

واکنش ضد اکسندگی متفاوت چهار ژنوتیپ جو (*Hordeum vulgare* L.) به کمبود آب

زهره امینی^{۱*} - فواد مرادی^۲ - رحیم حداد^۳

تاریخ دریافت: ۱۳۸۹/۱۲/۱۰

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۱/۱۱/۲

چکیده

تغییرات شرایط آب و هوایی آینده خطر تنش خشکی را روز به روز افزایش می‌دهد و در حال حاضر تنش خشکی یکی از عمومی‌ترین مشکلات کشت جو در ایران می‌باشد. تا به امروز تحقیقات زیادی درباره اثر تنش خشکی بر فعالیت آنزیم‌های ضد اکسندگی صورت گرفته است، اما اطلاعات اندکی درباره اثر تنش خشکی بر فعالیت این آنزیم‌ها در شرایط طبیعی رشد گیاهان (در مزرعه) وجود دارد. از این رو در این پژوهش اثر تنش خشکی ضعیف و شدید بر فعالیت آنزیم‌های ضد اکسندگی شامل سوپراکسید دیسموتاز (SOD)، آسکوربیت پراکسیداز (APX)، کاتالاز (CAT) و پراکسیداز (POX)، در مراحل شروع باروری، پر شدن دانه و شیری شدن دانه چهار ژنوتیپ جو با عملکرد دانه متفاوت در مزرعه بررسی گردید. نتایج نشان دادند که تنش کم آبی باعث افزایش فعالیت آنزیم‌های ضد اکسندگی در هر چهار ژنوتیپ گردید. در مرحله شروع باروری فعالیت آنزیم پراکسیداز در ژنوتیپ Q22 از سایر ژنوتیپ‌ها بیشتر بود ($P < 0.01$). با توجه به اینکه بر اساس عملکرد دانه در شرایط خشکی، این ژنوتیپ از ژنوتیپ‌های دیگر نسبت به تنش کم آبی مقاوم‌تر می‌باشد، به نظرمی رسد این آنزیم در مقاوم کردن این ژنوتیپ به تنش کم آبی نقش موثری داشته و می‌توان از آن در تحقیقات زیست فناوری و تولید ژنوتیپ‌های مقاوم به تنش خشکی استفاده کرد.

واژه‌های کلیدی: تنش کم آبی، تنش اکسندگی، سوپراکسید دیسموتاز، آسکوربیت پراکسیداز، کاتالاز، پراکسیداز

مقدمه

(۱۲، ۲۰، ۳۴ و ۳۵). گیاهان جهت مقابله با تنش اکسندگی ناشی از انواع اکسیژن فعال دارای فعالیت ضد اکسندگی آنزیمی و غیر آنزیمی می‌باشند (۴). ضد اکسندگی‌های غیر آنزیمی شامل آب دوست‌ها^۴ (شامل گلوتاتیون و آسکوربیک اسید) و چربی دوست‌ها^۵ (شامل توکوفرول و کاروتنوئیدها) می‌باشند (۲۹). ضد اکسندگی‌های آنزیمی شامل سوپراکسید دیسموتاز (SOD, EC 1.15.1.1) که واکنش تبدیل رادیکال سوپر اکسید (O_2^-) به پراکسید هیدروژن (H_2O_2) را کاتالیز می‌کند، کاتالاز (CAT, EC 1.11.1.6)، آسکوربیت پراکسیداز (APX, EC 1.11.1.11) و پراکسیداز (POX, EC 1.11.1.7) که پراکسید هیدروژن تشکیل شده را به آب احیا می‌کنند (۶، ۱۶ و ۲۴) و آنزیم گلوتاتیون ردوکتاز (GR, EC 1.6.4.2) که مسیر متابولیکی "اسدا - هالیول" را از طریق باززایی مخزن گلوتاتیون به وسیله NADPH به عنوان دهنده الکترون کامل می‌کند (۲۱). تحقیقات اخیر نشان می‌دهد که تنش خشکی باعث تشکیل انواع اکسیژن فعال و به دنبال آن باعث افزایش فعالیت آنزیم‌های ضد اکسندگی می‌گردد، به طوری که افزایش فعالیت آنزیم‌های ضد اکسندگی در گیاهان مقاوم

در سلول‌های گیاهی یکی از نتایج بدیهی انتقال الکترون پیوسته با غشا در کلروپلاست، میتوکندری و غشای پلاسمایی انتقال الکترون به اکسیژن مولکولی و تشکیل انواع اکسیژن فعال می‌باشد. تقریباً ۱٪ از اکسیژنی که به وسیله گیاهان مصرف می‌گردد، در طی فرایندهای طبیعی سلول صرف تولید انواع اکسیژن فعال می‌شود. اما تنش‌های زنده و غیر زنده باعث افزایش تشکیل انواع اکسیژن فعال در سلول گیاهی می‌شوند. انواع اکسیژن فعال که می‌توانند منجر به تخریب اکسندگی شوند شامل رادیکال سوپر اکسید (O_2^-)، رادیکال پرهیدروکسیل ($H_2O_2^-$)، پراکسید هیدروژن (H_2O_2)، رادیکال هیدروکسیل (HO)، رادیکال الکاکیل (RO)، رادیکال پروکسیل (ROO)، هیدروپراکسیدهای آلی (ROOH)، اکسیژن منفرد (RO) و کربونیل برانگیخته (RO) می‌باشد (۹). اکسیژن‌های فعال باعث تخریب ماکرومولکول‌ها و پراکسیداسیون لیپیدهای غشاء می‌شوند

۳- دانشجوی سابق کارشناسی ارشد و دانشیار گروه بیوتکنولوژی کشاورزی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه بین المللی امام خمینی (ره)

*-نویسنده مسئول: (Email: zohamini@gmail.com)

۲- استادیار فیزیولوژی گیاهی موسسه تحقیقات بیوتکنولوژی کشاورزی

4- Hydrophilics
5- Lipophilics

کشت آبی جو زمانی صورت می‌گیرد که میزان بارندگی در طول دوره رشد گیاه جو کمتر از ۲۰۰ میلی‌متر باشد (۲). با توجه به اینکه میزان بارندگی در منطقه قزوین از زمان کاشت تا آخر ماه فروردین بیش از ۲۵۵ میلی‌متر بود (مشخصات هواشناسی منطقه در طول دوره آزمایش در شکل ۱ آورده شده است). بنابراین تا اول ماه اردیبهشت ۱۳۸۵ گیاهان در شرایط طبیعی مزرعه بودند و فقط آب باران را دریافت می‌کردند. از این تاریخ به بعد (۱۶۸ روز بعد از کاشت) در اطراف گیاهانی که باید تحت تنش خشکی شدید قرار می‌گرفتند، چهار چوب فلزی قرار داده شد. سپس با توجه به پیش‌بینی هواشناسی در زمان‌هایی که احتمال بارندگی وجود داشت بر روی چارچوب فلزی پلاستیک قرار داده شد تا از رسیدن آب باران به آنها جلوگیری شود و پس از بارندگی پلاستیک برداشته می‌شد. در چنین شرایطی پوشش پلاستیکی تاثیری بر دما نداشت و گیاهان فقط تحت تنش کم آبی قرار داشتند. در طول دوره آزمایش گیاهان تیمار تنش خشکی ضعیف آبیاری نشدند و میزان آب دریافتی گیاه به میزان نزولات آسمانی بستگی داشت. گیاهان شاهد (آبیاری شده)، در طول دوره آزمایش هفته‌ای یک بار آبیاری شدند (۳). نمونه برداری‌ها در روزهای ۲۱۵، ۲۲۹ و ۲۳۶ بعد از کاشت و بر اساس روش دهدهی یا زادوکس به ترتیب در مراحل شروع باروری^۱ (۶۰-۶۱)، پر شدن دانه (۷۱-۷۲)، شیری شدن دانه (۷۵-۷۶) و ۲۴ ساعت پس از آبیاری گیاهان شاهد از برگ‌های اول (برگ پرچی)، دوم و سوم ساقه اصلی هر بوته صورت گرفت و بلافاصله بعد از قرار دادن نمونه‌ها در ورقه‌های آلومینیومی، در نیتروژن مایع منجمد گردیده و در پایان نمونه برداری در دمای ۸۰°C- نگهداری شدند (۲۹).

جهت تعیین میزان نسبی آب^۲ از برگ پرچم از روش ترکان و همکاران (۳۵) استفاده گردید. جهت استخراج پروتئین محلول کل^۳ یک گرم بافت برگ در حضور ۱۰۰ میلی‌گرم پلی‌وینیل‌پیرولیدون (PVP) و ۳ میلی‌لیتر بافر استخراج (شامل بافر فسفات پتاسیم ۵۰ میلی‌مولار (pH=۷) و سدیم متابی‌سولفات یک میلی‌مولار) له شدند. عصاره گیاهی حاصل به لوله‌های سانتریفیوژ انتقال داده شد و نمونه‌ها در ۱۵۰۰۰ rpm و دمای ۴°C به مدت ۲۵ دقیقه در دستگاه سانتریفیوژ (Beckman Culter مدل Allegra - 64R) سانتریفیوژ شدند. همه مراحل تهیه عصاره آنزیمی در دمای ۴°C صورت گرفت. میزان پروتئین محلول کل به روش بردفورد (۱۳) و میزان کلروفیل به روش آرنون (۵) اندازه‌گیری شد.

به تنش خشکی نسبت به گیاهان حساس، نقش مهمی در مقاوم کردن آنها به تنش خشکی دارا می‌باشد (۱۷ و ۲۲).

خشکی یکی از مهمترین تنش‌های محیطی است که باعث کاهش رشد گیاهان و در نتیجه عملکرد آنها می‌شود (۲۶ و ۳۷). با توجه به اینکه ایران در منطقه گرم و نیمه خشک واقع شده است، تولید گیاهان مقاوم به خشکی با استفاده از روش‌های جدید زیست فناوری امری لازم و ضروری می‌باشد. جهت محقق شدن این امر، آگاهی از مکانیسم‌های دفاعی گیاه در مقابله با تنش خشکی لازم است تا بتوان در مراحل بعدی ژن‌های مسئول این مکانیسم‌ها را شناسایی کرد. همچنین مشخص شده است که حساسیت گیاهان به کمبود آب در مراحل مختلف رشد و نمو متفاوت می‌باشد. جو در مقایسه با گندم، چاودار و یولاف احتیاج کمتری به آب دارد. این نیاز کم از یک طرف به دلیل مصرف کمتر آب و از طرف دیگر به دلیل رسیدن گیاه قبل از گرمای تابستان می‌باشد (۲). با وجود این جو نیز در طول دوره رشد و نمو خود در مراحل ساقه رفتن، کرده افشانی و تشکیل دانه و پر شدن آن نسبت به کمبود آب حساس است و تنش خشکی در این مراحل منجر به کاهش عملکرد آن می‌شود (۷، ۸ و ۱۱). تا به امروز تحقیقات زیادی درباره اثر تنش خشکی بر فعالیت آنزیم‌های ضد اکسنده در شرایط آزمایشگاه و در مرحله نشاء صورت گرفته است (۲۰، ۲۹، ۳۰، ۳۴ و ۳۶)، اما اطلاعات اندکی درباره اثر تنش خشکی بر فعالیت این آنزیم‌ها در مراحل رشد زایشی در شرایط طبیعی رشد گیاهان (در مزرعه) وجود دارد. از این رو با توجه به اهمیت نقش آنزیم‌های ضد اکسنده در محافظت سلول‌های گیاهی در مقابل تنش اکسنده ناشی از کمبود آب، در این پژوهش اثر تنش خشکی ضعیف و شدید بر فعالیت آنزیم‌های سوپراکسید دیسموتاز، آسکوربیت پراکسیداز، کاتالاز و پراکسیداز در مراحل شروع باروری، پر شدن دانه و شیری شدن دانه چهار ژنوتیپ جو در مزرعه بررسی شده است. همان‌طور که در جدول یک آورده شده است این ژنوتیپ‌ها از نظر میانگین عملکرد دانه با یکدیگر تفاوت دارند. هدف از گزینش آنها پاسخ به این پرسش بود که آیا این ژنوتیپ‌ها که از نظر عملکرد با هم تفاوت دارند از نظر میزان و چگونگی فعالیت آنزیم‌های ضد اکسنده نیز اختلافی دارند؟

مواد و روش‌ها

بذر چهار ژنوتیپ جو (*Hordeum vulgare* L.) به نام‌های Q15، Q20، Q22 و Q22 بر اساس آزمایش‌های مقدماتی از خزانه ژنتیکی موجود در گروه بیوتکنولوژی دانشکده فنی و مهندسی دانشگاه بین‌المللی امام خمینی (ره) انتخاب گردید. مشخصات ژنوتیپ‌ها شامل عملکرد دانه و برخی از صفات مرتبط با عملکرد در شرایط خشکی در جدول یک آورده شده است. بذرها با تراکم کشت ۲۵۰ بوته در متر مربع در تاریخ ۱۲ آبان ماه ۱۳۸۴ در مزرعه کاشته شدند.

۱- این اعداد نشان دهنده مراحل رشد و نمو غلات بر اساس روش دهدهی یا دو صفر تا صد (زادوکس) می‌باشد.

2- Relative water conten
3- Total soluble protein

جدول ۱- عملکرد و برخی از صفات زراعی ژنوتیپ های بکار برده شده در این پژوهش در شرایط تنش خشکی

ژنوتیپ	میانگین عملکرد دانه (کیلو گرم / هکتار)	وزن هزار دانه (گرم)	عملکرد بیولوژیک (کیلو گرم / هکتار)	عرض برگ پرچم (سانتیمتر)	طول برگ پرچم (سانتیمتر)	ارتفاع بوته (سانتیمتر)
Q13	۱۳۹۰	۳۶/۱۱	۲۱۲۵	۰/۸۶	۵/۹۳	۶۷
Q15	۹۲۱	۳۱/۷۸	۱۴۲۰	۰/۷۲	۹/۶	۶۰
Q20	۱۵۸۲	۲۵/۹۹	۱۷۷۰	۰/۷۱	۱۲/۴	۷۱
Q22	۱۸۷۰	۴۳/۹۴	۲۱۶۰	۰/۶۹	۶/۲	۷۷

نانومتر و با استفاده از ضریب خاموشی $26/6 \text{ mm}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ تعیین گردید. فعالیت ویژه آنزیم های آسکوربیت پراکسیداز، کاتالاز و پراکسیداز بصورت تعداد میکرومول H_2O_2 تجزیه شده در دقیقه در میلی گرم پروتئین گزارش شد.

این آزمایش به صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار انجام شد. عوامل پراکندگی مورد مطالعه در این تحقیق عبارت از الف: سه نوع تیمار (T) شامل تیمارهای آبیاری شده، خشکی ضعیف و خشکی شدید، ب: سه مرحله رشد گیاه (GS) شامل شروع باروری، پر شدن دانه و شیرینی شدن دانه و ج: چهار ژنوتیپ (G) شامل Q13، Q15، Q20 و Q22 بود. بررسی داده‌ها به کمک نرم‌افزار SPSS 11.5 (Chicago, IL, USA) انجام گرفت و میانگین‌ها به وسیله آزمون دانکن در سطح احتمال ۱٪ با یکدیگر مقایسه شدند.

نتایج و بحث

اثر تنش کم آبی

میزان آب برگ پرچم در تیمارهای خشکی ضعیف و شدید نسبت به گیاهان آبیاری شده کاهش معنی‌داری نشان داد (شکل ۲). کاهش میزان RWC در تیمار خشکی شدید نسبت به تیمار خشکی ضعیف معنی‌دار نبود. بین تیمارها از نظر میزان کلروفیل تفاوت معنی‌داری مشاهده نگردید و هر سه تیمار در یک گروه آماری قرار گرفتند (شکل ۲). بین گیاهان آبیاری شده و گیاهان تیمار خشکی ضعیف از نظر میزان پروتئین محلول کل تفاوت معنی‌داری مشاهده نگردید (شکل ۲). اما با افزایش شدت کم آبی، میزان پروتئین محلول کل در تیمار خشکی شدید به طور معنی‌داری کاهش پیدا کرد (شکل ۲).

فعالیت ویژه آنزیم سوپراکسید دیسموتاز در تیمارهای خشکی ضعیف و شدید نسبت به گیاهان شاهد افزایش معنی‌داری نشان داد (شکل ۳). اما اختلاف معنی‌داری بین تیمارهای خشکی ضعیف و شدید مشاهده نگردید. فعالیت ویژه آنزیم‌های آسکوربیت پراکسیداز، کاتالاز و پراکسیداز بین سه تیمار تفاوت معنی‌داری نشان داد و تیمارها در گروه‌های آماری متفاوتی قرار گرفتند. بیشترین فعالیت ویژه این آنزیم‌ها در تیمار خشکی شدید مشاهده گردید (شکل ۳).

فعالیت آنزیم‌ها به روش اسپکتروفتومتری (اسپکتروفتومتر Labomed مدل UV-3200) در دمای آزمایشگاه ($25 \pm 2^\circ \text{C}$) اندازه گیری شد. فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز (۱، ۱۵، ۱۰۱، SOD، EC) از طریق اندازه گیری توانایی آن در جلوگیری از احيای نوری نیترو بلو تترازولیم کلراید (NBT) با تغییرات جزئی در روش دهیدنسا و همکاران (۱۵) سنجش شد. ۳ میلی لیتر مخلوط واکنش شامل فسفات پتاسیم ۵۰ میلی مولار (pH=7/8)، متیونین ۱۳ میلی مولار، نیترو بلو تترازولیم کلراید ۷۵ میکرومولار، اتیلن دی آمین تترا استیک اسید ۰/۱ میلی مولار، ریوفلاوین ۳۶۰ میکرومولار و ۳۰ میکرولیتر عصاره خام بود. پس از آن که مخلوط بهم زده شد سل‌های اسپکتروفتومتر به مدت ۱۰ دقیقه در زیر یک لامپ فلورسنت ۱۵W به فاصله ۳۵ سانتیمتر قرار داده شد. با خاموش کردن لامپ واکنش متوقف و جذب مخلوط واکنش در ۵۶۰ نانومتر خوانده شد. یک واحد فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز، مقدار آنزیمی در نظر گرفته می‌شود که می‌تواند تا ۵۰ درصد مانع از احيای نوری نیترو بلو تترازولیم کلراید گردد. فعالیت ویژه آنزیم به صورت تعداد واحدهای آنزیم در میلی گرم پروتئین گزارش گردید.

فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز (۱، ۱۱، ۱۱، ۱۱، APX، EC) به روش ناکانو و اسدا (۲۷) اندازه گیری گردید. یک میلی لیتر مخلوط واکنش شامل بافر فسفات پتاسیم یک مولار (pH=7/8)، آسکوربات ۱۰ میلی مولار، پراکسید هیدروژن ۱۰ میلی مولار و ۱۰ میکرولیتر عصاره خام بود. فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز بر اساس میزان اکسید شدن آسکوربات در طول موج ۲۹۰ نانومتر و با استفاده از ضریب خاموشی $2/8 \text{ mm}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ تعیین گردید.

جهت اندازه گیری فعالیت آنزیم کاتالاز (۱، ۱۱، ۱، ۱، CAT، EC) از روش بیرز و سیزر (۱۰) استفاده شد. یک میلی لیتر مخلوط واکنش شامل بافر فسفات پتاسیم یک مولار (pH=7/8)، پراکسید هیدروژن یک مولار و ۱۰ میکرولیتر عصاره خام بود. فعالیت آنزیم کاتالاز بر اساس میزان تجزیه شدن H_2O_2 در طول موج ۲۴۰ نانومتر و با استفاده از ضریب خاموشی $39/4 \text{ mm}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ تعیین گردید.

اندازه گیری فعالیت آنزیم پراکسیداز (۱، ۱، ۱، ۱، POX، EC) به روش همدا و کلین (۱۹) صورت گرفت. یک میلی لیتر مخلوط واکنش شامل بافر فسفات پتاسیم ۵۰ میلی مولار (pH=6/6)، گایاکول ۱٪ و پراکسید هیدروژن ۳٪/۱۰ میکرولیتر عصاره خام بود. فعالیت آنزیم پراکسیداز بر اساس میزان اکسید شدن گایاکول در طول موج ۴۷۰



شکل ۱- میانگین دمای هوا، رطوبت نسبی و بارندگی ماهیانه در طول دوره آزمایش.

جدول ۲- نتایج تجزیه واریانس برای صفات میزان نسبی آب برگ پرچم (RWC)، میزان کلروفیل (CHL) و پروتئین محلول کل (TSP) و فعالیت ویژه آنزیم‌های سوپراکسید دیسموتاز (SOD)، آسکوربیت پراکسیداز (APX)، کاتالاز (CAT) و پراکسیداز (POX) در چهار ژنوتیپ جو.

میانگین مربعات						درجه آزادی	منابع تغییرات
POX	CAT	APX	SOD	TSP	CHL	RWC	
۶۳۲۱۶۴**	۵۲۶۲۷**	۲۰۶۷۴۱**	۱۳۹۹۱**	۲۸/۱۳**	۸/۹۵۸ ^{ns}	۲۴۷۳۳**	۲ تیمار رطوبتی (T)
۱۱۸۹۳۳۶۱**	۱۱۳۸۳**	۱۰۹۸۹۹۱**	۸۳۵۶۳۴**	۰/۶۰**	۷۹/۲۷۱**	۲۲۱۷۴**	۲ مرحله رشد (GS)
۹۸۹۰۷**	۲۳۶۱۱**	۶۲۸۷۴**	۳۴۴۲۱**	۰/۰۱۴**	۱۲/۹۸۷**	۳۰۲/۹۸**	۳ ژنوتیپ (G)
۴۶۰۹۲۳۷**	۲۹۹۹۳**	۱۵۴۴۱۰۱**	۵۵۳۰۲**	-۰/۰۴۶**	-۰/۳۳۹**	۲۴۷۳/۱**	۴ اثر متقابل (T×GS)
۱۰۰۳۶۸**	۷۸۴۶**	۱۲۹۵۶۱**	۵۴۴۷**	-۰/۰۰۱ ^{ns}	-۰/۱۵۸*	۱۹/۸۹۱ ^{ns}	۶ اثر متقابل (T×G)
۴۲۵۹۶۱**	۳۷۷۸**	۷۵۲۳۳**	۱۵۷۹۴**	-۰/۰۱۱**	۱/۸۲۳**	۱۸/۶۵۵ ^{ns}	۶ اثر متقابل (GS×G)
۱۰۶۵۹۸**	۴۷۶۸**	۲۷۰۴۱**	۱۸۹۵ ^{ns}	-۰/۰۲۳**	-۰/۱۵۳**	۱۵/۹۷۳ ^{ns}	۱۲ اثر متقابل (T×GS×G)
۲۶۴۶۹	۲۱۶۲	۹۳۳۹	۲۱۲۰	۰/۰۰۱	۰/۰۷۰	۱۵/۲۸۱	۷۲ اشتباه آزمایشی
۱۱/۵۸۴	۹/۹۲۳	۷/۷۷۳	۱۴/۰۵۹	۰/۵۸۲	۱۰/۳۲۷	۶/۶۸۱	ضریب تغییرات (درصد)

*- در سطح ۵٪ معنی دار می‌باشد.

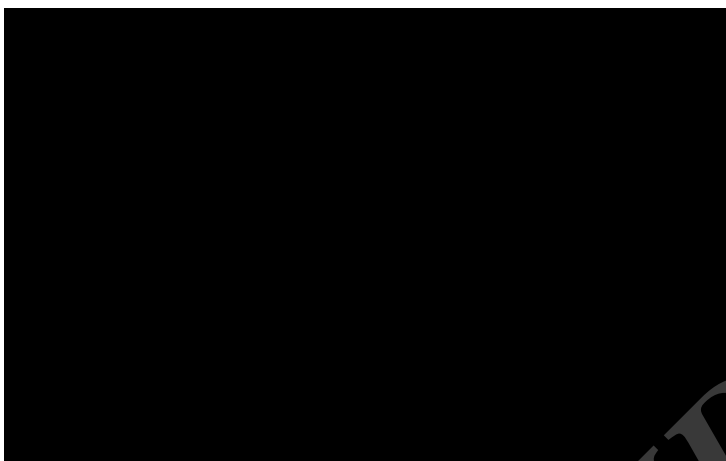
** - در سطح ۱٪ معنی دار می‌باشد.

^{ns} - در سطح احتمال ۱٪ و ۵٪ معنی دار نمی‌باشد.

طور معنی دار کمتر از سایر ژنوتیپ‌ها بود. در مرحله شیرینی شدن دانه نیز تفاوت بین ژنوتیپ‌ها در هر سه رژیم آبی معنی دار بود و بیشترین میزان RWC در هر سه تیمار در ژنوتیپ Q22 مشاهده شد (شکل III- A-۴). در مطالعه میزان کلروفیل اختلاف بین ژنوتیپ‌ها در هر سه مرحله نمونه برداری سه رژیم آبی معنی دار بود و در هر سه مرحله بیشترین میزان کلروفیل در ژنوتیپ Q15 مشاهده شد (شکل III- A- I, II and III-۴).

تفاوت بین ژنوتیپ‌ها

در میزان نسبی آب برگ پرچم (RWC) در مرحله شروع باروری سه رژیم آبی (شکل I- A-۴) و در مرحله پر شدن دانه گیاهان آبیاری شده تفاوت معنی داری بین ژنوتیپ‌ها مشاهده نشد (شکل II- A-۴). در مرحله پر شدن دانه تیمار خشکی ضعیف میزان RWC ژنوتیپ‌های Q20 و Q22 به طور معنی دار بیش از ژنوتیپ‌های Q13 و Q15 بود (شکل II- A-۴). اما تفاوت بین دو ژنوتیپ Q20 و Q22 معنی دار نشد. در تیمار خشکی شدید میزان RWC ژنوتیپ Q15 به



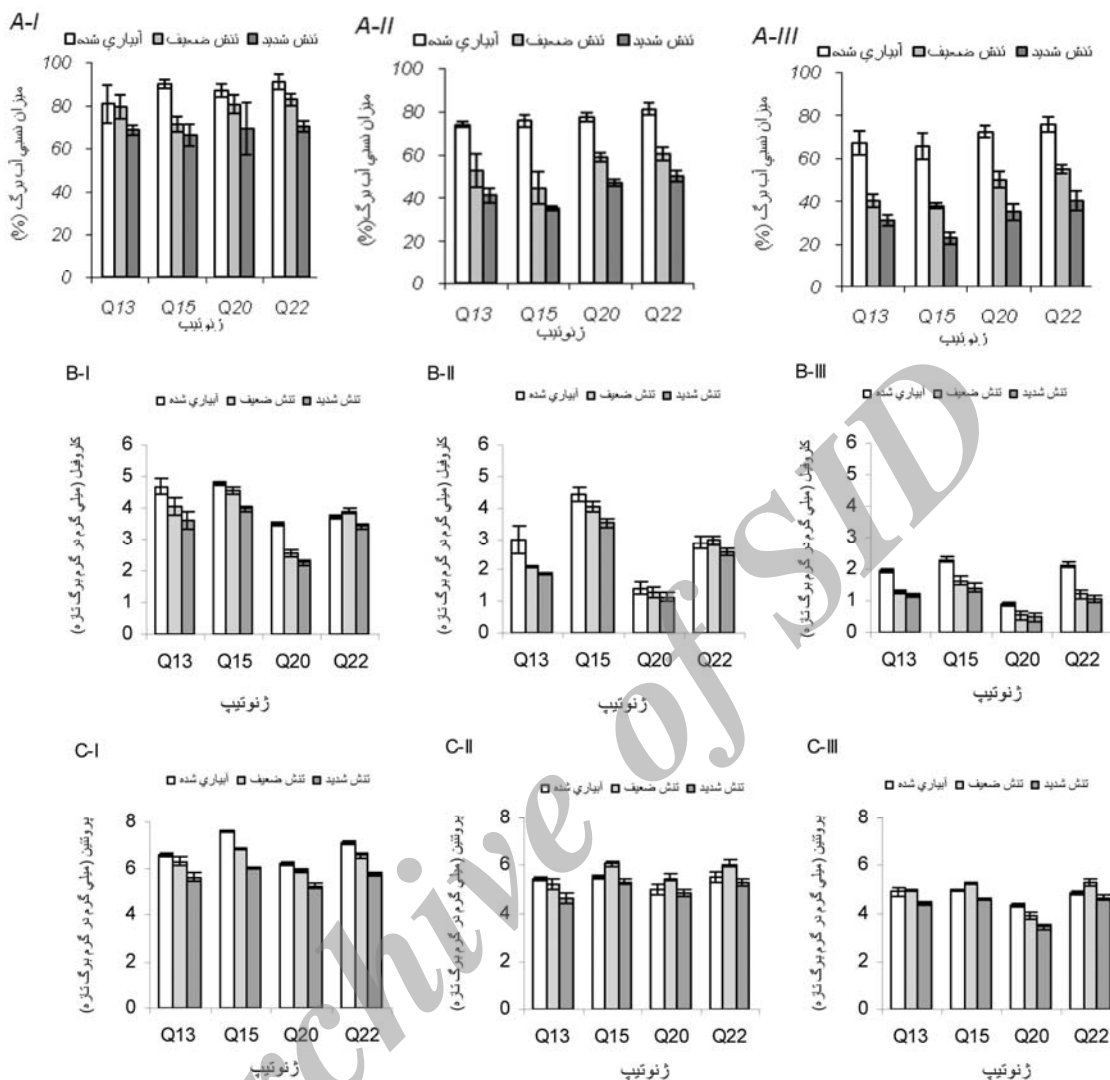
شکل ۲- اثر تیمارهای آبیاری شده، خشکی ضعیف و شدید بر میزان نسبی آب برگ (RWC)، میزان کلروفیل و پروتئین محلول کل



شکل ۳- اثر تیمارهای آبیاری شده، خشکی ضعیف و شدید بر فعالیت یژه آنزیم‌های سوپراکسید دیسموتاز (SOD)، آسکوربیت پراکسیداز (APX)، کاتالاز (CAT) و پراکسیداز (POX)

در مرحله پر شدن دانه در هر سه رژیم آبی ژنوتیپ‌های Q13 و Q20 بیشترین فعالیت آنزیمی را داشتند (شکل II- A-۵). در مرحله شیرگی شدن دانه گیاهان تحت تنش‌های خشکی ضعیف و شدید ژنوتیپ‌های Q15 و Q20 بیشترین فعالیت آنزیمی را نشان دادند (شکل III- A-۵). برای آنزیم آسکوربیت پراکسیداز، در مرحله باروری فقط در گیاهان شاهد (شکل I- B-۵) و در مرحله پر شدن دانه در هر سه رژیم آبی تفاوت بین ژنوتیپ‌ها معنی‌دار نبود (شکل II- B-۵). در مرحله شروع باروری تیمارهای خشکی ضعیف و شدید فعالیت این آنزیم در ژنوتیپ Q20 به طور معنی‌دار از ژنوتیپ‌های دیگر کمتر بود. بین ژنوتیپ‌های Q13، Q15 و Q22 تفاوت معنی‌داری مشاهده نشد.

در صورتی که برای پروتئین محلول کل در مرحله شروع باروری هر سه رژیم آبی و در مراحل پر شدن دانه و شیرگی شدن دانه گیاهان شاهد تفاوت معنی‌داری بین ژنوتیپ‌ها مشاهده نشد (شکل I- B- and III-۴). در مراحل پر شدن دانه و شیرگی شدن دانه تیمارهای خشکی ضعیف و شدید تفاوت بین ژنوتیپ‌ها معنی‌دار بود و بیشترین مقدار پروتئین محلول کل در ژنوتیپ‌های Q15 و Q22 مشاهده شد. برای فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز در مرحله شروع باروری هر سه رژیم آبی تفاوت بین ژنوتیپ‌ها معنی‌دار شد و ژنوتیپ Q15 کمترین فعالیت آنزیمی را نشان داد (شکل I- A-۵). اما بین ژنوتیپ‌های Q13، Q20 و Q22 تفاوت معنی‌داری مشاهده نگردید.



شکل ۴- تغییرات (A) میزان نسبی آب برگ پرچم، (B) میزان کلروفیل و (C) پروتئین محلول کل در تیمارهای آبیاری شده، تیمار خشکی ضعیف و تیمار خشکی شدید چهار ژنوتیپ جو در مراحل شروع باروری (I)، پر شدن دانه (II) و شیرگی شدن دانه (III). میانگین‌ها با استفاده از آزمون دانکن در سطح ۱٪ مقایسه شدند. میله‌های عمودی نشانه \pm SE می‌باشند. هر عدد میانگین سه تکرار می‌باشد.

ژنوتیپ‌ها در هر سه رژیم آبی وجود نداشت و ژنوتیپ‌ها در یک گروه آماری قرار گرفتند (شکل II and III-C-۶). برای آنزیم پراکسیداز، در مرحله شروع باروری هر سه رژیم آبی، تفاوت بین ژنوتیپ‌ها معنی دار شد. در هر سه تیمار ژنوتیپ Q22 دارای بیشترین و ژنوتیپ Q15 دارای کمترین فعالیت پراکسیداز بود (شکل I-D-۶). در مرحله پر شدن دانه گیاهان شاهد، تفاوت بین ژنوتیپ‌ها معنی دار و ژنوتیپ Q15 دارای بیشترین و ژنوتیپ Q22 دارای کمترین فعالیت پراکسیداز بود. اما در تیمارهای خشکی ضعیف و شدید تفاوتی بین تیمارها مشاهده نشد (شکل II-D-۶). در مرحله شیرگی شدن دانه گیاهان

در مرحله شیرگی شدن دانه گیاهان آبیاری شده بیشترین میزان فعالیت در ژنوتیپ Q22 وجود داشت. اما در تیمارهای خشکی ضعیف و شدید ژنوتیپ Q22 دارای کمترین میزان فعالیت آنزیمی بود (شکل III-B-۵). در فعالیت آنزیم کاتالاز در مرحله شروع باروری گیاهان شاهد تفاوت معنی داری بین ژنوتیپ‌ها مشاهده نگردید (شکل I-C-۶). تنش کم آبی باعث گردید اختلاف بین ژنوتیپ‌ها معنی دار گردد. در تیمارهای خشکی ضعیف و شدید بیشترین فعالیت آنزیم کاتالاز در ژنوتیپ Q15 و کمترین فعالیت در ژنوتیپ Q22 مشاهده شد. اما در مراحل پر شدن دانه و شیرگی شدن آن تفاوت معنی داری بین

فعالیت POX کاهش پیدا کرد. فعالیت CAT در اثر تنش خشکی کاهش یافت. در آزمایشی بر روی گندم ژانگ و همکاران (۳۸) نشان دادند فعالیت SOD و CAT در ابتدای تنش خشکی افزایش پیدا کرد اما با طولانی شدن دوره تنش خشکی فعالیت این آنزیم‌ها کاهش یافت. در مقابل فعالیت POX و میزان MDA (فرآورده نهایی پراکسیداسیون لیپیدها) به طور قابل ملاحظه‌ای در پاسخ به تنش خشکی افزایش پیدا کرد.

همبستگی بین صفات

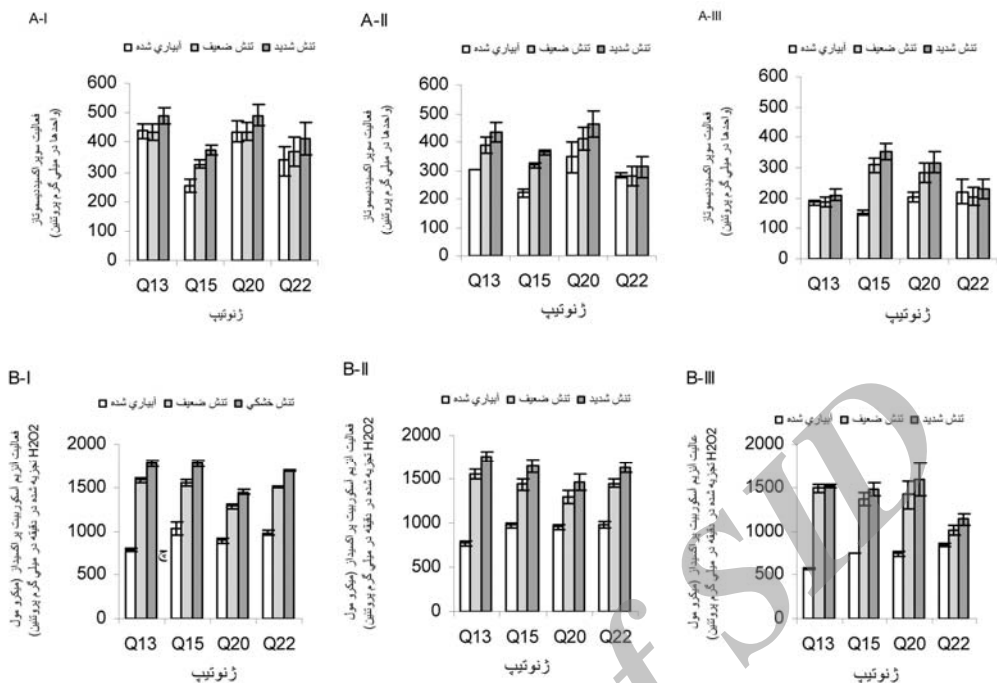
بین میزان فعالیت آنزیم‌های ضد اکسندگی شامل سوپر اکسید دیسموتاز، آسکوربیت پراکسیداز، کاتالاز و پراکسیداز با صفات اندازه گیری شده در ارتباط با عملکرد شامل عملکرد دانه، وزن هزار دانه و عملکرد بیولوژیک همبستگی مشاهده گردید (جدول ۳). همبستگی بین میزان فعالیت آنزیم پراکسیداز با ارتفاع بوته، عملکرد دانه، وزن هزار دانه و عملکرد بیولوژیک معنی دار و مثبت است. همبستگی بین میزان فعالیت آنزیم کاتالاز با عملکرد دانه و وزن هزار دانه معنی دار و منفی است. همبستگی بین میزان فعالیت آنزیم‌های سوپر اکسید دیسموتاز و آسکوربیت پراکسیداز با سایر صفات غیر معنی دار بود. در این آزمایش فقط در مرحله شروع باروری بین صفت مقاومت به تنش خشکی ژنوتیپ Q22 و میزان فعالیت آنزیم پراکسیداز رابطه مستقیمی مشاهده گردید. به نظر می رسد بالاتر بودن فعالیت آنزیم پراکسیداز در ژنوتیپ Q22 در این مرحله می تواند در ایجاد تحمل به تنش خشکی نقش موثری داشته باشد. اما در سایر موارد رابطه مشخصی بین نحوه فعالیت آنزیم‌های ضد اکسندگی و ژنوتیپ‌ها مشاهده نگردید. چنین نتیجه‌ای به وسیله دیگران نیز گزارش شده است. پینهر و همکاران (۲۹) در آزمایشی فعالیت آنزیم‌های ضد اکسندگی را در چهار همسانه (*Coffea canephora*) در شرایط مزرعه بررسی کردند. در این چهار همسانه، همسانه‌های ۱۴ و ۲۰ مقاوم به تنش خشکی و همسانه‌های ۴۶ و ۱۰۹۸ حساس به تنش خشکی بودند. آزمایش‌ها نشان داد که بین همسانه‌ها و فعالیت آنزیم‌های ضد اکسندگی رابطه مشخصی وجود ندارد. حبیبی و همکاران (۱۸) گزارش کردند بین صفت مقاومت به خشکی اندازه گیری شده بر اساس عملکرد دانه و فعالیت آنزیم‌های سوپر اکسید دیسموتاز، کاتالاز و پراکسیداز رابطه مشخصی وجود ندارد. آنها نتیجه‌گیری کردند انتخاب رقم مقاوم به خشکی بر اساس ارزیابی فعالیت آنزیم‌های ضد اکسندگی امکان پذیر نمی‌باشد. لاسکانو و همکاران (۲۳) واکنش چهار رقم گندم به تنش خشکی را بر اساس عملکرد دانه در شرایط تنش خشکی تعیین کردند. ارقامی که عملکرد بالاتری داشتند به عنوان ارقام مقاوم و آنهایی که عملکرد پایین‌تری داشتند به عنوان ارقام حساس شناخته شدند.

شاهد فعالیت پراکسیداز در ژنوتیپ‌های Q13 و Q22 بیش از ژنوتیپ‌های Q15 و Q20 و در تیمارهای خشکی ضعیف و شدید فعالیت پراکسیداز ژنوتیپ Q15 از سایر ژنوتیپ‌ها کمتر بود (شکل III-D-۶).

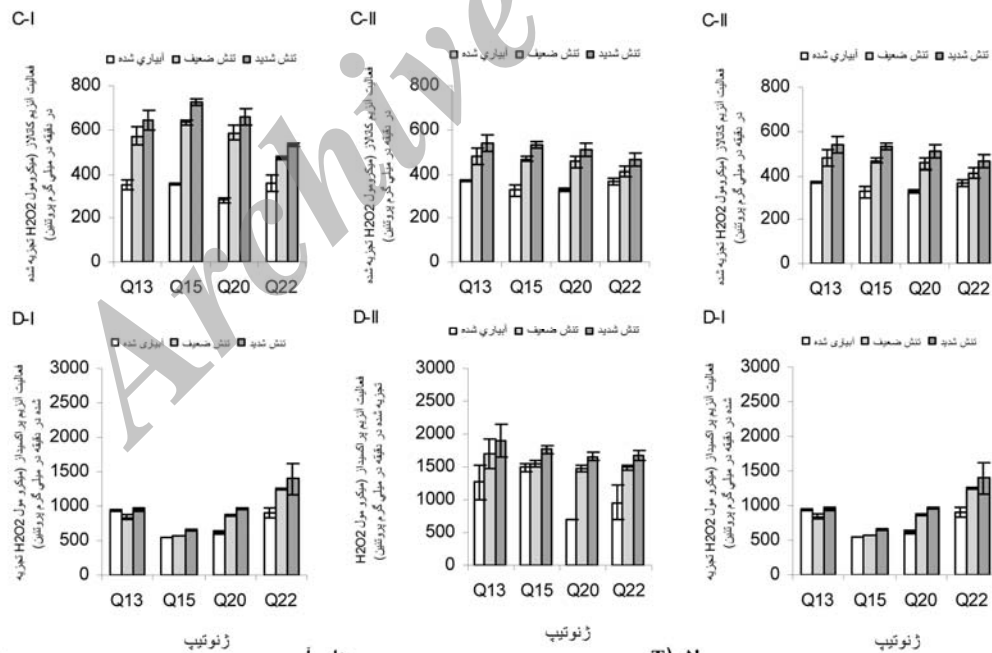
در این آزمایش جهت اطمینان از اعمال تنش کم آبی بر روی گیاهان تیمارهای خشکی ضعیف و خشکی شدید تغییرات میزان نسبی آب برگ پرچم^۱ اندازه گیری گردید. تنش خشکی در این تیمارها باعث کاهش RWC گردید (شکل ۲). در پژوهش‌هایی جهت بررسی ارتباط خشکی و تنش اکسندگی ناشی از آن در گیاه مریم گلی (*Salvia officinalis* L.) (۲۵)، گندم (۳۳) و پسته (۲۶) گزارش گردید که با افزایش شدت تنش خشکی RWC نیز بتدریج کاهش می‌یابد. همانطور که در نتایج این گزارش آورده شد در مرحله شروع باروری در هر سه تیمار در میزان RWC تفاوت معنی داری بین ژنوتیپ‌ها مشاهده نشد (شکل I-A-۴). اما در مرحله پر شدن دانه در تیمار خشکی شدید ژنوتیپ Q15 (که بر اساس میزان عملکرد در شرایط تنش کم آبی حساس‌ترین ژنوتیپ به تنش کم آبی شناخته شده است) کمترین میزان RWC را نشان داد (II-A-۴) و در مرحله شیری شدن نیز بیشترین میزان RWC در ژنوتیپ Q22 (که بر اساس میزان عملکرد در شرایط تنش کم آبی مقاوم‌ترین ژنوتیپ به تنش کم آبی شناخته شده است) دیده شد (شکل III-A-۴). چنین نتیجه‌ای به وسیله سعید و همکاران (۳۱) و لاسکانو و همکاران (۲۳) نیز گزارش شده است. آنها اثر تنش کم آبی را بر میزان RWC در ارقام گندم مقاوم و حساس اندازه گیری کردند. نتایج نشان داد که در همه ارقام بکار برده شده در آزمایش در اثر تنش خشکی این شاخص کاهش می‌یابد اما درصد کاهش آن در ارقام حساس بطور معنی داری بیشتر از ارقام مقاوم بود. همچنین در اثر تنش خشکی میزان پروتئین محلول کل در گیاهان تحت تنش خشکی شدید نسبت به گیاهان آبیاری شده و تیمار خشکی ضعیف کاهش پیدا کرد (شکل ۲). کاهش پروتئین محلول کل در اثر تنش خشکی در سایر گیاهان مانند گندم، برنج، تنباکو و آفتابگردان نیز گزارش شده است (۱۸، ۲۸، ۳۲ و ۳۴).

در این پژوهش در اثر تنش خشکی فعالیت آنزیم‌های سوپر اکسید دیسموتاز، آسکوربیت پراکسیداز، کاتالاز و پراکسیداز در مراحل شروع باروری، پر شدن دانه و شیری شدن دانه چهار ژنوتیپ جو افزایش یافت (شکل ۳). اسلوت و خان‌چاپرا (۳۲) در بررسی اثر تنش خشکی بر عقیم شدن سنبلچه‌های برنج گزارش کردند که فعالیت SOD، APX در اثر تنش خشکی افزایش پیدا می‌کند. شارما و دویی (۳۴) نیز گزارش کردند در نشاء برنج فعالیت APX و SODs با افزایش شدت تنش خشکی افزایش پیدا کرد. اما با بالا رفتن شدت تنش

1- Relative water content (RWC)



شکل ۵- تغییرات فعالیت ویژه آنزیم‌های (A) سوپراکسید دیسموتاز (SOD)، (B) آسکوربیت پراکسیداز (APX) در تیمارهای آبیاری شده، خشکی ضعیف و خشکی شدید چهار ژنوتیپ جو در مراحل شروع باروری (I)، پر شدن دانه (II) و شیرگی شدن دانه (III). میانگین‌ها با استفاده از آزمون دانکن در سطح ۱٪ مقایسه شدند. میله‌های عمودی نشانه $\pm SE$ می‌باشند. هر عدد میانگین سه تکرار می‌باشد.



شکل ۶- تغییرات فعالیت ویژه آنزیم‌های (C) کاتالاز (CAT) و (D) پراکسیداز (POX) در تیمارهای آبیاری شده، خشکی ضعیف و خشکی شدید چهار ژنوتیپ جو در مراحل شروع باروری (I)، پر شدن دانه (II) و شیرگی شدن دانه (III). میانگین‌ها با استفاده از آزمون دانکن در سطح ۱٪ مقایسه شدند. میله‌های عمودی نشانه $\pm SE$ می‌باشند. هر عدد میانگین سه تکرار می‌باشد.

جدول ۳- همبستگی بین میزان فعالیت آنزیم های ضد اکسندگی شامل سوپراکسید دیسموتاز (SOD)، آسکوربیت پراکسیداز (APX)، کاتالاز (CAT) و پراکسیداز (POX) با صفات اندازه گیری شده در ارتباط با عملکرد شامل ارتفاع بوته، عملکرد دانه، وزن هزار دانه و عملکرد بیولوژیک

صفات	POX	CAT	SOD	APX	عملکرد بیولوژیک	وزن هزار دانه	عملکرد دانه
ارتفاع بوته	*.۰/۵۹۰	-۰/۵۳۷	ns.۰/۰۸۵	ns-۰/۳۵۶	ns.۰/۴۱۲	ns.۰/۴۵۹	*.۰/۵۸۵
عملکرد دانه	**۰/۹۳۷	**۰/۷۴۹	ns.۰/۲۵۲	ns-۰/۴۲۵	**۰/۷۷۴	**۰/۸۲۰	
وزن هزار دانه	**۰/۸۸۵	**۰/۷۷۲	ns-۰/۱۰	ns-۰/۰۵۴	**۰/۷۴۹		
عملکرد بیولوژیک	**۰/۷۹۳	ns-۰/۶۶۲	ns.۰/۳۸۴	ns.۰/۰۱۹			
آسکوربیت پراکسیداز	ns-۰/۲۴۰	ns.۰/۱۴۳	ns-۰/۳۵۱				
سوپراکسید دیسموتاز	ns.۰/۱۳۲	ns-۰/۰۲۴					
کاتالاز	**۰/۸۹۰						

*- در سطح ۵٪ معنی دار می باشد.

** - در سطح ۱٪ معنی دار می باشد.

ns - در سطح احتمال ۱٪ و ۵٪ معنی دار نمی باشد.

به تنش کم آبی بهتر است نحوه فعالیت این آنزیم ها در مراحل حساس گیاهان به تنش کم آبی بررسی گردد تا مشخص شود که در مراحل حساس چه آنزیم هایی در ایجاد مقاومت به تنش کم آبی نقش دارند. در این آزمایش فعالیت آنزیم پراکسیداز در ژنوتیپ Q22 (مقاوم ترین ژنوتیپ به تنش خشکی) در مرحله باروری و تشکیل دانه (یکی از مراحل حساس گیاه جو به تنش خشکی) بیش از ژنوتیپ های دیگر بود، به نظرمی رسد بالاتر بودن فعالیت پراکسیداز در این مرحله نقش مهمی در ایجاد مقاومت به تنش خشکی و جلوگیری از کاهش عملکرد دارد. همچنین امینی و همکاران (۱) گزارش کردند در مراحل پیری جو که سلول های گیاه در شرایط تنش اکسندگی به سر می برند فعالیت آنزیم پراکسیداز بر خلاف آنزیم های سوپر اکسید دیسموتاز، آسکوربیت پراکسیداز و کاتالاز افزایش می یابد. از این رو شاید بتوان با افزایش بیان این آنزیم در این مرحله از رشد گیاه ژنوتیپ های مقاومی را بوجود آورد تا بتوانند شرایط تنش اکسندگی ناشی از تنش های محیطی و دوران پیری را بهتر تحمل کنند. طبق جدول ۱ و ۲ و نقش مهم آنزیم پراکسیداز در مقابله با تنش خشکی به نظر می رسد بیشتر بودن مقدار عملکرد دانه، وزن هزار دانه و عملکرد بیولوژیکی ژنوتیپ Q22 نسبت به سایر ژنوتیپ ها ناشی از پایداری بیشتر سیستم ضد اکسندگی در این ژنوتیپ می باشد.

سنجش های مزرعه ای رابطه مشخصی را بین مقاومت به تنش خشکی و رفتار آنزیم های ضد اکسندگی نشان نداد. اما وقتی برگ های این ارقام در آزمایشگاه با تنش اسمزی روبرو شدند، تفاوت آشکاری در نحوه عمل سیستم ضد اکسندگی و تخریب اکسندگی در بین ارقام مشاهده گردید. از این رو آنها پیشنهاد کردند که از تحقیقات انجام شده در شرایط آزمایشگاه فقط می توان در مراحل اولیه بعنوان ابزاری جهت انتخاب ارقام مقاوم به تنش خشکی استفاده کرد. بدین ترتیب آزمایش هایی که در گلخانه و شرایط آزمایشگاه صورت گرفته است رابطه مشخصی را بین نحوه فعالیت آنزیم های ضد اکسندگی و میزان مقاومت ارقام به تنش خشکی نشان می دهد. اما آزمایش های انجام شده در شرایط مزرعه (شرایط طبیعی رشد گیاهان) نشان می دهد که واکنش گیاهان به تنش کم آبی در شرایط مزرعه متفاوت از شرایط گلخانه می باشد. از این رو با توجه به نتایج این آزمایش و آزمایش های مشابه پیشنهاد می شود چنین آزمایش های در شرایط طبیعی رشد گیاهان صورت گیرد تا بتوان با اطمینان بیشتری نحوه فعالیت ضد اکسندگی در مراحل مختلف رشد و نمو گیاهان و نقش آنها در مقابله با تنش اکسندگی مورد بررسی قرار گیرد. همچنین با توجه به اینکه واکنش گیاهان به تنش کم آبی در مراحل مختلف رشد و نمو متفاوت می باشد، جهت بررسی نقش آنزیم های ضد اکسندگی در ایجاد مقاومت

منابع

- ۱- امینی، ز.، ر. حداد و ف. مرادی. ۱۳۸۷. بررسی اثر تنش کم آبی بر نحوه فعالیت آنزیم های ضد اکسندگی در مراحل رشد زایشی گیاه جو (*Hordeum vulgare* L.). علوم و فنون کشاورزی و منابع طبیعی. شماره ۴۶ (الف): ۷۴-۶۵.
- ۲- فاجریا، ان. ک.، وی. اس. بالیگار و ا. ج. جونز. ۱۳۷۸. رشد و تغذیه گیاهان زراعی. ترجمه: فتحی، ق. انتشارات جهاد دانشگاهی مشهد. ۳۷۲ ص.
- ۳- فرداد، ح. و ع. شیردلی. ۱۳۷۴. اثر دور آبیاری بر عملکرد محصول دانه جو و رشد آن. مجله علوم کشاورزی ایران. جلد ۲۶. شماره ۱: ۳۱-۲۴.

- 4- Alscher, R. G., N. Erturk, and L. S. Heath. 2002. Role of superoxide dismutases (SODs) in controlling oxidative stress in plants. *Journal of Experimental Botany*. 53(372): 1331-1341.
- 5- Arnon D. I. 1949. Copper enzymes in isolated chloroplast. Polyphenol oxide in *Beta vulgaris*. *Plant Physiology*. 24: 1-15.
- 6- Asada, K. 1999. Ascorbate peroxidase - a hydrogen peroxide-scavenging enzyme in plants. *Physiologia Plantarum*. 85: 235-241.
- 7- Aspinall, D., P. B. Nicholls and L. H. May. 1964. The effects of soil moisture stress on the growth of barley. I. Vegetative development and grain yield. *Australian Journal of Agricultural and Resource Economics*. 15: 729-745.
- 8- Aspinall, D. 1966. Effects of day length and light intensity on growth of barley. 4. Genetically controlled variation in response to photoperiod. *Australian Journal of Biological Sciences*. 19: 517-534.
- 9- Bhattacharjee, S. 2005. Reactive oxygen species and oxidative burst: Roles in stress, senescence and signal transduction in plants. *Current Science*. 98(7): 1113-1121.
- 10-Beers, R. F., and I. Sizer. 1952. A spectrophotometric method for measuring the breakdown of hydrogen by catalase. *Journal of Biochemistry*. 195: 133 – 140.
- 11-Blum, A. 1985. Photosynthesis and transpiration in leaves and ears of wheat and barley varieties. *Journal of Experimental Botany*. 36: 432-440.
- 12-Boyer, J. S. 1983. Subcellular mechanisms of plant response to low water potential. *Agricultural Water Management*. 7: 239-248.
- 13-Dellongo, O. T., C. A. Gonzalez, G. M. Pastori and V. S. Trippi. 1993. Antioxidant defenses under hyperoxygen and hyperosmotic conditions in leaves of 2 lines maize with differential sensitivity to drought. *Plant and Cell Physiology*. 34(7): 1023-1028.
- 14-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: 248-254.
- 15-Dhindsa, R. A., P. Plumb-Dhindsa and T. A. Thorpe. 1981. Leaf senescence: correlated with increased levels of membrane permeability and lipid peroxidation, and decreased levels of superoxide dismutase and catalase. *Journal of Experimental Botany*. 126: 93-101.
- 16-Foyer, C. H., and J. Harbinson. 1994. Oxygen metabolism and the regulation of photosynthetic electron transport. *In* CH Foyer, PM Mullineaux, eds, *Causes of Photooxidative Stress and Amelioration of Defence System in Plants*. CRC Press, Boca Raton, FL, pp: 1-42
- 17-Guo, Z., W. Ou, S. Lu, and Q. Zhong. 2006. Differential responses of antioxidative system to chilling and drought in four rice cultivars differing in sensitivity. *Plant Physiology and Biochemistry*. 44: 828-836.
- 18-Habibi, D. (ed.) 2004. Antioxidant enzyme in sunflower subjected to drought stress . 4th. International Crop Science Congress. 26 Sep – 1 Oct. 2004. Brisbane, Australia. Pub. CDRom. Web site www.regional.org.au/au/cs.
- 19-Hemeda, H.M. and B.P. Kelin. 1990. Effects of naturally occurring antioxidants on peroxidase activity of vegetables extracts. *Journal of Food Science*. 55: 184-185.
- 20-Hsu, S. Y., and C. H. Kao. 2003. The protective effect of free radical scavengers and metal chelators on polyethylene glycol-treated rice leaves. *Biology of Plant*. 46: 617-619.
- 21-Kim, S. Y., J. H. Lim, M. R. Park, Y. J. Kim, T. I. Park, Y. W. Seo, K. W. Choi, and S. J. Yun. 2005. Enhanced antioxidant enzymes are associated reduced hydrogen peroxide in barley roots under saline stress. *Journal of Biochemistry and Molecular Biology*. 38(2): 218-224.
- 22-Khanna - Chopra, R., and D. S. Selote. 2007. Acclimation to drought stress generates oxidative stress tolerance in drought-resistant than -susceptible wheat cultivar under field conditions. *Journal of Environmental and Experimental Botany*. 60: 276-283.
- 23-Lascano, H. R., G. E. Antonicelli, C. M. Luna, M. N. Melchiorre, L. D. Gómez, R. W. Racca, V. S. Trippi and L. M. Casano. 2001. Antioxidant system response of different wheat cultivars under drought: field and *in vitro* studies. *Australian Journal of Plant Physiology*. 28, 1095-1102
- 24-Mittler, R. 2002. Oxidative stress, antioxidants and stress tolerance. *Trends in Plant Science*. 7: 405-410.
- 25-Munne-Bosch S., and L. Alegre. 2004. Die and let live: leaf senescence contributes to plants survival under drought stress. *Functional Plant Biology*. 31(3): 203-216.
- 26-Munné-Bosch, S., and J. Peñuelas. 2003. Photo- and antioxidative protection, and a role for salicylic acid during drought and recovery in field-grown *Phillyrea angustifolia* plants. *Planta*. 217: 758-766.
- 27-Nakano, Y., and K. Asada. 1987. Purification of ascorbate peroxidase in spinach chloroplasts; its inactivation in ascorbate-depleted medium and reactivation by monodehydroascorbate radical. *Plant Cell Physiology*. 28: 131-140.
- 28-Parry M. A. J., P. J. Andralojc, S. Khan, P. J. Lea, and A. J. Keys. 2002. Rubisco activity: effects of drought stress. *Annals of Botany*. 89: 833-839.
- 29-Pinheiro, H. A., F. M. DaMatta, A. R. M. Chaves, E. P. B. Fontes, and M. E. Loureiro. 2004. Drought tolerance in

- relation to protection against oxidative stress in clones of *Coffea canephora* subjected to long-term drought. *Plant Science*. 167: 1307-1314.
- 30-Reddy, A. R., K. V. Chaitanya, P. P. Jutur, and K. Sumithra. 2004. Differential Antioxidative responses to water stress among five mulberry (*Morus alba* L.) cultivars. *Environmental and Experimental Botany*. 52: 33-42.
- 31-Saeed M., M. Mahmood, A. Khaliq, and R. Ahmad. 1996. Response of wheat to water stress at its various reproductive development stages. *Journal of Animal and Plant Science*. 6(3-4): 96-99.
- 32-Selote D. S., and R. Khanna-Chopra. 2004. Drought-induced spiklet sterility is associated with an inefficient antioxidant defence in rice panicles. *Physiologia Plantarum*. 121(3): 462-471.
- 33-Selote D. S., and R. Khanna-Chopra. 2006. Drought acclimation confers oxidative stress tolerance by inducing co-ordinate antioxidant defense at cellular subcellular level in leaves of wheat seedlings. *Physiologia Plantarum*. 127: 494-506.
- 34-Sharma, P., and R. S. Dubey. 2005. Drought induces oxidative stress and enhances the activities of antioxidant enzymes in growing rice seedlings. *Plant Growth Regulation*. 46: 209-221.
- 35-Türkan, B. M., R. F. Özdem, and H. Koca. 2005. Differential responses of lipid peroxidation and antioxidants in the leaves of drought-tolerant *P. acutifolius* Gray and drought-sensitive *P. vulgaris* L. subjected to polyethylene glycol mediated water stress. *Plant Science*. 168: 223-231.
- 36-Yong T. L., S. Hongbo, and D. Feng. 2006. Effect of water deficits on the activity of anti-oxidative enzymes and osmoregulation among three different genotypes of *Radix astragali* at seedling stage. *Colloids and Surfaces. B: Biointerfaces*. 49: 60-65.
- 37-Yordanov, I., V. Velikova, and T. Tsonev. 2000. Plant responses to drought, acclimation, and stress tolerance. *Photosynthetica*. 38: 171-186.
- 38-Zhang, J., and M. B. Kirkham 1994. Drought-Induced changes in activities of superoxide dismutase, catalase, and peroxidase in wheat species. *Plant Physiology*. 35: 785-791.

Archive of SID