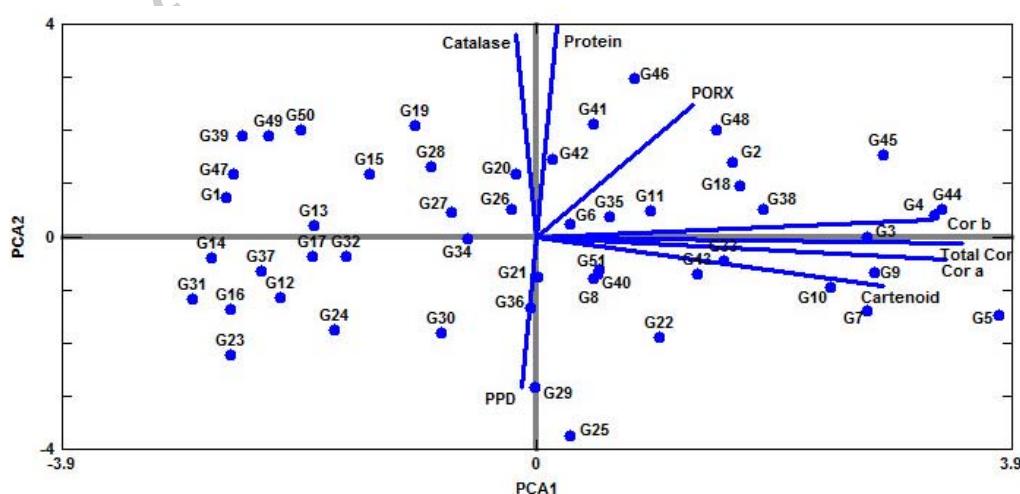
مختلف در *Ae. tauschii*

	PCA1	PCA2
مقدار ویژه	۳/۴۳	۲/۱۱
درصد واریانس	٪۴۲/۹	٪۲۶/۴
درصد واریانس تجمعی	٪۴۲/۹	٪۶۹/۳
بردار ویژه		
a کلروفیل	-۰/۵۱	-۰/۰۷
b کلروفیل	-۰/۴۹	۰/۰۴۱
کلروفیل کل	-۰/۵۲	-۰/۰۲۷
کاروتونوئید	-۰/۴۳	-۰/۱۰۸
پروتئین	-۰/۰۲۵	۰/۵۷۸
پراکسیداز	-۰/۱۵۵	۰/۴۲۱
کاتالاز	۰/۰۲۳	۰/۰۵۵
پلی‌فنل اکسیداز	۰/۰۲۶	-۰/۴۰۲

تجزیه خوش‌های

به منظور گروه‌بندی ژنوتیپ‌ها بر اساس صفات مورد بررسی، از تجزیه خوش‌هایی به روش UPGMA استفاده گردید. به طور کلی هدف از گروه‌بندی مشخص نمودن ژنوتیپ‌های است که با یکدیگر بیشترین فاصله را دارا

همانطور که از جدول ۴ بر می‌آید بیشترین تغییرات موجود در بین داده‌ها توسط دو مؤلفه اول توجیه می‌شوند (٪۶۹/۳). استفاده از این دو مؤلفه و چشم‌پوشی از سایر مؤلفه‌ها تنها موجب از رفتن بخش ناچیزی از تغییرات شد. تفسیر نتایج بر اساس دو مؤلفه اول و دوم دارایی کارایی بالایی می‌باشد به این لحاظ ترسیم بای‌پلات (شکل ۱) براساس دو مؤلفه فوق صورت گرفت. در این بررسی اولین مؤلفه ۴۲/۹ درصد از تغییرات کل داده‌ها را توجیه نمود و همبستگی بالایی را با شاخص رنگیزه (صفات کلروفیل a, b، کلروفیل کل و کارتنوئید) نشان داد. از آنجا که مقادیر بالای این صفات برای ما مطلوب است و با توجه به رابطه مثبت مؤلفه اول با این صفات اگر میزان بالای آن را انتخاب نماییم ژنوتیپ‌های را برمی‌گزینیم که دارای عملکرد و ظرفیت منبع بالایی می‌باشند، از این رو آن را مؤلفه پتانسیل عملکرد نام می‌گذاریم. از طرف دیگر مؤلفه دوم (جدول ۴) این تغییرات موجود را به خود اختصاص داد (Jabbari et al., 2006; Frank et al., 1962) بر اینکه در اکثر پژوهش‌ها (Alisoltani et al., 2010, Jabbari et al., 2006; Frank et al., 1962) نقش بسزای این صفات در مقاومت به تنش تأکید شده است در نتیجه این مؤلفه را، شاید بتوان مؤلفه مقاومت به شرایط تنش نام‌گذاری کرد و انتخاب مقادیر بالای این عامل احتمالاً نشان‌دهنده انتخاب ژنوتیپ‌ها دارای مقاومت بالا به شرایط تنش می‌باشد. این نتایج تا حد



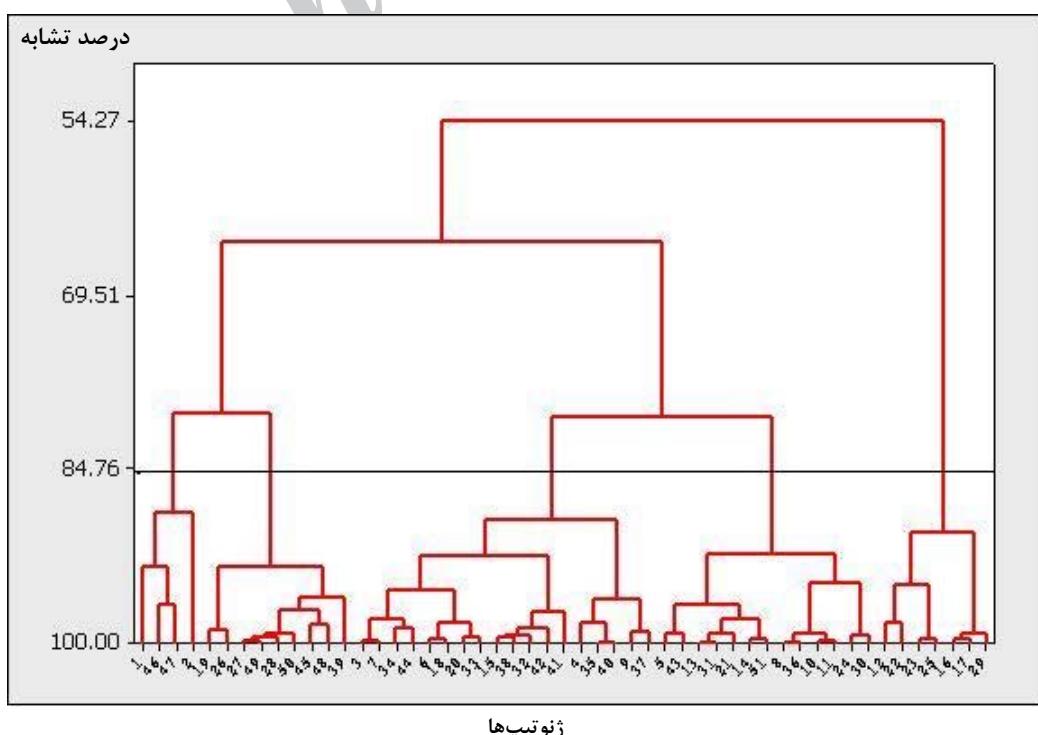
شکل ۱- ترسیم گرافیکی بای‌پلات بر اساس مؤلفه اول و دوم برای ژنوتیپ‌های مورد مطالعه *Ae. tauschii*

تشابه بسیار کمی وجود دارد. با توجه به اینکه در گروه‌بندی توسط تجزیه خوشای از ۱۰۰ درصد تغییرات برای گروه‌بندی افراد استفاده می‌شود پس این نوع تجزیه برای گروه‌بندی نمونه‌های مورد مطالعه توصیه می‌شود.

نتیجه‌گیری کلی

در مجموع این تحقیق نشان داد که تنوع قابل ملاحظه‌ایی بین ژنوتیپ‌های آجیلوپس از نظر ۸ صفت بیوشیمیایی مذکور وجود دارد. برخی از ژنوتیپ‌ها (بخصوص ژنوتیپ‌هایی که در تجزیه خوشای در گروه سوم و اول قرار گرفته‌اند) دارای مقادیر قابل ملاحظه‌ای از صفات مذکور هم نسبت به دیگر ژنوتیپ‌ها و هم نسبت به شاهد زراعی از خود نشان دادند. با توجه به اینکه تحمل به تنش‌ها توسط کمپلکس چند ژنی کنترل می‌شود دستورزی و انتقال این ژن‌ها بسیار مشکل به نظر می‌رسد چون این صفات بصورت کمی بوده و تنها قسمتی از پاسخ‌های چند ژنی در شرایط تنش قابل شناسایی است و باید از بررسی همزمان پارامترهای زراعی و فیزیولوژیکی در مراحل مختلف رشدی استفاده کرد. اگرچه نمی‌توان این صفات را بعنوان جایگزینی برای صفت عملکرد تلقی کرد و نیاز به مطالعات بیشتر

می‌باشد تا در برنامه دورگ‌گیری از آنها استفاده شود و تنوع لازم را جهت برنامه‌های اصلاحی فراهم آورد. همچنین با دسته بندی افراد در گروه‌های مشابه می‌توان از حجم کارهای اصلاحی کاسته و در هزینه‌ها و وقت صرفه جویی کرد. همانطور که در شکل ۲ ملاحظه می‌شود ۵۰ نمونه مورد مطالعه در پنج گروه اصلی تقسیم‌بندی شدند. بررسی ارتباط بین میانگین صفات اندازه‌گیری شده هر گروه با یکدیگر، نشان داد که ژنوتیپ‌هایی که در گروه سوم قرار گرفته‌اند از لحاظ میانگین محتوی رنگیزه‌های فتوسنترزی دارای بیشترین مقدار می‌باشد (جدول ۵) و همچنین ژنوتیپ‌هایی که در گروه اول قرار گرفته‌اند (ژنوتیپ‌های شماره ۱، ۴۶، ۴۷ و ۲) از لحاظ میانگین صفات پراکسیداز و پروتئین بیشترین مقدار را دارا می‌باشد (جدول ۵). این گروه‌بندی نشان می‌دهد که نمونه‌های مورد مطالعه از نظر صفات اندازه‌گیری شده بسیار متفاوت‌اند و حاکی از تنوع بسیار بالا بین ژنوتیپ‌های آجیلوپس می‌باشد که می‌توانند بعنوان منبع با ارزشی از صفات و ژن‌های مفید در پژوهش‌های اصلاحی به منظور بهبود خصوصیات کمی و کیفی نمونه‌های زراعی استفاده شوند. بین این گروه‌بندی و گروه‌بندی که توسط PCA صورت گرفته



شکل ۲- تجزیه خوشای ۵۰ نمونه آجیلوپس و رقم کوهدشت

جدول ۵- ارتباط بین میانگین گروه‌ها و خصوصیات بیوشیمیایی بررسی شده در نمونه‌های Ae. tauschii

صفت گروه	a بافت	b بافت	کلروفیل کل میلی گرم / اگرم بافت	کلروفیل کل میلی گرم / اگرم بافت	کاروتینید میلی گرم / اگرم بافت	پراکسیداز μmol Tet. min⁻¹ mg⁻¹ protein	پروتئین (میکرو گرم/میلی لیتر)	کاتالاز μmol H₂O₂ min⁻¹ mg⁻¹ protein	پلی فنل اکسیداز μmol Tet. min⁻¹ mg⁻¹ protein
۱	۰/۰۸۲۸	۰/۰۵۲۳	۰/۱۳۵۳	۰/۰۲۷۳	۰/۰۹۴۳	۷۶/۶۰۷۵	۰/۰۵۸۰	۰/۰۰۴۶	
۲	۰/۱۰۶۴	۰/۰۴۹۱	۰/۱۵۲۶	۰/۰۲۶۳	۰/۰۸۵۶	۸۵/۵۱۴۴	۰/۰۶۵۹	۰/۰۰۳۸	
۳	۰/۱۷۳۳	۰/۰۸۵۶	۰/۲۶۵۴	۰/۰۳۹۱	۰/۰۸۲۷	۵۴/۲۵۴۴	۰/۰۴۵۱	۰/۰۰۴۰	
۴	۰/۱۳۲۲	۰/۰۵۹۸	۰/۱۹۷۴	۰/۰۳۹۳	۰/۰۶۶۷	۴۳/۳۳۰۰	۰/۰۳۸۰	۰/۰۰۴۵	
۵	۰/۰۹۱۵	۰/۰۳۴۹	۰/۱۲۱۶	۰/۰۳۱۹	۰/۰۴۷۴	۳۰/۳۰۷۱	۰/۰۳۰۶	۰/۰۰۵۰	

نظرفعایت آنزیم‌ها و محتوای کلروفیل مقادیر بالاتری را به خود اختصاص داده‌اند (زنوتیپ‌های گروه اول و سوم در تجزیه کلاستر) را معروفی می‌کند که می‌توانند به عنوان یک منبع ژنتیکی جدید جهت غنی سازی منابع ژنتیکی گندم نان و همچنین در برنامه‌های اصلاحی مربوطه به کار برده شوند. در آخر یادآور می‌گردد که لازم است زنوتیپ‌های برتر معرفی شده در این آزمایش در آزمایش دیگری تحت شرایط تنفس نیز مورد بررسی قرار گیرند تا بتوان با قطعیت بیشتر راجع به این زنوتیپ‌ها و صفات بررسی شده نظر داد.

سپاسگزاری

از معاونت پژوهشی دانشکده علوم و مهندسی کشاورزی دانشگاه تهران بخاطر تأمین هزینه طرح و همچنین از مؤسسه تحقیقات اصلاح و نهال بذر کرج به خاطر در اختیار گذاردن بذر مورد نیاز تشکر قدردانی می‌گردد.

در این زمینه می‌باشد، اما از آنجا که برخی منابع نشان داده‌اند که محتوی کلروفیل و کاروتینید با عملکرد دارای همبستگی معنی‌داری می‌باشند، می‌توان از این صفات در روش‌های انتخاب غیرمستقیم برای انتخاب اولیه بهره برد. برخی از منابع همچنین به بالا بودن میزان کاتالاز در ارقام مقاوم به تنفس اشاره کرده‌اند، که به نظر می‌رسد می‌توان به کمک روش‌های اصلاح کلاسیک و تلاقی بین گونه‌های وحشی با اهلی (ارقام زراعی)، این صفات را در ارقام زراعی بهبود بخشید. همچنین با توجه به اهمیت تولید گندم و تاثیر تنفس‌ها در کاهش عملکرد این محصول به نظر می‌رسد مطالعه اثرات تنفس‌ها، شناسایی مکانیزم‌های فیزیولوژیکی و شاخص‌های قابل انتخاب فعالیت ژن با هدف بهبود و توسعه روش‌های غربال کردن جهت شناسایی تغییرات ژنتیکی درگیر در افزایش تحمل به تنفس‌ها برای شناسایی منابع ژنتیکی جدید تحمل به تنفس می‌تواند مورد استفاده قرار گیرند. در مجموع این پژوهش زنوتیپ‌های وحشی بخصوص زنوتیپ‌هایی که از

REFERENCES

1. Aebi, H. (1984). Catalase in vitro. *Meth Enzymol*, 105, 121-126.
2. Ali-soltani, A., Ebrahimi, A., Moradisarabshelli, A., Ghareh mahmoudlu, M., Alizadeh, H. & Mahfouzi, S. (2010). Analysis of Proxidase, Polyphenol oxidase and Catalase in two spring and winter wheat varieties under short and long term cold acclimation. In: Proceeding of the 11th Iranian Crop Science Congress. Vol. 2: Crop Breeding
3. Appels, R. & Lagudah, E. S. (1990). Manipulation of chromosome segments from wild wheat for the improvement of bread wheat. *Plant Physiol*, 17, 253-266.
4. Arnon, D. T. (1949). Copper enzymes in isolation chloroplast phenoloxidase in *Beta vulgaris*. *Plant Physiol*, 24, 1-15.
5. Asada, K. (1994). Production and action of active oxygen species in photosynthetic tissues. In: foyer C. and P.M. Mullineaux. (Eds), *Cuses of photooxidative stress and amelioration of defense systems in plants*. (pp. 77-100). CRC press, Boca Ranton, London.
6. Bowler, C., Van Montagu, M. & Lenz, D. (1992). Superoxide dismutase and biosensor approach for monitoring polyphenol oxidase (PPO) activity of stress tolerance. *Ann Rev Plant Physiol*, 43, 83-116.
7. Bradford, M. (1976). A rapid and sensitive method for the quantitation of micro gram quantities of protein utilizing the principle of competitive inhibition. *Anal Biochem*, 72, 248-254.

- protein utilizing the principle of protein dye binding. *Analyt Biochem*, 72, 248-254.
8. Chance, A. & Maehly, A. C. (1955). Assay of catalases and peroxidase. *Meth Enzymol*, 2, 764-775.
 9. Chang, C. J. & Koa, C. H. (1988). H_2O_2 metabolism during senescence of rice leaves changes in enzyme activities in light and darkness. *Plant Growth Regulation*, 25, 11-15.
 10. Chowdhury, S. R. & Choudhuri, M. A. (1985). Hydrogen peroxide metabolism as an index of water stress tolerance in jute. *Physiol Plant*, 65, 503-507.
 11. Dat, J. F., Lopez-Delgado H., Foyer, C. H. & Scott, I. M. (1998). Parallel changes in H_2O_2 and catalase during thermo tolerance induced by salicylic acid or heat acclimation in mustard seedling. *Plant Physiol*, 116, 1150-1157.
 12. Ebrahimi, A., Naghavi, M. R. & Sabokdast, M. (2009). Evaluation and Comparision of Chlorophyll Content, Carotenoid, Protein and Enzyme in Differents Barley Species Native in Iran. *Iranian Journal of Crop Science*, 41(1), 57-65. (In Farsi)
 13. Egley, G. H., Paul, R. N., Vaughn, K. C. & Duke, S. O. (1983). Role of peroxidase in the development of water impermeable seed coats in *Sida spinosa* L. *Planta*, 157, 224-232.
 14. Enferad, A., Poustini, K., Majnoon Hosseini, N., Taleei, A. & Khajeh-Ahmadi-Attari, A. (2004). Physiological responses of Rapeseed (*Brassica napus* L.) varieties to salinity stress in vegetative growth phase. *Journal of Science and Technology of Agriculture and Natural Resources*, 4(7), 103-114. (In Farsi)
 15. Evans, J. R. (1983). Nitrogen and photosynthesis in the flag leaf of wheat (*Triticum aestivum* L.). *Plant Physiology*, 72, 297-302.
 16. Fischer, R. A. (2001). Selection trait for improving yield potential in: Reynolds, M.P, Ortiz-Monasterio, J. I., McNab, A. (Eds.). *Application of physiology in wheat breeding*. D.F.CIMMYT, Mexico, pp.148-159.
 17. Frank, G. L. & Kiraly, Z. (1962). Role of phenolic compound in the physiology of plant diseases and disease. *Z*, 44, 105-150.
 18. Grace, S. & Logan, B. A. (2000). Energy dissipation and radical scavenging by the phenyl propanoid pathway. *Philosophical Transaction of the Royal Society of London B*, 355, 1499-1510.
 19. Herzog, H. (1986). *Source and sink during the reproductive period of wheat development and its regulation with special reference to cytokinins*. Paul parey scientific publishers, Berlin and Hamburg.
 20. Hesketh, J. D., Orgen, W. L., Hageman, M. E. & Peters, D. B. (1981). Correlation among leaf CO₂-exchange rates, areas and enzyme activities among soybean cultivars. *Photosynth Res*, 2, 21-30.
 21. Hopkins, W. G. (1999). *Introduction to Plant Physiology*. Pp: 636.
 22. Hustee, R. & Van, V. (1987). Some molecular aspects of plant peroxidase bio synthetic studies. *Annu Rev Plant Physiology*, 38, 205-219.
 23. Jabari, F., Ahmadi, A., Poustini, K. & Alizadeh, H. (2006). Relationship between some antioxidant enzymes activities and cell membrane and chlorophyll stability in drought-tolerant and susceptible wheat cultivars. *Iranian Journal of Agricultural Sciences*, 2(37), 307-316. (In Farsi)
 24. Jagtab, V. & Bharagava, S. (1995). Variation in antioxidant metabolism of drought tolerant and susceptible varieties of *Sorghum bicolor*. Exposed to high light, low water and high temperature stress. *J Plant Physiol*, 145, 195-197.
 25. Jalali Javarani, M., Hashemzadeh, H. & Mousavi, A. (2004). Qualitative and quantitative variation in protein, chlorophyll and carotenoid contents in *Brassica napus* transformed by antisense Glutamine synthetase. *Journal of Science and Technology of Agriculture and Natural Resources*, 2(8), 107-120. (In Farsi)
 26. Jiang, Y. & Huang, B. (2001). Drought and heat stress injury to two cool-season turfgrasses in relation to anti oxidant metabolism and lipid peroxidation. *Crop Science*, 41, 436-442.
 27. Khanna-Chopra, R. & Selote, D. S. (2007). Acclimation to drought stress generates oxidative stress tolerance in drought-resistant than susceptible wheat cultivar under field conditions. *Environ and Exp Bot*, 60, 276-283.
 28. Limin, A. E. & Fowler, D. B. (1981). Cold hardiness of some relatives of hexaploid wheat. *Can J Bot*, 59, 572-573.
 29. McFadden, E. S. & Sears, E. R. (1946). The origin of *Triticum spelta* and its free threshing hexaploid relatives. *J Hered*, 37, 81-107.
 30. Mohammadi, M. & Kazemi, H. (2002). Changes in peroxidase and polyphenol oxidase activities in susceptible and resistance wheat heads inoculated with *fusarium graminearum* and induced resistance. *Plant Sci*, 162, 491-498.
 31. Omidbakhshfard, M. (2005). *Study of genetic diversity in durum wheat by SSR markers*. Ms.c. dissertation, University of Tehran, Iran (In Farsi).
 32. Orth, R. A. & Bushuk, W. (1973). Studies of glutenin: III. Identification of subunits coded by the D-

- genome and their relation to bread making quality. *Cereal Chem*, 50, 80-687.
33. Patpour, M., Mohammadi, M., Torabi, M. & Sharifi-tehrani, A. (2000). Peroxidase specific activity pattern in resistant and susceptible barley inoculated with *Erysiphe graminis* f.sp. *hordei*, the causal agent of Powdery Mildew disease. *Iranian Journal of Agricultural Sciences*, 2(31), 415-426. (In Farsi).
 34. Pickering, R. A., Steffenson, B. J. & Hill, A. M. (1998). Association of leaf rust and powdery mildew resistance in recombinant derived from a *Hordeum vulgare*×*Hordeum bulbosum* hybrid. *Plant Breeding*, 117, 83-84.
 35. Reddy, A. R., Chaitanya, K. V. & Vivekanandan, M. V. (2004). Drought-induced responses of photosynthesis and antioxidant metabolism in higher plants. *J Plant Physiol*, 161, 1189-1202.
 36. Rahnama, A. (2009). *Evaluation of same physiological mechanisms of salt tolerance in seven wheat (*Triticum aestivum L.*) cultivars*. Thesis of Ph. D., University of Tehran, Iran. (In Farsi).
 37. Reynolds, M. P., Balota, M., Delgado, M. I. B., Amani, I. & Fischer, R. A. (1994). Physiological and genetic changes of irrigated wheat in the post-green revolution period and approaches for meeting projected global demand. *Crop Science*, 39, 1611-1621.
 38. Sairam, R. K., Shukla, D. S. & Saxena, D. C. (1998). Effects of elevated temperature on oxidative stress and antioxidant activity in wheat genotypes. Possible mechanism of heat stress tolerance. *Biol Planta*, 43, 245-251.
 39. Satorre, E. H. & Slafer G. A. (1999). *Wheat: ecology and physiology of yield determination*. The Haworth press New York, 503p.
 40. Scalet, M., Federice, R., Guido, M. C. & Manes, F. (1995). Peroxidase activity and polyamine changes in response to ozon and simulated acid rain in Aleppo pine needls. *Environ Exp Bot*, 35, 417-425.
 41. Schachtman, D. P., Lagudah, E. S. & Munns, R. (1992). The expression of salt tolerance from *Triticum tauschii* to hexaploid wheat. *Theor Appl Genet*, 84, 714-719.
 42. Schmitz, G., Sullivan, M. & Hatfield, R. (2008). Three polyphenol oxidases from Red clover (*Trifolium pratense*) differ in enzymatic activities and activation properties. *J Agric Food Chem*, 56, 272-280.
 43. Singh, N., Singh, R., Kulwinder, K. & Singh, H. (1999). Studies of the physico-chemical properties and polyphenoloxidase activity in seeds from hybrid sunower (*Helianthus annuus*) varieties grown in India. *Food Chemistry*, 66, 241-247.
 44. SPSS Inc. (2001). *SPSS 11.0 for Windows*, USA, Inc. (<http://www.spss.com>)
 45. Srivalli, B., Sharma, G. & Khanna-Chopra, R. (2003). Antioxidative defense system in an upland rice cultivar subjected to increasing intensity of water stress following by recovery. *Physiol Planta*, 119, 503-512.
 46. Stahmann, M. A. & Demorest, D. M. (1973). *Changes in enzyme of host pathogen with special reference to peroxidase interaction*. Academic Press, New York. 405-422.
 47. Takahama, U. & Oniki, T. (1997). A peroxide/phenolics/ascorbate system can scavenge hydrogen peroxide in plant cells. *Physiol Planta*, 101, 845-852.
 48. Tavakoli, A. (2008). *Response of antioxidant system components to drought stress in drought resistant and susceptible cultivars of wheat (*Triticum aestivum L.*)*. Ph.D. dissertation. Tehran University, Iran. (In Farsi).
 49. Zhang, J. & Kirkham, M. B. (1994). Drought-stress-induced changes activities of superoxide dismutase, catalase and peroxidase in wheat species. *Plant Cell Physiol*, 35, 785-791.