

ارزیابی برخی از پاسخ‌های فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی ارقام مختلف گندم دیم تحت تیمارهای آبیاری تکمیلی

سه‌حده رحمة رشید^{۱*}، علی احمدی^{۱*}، عادل سی‌وسه‌مرده^۲ و محمدرضا جهانسوز^۱
۱. دانشجوی سابق دکتری فیزیولوژی گیاهان زراعی و استادان، گروه زراعت و اصلاح نباتات، پردیس کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه تهران
۲. دانشیار گروه زراعت و اصلاح نباتات دانشکده کشاورزی دانشگاه کردستان ۳- عضو هیئت علمی گروه باغبانی و فضای سبز دانشکده علوم تکنیکی حلبچه، دانشگاه پلی تکنیک سلیمانیه
(تاریخ دریافت: ۹۷/۰۲/۰۳ - تاریخ پذیرش: ۹۷/۰۴/۳۰)

چکیده

تنش خشکی یکی از عوامل اصلی کاهش تولید محصولات زراعی است. به منظور شناسایی مناسب‌ترین زمان آبیاری تکمیلی در گندم و همچنین شناخت فرآیندهای فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی مرتبط با تحمل به خشکی، آزمایشی بر روی ۷ رقم گندم به صورت اسپلیت پلات در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی با ۳ تکرار تحت شرایط آبیاری تکمیلی به ترتیب در مراحل ساقه‌دهی، غلاف‌رفتن، گلدهی و شرایط بدون آبیاری (دیم) در دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه کردستان واقع در دشت دهگلان، در دو سال متوالی ۱۳۹۳ و ۱۳۹۴ کشت و اجرا گردید. در این پژوهش، میزان پراکسید هیدروژن (H_2O_2) مالون-دی‌آلدید (MDA)، میزان پروتئین کل و فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان کاتالاز (CAT)، آسکوربات پراکسیداز (APX) و سوپر اکسید دیسموتاز (SOD) اندازه‌گیری شد. نتایج تجزیه واریانس نشان داد که در اکثر صفات، بین ارقام و آبیاری تکمیلی اثر متقابل معنی‌داری وجود داشت. بر اساس نتایج، آبیاری تکمیلی منجر به کاهش میزان H_2O_2 نسبت به تیمار شاهد شد. بیشترین میزان H_2O_2 و MDA به ترتیب، مربوط به ارقام آراس، ابوغریب و تموز و کمترین میزان آنها را رقم آذر ۲ به خود اختصاص داد. اعمال آبیاری تکمیلی در مراحل مختلف ساقه‌دهی، غلاف‌رفتن و گلدهی سبب افزایش میزان پروتئین کل (به استثنای رقم آراس)، فعالیت آنزیم SOD و CAT در تمامی ارقام و همچنین فعالیت آنزیم APX در ارقام آکساد ۶۵، رزگاری سمیتو و آذر ۲ شد. بر اساس نتایج می‌توان اظهار داشت که ارقام آذر ۲، رزگاری و آکساد ۶۵ با آبیاری تکمیلی در مرحله گلدهی توانستند با تنظیم مکانیسم‌های دفاعی خود و از این طریق با صرف انرژی کمتری نسبت به شاهد، شرایط موجود را کنترل کنند.

واژه‌های کلیدی: آبیاری تکمیلی، ارقام گندم، آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان، تنش خشکی.

Evaluation of some physiological and biochemical responses of different wheat cultivars under supplementary irrigation treatments

Sahar Hamarashid^{1,3}, Ali Ahmadi^{1*}, Adel Siosemarde² & Mohammad Reza Jahansouz¹
1. Ph.D. Student in Crop Physiology and Professors, Department of Field Crop Science, University College of Agriculture and Natural Resources, University of Tehran, Karaj, Iran
2. Associate Professor, Department of Field Crop Science, College of Agriculture, University of Kurdistan, Sanandij, Iran. 3- Sulaimany Polytechnic University, College of Applied Science, Dept. of Horticulture and Landscape Design, Iraq
(Received: April 23, 2018 - Accepted: July 21, 2018)

ABSTRACT

Drought stress is one of the most important factors in reduction of crops production. An experiment was conducted on 7 cultivars of wheat in randomized complete-block and split plot design with three replications in order to detect the tolerant cultivars against drought stress also Assessment the physiological and biochemical processes associated with drought tolerance to optimize the supplementary irrigation time. The mentioned experiments were performed under supplementary irrigation conditions at the stemming, boating and flowering steps also under non-irrigated condition. The experiments were done in two consecutive years (1394 and 1395) at Dehghan field, depending on Faculty of Agriculture and Natural Resources, Kurdistan University. In the present study, peroxide-malondialdehyde level (MDA), total protein content, and the activity of catalase, ascorbate peroxidase, guaiacol peroxidase and superoxide dismutase were measured. Based on the results, a significant interaction was measured, in the most of attributes, between cultivar and supplementary irrigation. Compared to the control sample, Supplementary irrigation leads to decrease H_2O_2 content. The maximum values of H_2O_2 and MDA were measured for Aras, Abu Ghraib and Tamuz cultivars, respectively while the minimum values of them were obtained for Azar-2. Curiously, supplementary irrigation caused to increase the activity of catalase, and superoxide dismutase for all cultivars also total protein content (except Aras cultivar) and ascorbate peroxidase (just

* Corresponding author E-mail: ahmadia@ut.ac.ir

for Axad 65, Rezgari, Smito and Azar-2 cultivars). According to the results, Axad 65, Rezgari, and Azar-2 cultivars in flowering stage could control exist conditions, with less energy consumption, through regulation and optimization their defense mechanisms.

Keywords: Supplementary irrigation, wheat cultivars, Antioxidant enzymes, Drought stress.

مقدمه

گیاهان در محل استقرار خود ثابت و بی‌تحرك هستند؛ به همین دلیل نیازمند مکانیسم‌های انطباقی برای زنده ماندن تحت تنش‌های محیطی هستند. همچنین از نظر میزان حساسیت به تنش‌های محیطی و به‌ویژه در مورد خشکی، درجات مختلفی از تحمل را نشان می‌دهند. تحمل تنش عبارتست از توانایی گیاه در مقابل تنش آبی که با اندازه‌گیری میزان و مدت زمان پتانسیل کم آب در گیاه مشخص می‌گردد. تحمل به خشکی مکانیزم دیگری است که اغلب در نوشته‌ها به آن اشاره می‌گردد، اما استفاده از آن توسط به‌نژادگرها مشکل است. اغلب ممکن است این‌طور تصور گردد زمانی که گیاه در واقع از تنش آبی در حال لطمه دیدن است، همزمان ظرفیت تحمل خود به تنش را نیز آشکار می‌سازد. تحمل تنش خشکی یک پدیده پیچیده است، که شماری از فرایندهای فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی در دو سطح یاخته و کل موجود زنده، در مراحل متفاوتی از نمو گیاه در آن نقش دارند. سازوکارهایی مانند کاهش از دست‌دادن آب با افزایش مقاومت روزنه‌ای، افزایش جذب آب با توسعه دادن سیستم ریشه‌ای و انباشته کردن اسمولیت‌ها، برخی از این فرایندها هستند (Rampino et al., 2006). از دیگر راهکارهایی که گیاه در هنگام مواجه شدن با تنش پسایدگی به‌کار می‌گیرد، می‌توان به تثبیت دیواره یاخته، تولید ترکیبات آنتی‌اکسیدان و تولید اسمولیت‌های سازگار اشاره کرد (Blum, 2011). کاربرد مقدار محدود آب در گیاهان زراعی در زمان نبود بارندگی، به‌منظور تامین آب کافی برای رشد گیاه و در نتیجه افزایش و ثبات عملکرد را آبیاری تکمیلی می‌گویند. که این مقدار آب به‌تنهایی برای تولید گیاه زراعی کافی نبوده و لازم است از آب باران به‌همراه کاربرد آبیاری تکمیلی استفاده شود (Oweis & Hachum, 2006). برخی سال‌ها، به‌علت کمبود بارندگی، سطوح زیادی از زراعت‌های دیم، قابل برداشت نبوده و یا عملکرد پایینی

دارند که استفاده از آبیاری تکمیلی می‌تواند عملکرد و پایداری محصولات را بهبود ببخشد (Tavakkoli & Owise, 2002). برای مثال در غرب آسیا و شمال آفریقا برحسب میزان و نحوه پراکنش باران و سایر عوامل زراعی از جمله حاصلخیزی خاک و نوع رشد گیاه، محدوده تغییر عملکرد دانه از ۰/۵ تا ۲ تن در هکتار متغیر می‌باشد؛ این در حالیست که پتانسیل عملکرد گندم در این مناطق به ۴ تا ۵ تن در هکتار می‌رسد که در چنین شرایطی، انجام آبیاری تکمیلی می‌تواند با استفاده از مقدار محدودی آب در مراحل بحرانی رشد گیاه، باعث بهبود قابل‌ملاحظه عملکرد گندم شود (Oweis & Hachum, 2006). نتایج تحقیقات در سوریه حاکی از کاربرد ۴۰ درصدی آبیاری تکمیلی در دیم‌زارهای این کشور دارد (Oweis et al., 1998). همچنین در ترکیه گزارش شده است که آبیاری تکمیلی باعث افزایش قابل-توجهی در عملکرد گندم شده است؛ به‌طوری‌که عملکرد گندم دیم از ۰/۹ به ۲/۵ تن در هکتار رسیده است (Tenkinel & Ozekici, 1992). از مهم‌ترین تغییرات بیوشیمیایی در گیاهان در معرض تنش خشکی می‌توان به تولید مولکول‌های اکسیدکننده‌ای اشاره کرد که عامل اصلی خسارت در درون سلول می-باشند؛ به این ترکیبات گونه‌های فعال اکسیژن (ROS) می‌گویند که باعث خسارت به ماکرومولکول‌ها و اندامک‌های سلولی می‌شوند. ROSها فعالیت‌های تنفسی در میتوکندری و توانایی تثبیت دی‌اکسید-کربن در کلروپلاست را کاهش و نشت الکترولیت‌ها از سلول را افزایش می‌دهند. ROSها همچنین با اکسیداسیون آمینواسیدها در پروتئین‌ها و اکسیداسیون کوفاکتور متصل به آنها موجب غیرفعال شدن بعضی از آنزیم‌های خاص می‌شوند؛ به قندها و بازهای سازنده مولکول DNA خسارت وارد کرده و باعث حذف شدن بازها، ایجاد موتاسیون و اثرات مختلف ژنتیکی می‌شوند و نهایتاً با تخریب رنگدانه‌ها و دیگر ماکرو مولکول‌های حیاتی گیاه و همچنین

ارقام مورد کشت در مناطق خشک از لحاظ ویژگی‌های مورفولوژیکی و فیزیولوژیکی مورد مطالعه قرار گیرند و پتانسیل ارقام و تحمل به خشکی آنها در شرایط متفاوت رطوبتی تعیین شود؛ بنابراین این تحقیق با هدف بررسی تعیین برخی مکانیسم‌های پاسخ ارقام مختلف گندم به تعیین رطوبت در دوره‌های بحرانی رشد صورت گرفته است.

مواد و روش‌ها

این تحقیق در دو سال زراعی ۹۴-۱۳۹۳ در مزرعه تحقیقاتی دانشگاه کردستان در شهرستان دهگلان با مختصات ۴۷/۱۸ درجه شرقی و ۳۵/۱۸ درجه شمالی با ارتفاع ۱۸۶۶ متر از سطح دریا واقع در ۴۵ کیلومتری شرق شهرستان سنندج، به صورت کرت‌های خرد شده در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی با سه تکرار به اجرا در آمد. رژیم‌های رطوبتی در کرت اصلی و ارقام در کرت‌های فرعی قرار گرفتند. رژیم‌های رطوبتی عبارت بودند از: شرایط دیم (بدون آبیاری)، آبیاری تکمیلی در زمان ساقه‌دهی، آبیاری تکمیلی در مرحله غلاف‌رفتن (booting) و آبیاری تکمیلی در اواخر گلدهی و ارقام مورد مطالعه نیز عبارت بودند از ۶ رقم از اقلیم کردستان عراق همراه با رقم آذر ۲ به عنوان شاهد (۷ رقم). زمین آزمایشی پس از شخم‌زنی، به وسیله دیسک و ماله‌زنی یکنواخت شد. فاصله بین تکرارها دو متر، اندازه هر کرت اصلی ۶ × ۸،۴۰ متر، فاصله بین کرت‌های اصلی دو متر، اندازه هر کرت فرعی ۶ × ۱ متر و فاصله بین هر کرت فرعی ۴۰ سانتی‌متر و در هر کرت شش ردیف کشت با فاصله ۲۰ سانتی‌متر لحاظ شد. برای تعیین خصوصیات فیزیکی و شیمیایی خاک مزرعه، قبل از کشت از شش نقطه مختلف زمین و به‌طور تصادفی از عمق ۰ تا ۳۰ سانتی‌متری خاک نمونه‌برداری انجام شد. نمونه‌ها در آزمایشگاه خاک‌شناسی مورد تجزیه قرار گرفت و نتایج آن در جدول (۱) آمده است. پس از عملیات آماده‌سازی زمین، بذور با قارچ‌کش ضدعفونی شدند و عملیات کاشت با تراکم ۳۵۰ بذر در مترمربع انجام شد. نمونه‌برداری از

خسارت در سیستم فتوسنتزی و تنفس گیاه باعث کاهش عملکرد می‌شوند (Gill & Tuteja, 2010; Huang et al., 2012). گیاهان برای مقابله با تنش اکسیداسیونی ایجاد شده، دارای سیستم دفاعی با کارایی بالایی هستند که می‌تواند رادیکال‌های آزاد را از بین برده و یا خنثی کنند. این سیستم دفاعی شامل SOD، CAT، APX و گلوکاتایون‌ردوکتاز (GR) است و سیستم غیر آنزیمی شامل اسکوربات، توکوفرول، کاروتنوئیدها و ترکیبات متفرقه (از جمله فلاونوئیدها، مانیتول‌ها و پلی‌فنل‌ها) می‌باشند (Blokhin et al., 2003). تحقیقات مختلف نشان داده است که یک ارتباط قوی بین تحمل به تنش‌های اکسیداسیونی که به دلیل تنش‌های محیطی ایجاد می‌شود و افزایش در غلظت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان در گیاهان فتوسنتز-کننده وجود دارد (Sairam & Saxena, 2000). محققین نشان داده‌اند که غلظت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان در شرایط تنش دو برابر شده و لذا باعث افزایش مقاومت به تنش‌های اکسیداتیو می‌شوند و از طرفی تنش خشکی نیز میزان فعالیت آنزیم گلوکاتایون-ردوکتاز و سوپر اکسید دیسموتاز را افزایش می‌دهد (Lascano, 2005). (Sgherri et al., 2000) نیز با قرار دادن گیاهچه‌های دو رقم گندم در معرض تنش خشکی، گزارش کردند که رقم مقاوم به تنش، از فعالیت بالاتر آنزیم اسکوربات‌پراکسیداز در مقایسه با رقم حساس برخوردار بود. با توجه به محدودیت‌های جدی در بروز تنش خشکی و محدودیت جدی منابع آب آبیاری کشور، یکی از راه‌های مهم دستیابی به عملکرد بالاتر، شناسایی و کشت ارقام سازگار با شرایط موجود و شناخت فیزیولوژی و پاسخ گیاهان به تنش می‌باشد که می‌تواند کمک شایانی در تولید ارقام متحمل کند. در همین راستا انجام آزمایش‌های فیزیولوژیکی جهت درک مکانیسم‌های دخیل در تحمل به خشکی ضروری می‌باشد. با توجه به نقش ویژه پروتئین‌ها و آنزیم‌های دفاعی در پاسخ و تحمل به تنش خشکی، بررسی تغییر فعالیت آنها می‌تواند دیدگاه عمیق‌تری از مجموعه پیچیده فرآیند پاسخ به تنش خشکی ایجاد کند. بدین منظور ضروری است

پیچیده شده و بلافاصله در نیتروژن مایع به فریزر ۸۰- درجه سانتی‌گراد منتقل شدند.

تیمارهای مختلف در پایان مرحله گلدهی از برگ پرچم صورت گرفت. نمونه‌های برگ در داخل فویل

Table 1. Physical and chemical properties of the soil at the experimental site (depth of 0–30 cm)

| Soil texture | | | Organic compound (%) | EC (ds.m ⁻¹) | pH | Br (mg/kg) | Fe (mg/kg) | Zn (mg/kg) | K (mg/kg) | P (mg/kg) |
|--------------|----------|----------|----------------------|--------------------------|------|------------|------------|------------|-----------|-----------|
| Sand (%) | Silt (%) | Clay (%) | | | | | | | | |
| 14.2 | 38.4 | 47.4 | 0.76 | 0.49 | 7.62 | 0.7 | 2.20 | 0.8 | 320 | 12.4 |

(Bradford, 1976) تعیین شد. اندازه‌گیری فعالیت سوپر اکسید دیسموتاز طبق روش (Beyer & Fridovich, 1987) انجام شد. فعالیت این آنزیم به صورت فتومتریک بررسی شد. بافر اصلی واکنش شامل بافر فسفات (pH=7/8) ۱۰۰ میلی‌مولار، متیونین ۱۲ میلی‌مولار، نیتروبلو تترازولیوم ۷۵ میکرومولار EDTA، ۱۰۰ میکرومولار و تراپتون ایکس-۱۰۰ (۰/۲۵ درصد) بود. از بافر اصلی به هر چاهک به میزان ۲۹۰ میکرولیتر اضافه شد. سپس از بافر ریبوفلاوین ۲ میکرومولار به میزان ۵ میکرولیتر به مخلوط واکنش اضافه شد و دستگاه روی طول موج ۵۶۰ nm کالیبره شد. برای سنجش هر نمونه ۱۰ میکرولیتر از عصاره پروتئینی استفاده شد. این واکنش بر اساس میزان احیای نوری نیتروبلو تترازولیوم و توانایی آنزیم سوپراکسید دیسموتاز در ممانعت از این واکنش بررسی شد. میزان فعالیت آنزیم بر اساس واحد آنزیم در دقیقه در میلی‌گرم پروتئین محاسبه شد. فعالیت آنزیم کاتالاز در دمای ۲۵ درجه سانتی-گراد با استفاده از دستگاه اسپکتروفوتومتر (Shimadzu UV-160) به روش (Scebba et al., 1998) اندازه‌گیری شد. مواد استفاده‌شده شامل ۳۰۰۰ میکرولیتر بافر فسفات پتاسیم (pH=7) ۵۰ میلی-مولار، ۵ میکرولیتر پراکسید هیدروژن ۳/۴۱ مولار و ۱۰۰ میکرولیتر عصاره آنزیم بوده و فعالیت آنزیم بر اساس میکرومول پراکسید هیدروژن تجزیه شده در دقیقه در میلی‌گرم پروتئین محاسبه شد. فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد با استفاده از دستگاه اسپکتروفوتومتر (Shimadzu UV-160) به روش (Ranieri et al., 2003) اندازه‌گیری شد. مخلوط واکنش حاوی بافر فسفات پتاسیم

استخراج و اندازه‌گیری H₂O₂

استخراج H₂O₂ و سنجش آن در این آزمایش بر اساس روش (Loreto & Velikova, 2001) صورت گرفت. کلیه مراحل کار باید در محیط تاریک و اتاق سرد انجام شود. برای استخراج، ۰/۳۵ گرم نمونه‌های گیاهی تازه با نیتروژن مایع در هاون خرد شد تا به صورت پودر درآیند. پودر تهیه‌شده به فالكون ۱۵ میلی‌لیتری منتقل شده و مقدار ۵ میلی‌لیتر محلول اسیدتری کلرواستیک یک درصد (محلول در حمام یخ قرار داده شد) به آن اضافه شد. فالكون حاوی نمونه یکنواخت شده در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱۵ دقیقه با سرعت ۱۲۰۰۰ × g سانتریفوژ شد. سپس ۰/۵ میلی‌لیتر از مایع رویی به یک فالكون جدید حاوی ۰/۵ میلی‌لیتر بافر فسفات ۱۰ میلی‌مولار و یک میلی‌لیتر محلول یک مولار یدید پتاسیم اضافه شد و در پوش فالكون را بسته و با چندین مرتبه سر و ته کردن، محتوای فالكون یکنواخت شد (در تاریکی). سپس مقدار جذب هر نمونه در طول موج ۳۹۰ نانومتر قرائت شد.

استخراج پروتئین کل و سنجش فعالیت آنزیم-های آنتی‌اکسیدان

کلیه مراحل استخراج در نمونه‌ها بر روی یخ انجام شد. نمونه‌ها در هاون چینی، به کمک ازت مایع ساییده و پودر شدند. ۲/۵ میلی‌لیتر بافر استخراج را به ۰/۲۵ گرم از پودر اضافه کرده و ورتکس شدند. نمونه‌ها به مدت ۱۵ دقیقه با سرعت ۱۳۰۰۰ × g و در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد سانتریفوژ شدند. سپس، مایع رویی، عصاره آنزیمی، برای سنجش کمی آنزیم‌ها استفاده شد. غلظت پروتئینی نمونه‌ها بر اساس روش برادفورد

تجزیه و تحلیل داده‌ها

تجزیه واریانس و مقایسه میانگین داده‌های به‌وسیله آزمون چند دامنه‌ای دانکن با نرم‌افزار SAS انجام و نمودارها به‌وسیله Excel رسم گردید. قبل از انجام تجزیه واریانس مرکب، آزمون همگنی واریانس خطاهای آزمایشی با استفاده از آزمون بارتلت انجام شد و جهت مقایسات میانگین از آزمون چند دامنه‌ای دانکن استفاده شد.

نتایج و بحث

در شکل‌های ارائه‌شده در قسمت نتایج و بحث، جهت سهولت نمایش مراحل مختلف آبیاری تکمیلی، هر یک از مراحل با یک علامت اختصاری در شکل‌ها آمده است. NI نشان‌دهنده عدم استفاده از آبیاری تکمیلی، SIS آبیاری در مرحله ساقه‌دهی، SIB آبیاری در مرحله غلاف‌رفتن و SIF علامت آبیاری در مرحله گلدهی می‌باشند. پیش از انجام تجزیه واریانس مرکب، به‌منظور اطمینان از همگنی واریانس خطاهای آزمایشی، آزمون بارتلت انجام شد. با توجه به این‌که χ^2 محاسبه‌شده از χ^2 حاصل از جدول کمتر بود در نتیجه فرض H_0 پذیرفته شد و اختلاف بین واریانس‌ها معنی‌دار نبود و واریانس‌ها همگن بودند. همچنین به‌دلیل اینکه در جدول تجزیه واریانس، اثر سال معنی‌دار نشد (جدول ۲) برای رسم نمودارها برای تمامی صفات از میانگین آنها در دو سال استفاده شد. نتایج تجزیه واریانس نشان داد که بین ارقام و آبیاری تکمیلی در مراحل مختلف از نظر میزان H_2O_2 در سطح احتمال یک درصد اختلاف معنی‌داری وجود دارد (جدول ۲). همان‌طور که در شکل (۱-ب) مشاهده می‌شود، میزان H_2O_2 در تیمارهای آبیاری تکمیلی در مراحل مختلف رشدی نسبت به تیمار شاهد، به‌طور معنی‌داری کاهش یافت؛ به‌طوری‌که بیشترین میزان آن مربوط به تیمار شاهد و کمترین میزان آن مربوط به تیمار آبیاری تکمیلی در مرحله گلدهی می‌باشد. بیشترین میزان H_2O_2 مربوط به دو رقم آراس و ابوغریب بود. کمترین میزان H_2O_2 را نیز دو رقم آذر ۲ و رزگاری به خود اختصاص دادند (شکل ۱-الف). میزان H_2O_2 به‌عنوان یکی از فاکتورهای مهم دخیل در فرایند اکسیداسیون سلولی

($pH=7/8$) ۵۰ میلی‌مولار، آسکوربات ۵ میلی‌مولار، پراکسید هیدروژن یک میلی‌مولار و عصاره پروتئینی به‌میزان ۱۰ میکرولیتر بود. از آنجا که حداکثر جذب آسکوربات در طول موج ۲۹۰ nm صورت می‌گیرد، دستگاه روی این طول موج تنظیم شد. میزان فعالیت آنزیم بر اساس میکرومول آسکوربات اکسید شده در دقیقه در میلی‌گرم پروتئین محاسبه شد. فعالیت آنزیم گویاکول پراکسیداز مشابه آنزیم کاتالاز، در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر (Shimadzu UV-160) به‌روش (Dionisio-Sese & Tobita, 1998) اندازه‌گیری شد. مخلوط واکنش شامل بافر فسفات ($pH=7$) ۵۰ میلی‌مولار، گویاکول ۱۰ میلی‌مولار، پراکسید هیدروژن ۱۵ میلی‌مولار و ۵۰ میکرولیتر عصاره پروتئینی بود. پس از افزودن عصاره، بلافاصله جذب در طول موج ۴۷۰ nm قرائت شد. میزان فعالیت آنزیم بر اساس میکرومول گویاکول در دقیقه در میلی‌گرم پروتئین محاسبه شد.

مالون‌دی‌آلدئید (MDA)

میزان اکسیداسیون گیاهچه‌ها براساس تجمع مالون-دی‌آلدئید برگ با استفاده از تیوباربیتریک اسید به‌روش (Valentovic et al., 2006) تعیین شد. ۲۵۰ میلی‌گرم نمونه برگ از برگ پرچم در دو میلی‌لیتر بافر استخراج (TCA یک درصد) هم‌وزن شده و به‌مدت پانزده دقیقه در سانتریفیوژ با سرعت ۱۳۰۰۰ دور در دقیقه قرار داده شد. یک میلی‌لیتر از سوپرناتانت به دست آمده با دو میلی‌لیتر محلول تیوباربیتریک (TBA پنج درصد) حاوی اسید تری کلرواستیک (TCA بیست درصد) مخلوط و در حمام آب‌جوش (۹۵ درجه سانتی‌گراد) به‌مدت ۳۰ دقیقه قرار داده شد. پس از سانتریفیوژ با سرعت ۱۰۰۰۰ دور در دقیقه به‌مدت ۱۰ دقیقه، چگالی نمونه در طول موج ۵۳۲ نانومتر در دستگاه اسپکتروفتومتر تعیین شد. غلظت MDA بر اساس فرمول $C = D/E$ محاسبه شد که D اشاره به چگالی و E ضریب تمایز مولار (مول/سانتی‌متر $1,56 \times 10^5$) دارد.

است که نقش زیادی در خسارت به غشا سلولی از طریق خسارت به لیپیدهای غشا دارد. از آنجا که بیشترین میزان H_2O_2 مربوط به دو رقم آراس و ابو-غریب بود، می‌توان گفت که این دو رقم نسبت به سایر ارقام، مکانیسم دفاعی ضعیف‌تری در مهار تجمع H_2O_2 در شرایط نامناسب دارند که این افزایش را می‌توان به پاسخ سریعتر آن به شرایط نامناسب و در نتیجه حساسیت بیشتر نسبت داد.

جدول ۲- تجزیه واریانس بررسی اثر آبیاری تکمیلی بر برخی صفات فیزیولوژیکی ارقام مختلف گندم

Table 2.f Analysis of variance of supplementary irrigation effects on some physiological traits of wheat cultivars

| Mean Squares(MS) | | | | | | | | |
|--------------------------------------|-----|--------------------|------------------------|--------------------|-------------------------|----------------------|-----------------------|----------------------|
| Source of variataion | d.f | H_2O_2 | MDA | Total protein | CAT | SOD | APX | Yield |
| Year (Y) | 1 | 21.3 ^{ns} | 0.000059 ^{ns} | 0.43 ^{ns} | 0.0000002 ^{ns} | 0.0005 ^{ns} | 0.00007 ^{ns} | 0.004 ^{ns} |
| Error (R*Y) | 4 | 6.54 | 0.00021 | 5.24 | 0.000007 | 0.0019 | 0.00109 | 0.013 |
| Irrigation (A) | 3 | 932.3** | 0.000405 ^{ns} | 96.6** | 0.0001555** | 0.2406** | 0.02759** | 4.87** |
| Irrigation × Year (A*Y) | 3 | 1.84 ^{ns} | 0.000032 ^{ns} | 0.59 ^{ns} | 0.0000023 ^{ns} | 0.0001 ^{ns} | 0.00045 ^{ns} | 0.004 ^{ns} |
| Error (A*Y*R) | 12 | 15.8 | 0.000163 | 1.64 | 0.0000015 | 0.0015 | 0.00142 | 0.057 |
| cultivar (B) | 6 | 2693.4** | 0.072846** | 141.4** | 0.0002873** | 0.1990** | 0.22481** | 8.72** |
| Year × cultivar (Y*B) | 6 | 8.78 ^{ns} | 0.000210 ^{ns} | 0.66 ^{ns} | 0.0000006 ^{ns} | 0.0001 ^{ns} | 0.00088 ^{ns} | 0.0073 ^{ns} |
| irrigation × cultivar (A*B) | 18 | 21.7 ^{ns} | 0.000116 ^{ns} | 13.1** | 0.0000117** | 0.0124** | 0.02180** | 0.269** |
| year × irrigation × cultivar (Y*A*B) | 18 | 4.93 ^{ns} | 0.000179 ^{ns} | 0.48 ^{ns} | 0.0000014 ^{ns} | 0.0002 ^{ns} | 0.00057 ^{ns} | 0.009 ^{ns} |
| Error (Y*A*B*R) | 96 | 20.16 | 0.000254 | 2.70 | 0.0000018 | 0.0011 | 0.00150 | 0.044 |
| Coefficient of variation (%) | | 10.39 | 8.40 | 15.06 | 9.01 | 5.88 | 11.66 | 11.22 |

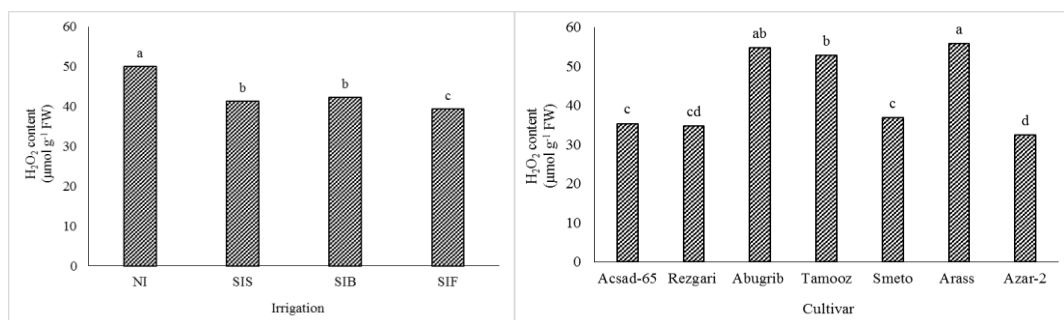
^{ns}، * و ** به ترتیب نشان‌دهنده عدم اختلاف معنی‌دار، معنی‌دار در سطح احتمال ۵ و ۱ درصد می‌باشد.

ns, * and ** showed the non-significance, significantly difference at $p < 0.05$ and $p < 0.01$, respectively.

ns, * and ** represent in turn insignificant and significant differences at 5% and 1%

تسریع کرده و در نهایت منجر به حضور بیش از حد پراکسید هیدروژن در پراکسیزوم می‌گردد (Cruz de Carvalho, 2008) احتمالاً به‌همین دلیل است که تیمار بدون آبیاری در مقایسه با تیمارهای آبیاری تکمیلی در مراحل مختلف مقدار پراکسید هیدروژن بیشتری داشت (شکل ۱-ب).

افزایش اندک H_2O_2 در ارقام می‌تواند تا حدودی نقش مثبت در سیگنال‌دهی و تلاش سلول در مقابل تغییرات رطوبتی داشته باشد. اما در مقادیر زیادتر خسارات فراوانی را به سلول وارد خواهد کرد (Miltler, 2002). در مضمیقه‌بودن ورود دی‌اکسید-کربن به برگها در زمان تنش خشکی، تثبیت دی-اکسیدکربن را محدود کرده و مسیر تنفس نوری را



شکل ۱-الف

شکل ۱-ب

شکل ۱: مقایسه میانگین مقدار هیدروژن پراکسید هفت رقم گندم در شرایط دیم و آبیاری تکمیلی

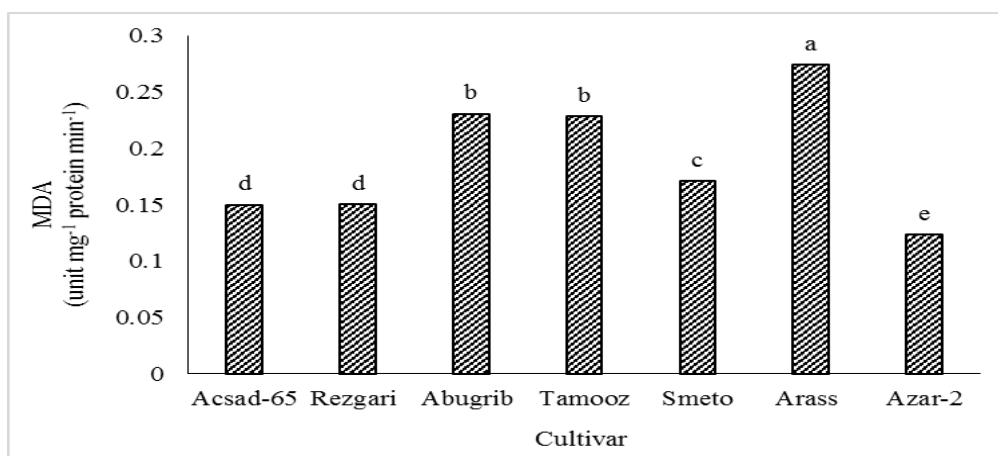
(ستون‌هایی که حداقل دارای یک حرف مشترک هستند. از نظر آماری اختلاف معنی‌داری بر اساس آزمون دانکن در سطح احتمال ۰/۰۵ ندارند)

Fig. 1. Hydrogen peroxide value of different wheat cultivars under dry and irrigation conditions

Means with the same letter within a column are not significantly different at $p < 0.05$

ناشی از کم آبی (شرایط دیم) است. همان طور که مشاهده می شود نتایج H_2O_2 با میزان MDA مطابق می باشد که بر این اساس می توان نتیجه گرفت که رقم آراس تحت شرایط نامناسب، بیشترین میزان خسارت را نسبت به سایر ارقام دیده و حساسیت بیشتری نسبت به سایر ارقام دارد؛ در حالی که رقم آذر ۲ بر اساس این نتایج مقاومترین رقم می باشد. تنش خشکی منجر به تغییر در تعادل سلول های گیاهی می شود. این تغییر ممکن است به علت افزایش تولید ROS باشد، این افزایش باعث القای پراکسیداسیون لیپید (LPO) غشای اندامک های سلولی می شود (Beckers & Spoel, 2006). احتمالاً دلیل اصلی خسارت تنش اکسیداتیو، ناتوانی سیستم های دفاعی از جمله آنزیم های آنتی اکسیدان در این ارقام می باشد که در ادامه به بحث درباره آنها پرداخته می شود.

رادیکال های آزاد اکسیژن با پراکسیداسیون اسیدهای چرب غیر اشباع، آلدئیدهایی مثل MDA تولید می کنند. محتوای MDA دومین محصول نهایی اکسیداسیون اسیدهای چرب غیر اشباع است و به طور کلی اندازه گیری میزان پراکسیداسیون لیپیدها به عنوان شاخص تنش اکسیداسیونی برای بررسی میزان صدمات وارده به غشا تحت شرایط تنش مورد استفاده قرار می گیرد (Watanabe et al., 2000). بر اساس نتایج جدول تجزیه واریانس، اثر رقم های مورد مطالعه بر روی MDA در سطح احتمال ۱ درصد معنی دار شد ($P < 0.01$) (جدول ۲). کمترین میزان MDA مربوط به رقم آذر ۲ (۰/۱۲۳ واحد) و بیشترین میزان آن مربوط به رقم آراس (۰/۲۷۴ واحد) می باشد که این میزان پراکسیداسیون غشا، نتیجه واکنش ترکیبات ROS از قبیل H_2O_2 با اسیدهای چرب غیر اشباع غشا سلولی است که پیامد تنش اکسیداسیونی بالای



شکل ۲. مقدار مالون دی آلدئید هفت رقم گندم در ۴ سطح تیماری شاهد (دیم) و آبیاری تکمیلی (ستون هایی که حداقل دارای یک حرف مشترک هستند. از نظر آماری اختلاف معنی داری بر اساس آزمون دانکن در سطح احتمال ۰/۰۵ ندارند)

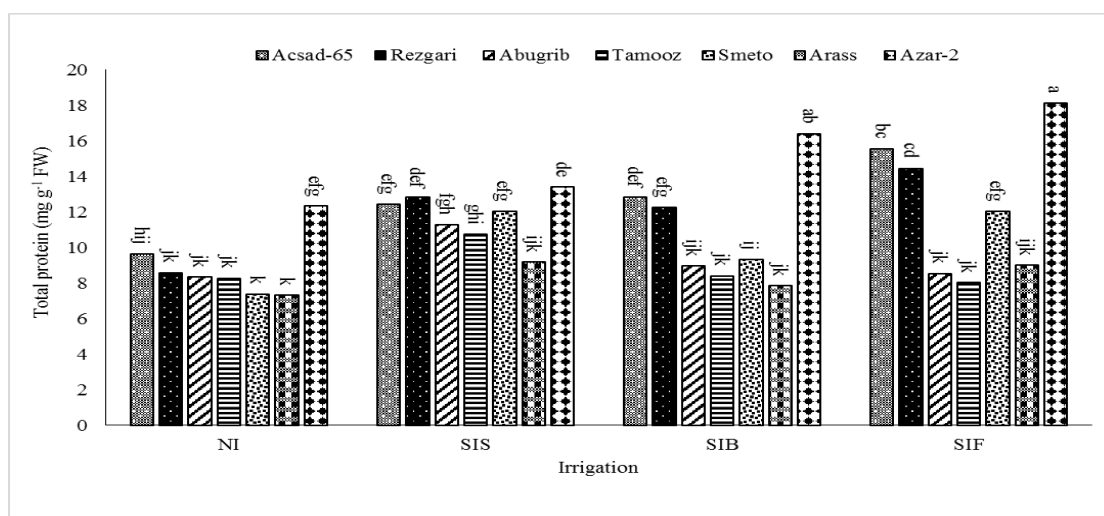
Fig. 2 Malondialdehyde value of different wheat cultivars under dry and irrigation conditions
Means with the same letter within a column are not significantly different at $p < 0.05$

می شود (Khaledian et al., 2015). همان طور که در شکل (۳) دیده می شود به طور کلی آبیاری تکمیلی منجر به افزایش میزان پروتئین کل در تمامی ارقام به جز رقم آراس شد. بیشترین میزان تغییرات در میزان پروتئین کل نسبت به شاهد، مربوط به آبیاری تکمیلی در مرحله گلدهی بود؛ به طوری که تیمار آبیاری تکمیلی در مرحله گلدهی در رقم آذر ۲ منجر

همان طور که در جدول تجزیه واریانس مشاهده می شود تیمار آبیاری تکمیلی، رقم و اثر متقابل آبیاری تکمیلی در رقم برای پروتئین محلول برگ، CAT، SOD و APX در سطح احتمال یک درصد معنی دار شد (جدول ۲). تغییر در میزان غلظت پروتئین های کل گیاه در اثر تخریب و یا سنتز برخی از پروتئین های مخصوص مقابله با تنش و متابولیسم های دیگر انجام

میزان پروتئین کل که بسیاری از آنزیم‌های دفاعی را شامل می‌شود تغییر نکرد. در نتیجه، میزان خسارت وارده بر سلول بیشتر می‌باشد که میزان MDA بیشتر در نتایج نیز تاییدکننده این مطلب می‌باشد. افزایش غلظت پروتئین‌های برگ، ممکن است نشان‌دهنده فعال‌شدن مکانیسم‌های تحمل باشد (Kim et al., 2005). افزایش غلظت پروتئین‌های کل، تغییرات بیان ژن‌ها و تغییر در ساختار بافت‌های گیاهی را نشان می‌دهد (Lascano et al., 2005).

به افزایش ۲۷/۹ درصدی میزان پروتئین محلول برگ در مقایسه با تیمار شاهد شد. این افزایش در مراحل ساقه‌دهی و غلاف‌رفتن نسبت به شاهد به ترتیب ۲۴/۵۵ و ۱۸/۶۶ درصد می‌باشد. رقم آذر ۲ و پس از آن رقم آکساد ۶۵ دارای بیشترین محتوی پروتئین محلول برگ بودند. بر اساس شکل ۳، میزان پروتئین رقم آراس در کلیه تیمارهای آزمایشی تغییری نکرد که این نتایج با نتایج حاصل از میزان MDA و H_2O_2 مطابقت دارد. در شرایط کم‌آبی، با وجود اینکه میزان تولید ترکیبات ROS از قبیل H_2O_2 افزایش می‌یابد،



شکل ۳. مقدار پروتئین کل هفت رقم گندم در ۴ سطح تیماری شاهد (دیم) و آبیاری تکمیلی در مراحل ساقه‌دهی، غلاف‌رفتن و گلدهی

(ستون‌هایی که حداقل دارای یک حرف مشترک هستند، از نظر آماری اختلاف معنی‌داری بر اساس آزمون دانکن در سطح احتمال ۰/۰۵ ندارند)

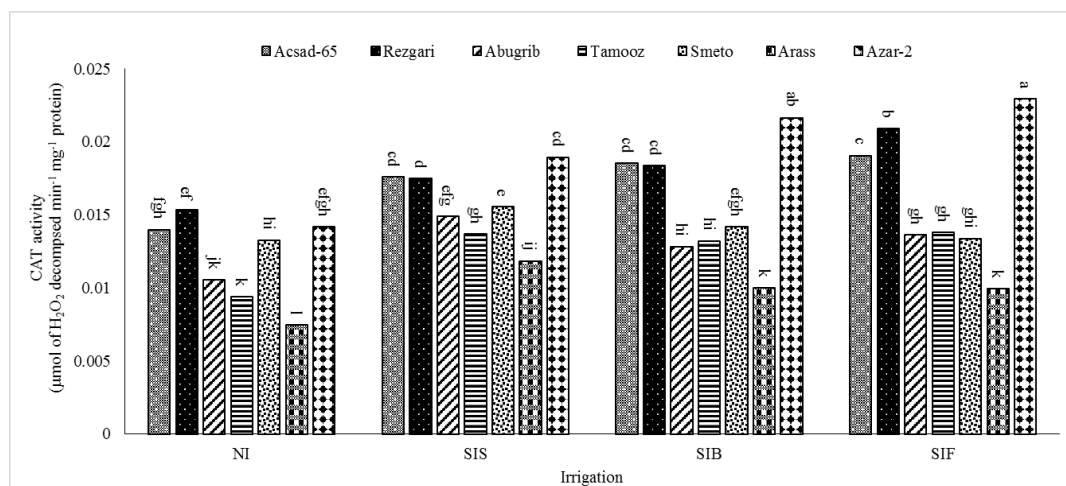
Fig. 3. Total protein content of different wheat cultivars under dry and irrigation conditions (stems, booting and flowering) Means with the same letter within a column are not significantly different at $p < 0.05$

رفتن منجر به کاهش فعالیت آنزیم CAT در ارقام ابوغریب و آراس و افزایش آن در رقم آذر ۲ نسبت به تیمار آبیاری تکمیلی در مرحله ساقه‌دهی شد. آبیاری تکمیلی در مرحله گلدهی نیز منجر به کاهش فعالیت آنزیم CAT در ارقام سمیتو و آراس و افزایش آن در ارقام رزگاری و آذر ۲ نسبت به تیمار آبیاری تکمیلی در مرحله ساقه‌دهی شد. آبیاری تکمیلی در مرحله گلدهی همچنین منجر به افزایش ۱۳,۸۸ درصدی فعالیت آنزیم CAT در رقم رزگاری نسبت به تیمار آبیاری تکمیلی در مرحله غلاف‌رفتن شد (شکل ۴). بیشترین میزان فعالیت آنزیم مربوط به رقم آذر ۲ در

همان‌طور که مشاهده می‌شود به‌طور کلی با اعمال آبیاری تکمیلی در مراحل مختلف رشدی، میزان فعالیت آنزیم CAT در تمامی ارقام به‌جز رقم سمیتو در دو تیمار آبیاری تکمیلی در مرحله غلاف‌رفتن و گلدهی در سایر تیمارهای آبیاری نسبت به شاهد به‌طور معنی‌داری افزایش یافت که این افزایش را می‌توان به موثر بودن آبیاری تکمیلی در مراحل مختلف رشد گیاه نسبت داد. بیشترین میزان تغییر در فعالیت آنزیم CAT مربوط به رقم آذر ۲ بود که در تیمار آبیاری تکمیلی نسبت به تیمار شاهد ۶۱,۸۹ درصد افزایش یافت. تیمار آبیاری تکمیلی در مرحله غلاف-

این ارقام مطابقت دارد؛ زیرا این ارقام کمترین میزان H_2O_2 را نسبت به سایر ارقام دارا بودند. اووه و همکاران (Ohe et al., 2005) در بررسی‌هایی که روی گیاه تنباکو داشتند نشان دادند که فعالیت آنزیم کاتالاز با انجام تیمار آبیاری تکمیلی در شرایط دیم کاهش پیدا کرد که با نتایج این آزمایش همسو می‌باشد.

تیمار آبیاری تکمیلی در مرحله گلدهی و ساقه‌دهی و کمترین میزان آن مربوط به رقم آراس (۰/۰۰۷۴ واحد) در تیمار شاهد می‌باشد. با توجه به این نتایج می‌توان گفت که رقم آذر ۲ و بعد از آن دو رقم رزگاری و آکساد ۶۵ در تیمار شاهد و آبیاری تکمیلی، فعالیت آنزیم CAT بیشتری از خود نشان دادند. این نتایج با نتایج حاصل از مقادیر H_2O_2 تولید شده در



شکل ۴. میزان فعالیت آنزیم کاتالاز هفت رقم گندم در ۴ سطح تیماری شاهد (دیم) و آبیاری تکمیلی در مراحل ساقه‌دهی، غلاف‌رفتن و گلدهی

(ستون‌هایی که حداقل دارای یک حرف مشترک هستند. از نظر آماری، اختلاف معنی‌داری بر اساس آزمون دانکن در سطح احتمال ۰/۰۵ ندارند)

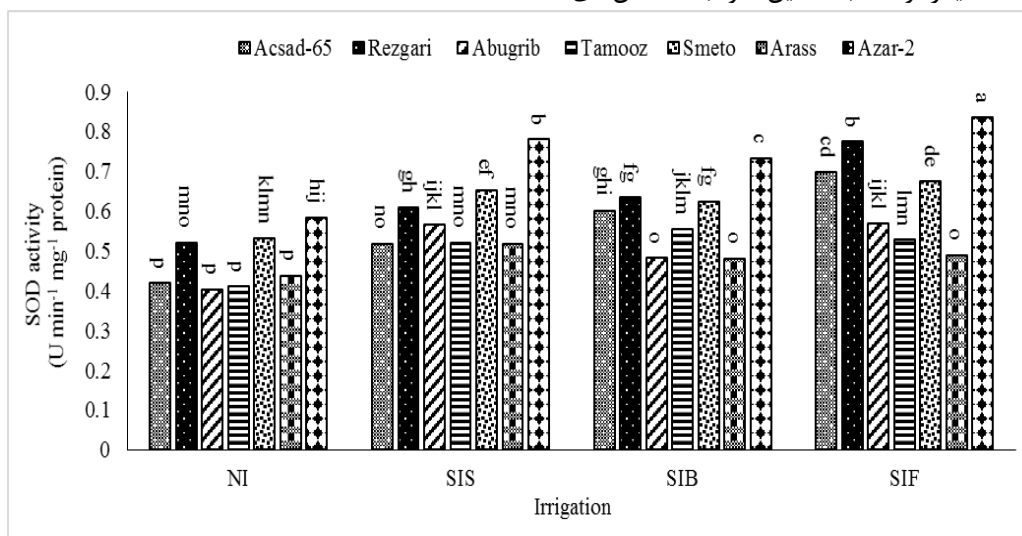
Fig. 4. Catalase activity of different wheat cultivars under dry and irrigation conditions (stems, booting and flowering) Means with the same letter within a column are not significantly different at $p < 0.05$

رزگاری (۲۷،۰۳ درصد) و آذر ۲ (۷،۱۸ درصد) نسبت به تیمار آبیاری تکمیلی در مرحله ساقه‌دهی شد. آبیاری تکمیلی در مرحله گلدهی نیز منجر به افزایش فعالیت آنزیم SOD در تمامی ارقام به جز تموز و آراس، نسبت به تیمار آبیاری تکمیلی در مرحله غلاف‌رفتن شد (شکل ۵). با توجه به نتایج، ارقام آذر ۲، رزگاری و سمیتو با میزان بیشتری فعالیت آنزیم SOD قادر به تحمل بهتر شرایط تنش و مقاومت بیشتری می‌باشند و با اعمال تیمار آبیاری تکمیلی در مراحل مختلف رشد گندم به تنش پاسخ خوبی نشان داده‌اند. تحت شرایط نامناسب، آنزیم SOD رادیکال‌های سوپراکسید را به H_2O_2 تبدیل می‌کند. در نتیجه افزایش فعالیت این آنزیم باعث تولید H_2O_2 بیشتری می‌شود که برای سلول سمی بوده و منجر به خسارت به غشاهای سلولی می‌شود و هرچه سریعتر باید

همان‌طور که مشاهده می‌شود با اعمال آبیاری تکمیلی در مراحل مختلف رشدی میزان فعالیت آنزیم SOD در تمامی ارقام به جز رقم تموز در تیمار آبیاری تکمیلی در مرحله غلاف‌رفتن در سایر تیمارهای آبیاری نسبت به شاهد به‌طور معنی‌داری افزایش یافت. بیشترین میزان فعالیت آنزیم SOD مربوط به رقم آذر ۲ (۰/۸۳۶) در تیمار آبیاری تکمیلی در مرحله گلدهی بود. کمترین میزان فعالیت SOD مربوط به ارقام آکساد ۶۵، ابوغریب، تموز و آراس بود که در یک گروه آماری قرار گرفتند. تیمار آبیاری تکمیلی در مرحله غلاف‌رفتن منجر به کاهش فعالیت آنزیم SOD در ارقام ابوغریب (۱۴،۸۰ درصد) و آذر ۲ (۵،۹۷ درصد) و افزایش آن در رقم تموز (۶،۹۱ درصد) و همچنین افزایش آن در تیمار آبیاری تکمیلی در مرحله گلدهی در ارقام آکساد ۶۵ (۱۸،۸۱ درصد)،

خسارت اندازه‌گیری شده (H_2O_2 و MDA) بر اساس نتایج به‌دست آمده به‌خوبی قابل توجیه است.

به‌وسیله آنزیم‌هایی مانند CAT تجزیه شود؛ به‌همین دلیل، مطابقت بالای فعالیت آنزیم‌های SOD و CAT با همدیگر و مطابقت این دو با شاخص‌های



شکل ۵. مقدار سوپراکسیددیسموتاز هفت رقم گندم در ۴ سطح تیماری شاهد (دیم) و آبیاری تکمیلی در مراحل ساقه‌دهی، غلاف‌رفتن و گلدهی

(ستون‌هایی که حداقل دارای یک حرف مشترک هستند، از نظر آماری اختلاف معنی‌داری بر اساس آزمون دانکن در سطح احتمال ۰/۰۵ ندارند)

Fig. 5. Superoxide dismutase activity of different wheat cultivars under dry and irrigation conditions (stems, boating and flowering) Means with the same letter within a column are not significantly different at $p < 0.05$

APX در ارقام آکساد ۶۵، رزگاری، سمیتو و آذر ۲ سیر صعودی گرفت که به‌نظر می‌رسد بیانگر سنتز بیشتر آنزیم APX در وضعیت توازن جدید سلولی گیاهان است که به‌دنبال افزایش میزان فعالیت آنزیم SOD در سلول و در نتیجه افزایش میزان H_2O_2 تولید شده به‌وسیله آن از طریق تجزیه رادیکال‌های سوپر اکسید انجام می‌گیرد.

عملکرد دانه

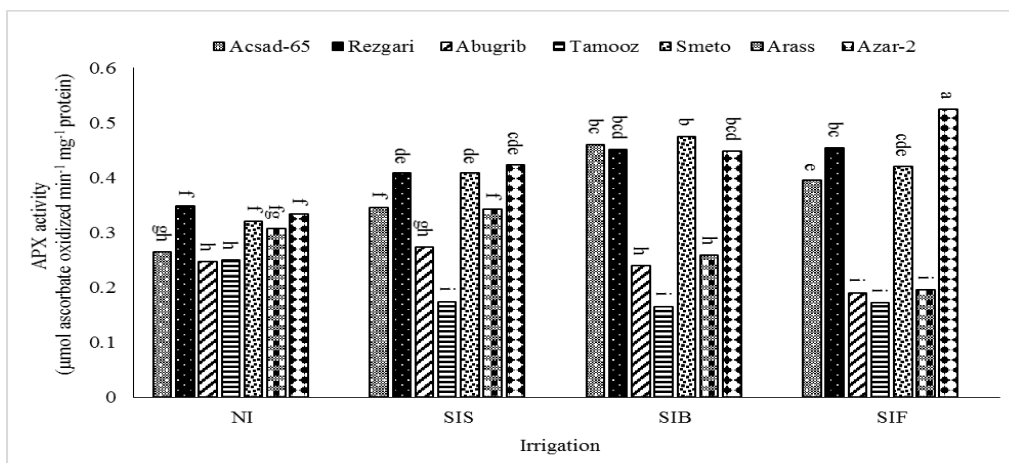
نتایج حاصل از تجزیه واریانس داده‌ها نشان از معنی‌داری اثر اصلی آبیاری، رقم و اثر متقابل آبیاری در رقم در سطح احتمال ۱٪ بر عملکرد دانه داشت (جدول ۲). مقایسه میانگین اثر متقابل آبیاری در رقم نشان داد که در کلیه ارقام، آبیاری تکمیلی باعث افزایش عملکرد دانه شد به طوری که بیشترین میزان عملکرد دانه در اکثر ارقام، در آبیاری تکمیلی در مرحله گلدهی و کمترین میزان آن در حالت شاهد (بدون آبیاری) به‌دست آمد. آبیاری تکمیلی در مرحله ساقه‌دهی و بوتینگ در بین اکثر ارقام تفاوت معنی‌داری باهم نداشتند. در کل نتایج نشان داد که بیشترین

همان‌طور که مشاهده می‌شود برخلاف CAT و SOD که در تمامی ارقام در شرایط آبیاری تکمیلی میزان فعالیتشان افزایش یافت، میزان فعالیت APX در رقم تموز با آبیاری تکمیلی در هر سه مرحله ساقه‌دهی، غلاف‌رفتن و گلدهی و در رقم آراس در دو مرحله غلاف‌رفتن و گلدهی نسبت به تیمار شاهد کاهش یافت.

همچنین رقم ابوغریب در دو مرحله ساقه‌دهی و غلاف‌رفتن، تفاوت معنی‌داری نشان نداد؛ اما در مرحله گلدهی نسبت به شاهد میزان فعالیت آن کاهش یافت. در تیمار آبیاری تکمیلی در مرحله گلدهی، میزان فعالیت APX در ارقام مختلف بین ۰/۱۷۱ تا ۰/۵۲۵ بود به‌گونه‌ای که رقم آذر ۲ و پس از آن رقم رزگاری بیشترین میزان فعالیت آنزیم را به خود اختصاص دادند. همچنین رقم‌های آراس، تموز و ابوغریب، در این مرحله رشدی در یک گروه آماری بدون اختلاف معنی‌داری از هم قرار گرفتند (شکل ۶). با اعمال تیمار آبیاری تکمیلی در مراحل مختلف، میزان فعالیت آنزیم

واکنش بهتری نشان می‌دهند و میزان عملکرد خود را به-میزان بیشتری بهبود می‌بخشند که نشان از توانایی بالای این ارقام برای افزایش عملکرد خود حتی با یک آبیاری تکمیلی دارد (شکل ۷).

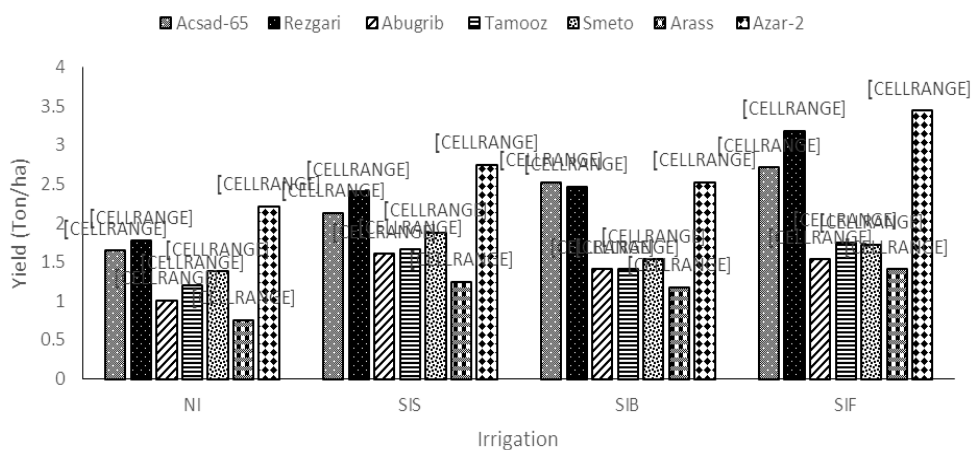
عملکرد دانه در رقم آذر-۲ در آبیاری تکمیلی در مرحله گلدهی و کمترین میزان عملکرد دانه در رقم آراس در تیمار بدون آبیاری حاصل شد؛ همچنین مشخص شد که برخی ارقام مانند آسکاد-۶۵، رزگاری و آذر-۲، به آبیاری تکمیلی



شکل ۶. مقدار آسکوربات پراکسیداز هفت رقم گندم در ۴ سطح تیماری شاهد (دیم) و آبیاری تکمیلی در مراحل ساقه‌دهی، غلاف‌رفتن و گلدهی

(ستون‌هایی که حداقل دارای یک حرف مشترک هستند، از نظر آماری اختلاف معنی‌داری بر اساس آزمون دانکن در سطح احتمال ۰/۰۵ ندارند)

Fig. 6. Ascorbate peroxidase activity of different wheat cultivars under dry and irrigation conditions (stems, boating and flowering) Means with the same letter within a column are not significantly different at $p < 0.05$



شکل ۷. مقایسه میانگین اثر متقابل آبیاری و رقم بر عملکرد دانه

(ستون‌هایی که حداقل دارای یک حرف مشترک هستند، از نظر آماری اختلاف معنی‌داری بر اساس آزمون دانکن در سطح احتمال ۰/۰۵ ندارند)

Figure 7. Comparison of the effects of irrigation and cultivars on grain yield Means with the same letter within a column are not significantly different at $p < 0.05$

تعدیل تاثیرات منفی تنش خشکی مشخص شد. اعمال آبیاری تکمیلی در مراحل مختلف ساقه‌دهی، غلاف-رفتن و گلدهی سبب افزایش میزان پروتئین کل گیاه (به استثنای رقم آراس)، افزایش فعالیت آنزیم CAT و

نتیجه‌گیری کلی

طبق نتایج به‌دست آمده در این پژوهش، نقش مثبت آبیاری تکمیلی در بهبود شرایط رشد ارقام گندم از طریق کنترل فرآیندهای فیزیولوژیکی دخیل در

رقم آراس تحت شرایط نامناسب، بیشترین میزان خسارت را نسبت به سایر ارقام دیده و حساسیت بیشتری نسبت به سایر ارقام دارد؛ در حالی که رقم آذر ۲ بر اساس این نتایج مقاوم‌ترین رقم می‌باشد. به‌طور کلی به‌نظر می‌رسد که ارقام آذر ۲، رزگاری و اکساد ۶۵ در شرایط آبیاری تکمیلی در مرحله گلدهی در مقایسه با شرایط دیم مکانیسم‌های دفاعی و تنظیمی بهتری نسبت به سایر ارقام مورد مطالعه داشتند.

SOD در تمامی ارقام و همچنین افزایش فعالیت آنزیم APX در ارقام اکساد ۶۵، رزگاری، سمیتو و آذر ۲ و کاهش آن در ارقام تموز آراس و ابوغریب شد. همچنین کمترین میزان MDA مربوط به رقم آذر ۲ و بیشترین میزان آن مربوط به رقم آراس بود که این میزان پراکسیداسیون غشا را می‌توان نتیجه واکنش ترکیبات ROS از قبیل H_2O_2 با اسیدهای چرب غیر-اشباع غشا سلول دانست. نتایج H_2O_2 با میزان MDA مطابق بود که بر این اساس می‌توان نتیجه گرفت که

REFERENCES

1. Beckers, G. J. & Spoel, S. H. (2006). Fine-tuning plant defence Signalling: salicylate versus jasmonate. *Plant Biol (Stuttg)*, 8, 1-10.
2. Beyer, W. F. & Fridovich, I. (1987). Assaying for superoxide dismutase activity: Some large consequences of minor changes in conditions. *Annals of Biochem*, 161, 559-566.
3. Blokhina, O., Virolainen, E. & Fagerstedt, K. V. (2003). Antioxidants, oxidative damage and oxygen deprivation stress: a review. *Annals of Botany*, 91(2), 179-194.
4. Blum, A. (2011). Plant breeding for water-limited environments. *Springer Science Business Media*, 127, 227-232.
5. Bradford, M. M. (1976). A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Analytical biochemistry*, 72(1-2), 248-254.
6. Cruz de Carvalho, M.H. (2008) Drought stress and reactive oxygen species. *Plant Signaling and Behavior*, 3:156-165
7. Dionisio-Sese ML. & Tobita, S. (1998) Antioxidant responses of rice seedlings to salinity stress. *Plant Sci* 135: 1-9.
8. Gambel, P. E. & Burke, J. J. (1984). Effect of water stress on the chloroplast antioxidant system. I. Alteration in glutathione reductase activity. *Plant Physiology*, 76, 615- 621
9. Gill, S. S. & Tuteja, N. (2010). Reactive oxygen species and antioxidant machinery in abiotic stress tolerance in crop plants. *Plant Physiology and Biochemistry*, 48(12), 909-930.
10. Huang, J., Sun, S., Xu, D., Lan, H., Sun, H., Wang, Z., Bao, Y., Wang, J., Tang, H. & Zhang, H. (2012). A TFIIIA-type zinc finger protein confers multiple abiotic stress tolerances in transgenic rice (*Oryza sativa* L.). *Plant Molecular Biology*, 80(3), 337-350.
11. Khaledian, Y., Maali-Amiri, R. & Talei, A. (2015). Phenylpropanoid and antioxidant changes in chickpea plants during cold stress. *Russian Journal of Plant Physiology*, 62(6), 772-778.
12. Kim, S. K., Jung, S. M., Ahn, K. H., Jeon, H. J., Lee, D. H., Jung, K. M., Jung, S. Y. & Kim, D. K. (2005). Identification of three competitive inhibitors for membrane-associated, Mg²⁺-dependent and neutral 60 kDa sphingomyelinase activity. *Archives of Pharmacal Research*, 28(8), 923-929.
13. Lascano, H. R., Antonicelli, G. E. Luna, C. M., Melchiorre, M. N., Gomez, L. D., Racca, R. W., Trippi, V. S. & Casano, L. M. (2005). Antioxidant system response of different wheat cultivars under drought: Field and in vitro studies. *Aust. J. Plant Physiol*, 28, 1095-1102.
14. Loreto, F. & Velikova, V. (2001). Isoprene produced by leaves protects the photosynthetic apparatus against zone damage, quenches ozone products, and reduces lipid peroxidation of cellular membranes. *Plant Physiol.*, 127, 1781-1787.
15. Mika, A. & Lüthje, S. (2003). Properties of guaiacol peroxidase activities isolated from corn root plasma membranes. *Plant Physiology*, 132(3), 1489-1498.
16. Mittler, R. (2002). Oxidative stress, antioxidants and stress tolerance. *Trends Plant Science*, 7: 405-410.
17. Ohe, M., Rapolu, M., Mieda, T., Miyagawa, Y., Yabuta, Y., Yoshimura, K. & Shigeoka, S. (2005). Decline in leaf photooxidative-stress tolerance with age in tobacco. *Plant Sci*, 168, 1487-1493.
18. Oweis, T. & Hachum, A. (2006). Water harvesting and supplemental irrigation for improved

- water productivity of dry farming systems in West Asia and North Africa. *Agricultural Water Management*, 80(1-3), 57-73.
19. Oweis, T., Pala, M. & Ryan, J. (1998). Stabilizing rainfed wheat yields with supplemental irrigation and nitrogen in a Mediterranean climate. *Agronomy Journal*, 90(5), 672-681.
 20. Rampino, P., Pataleo, S., Gerardi, C., Mita, G. & Perrotta, C. (2006) Drought stress response in wheat: physiological and molecular analysis of resistant and sensitive genotypes, *Plant Cell Environ*, 29, 2143–2152.
 21. Ranieri, A., Castagna, A., Pacini, J., Baldan, B., Mensuali Sodi, A. & Soldatini, G.F. (2003). Early Production and scavenging of hydrogen peroxide in the apoplast of sunflower plants exposed to ozone. *Jornal of Experimental Botany*, 54, 2529-2540
 22. Sairam, R. K. & Saxena, D. C. (2000). Oxidative stress and antioxidants in wheat genotypes: Possible mechanism of water stress tolerance. *Journal of Agronomy and Crop Science*, 184(1), 55-61.
 23. Sairam, R. K. & Srivastava, G. C. (2001). Water stress tolerance of wheat (*Triticum aestivum* L.): Variations in hydrogen peroxide accumulation and antioxidant activity in tolerant and susceptible genotypes. *Journal of Agronomy and Crop Science*, 186(1), 63-70.
 24. Sairam, R. K. & Srivastava, G. C. (2002). Changes in antioxidant activity in sub-cellular fractions of tolerant and susceptible wheat genotypes in response to long term salt stress. *Plant Science*, 162, 897-904.
 25. Scabba, F., Sebastiani, L. & Vitagliano C. (1998). Changes in activity of antioxidative enzymes in wheat (*Triticum aestivum*) seedlings under cold acclimation. *Physiologia Plantarum* 104: 747–752
 26. Sgherri, C. L. M., Maffei, M. & Navari-Izzo, F. (2000). Antioxidative enzymes in wheat subjected to increasing water deficit and rewatering. *Journal of Plant Physiology*, 157(3), 273-279.
 27. Tavakkoli, A. R. & Oweis, T. Y. (2004). The role of supplemental irrigation and nitrogen in producing bread wheat in the highlands of Iran. *Agricultural Water Management*, 65(3), 225-236.
 28. Tenkinel, O., Kanber, R. Yazar, A. & Ozekici, B. (1992). Drought conditions and supplemental irrigation in Turkey. In: *International Conference on Supplementary Irrigation and Drought Water Management*, 7.
 29. Valentovic, P., Luxova, M. Kolarovic, L. & O. Gasparikova. (2006). Effect of osmotic stress on compatible solutes content, membrane stability and water relations in two maize cultivars. *Plant Soil Environ*. 52(4): 186-191.
 30. Watanabe, S., Kojima, K., Ide, Y. & Sasaki, S. (2000). Effects of saline and osmotic stress on proline and sugar accumulation in *Populus euphratica* in vitro. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, 63(3), 199.