Archive of SID

دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری
پژوهشنامه اصلاح گیاهان زراعی

تأثیر تنش خشکی روی فعالیت آنزیمی آنتی‌اکسیدان در لاین‌های تریتیکاله

ابوالقاسم اکبریان[1] و احمد ارزانی[2]

۱- کارشناس ارشد، دانشگاه صنعتی اصفهان
۲- استاد، دانشگاه صنعتی اصفهان، (نویسنده مسوول: a_arzani@cc.iut.ac.ir)
تاریخ دریافت: ۹۱/۵/۲۳ تاریخ پذیرش: ۹۳/۶/۲۵

چکیده

تریتیکاله به‌عنوان غله دست‌ساز بشر از ظرفیت بالای تحمل به تنش‌های محیطی برخوردار بوده و برای کاشت در مناطق حاشیه‌ای توصیه شده است. این آزمایش به منظور ارزیابی واکنش ۱۸ لاین تریتیکاله مشتمل بر ۹ لاین دابل هاپلوئید و ۹ لاین F۷-۸ به همراه دو رقم گندم نان (روشن و کویر)، در محیط‌های دارای تنش و بدون تنش از لحاظ فعالیت آنزیمی آنتی‌اکسیدان، در مزرعه تحقیقاتی و آزمایشگاه دانشکده کشاورزی دانشگاه صنعتی اصفهان در سال زراعی ۸۸-۱۳۸۷ اجرا شد. هردو طرح آزمایشی تا اواسط مرحله به ساقه رفتن، به طور یکسان و همزمان آبیاری شدند و بعد از آن آبیاری براساس تبخیر از تشت تبخیر کلاس A انجام شد. ژنوتیپ‌های مورد مطالعه، بیشترین میزان تجمع و افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی در شرایط تنش خشکی را داشتند. مقایسات اورتوگنال نشان داد که لاین‌های تریتیکاله و ارقام گندم دارای اختلاف معنی‌داری از لحاظ عملکرد و فعالیت آنتی‌اکسیدانی بوده به‌طوری که تریتیکاله در هر دو شرایط محیطی برتر بود. میزان پرولین در مرحله اعمال تنش خشکی افزایش یافت. به عنوان نتیجه‌گیری کلی، لاین دابل هاپلوئید شماره ۴، با داشتن محتوای پرولین بالا و کاهش کمتر عملکرد دانه در شرایط تنش خشکی، به عنوان ژنوتیپ برتر متحمل به خشکی مطرح است.

واژه‌های کلیدی: فعالیت آنزیمی آنتی‌اکسیدان، پرولین، تنش خشکی، لاین‌های اصلاحی تریتیکاله

مقدمه

ایجاد ارقام متحمل به خشکی در محیط‌های خشک و نیمه خشک به عنوان یکی از مهم‌ترین عوامل افزایش پتانسیل گیاه با افرایش عملکرد و بهبود پایداری آنها، شناخته شده است (۲۴). تریتیکاله گونه گیاهی ایجاد شده از تلاقی میان گندم و چاودار بوسیله انسان است (۲۲). هدف از اصلاح تریتیکاله ایجاد ارقام تجاری تریتیکاله می‌باشد که به‌عنوان مکمل گندم و سایر غلات دانه‌ای عمل نموده و همچنین گیاهی سودمند با توانایی افزایش تولید غذا در کشورهای درحال توسعه باشد (۱۱).

خشکی از جمله تنش‌های فیزیکی است که به علت تنوع زیاد شرایط بارندگی به‌عنوان مهم‌ترین عامل محدودکننده رشد و تولید گیاهان زراعی در ایران شناخته شده است (۳۱). گیاهان در هنگام تنش خشکی، با تغییراتی که در برخی از خصوصیات فیزیولوژیک خود ایجاد می‌کنند به تنش‌های محیطی واکنش نشان می‌دهند. از جمله واکنش‌های گیاهان در شرایط محیطی متفاوت، افزایش تجمع مواد محلول با وزن مولکولی کم، که به طور کلی مواد محلول سازگار نامیده می‌شوند (شامل اسیدهای آمینه، قندها و بتائین) می‌باشد (۶). در بین مواد محلول سازگار شناخته شده احتمالاً پرولین گسترده‌ترین نوع آنها است و به نظر می‌رسد تجمع آن در فرآیند سازگاری به تنش خشکی برتری دارند. هدف از این مطالعه بررسی اثر تنش خشکی روی محتوی کاروتنوئید، فعالیت آنزیمی آنتی‌اکسیدان و محتوی پرولین در لاین‌های تریتیکاله در مقایسه با دو رقم گندم نان (روشن و کویر) در محیط‌های دارای تنش و بدون تنش آبیاری بوده است که در نهایت بتوان با استفاده از این صفات فیزیولوژیک، متحمل‌ترین لاین را انتخاب کرد.

مواد و روش‌ها

این آزمایش به منظور ارزیابی واکنش ۱۸ لاین تریتیکاله مشتمل بر ۹ لاین دابل هاپلوئید و ۹ لاین F۷-۸ به همراه دو رقم گندم نان (روشن و کویر)، در شرایط تنش و بدون تنش رطوبتی از لحاظ صفات مرتبط با محتوی کاروتنوئید، پرولین و فعالیت آنزیمی آنتی‌اکسیدان در مزرعه تحقیقاتی دانشکده کشاورزی دانشگاه صنعتی اصفهان در سال زراعی ۸۸-۱۳۸۷ اجرا شد. لاین دابل هاپلوئید شماره ۳ با عنوان رقم الینور در کشور استرالیا آزاد شده است. مزرعه تحقیقاتی واقع در لورک نجف آباد در ۴۰ کیلومتری جنوب غربی اصفهان در عرض جغرافیایی ۲۲ درجه و ۳۲ دقیقه شمالی و طول جغرافیایی ۵۱ درجه و ۳۲ دقیقه شرقی واقع شده است و ارتفاع آن از سطح دریا ۱۶۳۰ متر می‌باشد. بر پایه طبقه‌بندی کوپن

www.SID.ir

Archive of SID

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

این بررسی در قالب دو آزمایش جداگانه به‌صورت طرح بلوک‌های کامل تصادفی با ۳ تکرار در دو محیط تنش و غیرتنش رطوبتی، با دو رژیم رطوبتی مختلف شامل آبیاری بر اساس ۳±۷۰ و ۳±۱۳۰ میلی‌متر تبخیر از تشت تبخیر کلاس A انجام شد. صفات در هر کرت آزمایشی با رعایت اثر حاشیه مورد ارزیابی قرار گرفتند. هر کرت شامل ۴ ردیف کاشت به طول ۳ متر، با فاصله ردیف ۲۵ سانتی‌متر و با تراکم کاشت ۴۰۰ بوته در متر مربع بود. فاصله کرت‌های آزمایشی ۵۰ سانتی‌متر در نظر گرفته شد. در زمان به ساقه‌رفتن بوته‌ها مقدار ۵۰ کیلوگرم در هکتار کود اوره به صورت سرک مورد استفاده قرار گرفت. هردو طرح آزمایشی تا اواسط مرحله به ساقه رفتن[1]، به طور یکسان و همزمان آبیاری شدند و بعد از آن آبیاری بر اساس تبخیر از تشت تبخیر کلاس A انجام شد.

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

جهت اندازه‌گیری محتوای کاروتنوئید (زانتوفیل و کاروتن (x+c))، ۱۰۰ میلی‌گرم بافت برگی از ۱۰ برگ که به طور تصادفی از هر کرت برداشت شده بود تهیه شد. بافت برگی درون هاون چینی به همراه ۱۰ میلی‌لیتر استون ۸۰ درصد به طور کامل له گردید. نمونه حاصل با استفاده از قیف بوخنر متصل به پمپ خلأ صاف گردید و مجدداً این عمل تکرار شد، به‌طوری که مواد باقیمانده در بالای صافی کاملاً سفید شد. در مرحله بعد با اضافه نمودن استون، حجم محلول واکنش به ۳۰ میلی‌لیتر رسانیده شد. سپس عصاره حاصل به مدت ۱۰ دقیقه در دستگاه سانتریفیوژ با سرعت ۲۷۰۰ دور در دقیقه (rpm) سانتریفیوژ شد. در نهایت میزان جذب نوری هریک از عصاره‌ها توسط دستگاه اسپکتروفتومتر (Beckman UD-530) در طول موج ۴۷۰ نانومتر خوانده شد (از استون ۸۰ درصد به‌عنوان محلول شاهد (blank) استفاده شد. داده‌های حاصل جهت محاسبه غلظت کاروتنوئید (میلی‌گرم در گرم برگ تازه) در معادله زیر وارد گردیدند (۲۱):

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

که در این فرمول Cx+c ,Cb,Ca به ترتیب غلظت کلروفیل a،کلروفیلb وکاروتنوئید هاست.

آنتی‌اکسیدان SOD[2]: فعالیت سوپراکسیددسموتاز (SOD) مطابق روش لاسپینا و همکاران (۲۰) مورد سنجش قرار گرفت. در نهایت اعداد جذب نوری نمونه‌ها در طول موج ۵۶۰ نانومتر ثبت شد. قابل ذکر است که یک واحد از فعالیت آنزیمی به‌عنوان میزانی از آنزیم است که موجب می‌گردد، مقدار جذب نمونه‌ها در طول موج ذکر شده به ۵۰٪ در مقایسه با نمونه شاهد کاهش یابد.

آنتی‌اکسیدان APX[3]: فعالیت آسکوربات پراکسیداز (APX) مطابق با روش گوستاوو و همکاران (۱۴) سنجیده شد. واکنش اکسیداسیون بستگی به حضور آسکوربیت در این محلول دارد که در طول موج ۲۹۰ nm اندازه‌گیری شد. ثبت تغییرات جذب نوری نمونه‌ها هر ۲۰ ثانیه و به‌مدت ۵ دقیقه انجام گردید، و عدد نهایی از ضرب عدد بدست آمده در این طول موج در ضریب جذبی زیر بدست آمد:

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

آنتی‌اکسیدان GR: فعالیت گلوتاتیون ردوکتاز[4] با روش استپاین و گرازینا (۳۲) سنجیده شد. واکنش GR به صورت اکسیداسیون با NADPH در طول موج ۳۴۰nm اندازه‌گیری شد. عدد بدست‌آمده از این مرحله در ضریب زیر ضرب شده و واکنش GR به صورت mmol NADPH oxidized per min گزارش می‌شود: (ε: 6.2 mM cm-1)

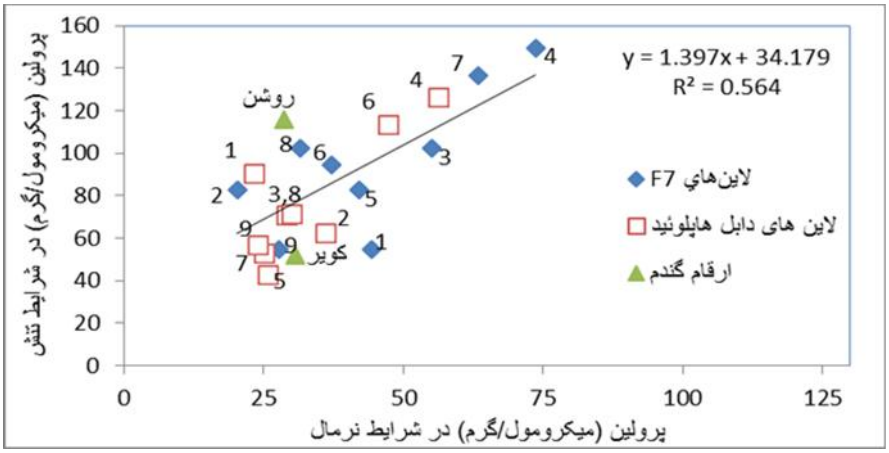
آنتی‌اکسیدانLP[5]: فعالیت لیپید پراکسیداز (LP) مطابق روش استپاین و گرازینا مورد سنجش قرار گرفت (۳۲). غلظت TBARS با استفاده از ضریب جذبی ۱۵۵ $mM^{-1}\ cm^{-1}$ محاسبه شد.

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

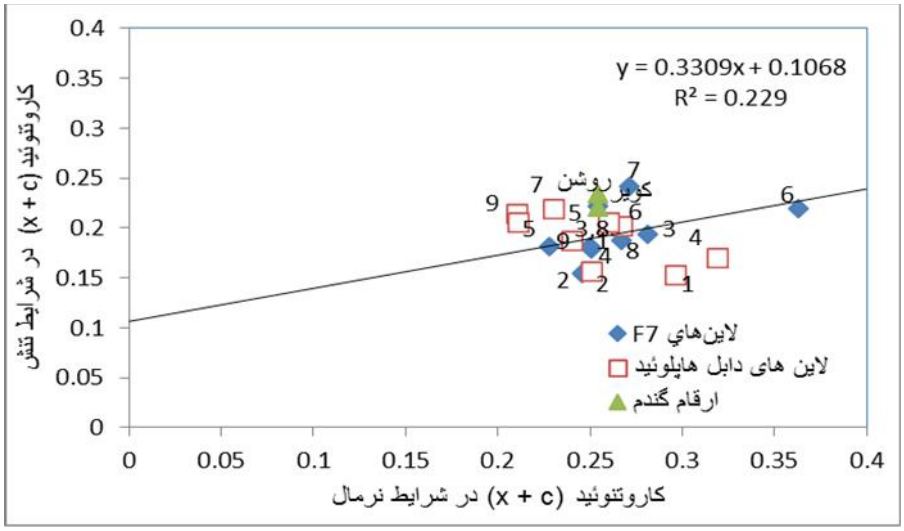
1- Mid-Joining Stage
2- Superoxide Dismutase
3- Ascorbate Peroxides (APX)
4- Glutathione Redoctase (GR)
5- Lipid Peroxidation (LP)

www.SID.ir

Archive of SID



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



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

نتایج و بحث

نتایج تجزیه واریانس مرکب داده‌ها بیانگر اختلاف بسیار معنی‌دار تنش رطوبتی و اثر متقابل بین ژنوتیپ و محیط برای همه صفات مورد آزمایش بود (جدول ۱). تفاوت بین لاین‌ها از نظر فعالیت آنزیمی آنتی‌اکسیدان بسیار معنی‌دار بود (P> ۰/۰۱) (جدول ۲). نتایج حاصل از مقایسه میانگین‌ها نشان داد که خشکی سبب تغییر در فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان برگ در ژنوتیپ‌های مورد مطالعه شده است (جدول ۳).

www.SID.ir

Archive of SID

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

منابع تغییرات	درجه آزادی	میانگین مربعات					
		SOD U min^{-1} g^{-1}) (FW	APX µmol ascorbate) oxidized min^{-1} (g^{-1} FW	GR mmol) NADPH oxidized min^{-1} (g^{-1} FW	LP nmol g^{-1}) (FW	کاروتنوئید (x + c)	پرولین
بلوک	۲	۰/۱۷ (۰/۲۷)*	۰/۰۱** (۰/۰۸)**	۰/۰۰۹** (۰/۰۶)**	۱/۴۶ (۳/۳۷)*	۰/۰۰۰۲ (۰/۰۰۰۲)	۷/۵۹ (۸/۰۰)
ژنوتیپ	۱۹	۱۱/۱۹** (۱۶/۴۷)**	۰/۱۴** (۰/۳۷)**	۰/۱۲** (۰/۲۸)**	۶۴۴/۵۷** (۲۶۷/۴۸)**	۰/۰۰۳۸** (۰/۰۰۲)**	۶۵۸/۶۰** (۲۹۱۲)**
لاین‌های F۷	۸	۱۵/۹۱** (۲۲/۷۸)**	۰/۱۹** (۰/۲۵)**	۰/۱۴** (۰/۴۲)**	۵۰۰/۰۹** (۱۶۹/۴۸)**	۰/۹۶** (۰/۶۰)**	۹۰۶/۱** (۳۱۳۵)**
لاین‌های DH	۸	۹/۲۴** (۴/۵۴)**	۰/۰۹** (۰/۴۵)**	۰/۰۷۲** (۰/۲۳)**	۷۲۸/۷۴** (۲۹۶/۸۱)**	۰/۴۳** (۲/۴۸)**	۴۰۱/۱۸** (۲۳۹۵)**
DH vs. F7	۱	۰/۱۳ (۰/۱۶۷)	۰/۰۸** (۰/۰۳)*	۰/۰۰۲ (۰/۱۳)**	۲۲۰/۰۴** (۳۲۹/۸۴)**	۰/۰۶ (۱/۲۲)**	۱۶۲۷** (۴۸۷۵)**
ارقام گندم	۱	۵/۲۷** (۱۸۱/۹۳)**	۰/۴۲** (۰/۰۹)**	۰/۲۶** (۰/۶۹)**	۱۲/۹۹* (۶/۰۲)*	۰/۱۱ (۰/۵۳)**	۵/۹۸ (۶۱۹۵)**
گندم در مقابل تریتیکاله	۱	۲/۷۴** (۲/۰۳۱)	۰/۰۰۳ (۰/۱۷)**	۰/۰۹** (۰/۰۳)**	۳۸/۲۳** (۰/۱)	۰/۰۴ (۰/۸۶)**	۴۲۲/۷** (۲۵)
خطایآزمایشی	۳۸	۰/۰۹ (۰/۰۸)	۰/۰۰۲ (۰/۰۰۶)	۰/۰۰۱ (۰/۰۰۲)	۲/۲۴ (۰/۹۸)	۰/۰۰۰۳ (۰/۰۰۰۱)	۹/۹۶ (۱۳/۵۲)
ضریب تغییرات (CV٪)		۲/۹۷ (۲/۳۳)	۵/۵۳ (۵/۹۸)	۴/۵۹ (۴/۳۱)	۳/۸۵ (۲/۳۱)	۶/۴۸ (۶/۰۰)	۸/۴۰ (۴/۲۸)

* و **: به‌ترتیب معنی‌دار در سطح احتمال ۵ و ۱ درصد.

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

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

www.SID.ir

Archive of SID

جدول ۲- مقایسه میانگین‌های صفاتسوپراکسید دسموتاز (SOD)، آسکوربات پراکسیداز (APX)، گلوتاتیون ردوکتاز (GR)، ولیپید پراکسیداز (LP) در ژنوتیپ‌های گندم تریتیکاله مورد مطالعه در شرایط تنش و بدون تنش

ژنوتیپ	SOD (U min^{-1} g^{-1} FW)		APX (µmol ascorbate oxidized min^{-1} g^{-1} FW)		GR (mmol NADPH oxidized min^{-1} g^{-1} FW)		LP (nmol g^{-1} FW)	
	بدون تنش	تنش	بدون تنش	تنش	بدون تنش	تنش	بدون تنش	تنش
لاین‌های F۷								
۱	۱۰/۷۲^{d}	۱۳/۶۵^{cd}	۰/۶۴^{g}	۱/۶۳^{c}	۰/۶۶^{gh}	۱/۱۷^{e}	۳۷/۲۶^{fg}	۳۴/۱^{j}
۲	۹/۸۸^{gh}	۹/۶۷^{i}	۰/۶۲^{gh}	۱/۸۵^{ab}	۰/۷۴^{g}	۱/۴^{cd}	۵۳/۸۳^{bc}	۳۶/۲۷^{i}
۳	۱۱/۲۳^{c}	۱۵/۹۵^{a}	۰/۸۸^{c}	۱/۳۲^{ef}	۱/۰۸^{a}	۱/۱۷^{e}	۵۲/۲۹^{c}	۴۴/۰۰^{e}
۴	۹/۴۷^{h}	۱۳/۲۵^{de}	۰/۷۲^{def}	۰/۹۲^{gh}	۰/۹۹^{b}	۱/۸۷^{a}	۱۳/۸۵^{m}	۳۸/۸۸^{gh}
۵	۶/۰۳^{k}	۱۰/۵۹^{g}	۱/۲۹^{a}	۱/۳^{ef}	۰/۸۶^{de}	۰/۹۹^{f}	۲۴/۵۵^{jk}	۳۳/۰۰^{j}
۶	۱۰/۰۷^{efg}	۱۴/۹۸^{b}	۰/۶۵^{g}	۱/۳^{ef}	۱/۰۰^{b}	۰/۹۷^{fg}	۲۷/۹۳^{hi}	۵۸/۱۳^{b}
۷	۱۴/۶۷^{a}	۹/۹۴^{hi}	۰/۹۴^{bc}	۱/۳۳^{ef}	۰/۶۲^{hi}	۰/۶۹^{i}	۲۷/۰۷^{hi}	۴۳/۵۲^{e}
۸	۱۰/۲۹$^{d-g}$	۱۰/۱۷^{gh}	۰/۴۸^{i}	۱/۲۳^{f}	۰/۴۳^{k}	۱/۳۸^{d}	۳۵/۰۰^{g}	۴۱/۴۶^{f}
۹	۸/۴۲^{i}	۸/۰۴^{j}	۱/۰۰^{b}	۰/۹۸^{g}	۰/۸۵^{e}	۰/۷^{i}	۳۷/۹۴^{ef}	۴۳/۴۷^{e}
لاین‌های دابل‌هاپلوئید								
۱	۱۳/۰۷^{b}	۱۳/۰۱^{e}	۰/۷۸^{d}	۱/۳^{ef}	۰/۶۹^{g}	۱/۱۸^{e}	۴۰/۰۰^{e}	۳۷/۹۴^{h}
۲	۱۱/۶۷^{c}	۱۰/۰۳^{hi}	۰/۶۶^{fg}	۰/۸۱^{h}	۰/۵۲^{j}	۰/۹۱^{gh}	۵۸/۷۱^{a}	۴۸/۲۸^{d}
۳	۸/۲۷^{i}	۱۲/۱۳^{f}	۰/۶۸^{efg}	۱/۳^{ef}	۰/۶۹^{g}	۱/۱۷^{e}	۲۳/۲۳^{k}	۲۶/۷۹^{l}
۴	۷/۶۶^{j}	۱۳/۸^{c}	۰/۳۴^{j}	۰/۶۵^{i}	۰/۹۹^{b}	۰/۹^{gh}	۱۹/۶۵^{l}	۴۹/۸۵^{d}
۵	۱۰/۵۳^{de}	۱۳/۸۱^{c}	۰/۷۴^{de}	۱/۴۶^{d}	۰/۷۵^{f}	۰/۷^{i}	۲۹/۲۶^{h}	۲۹/۴۲^{k}
۶	۸/۶^{i}	۱۴/۷۹^{b}	۰/۹۷^{b}	۰/۹^{gh}	۰/۹۳^{c}	۱/۵^{b}	۴۳/۸۵^{d}	۳۹/۸۵^{fg}
۷	۱۰/۰۲^{fg}	۱۳/۷۸^{c}	۰/۵۵^{h}	۱/۹۲^{a}	۰/۸۷^{de}	۱/۲۴^{e}	۲۶/۵۵^{ij}	۳۸/۹۸^{gh}
۸	۱۰/۵^{def}	۱۳/۸۳^{c}	۰/۷۶^{d}	۱/۳۶^{de}	۰/۹۲^{cd}	۰/۸۵^{h}	۵۵/۵۱^{b}	۵۸/۶^{b}
۹	۸/۷۴^{i}	۱۲/۸۳^{e}	۰/۶۲^{g}	۱/۰۲^{g}	۰/۶۷^{gh}	۱/۴۶^{bc}	۵۸/۶۷^{a}	۴۱/۱۸^{f}
روشن	۸/۷^{i}	۱۰/۲۴^{gh}	۰/۶۵^{g}	۰/۹۵^{g}	۰/۳۹^{k}	۰/۹۶^{fg}	۶۰/۰۲^{a}	۶۰/۳۱^{a}
کویر	۱۱/۴^{c}	۸/۰۳^{j}	۰/۴۳^{i}	۱/۷۸^{b}	۰/۵۸^{i}	۰/۹۶^{fg}	۵۲/۱۴^{c}	۵۳/۰۱^{c}
LSD	۰/۴۹	۰/۴۷	۰/۰۷	۰/۱۳	۰/۰۶	۰/۰۸	۲/۴۸	۱/۶۴

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

www.SID.ir

Archive of SID

جدول ۳- مقایسه میانگین‌های صفاتسوپراکسید دسموتاز (SOD)، آسکوربات پراکسیداز (APX)، گلوتاتیون ردوکتاز (GR)، ولیپید پراکسیداز (LP) در ژنوتیپ‌های گندم و تریتیکاله مورد مطالعه در شرایط تنش و بدون تنش

ژنوتیپ	SOD(U min-1 g-1 FW)		APX (µmol ascorbate oxidized min-1 g-1 FW)		GR (mmol NADPH oxidized min-1 g-1 FW)		LP (nmol g-1 FW)	
	بدون تنش	تنش	بدون تنش	تنش	بدون تنش	تنش	بدون تنش	تنش
F لاین‌های ۷								
۱	۱۰/۷۲^{d}	۱۳/۶۵^{cd}	۰/۶۴^{g}	۱/۶۳^{c}	۰/۶۶^{gh}	۱/۱۷^{e}	۳۷/۲۶^{fg}	۳۴/۱^{J}
۲	۹/۸۸^{gh}	۹/۶۷^{i}	۰/۶۲^{gh}	۱/۸۵^{ab}	۰/۷^{fg}	۱/۴^{cd}	۵۳/۸۳^{bc}	۳۶/۲۷^{i}
۳	۱۱/۲۳^{c}	۱۵/۹۵^{a}	۰/۸۸^{c}	۱/۳۲^{ef}	۱/۰۸^{a}	۱/۱۷^{e}	۵۲/۲۹^{c}	۴۴/۰۰^{e}
۴	۹/۴۷^{h}	۱۳/۲۵^{de}	۰/۷۲^{def}	۰/۹۲^{gh}	۰/۹۹^{b}	۱/۸۷^{a}	۱۳/۸۵^{m}	۳۸/۸۸^{gh}
۵	۶/۰۳^{k}	۱۰/۵۹^{g}	۱/۲۹^{a}	۱/۳^{ef}	۰/۸۶^{de}	۰/۹۹^{t}	۲۴/۵۵^{jk}	۳۳/۰۰^{J}
۶	۱۰/۰۷^{efg}	۱۴/۹۸^{b}	۰/۶۵^{g}	۱/۳^{ef}	۱/۰۰^{b}	۰/۹۷^{fg}	۲۷/۹۳^{hi}	۵۸/۱۳^{b}
۷	۱۴/۶۷^{a}	۹/۹۴^{hi}	۰/۹۴^{bc}	۱/۳۳^{ef}	۰/۶۲^{hi}	۰/۶۹^{i}	۲۷/۰۷^{hi}	۴۳/۵۲^{e}
۸	۱۰/۲۹$^{d-g}$	۱۰/۱۷^{gh}	۰/۴۸^{i}	۱/۲۳^{f}	۰/۴۳^{k}	۱/۳۸^{d}	۳۵/۰۰^{g}	۴۱/۴۶^{f}
۹	۸/۴۲^{i}	۸/۰۴^{j}	۱/۰۰^{b}	۰/۹۸^{g}	۰/۸۵^{e}	۰/۷^{i}	۳۷/۹۴^{ef}	۴۳/۴۷^{e}
لاین‌های دابل‌هاپلوئید								
۱	۱۳/۰۷^{b}	۱۳/۰۱^{e}	۰/۷۸^{d}	۱/۳^{ef}	۰/۶۹^{g}	۱/۱۸^{e}	۴۰/۰۰^{e}	۳۷/۹۴^{h}
۲	۱۱/۶۷^{c}	۱۰/۰۳^{hi}	۰/۶۶^{fg}	۰/۸۱^{h}	۰/۵۲^{j}	۰/۹۱^{gh}	۵۸/۷۱^{a}	۴۸/۲۸^{d}
۳	۸/۲۷^{i}	۱۲/۱۳^{f}	۰/۶۸^{efg}	۱/۳^{ef}	۰/۶۹^{g}	۱/۱۷^{e}	۲۳/۲۳^{k}	۲۶/۷۹^{l}
۴	۷/۶۶^{j}	۱۳/۸^{c}	۰/۳۴^{J}	۰/۶۵^{i}	۰/۹۹^{b}	۰/۹^{gh}	۱۹/۶۵^{l}	۴۹/۸۵^{d}
۵	۱۰/۵۳^{de}	۱۳/۸۱^{c}	۰/۷۴^{de}	۱/۴۶^{d}	۰/۷۵^{t}	۰/۷^{i}	۲۹/۲۶^{h}	۲۹/۴۲^{k}
۶	۸/۶i	۱۴/۷۹^{b}	۰/۹۷^{b}	۰/۹^{gh}	۰/۹۳^{c}	۱/۵^{b}	۴۳/۸۵^{d}	۳۹/۸۵^{fg}
۷	۱۰/۰۲^{fg}	۱۳/۷۸^{c}	۰/۵۵^{h}	۱/۹۲^{a}	۰/۸۷^{de}	۱/۲۴^{e}	۲۶/۵۵^{ij}	۳۸/۹۸^{gh}
۸	۱۰/۵^{def}	۱۳/۸۳^{c}	۰/۷۶^{d}	۱/۳۶^{de}	۰/۹۲^{cd}	۰/۸۵^{h}	۵۵/۵۱^{b}	۵۸/۶^{b}
۹	۸/۷۴^{i}	۱۲/۸۳^{e}	۰/۶۲^{g}	۱/۰۲^{g}	۰/۶۷^{gh}	۱/۴۶^{bc}	۵۸/۶۷^{a}	۴۱/۱۸^{f}
روشن	۸/۷^{l}	۱۰/۲۴^{gh}	۰/۶۵^{g}	۰/۹۵^{g}	۰/۳۹^{k}	۰/۹۶^{fg}	۶۰/۰۲^{a}	۶۰/۳۱^{a}
کویر	۱۱/۴^{c}	۸/۰۳^{J}	۰/۴۳^{l}	۱/۷۸^{b}	۰/۵۸^{l}	۰/۹۶^{fg}	۵۲/۱۴^{c}	۵۳/۰۱^{c}
LSD	۰/۴۹	۰/۴۷	۰/۰۷	۰/۱۳	۰/۰۶	۰/۰۸	۲/۴۸	۱/۶۴

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

www.SID.ir

Archive of SID

میانگین ژنوتیپ‌های مورد آزمایش در شرایط بدون تنش رطوبتی به‌ترتیب (10 U min-1 g-1 FW)، (76/0 mmolNADPH min-1 g-1 FW)، (72/0 µmol ascorbate oxidized min-1 g-1 FW) و (87/38 nmol g-1 FW) برای SOD، GR، APX و LP بدست آمد. در شرایط تنش رطوبتی به ترتیب ۱۲/۱۳، ۱/۱۱، ۱/۲۷ و ۴۲/۸۵ بود. بنابراین نتایج نشان می‌دهد که در اثر تنش خشکی فعالیت آنتی‌اکسیدان‌های ژنوتیپ‌های مورد بررسی افزایش یافته است. لاین F۷ شماره ۵ با میانگین ۶/۰۳ و لاین F۷ شماره ۷ با ۱۴/۶۷ (U min-1 g-1 FW) به ترتیب دارای کمترین و بیشترین مقادیر SOD در شرایط بدون تنش رطوبتی و گندم رقم کویر (۸/۰۳) و لاین F۷ شماره ۳ (۱۵/۹۵) به ترتیب از کمترین و بیشترین مقادیر SOD در شرایط تنش رطوبتی برخوردار بودند (جدول ۳). گزارش شده که سوپراکسیددسموتاز (SOD) یک آنتی‌اکسیدان قوی است که اولین ماده تولید شده از احیاء یک ظرفیتی اکسیژن، یعنی رادیکال سوپراکسید را از بین می‌برد، بنابراین SOD به دفاع اولیه در مقابل رادیکالهای آزاد اکسیژن اطلاق می‌شود (۲). گزارش‌های موجود نیز حاکی از افزایش فعالیت آنزیم SOD در سلول‌ها، در پاسخ به تنش‌های مختلف محیطی مانند شوری (۲۹) و خشکی (۵) بوده است. در شرایط بدون تنش رطوبتی، گندم رقم روشن با میانگین ۰/۳۹ و لاین F۷ شماره ۳ با میانگین ۱/۰۸ و در شرایط تنش رطوبتی لاین F۷ شماره ۷ با ۰/۶۹ و لاین F۷ شماره ۴ با میانگین ۱/۸۷ (mmol NADPH min-1 g-1 FW) به ترتیب از کمترین و بیشترین مقادیر GR برخوردار بودند. لاین F۷ شماره ۵ دارای بیشترین (۱/۲۹) و لاین دابل‌هاپلوئید ۱۳ با میانگین ۰/۳۴ کمترین مقدار XAP در شرایط بدون تنش و دابل‌هاپلوئید ۱۶ با میانگین ۱/۹۲ و لاین دابل‌هاپلوئید ۱۳ با میانگین ۰/۶۵ (µmol ascorbate oxidized min-1 g-1 FW) دارای بیشترین و کمترین این آنتی‌اکسیدان در شرایط تنش بودند. لاین F۷ شماره ۴ با میانگین ۱۳/۸۵از کمترین و گندم رقم روشن با ۶۰/۰۲ دارای بیشترین مقدار LP (nmol g-1 FW)) در شرایط بدون تنش رطوبتی و لاین دابل‌هاپلوئید ۱۲ با میانگین ۲۶/۷۹ و گندم رقم روشن با ۶۰/۳۱ (nmol g-1 FW) به ترتیب دارای کمترین و بیشترین مقدار LP در شرایط تنش رطوبتی بودند. نتایج نشان داد که فعالیت آنزیمی آنتی‌اکسیدان در بین لاین‌های مورد بررسی به‌طور معنی‌داری افزایش یافت که با بررسی برزوئی (۹) روی ارقام مختلف گندم مطابقت دارد. نتایج حاصل از تحقیقات (۲۹،۲۸) نشان داده است ژنوتیپ‌های متحمل به خشکی گندم تحت شرایط تنش رطوبتی در مقام مقایسه با ارقام حساس، فعالیت بیشتری از آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان داشته‌اند.ضمن اینکه تنش شکی نیز میزان فعالیت آنزیم گلوتاتیون ردوکتاز و سوپراکسید دسموتاز را افزایش داده است (۱۹).

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

محتوای کاروتنوئید در اثر تنش خشکی کاهش یافت (شکل ۲). میانگین کاروتنوئید از ۰/۲۱۰ میلی‌گرم/گرم وزن‌تر (دابل هاپلوئید شماره ۵) تا ۰/۳۶۳ میلی‌گرم/گرم وزن‌تر (لاین F۷ شماره ۶) و ۰/۱۵۳ میلی‌گرم/گرم وزن‌تر (دابل هاپلوئید شماره ۱) تا ۰/۲۴۱ میلی‌گرم/گرم وزن‌تر (لاینF۷ شماره ۷) به ترتیب در شرایط بدون تنش و تنش محیطی متغیر بود (شکل ۲). میانگین لاین‌های تریتیکاله و ارقام گندم در شرایط بدون تنش رطوبتی برای محتوای کاروتنوئید دارای تفاوت معنی‌داری نبود اما ارقام گندم به‌طور معنی‌داری از لحاظ این صفت تحت شرایط تنش برتری نشان دادند (جدول ۲ و شکل ۲). رابطه معنی‌دار و معکوسی میان کاهش عملکرد و محتوای کارتنوئید در شرایط تنش شوری گزارش شده است (۳).

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

www.SID.ir

Archive of SID

ارقام گندم با برتری لاین‌های تریتیکاله برای فعالیت آنزیمی آنتی‌اکسیدانی بود. تغییرات میزان فعالیت آنتی‌اکسیدان مرتبط با تنش خشکی در این آزمایش در موافقت با یافته‌های اصغری و همکاران (۴) بود که با قرار دادن گیاهچه‌های دو رقم گندم در معرض تنش‌خشکی گزارش‌کردند که رقم مقاوم به تنش از فعالیت بالاتر آنزیم اسکوربات‌پراکسیداز در مقایسه با رقم حساس برخوردار بود. افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدانی شامل سوپراکسید دسموتاز (SOD) و آسکوربات پراکسیداز (APX)، با ایجاد مکانیسم دفاعی مؤثر در مقابل گونه‌های اکسیژن فعال در لاین‌های تریتیکاله، آنها را در مقابل واکنش اکسیداتیو و تخریبی محافظت می‌کند. به طوری‌که تریتیکاله دارای میزان بیشتری فعالیت آنزیمی در مقایسه با ارقام گندم تحت شرایط تنش بود. بنابراین پیشنهاد می‌شود که افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان می‌تواند عامل مهمی در بالا بردن میزان مقاومت گیاهان به تنش رطوبتی باشد.

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

منابع

1. Allen, R.D. 1995. Dissection of oxidative stress tolerance using transgenic plants. Plant Physiology 57: 1049-1054.
2. Alscher, R.G., N. Erturk and L.S. Heath. 2002. Role of superoxide dismutases (SOD) in controlling oxidative stress in plant. Journal of Experimental Botany 153: 1331-1341.
3. Arzani, A. and M. Salehi .2012. antioxidant activity and oxidative stress due to salinity in triticale and wheat lines in field condition. Journal of Plant Process and Function 1: 39-50. (In Persian)
4. Asgherri, C.L.M., M. Maffei and F. Navari-Izzo. 2000. Antioxidative enzymes in wheat subjected to increasing water deficit and rewatering. Journal of Plant Physiology. 157: 273-279.
5. Badawi, G.H., Y. Yamauchi, E. Shimada, R. Sasaki, N. Kawano, Ku. Tanaka and Ki. Tanaka. 2003. Enhanced tolerance to salt stress and water deficit by overexpressing speroxide dismutase in tobacco (*Nicotiana tabacum*) chloroplasts. Plant Science, 166: 919-928.
6. Bajji, M., S. Lutts and J.M. Kient. 2001. Water deficit effects on solute contribution to osmotic adjustment as a function of leaf ageing in three durum wheat (*Triticum durum*) cultivars performing differently in arid conditions. Plant Science, 160: 669-681.
7. Bates, L.S., R.P. Waldren and L.D. Teare. 1973. Rapid determination of free proline for water-stress studies. Plant and Soil, 39: 205-207.
8. Blokhin, O., E. Virolainen and K. Fagerstedt. 2003. Antioxidant oxidative damage and oxygen deprivation stress. Annals of Botany 91: 179-194.
9. Borzoei, A., H. Khazaei and F. Shahriari. 2006. Effect of drought stress on physiological traits and antioxidant of wheat cultivars (*Triticum aestivum* L.) after pollination under greenhouse conditions. Agriculture Economy Science, 5: 65-74.
10. Carmer, S.G., W.E. Nyqist and W.M. Walker. 1989. Least significant differences for combined analysis of experiments with two or three factor treatment design. Agronomy Journal, 81: 665-672.
11. Del-Angel, A.R. and A. Sotelo. 2009. Nutritive value of mixtures using chick-peas with wheat, triticale, normal and opaque-2 corns. Journal of Nutrition 10: 1474-1480.
12. Fazeli, F., M. Ghorbanly and V. Niknam. 2007. Effect of drought on biomass, protein content, lipid peroxidation and antioxidant enzymes in two sesame cultivars. Biologia Plantarum51: 98-103.
13. Gambel, P.E. and J.J. Burke. 1984. Effect of water stress on the chloroplast antioxidant system. Alteration in glutathione reductase activity. Plant Physiology 76: 615-621.
14. Gustavo, G.Y., M.G. Susana and L.T. Maria. 2006. Effect of UV-B radiation on the activity and isoforms of enzymes with peroxidase activity in sunflower cotyledons. Environmental and Experimental Botany 56: 174-181.
15. Habibi, D., M. Mashdi Akbar Boojar, A. Mahmoudi, M.R. Ardakani and D. Taleghani. 2004. Antioxidative enzyme in sunflower subjected to drought stress. 4th International Crop Science Congress, Brisbane, Australia, 26 September-1 October pp: 1-4.
16. Jones, H.G. 2007. Monitoring plant and soil water status: established and novel methods revisited and their relevance to studies of drought tolerance. Journal of Experimental Botany 58: 119-130.
17. Karimi, M. 1997. Report climate of central region of Iran. Isfahan University of Technology Press.
18. Kuznetsov, V. and N.I. Shevyakova. 1999. Proline under stress: Biological role, metabolism and regulation. Russian Journal of Plant Physiology 46: 274-287.
19. Lascano, H.R., G.E. Antoniceln, C.M. Luna, M.N. Melchlone, L.D. Gomez and M. Caseno. 2005. Antioxidant system response of different wheat cultivars under drought: field and in vitro studies. Australian Journal of Plant Physiology 28: 1095-1102.
20. Laspina, N.V., M.D. Groppa, M.L. Tomaro and M.P. Benavides. 2005. Nitric oxide protects sunflower leaves against Cd-induced oxidative stress. Plant Science, 169: 323-330.

www.SID.ir

Archive of SID

21. Lichtenthaler, H.K. and C. Buschman. 2001. Chlorophylls and carotenoids: measurement and characterization by UV-VIS Spectroscopy. Current Protocols in Food Analytical Chemistry F4.3.1-F4.3.8.
22. Maluszynski, M., I. Szarejko, P. Barriga and A. Balcerzyk. 2001. Hetrosis in crop mutant crosses and production of high yielding lines using doubled haploid systems. Euphytica 120: 387-398.
23. Mittler, R. 2002. Oxidative stress, antioxidant and stress tolerance. Ann. Rev. Plant Science, 7: 405-415.
24. Moayedi, A., B.A. Nasrulhaq and S.S. Barakbah. 2010. The performance of durum and bread wheat genotypes associated with yield and yield component under different water deficit conditions Australian Journal of Basic. Applied Science, 4: 106-113.
25. Mohanty, N. 2003. Photosynthetic characteristic and enzymatic antioxidant capacity of flag leaf and the grain yield in two cultivars of *Triticum aestivum* (l.) exposed to warmer growth conditions. Journal of Plant Physiology 160: 71-74.
26. Sairam, R.K. and D.C. Saxena. 2000. Oxidative stress and antioxidant in wheat genotypes: possible mechanism of water stress tolerance. Journal of Agronomy and Crop Science, 184: 55-61.
27. Sairam, R.K. and G.C. Srivastava. 2001. Water stress tolerance of wheat (*Triticum aestivum* L.) variation in hydrogen peroxide accumulation and antioxidant activity in tolerant and susceptible genotype. Journal of Agronomy and Crop Science 186: 63-70.
28. Sairam, R.K. and G.C. Srivastava. 2002. Changes in antioxidant activity in sub-cellular fraction of tolerant and susceptible wheat genotypes in response to long term salt stress. Plant Science, 162: 897-904.
29. Sairam, R.K., K.V. Rao and G.C. Srivastava. 2002. Differential response of wheat genotypes to long term salinity stress in relation to oxidative stress, antioxidant activity and osmolyte concentration. Plant Science, 163: 1037-1046.
30. Scandalios, J.G. 1993. Oxygen stress and superoxide dismutase. Plant Physiology, 101: 7-12.
31. Shiranirad, A. and A. Abbasian. 2011. Evaluation of drought tolerance in winter rapeseed cultivars based on tolerance and sensitivity indices. Journal of Agriculture, 98: 41-48.
32. Stepien, P. and K. Grazyna. 2005. Antioxidant defense in the leaves of C3 and C4 plants under salinity stress. Physiologia Plantarum 125: 31-40.
33. Terzi, R. and A. Kadioglu. 2006. Drought stress tolerance and the antioxidant enzymes system in *Ctenathe setosa*. Journal of Botany, 48: 89-96.
34. Van den Berg, H., R. Faulks, H.F. Granado, J. Hirschberg, B. Olmedilla, G. Sandmann, S. Southon and W. Stahl. 2000. The potential for the improvement of carotenoids level in foods and the likely systemic effects. Journal of Science Food and Agriculture, 80: 880-912.
35. Yazdi Samadi, B., A. Rezaei and M. Valyzadeh. 2008. Statistical designs in agricultural research. Tehran University Publications. 764 pp. (In Persian)
36. Yoshiba, Y., T. Kiyosue, K. Nakashima, Z. Kamayushi-Shino and K. Shinizaki. 1997. Regulation of levels of proline as an osmolyte in plants under water stress. Plant Cell Physiology 38: 1095-1102.

www.SID.ir

Archive of SID

Effects of Drought Stress on Antioxidant Enzymes Activity in Triticale Lines

Aboulghasem Akbarian[1] and Ahmad Arzani[2]

1- M.Sc., Isfahan University of Technology
2- Professor, Isfahan University of Technology (Corresponding author: a_arzani@cc.iut.ac.ir)
Received: August 13, 2012 Accepted: September 16, 2014

Abstract

Triticale as a man-made cereal is well known for having tolerance to environmental stresses and thus recommended for planting in marginal lands. This experiment was conducted to evaluate the antioxidant enzyme activity of 18 triticale lines comprising 9 doubled haploid (DH) and 9 corresponding advanced lines (F_7) and two bread wheat cultivars (Rowshan and kavir) in research farm and laboratory of Agricultural College of Isfahan university of technology during growing season of 2008-2009 under normal and stress conditions. Both the experimental design was equally and simultaneously irrigated until the mid-jointing stage, then irrigation was performed by evaporation from class A evaporation pan. The highest accumulation and antioxidant activities was obtained under stressed condition. The orthogonal comparisons showed that triticale lines and wheat cultivars differed significantly for yield and antioxidant activity with triticale being significantly superior than wheat cultivars under both environmental conditions. Free proline content during water stress condition was increased. As a general conclusion, DH line number 4 by having high proline content and low grain yield reduction under drought stress was ranked as superior drought tolerant genotype.

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

www.SID.ir