

مطالعه تغییرات متابولیت‌های سازگاری و فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانت ژنوتیپ‌های گندم در شرایط تنش رطوبتی

سمیرا قلی پور و علی عبادی*

گروه زراعت و اصلاح نباتات، دانشکده کشاورزی، دانشگاه محقق اردبیلی

(تاریخ دریافت: ۹۳/۱۰/۱۱، تاریخ پذیرش نهایی: ۱۳۹۴/۰۴/۲۴)

چکیده:

به منظور مطالعه تأثیر تنش رطوبتی بر متابولیت‌های سازگار و فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانت پنج ژنوتیپ گندم آزمایشی به صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی در سال ۱۳۹۳ به صورت گلخانه‌ای در شرایط گلخانه‌ای در دانشگاه محقق اردبیلی انجام گرفت. تیمارهای آزمایش شامل سه سطح تنش رطوبتی (۸۵، ۵۵ و ۳۵ درصد ظرفیت زراعی) و پنج ژنوتیپ گندم (Orom, Zarea, Mihan, ZSZOBKAYKA,) (JS317G217) بودند. نتایج تجزیه واریانس نشان داد، میزان پرولین، قندهای محلول، لیزین، متیونین، پروتئین و فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانت کاتالاز، پراکسیداز و پلی‌فنل اکسیداز و پتانسیل اسمزی تحت تأثیر اثرات اصلی و برهم‌کنش تنش رطوبتی در ژنوتیپ در سطح یک درصد تفاوت معنی‌دار با یکدیگر داشتند. تنش رطوبتی موجب افزایش در تولید پرولین، قندهای محلول، فعالیت کاتالاز، پراکسیداز و پلی‌فنل اکسیداز و موجب کاهش میزان لیزین، متیونین، پروتئین و پتانسیل اسمزی شد. بالاترین میزان پرولین، متیونین، کاتالاز، پراکسیداز، پلی‌فنل اکسیداز از ژنوتیپ "Zarea" در سطح تنش ۳۵ درصد مشاهده شد. بالاترین غلظت قندهای محلول (۰/۹۸۸ میلی‌گرم بر گرم وزن تر) از رقم "Orom"، بالاترین غلظت لیزین (۲/۸۸ میلی‌گرم در گرم در ۸۵٪ ظرفیت زراعی) از ژنوتیپ "ZSZOBKAYKA" و بالاترین میزان پروتئین (۵۶/۶ میلی‌گرم بر گرم) از ژنوتیپ "Mihan" در سطح تنش ۳۵ درصد به دست آمد. همچنین مشاهده شد بیشترین پتانسیل اسمزی (۸/۱- بار) در رقم "Mihan" می‌باشد. نتایج تجزیه رگرسیون نشان داد که پتانسیل اسمزی بیشتر تحت تأثیر فعالیت آنزیم پلی‌فنل اکسیداز و میزان پروتئین می‌باشد. میزان بیوماس نیز تحت تأثیر تنش کاهش معنی‌دار یافت که علت آن را نیز به کاهش پتانسیل اسمزی در اثر تنش مرتبط دانست. بنابراین ژنوتیپ "Mihan" به عنوان متحمل‌ترین ژنوتیپ به تنش بود که می‌توان علت آن را به دارا بودن بالاترین میزان پروتئین و کمترین فعالیت پلی‌فنل اکسیداز و در نهایت بالاترین پتانسیل اسمزی نسبت داد.

کلمات کلیدی: پرولین، لیزین، متیونین، کاتالاز، پراکسیداز.

مقدمه:

تحمل خشکی در گیاهان است (Bajji et al., 2001). خشکی سبب کاهش پتانسیل فشاری شده و موجب کاهش رشد، نمو و اندازه سلول‌ها می‌گردد (Nilsen and Orcutt, 1996). تنش خشکی علاوه بر اینکه رشد و نمو را در گیاهان کاهش می‌دهد، باعث تغییر در مسیر برخی از فرآیندها شده و آن‌ها را در

تنش‌های محیطی از مهم‌ترین عوامل تعیین‌کننده الگوهای پراکنش گیاهی در سطح جهان می‌باشد و تنش خشکی نیز به سهم خود تعیین‌کننده بخشی از این پراکنش می‌باشد (رازقی یدک، ۱۳۸۶). تنظیم اسمزی یکی از مهم‌ترین مکانیزم‌های

مقابل تنش مقاوم می‌سازد (قربانلی، ۱۳۸۴).

گیاهان در تنش‌های محیطی با ذخیره مواد تنظیم‌کننده اسمزی با این تنش‌ها مقابله می‌کنند. مواد تنظیم‌کننده اسمزی بیشتر، شامل اسیدهای آمینه، قندها و برخی یون‌های معدنی، هورمون-ها و پروتئین‌ها هستند (Leinhose and Beragman, 1995). پرولین یکی از اسیدآمینه‌های فعال در پدیده تنظیم اسمزی است که در تنظیم اسمزی درون سلول نقش به‌سزایی دارد. در اثر تجمع پرولین، پتانسیل اسمزی سلول کاهش می‌یابد (Cicek and Cakirlar, 2002). همچنین تجمع پرولین سبب محافظت از ساختارهای سلولی و پایداری آنزیم‌ها می‌گردد (KaviKishor et al., 2005). قندهای محلول یکی دیگر از محافظت‌کننده‌های اسمزی در جهت تنظیم اسمزی سلول می‌باشند (Patger et al., 2005). انباشتن یک یا چند ماده آلی با وزن مولکولی کم، پتانسیل اسمزی را پایین آورده و تنظیم اسمزی به وسیله تبدیل پلی‌ساکاریدها (نشاسته و فروکتان‌ها) به یکدیگر و الیگوساکاریدها (ساکارز و گلوکز) کنترل می‌شود (Paul and Robert, 1999).

تنش خشکی باعث شکل‌گیری رادیکال سوپراکسید پراکسید هیدروژن و رادیکال هیدروکسیل می‌گردد. فعالیت گونه‌های فعال اکسیژن باعث بروز صدماتی مثل اکسید شدن چربی‌ها، تغییر ساختار غشاء، از هم پاشیدگی یکپارچگی آن، تغییر ساختار پروتئین‌ها و غیرفعال شدن آنزیم‌ها می‌گردد (Yang et al., 2000). تغییرات کمی و کیفی پروتئین‌ها در شرایط تنش گزارش شده است و شواهد زیادی مبین ارتباط و تجمع پروتئین ناشی از خشکی و سازگاری فیزیولوژیکی با محدودیت آب می‌باشد (Korotaeva et al., 2003). در برخی مطالعات تخریب پروتئین‌ها و انباشت برخی اسیدآمینه‌های آزاد در جهت تنظیم اسمزی سلول و کاهش سنتز پروتئین در شرایط خشکی نیز مشاهده شده است (Moran et al., 1994). متیونین به تنش اکسیداتیو بسیار حساس بوده و اکسایش متیونین به متیونین سولفواکسید منجر به تغییر فعالیت آن و تشکیل بسیاری از پروتئین‌ها می‌شود (Davies, 2005). لیزین نیز یکی از اسیدآمینه‌های ضروری برای گیاهان بوده که تحت

تأثیر شرایط تنش تا حد زیادی میزان سنتز آن تنظیم می‌شود (Galili et al., 2001). تنش کم‌آبی همچنین موجب تحریک یکسری پاسخ‌های دفاعی در سطوح مختلف می‌شود. گیاهان از دو سیستم آنزیمی و غیر آنزیمی برای دفاع در مقابل گونه‌های اکسیژن فعال استفاده می‌نمایند. سیستم آنزیمی شامل آنزیم‌هایی سوپراکسید دیسموتاز، گلوکاتایون ردوکتاز، پراکسیداز، کاتالاز و آسکوربات پراکسیداز می‌باشد. آنزیم سوپراکسید دیسموتاز یک آنزیم حد واسط بوده و رادیکال‌های آزاد سوپراکسید را به اکسیژن و هیدروژن پراکسیداز تبدیل می‌کند. بقیه آنزیم‌های مذکور در پاک‌سازی مولکول‌های هیدروژن پراکسیداز تولید شده در سلول، ایفای نقش می‌نمایند (Ariano et al., 2005).

جباری و همکاران (۱۳۸۵) نیز افزایش فعالیت آنزیم‌های کاتالاز و پراکسیداز در برخی ارقام گندم در شرایط تنش خشکی را گزارش نمودند. طالع احمد و حداد (۱۳۸۹) در مطالعه خود نیز نشان دادند تنش خشکی باعث کاهش در محتوای آب نسبی برگ و پروتئین محلول و افزایش فعالیت کاتالاز، سوپراکسید دیسموتاز، آسکوربات پراکسیداز، پراکسیداز، میزان پرولین و محتوای گلاسیسین بتائین در ارقام گندم شد. Movludi و همکاران (۲۰۱۴) در مطالعه تأثیر تنش خشکی بر جو بهاره نشان دادند در طی تنش میزان پرولین، قندهای محلول، فعالیت آنزیم کاتالاز، پراکسیداز و پلی فنل اکسیداز افزایش پیدا نمود. رشیدی و همکاران (۱۳۹۳) نیز در مطالعه تأثیر تنش بر لوبیا گزارش کردند تنش موجب افزایش میزان پرولین، قندهای محلول، فعالیت کاتالاز و پراکسیداز و میزان لیزین و متیونین شد. با توجه به مطالب بیان شده هدف از این مطالعه بررسی تغییرات متابولیت‌های سازگار و فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانت برخی ژنوتیپ‌های گندم و تعیین سهم هر یک از این عوامل در تنظیم پتانسیل اسمزی برگ‌ها و در نهایت بیوماس در شرایط تنش رطوبتی بوده است.

مواد و روش‌ها:

این پژوهش به صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی به صورت گلخانه تحقیقاتی دانشگاه محقق اردبیلی

پتانسیل اسمزی محاسبه شد. در این رابطه df فاکتور رقیق‌سازی، OP پتانسیل اسمزی بر حسب بار است.

$$Df = \frac{gr \times 25}{\text{مقدار آب موجود در یک گرم بافت آلی}}$$

$$OP = \frac{Ec \times 0.36 \times df}{0.987}$$

(در دمای ۲۵ درجه سانتیگراد)

برای اندازه‌گیری میزان پروتئین ۰/۵ گرم نمونه تر برگی در هاون چینی کوبیده و سپس ۳ میلی‌لیتر بافر استخراج که شامل ۵ میلی‌لیتر تریس-اسید کلریدریک یک مولار، ۲۰۰ میکرولیتر Na_2EDTA یک مولار و ۰/۰۴ درصد (۷/۷-۲) مرکاپتو اتانول) می‌باشد مخلوط شده و مخلوط حاصل به مدت ۲۱ دقیقه با سرعت ۱۱۵۰۰ دور در دقیقه در دمای ۴ سانتی‌گراد سانتریفیوژ (مدل ۵۷۰۲ ساخت اپندورف آلمان) شد. سپس برای خارج کردن تمام ناخالصی‌ها موجود در نمونه قسمت بالایی داخل لوله مجدداً به مدت ۲۰ دقیقه در ۴۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفیوژ شد و ۵۰۰۰ میکرولیتر از محلول برادفورد و ۲۹۰ میکرولیتر بافر استخراج و ۱۰ میکرو لیتر عصاره استخراج را مخلوط کرده و بعد از ورتکس میزان جذب در طول موج ۵۹۵ نانومتر قرائت شد. میزان پروتئین بر حسب میلی‌گرم بر گرم وزن تر محاسبه شد (Bradford, 1976).

اندازه‌گیری میزان پرولین برگ با استفاده از روش Bates و همکاران (۱۹۷۳) صورت گرفت، یک گرم بافت برگی در ۱۰ میلی‌لیتر سولفوسالسیلیک اسید ۳/۳ درصد سائیده و همگنای حاصل از کاغذ صافی عبور داده شد و با سرعت ۴۰۰۰ دور در دقیقه در دمای ۴ سانتی‌گراد به مدت ۱۰ دقیقه سانتریفیوژ گردید و سپس به دو میلی‌لیتر از عصاره حاصل، دو میلی‌لیتر معرف نین‌هیدرین که ۱/۲۵ گرم پودر اسید نین‌هیدرین را در ۳۰ میلی‌لیتر اسید استیک گلاسیال حل نموده و سپس ۲۰ میلی‌لیتر اسید فسفریک ۶ مولار به آن اضافه کرده و سپس دو میلی‌لیتر اسید استیک گلاسیال خالص اضافه گردید. لوله‌ها به مدت یک ساعت در حمام آب گرم قرار داده شد و سپس چهار میلی‌لیتر تولوئن به هر یک از لوله‌ها اضافه و به مدت ۱۵ تا ۲۰ ثانیه ورتکس گردید. پس از تشکیل دو فاز جداگانه، فاز

صورت گرفت. تیمارهای آزمایش شامل تنش کم‌آبی در ۳ سطح ۸۵، ۵۵ و ۳۵ درصد ظرفیت زراعی و ژنوتیپ‌های گندم با سه تکرار در سال ۱۳۹۳ انجام شد، مشخصات ژنوتیپ‌های گندم در جدول ۱ ارائه شده است. مشخصات جغرافیای منطقه انجام آزمایش شامل، ۳۸/۲۵ شمالی ۴۸/۳۰ شرقی در ارتفاع ۱۵۰۰ متری از سطح دریا است. گلخانه به صورت سر بسته با دمای متوسط ۲۵ تا ۲۷ درجه سانتی‌گراد و رطوبت نسبی ۴۷ درصد در طول اجرای آزمایش بود.

در این پژوهش تنش رطوبتی در مرحله ۳ برگی اعمال گیرد و در مرحله ۵ برگی نمونه برداری از پنج بوته جهت اندازه‌گیری میزان قندهای محلول، پرولین، لیزین، متیونین، پروتئین، فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانت (کاتالاز، پراکسیداز و پلی فنل اکسیداز)، پتانسیل اسمزی و میزان بیوماس صورت گرفت. نمونه‌های گیاهی بعد از نمونه برداری در درون یخچال ۷۰- درجه سانتی‌گراد منتقل شد و سپس صفات مورد نظر اندازه‌گیری شد. ظرفیت زراعی خاک به روش وزنی تعیین شد. برای تعیین میزان آب مورد نیاز در هر بار آبیاری، در ابتدا میزان رطوبت خاک در حد ظرفیت زراعی تعیین و سپس گلدان‌ها به صورت روزانه دو نوبت وزن شده و در صورت کمتر بودن وزن گلدان‌ها از حد ظرفیت مورد نظر، آب مورد نیاز جهت تأمین حد رطوبتی مورد نظر به هر گلدان اضافه شد (Riahinia *et al.*, 2013). گلدان‌های پلاستیکی با ظرفیت ۱۰ کیلوگرم خاک انتخاب شده و به هر کدام از آنها مقدار مساوی ۱۰ کیلوگرم خاک اضافه گردید. همچنین براساس تجزیه خاک (جدول ۲) انجام شده، میزان NPK، همچنین محلول‌پاشی عناصر ریزمغذی مورد نیاز گیاه به هر گلدان انجام گرفت.

میزان پتانسیل اسمزی بافت گیاهی به روش Janardhan و Krishnamorthy (۱۹۷۵) براساس هدایت الکتریکی تعیین شد. در این روش یک گرم بافت تازه برگی توزین، له و با آب مقطر به حجم ۲۵ میلی‌لیتر رسانده شد. هدایت الکتریکی (EC) آن در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد قرائت شد. محتوای آب یک گرم نمونه دیگر نیز با قرار دادن آن‌ها در آون در دمای ۷۵°C به مدت ۴۸ ساعت به دست آمد و با استفاده از معادلات زیر

جدول ۱- مشخصات ژنوتیپ‌های گندم مورد استفاده.

ژنوتیپ	مشخصات
Orom	اوروم
Zarea	زارع
Mihan	میهن
ZS317G217	Zrn/ Shiroodi/6/Zrn/5/Omid/4/Bb/Kal/Ald/3/Y50E/Kal*3/Emu Jagger "Sib"/3/lagos-7//Guimatli2/17

جدول ۲ - نتایج تجزیه خاک مورد استفاده در آزمایش.

بافت خاک	ذرات خاک (درصد)			میزان عناصر قابل جذب			کربن آلی pH	*شوری
	شن	سیلت	رس	پتاسیم	فسفر	نیترژن		
لومی	۸۲	۱۳	۲	۱۷۱	۸/۴	۰/۰۶	۰/۶۲	۷/۸۷

*شوری (دسی زیمنس بر متر)، pH بدون واحد، عناصر (میلی گرم بر کیلوگرم خاک خشک)، سایر صفات (درصد).

(۵۰ درصد)، دو میلی لیتر از بافر فسفات (pH=6) و یک میلی لیتر نین هیدرین حل و به مدت ۳۰ دقیقه در آب جوش ۱۰۰ درجه سانتی گراد قرار داده شد و جذب در ۵۷۰ نانومتر قرائت شد. همچنین برای اندازه گیری مقدار متیونین ۱۰ میلی لیتر از محلول فیلتر شده در مرحله سه لیزین را برداشته و در فلاکس ۵۰ میلی لیتری به آن چهار میلی لیتر از سدیم هیدروکسید (۵ نرمال)، دو میلی لیتر از محلول گلیسین آبدار و دو میلی لیتر از محلول سدیم نیتروفری سیانید آبدار (۰/۱) اضافه شد بعد از هر اضافه کردن خوب مخلوط (ورتکس) گردید. محلول حاصل به مدت ۱۰ دقیقه در دمای ۴۰ درجه سانتی گراد و سپس به مدت ۵ دقیقه در حمام یخ نگهداری شد. پنج میلی لیتر هیدروکلریک-اسید (۱:۱) را اضافه کرده و خوب مخلوط نموده و سپس به مدت ۲-۳ دقیقه خنک کرده و از صافی عبور داده شد. سپس میزان جذب در ۵۱۰ نانومتر قرائت و میزان لیزین و متیونین بر حسب میلی گرم بر گرم وزن تر محاسبه گردید.

استخراج عصاره آنزیمی برای اندازه گیری فعالیت آنزیم های کاتالاز، پراکسیداز و پلی فنل اکسیداز به روش Sudhakar و همکاران (۲۰۰۱) و فعالیت آنها به روش Karo و Mishra (۱۹۷۶) اندازه گیری شد. برای این کار ۰/۲ گرم نمونه گیاهی در یک میلی لیتر تریس ۰/۰۵ مولار با اسیدیته ۷/۵ در داخل هاون کوبیده شد و سپس ماده هموژنیزه ایجاد شده در داخل

بالایی رنگی، با دقت جدا و جذب آن با دستگاه اسپکتروفتومتر (مدل یو وی ۲۱۰۰ ساخت یونیکو امریکا) با طول موج ۵۲۰ نانومتر قرائت و بر حسب میلی گرم بر گرم وزن تر اعلام شد. اندازه گیری قندهای محلول برگ به روش فنول سولفوریک (Dubois et al., 1956) با کمی تغییر صورت گرفت. به مقدار ۰/۲ گرم از نمونه های جوان ترین برگ پودر شده را با دو میلی لیتر بافر سدیم فسفات (pH= ۷) ساییده و با سرعت ۱۰۰۰۰ دور در دقیقه به مدت ۲۰ دقیقه در دمای چهار درجه سانتی گراد سانتریفیوژ شدند. از محلول رویی ۱۰ میکرولیتر برداشته و به آن ۹۹۰ میکرولیتر آب مقطر افزوده شد. به ۰/۵ میلی لیتر از محلول حاصل، ۰/۵ میلی لیتر فنول ۵ درصد و ۲/۵ میلی لیتر اسید سولفوریک (۹۸ درصد) افزوده شد. پس از تثبیت رنگ به مدت ۱۵-۱۰ دقیقه در دمای ۲۷-۳۰ درجه سانتی گراد قرار گرفت و جذب نمونه ها در طول موج ۴۹۰ نانومتر صورت گرفت. میزان قندهای محلول نیز بر حسب میلی گرم بر گرم وزن تر بدست آمد.

اندازه گیری لیزین و متیونین با استفاده از روش Feller و همکاران (۱۹۶۹) صورت گرفت، برای اندازه گیری میزان لیزین ۰/۵ گرم نمونه برگی را در ۵۰ میلی لیتر از هیدروکلریک اسید (۰/۱ نرمال) حل کرده آن را با آب به حجم ۱۰۰ میلی لیتر رسانده و صاف کرده و سپس نیم میلی لیتر از آن را با گلیسرول

قرار گرفت (جدول ۳). مقایسه میانگین‌های اثرات متقابل نشان داد، با افزایش شدت تنش بر میزان تجمع پرولین افزوده شد. بالاترین میزان پرولین در شرایط بدون تنش در ژنوتیپ "Zarea" با میانگین $1/36$ میلی‌گرم بر گرم و کمترین مقدار آن نیز از ژنوتیپ "ZSZOBKAYKA" با میانگین $0/25$ میلی‌گرم بر گرم به دست آمد این در حالی است در شدیدترین سطح تنش بالاترین مقدار پرولین از ژنوتیپ "Zarea" ($2/61$ میلی‌گرم بر گرم) به دست آمد (شکل ۱).

در پژوهش‌های Abbas-Zade و همکاران (۲۰۰۷)، Dehqanzadeh و همکاران (۲۰۰۸) در گندم، نیز به افزایش محتوای پرولین برگ برای اجتناب از تنش رطوبتی اشاره شده است. مطالعات Gunes و همکاران (۲۰۰۸) نیز اعمال تنش رطوبتی در مرحله بعد از گرده افشانی باعث افزایش معنی‌داری در میزان پرولین شد. از طرف دیگر Ghorbanli و Niakan (۲۰۰۵) از دلایل تجمع پرولین در شرایط تنش، به تخریب پروتئین‌ها و انباشت برخی آمینواسیدهای آزاد در جهت حفظ و تنظیم فشار اسمزی سلول اشاره کرده‌اند. بررسی‌ها نشان داد که انباشتگی میزان پرولین با میزان تحمل به خشکی گیاه ارتباط مستقیم دارد. تجمع پرولین در طی تنش، نقش چندگانه محافظتی داشته و یک بررسی طولانی مدت در مورد پرولین نشان می‌دهد، پرولین یک اسمولیت خنثی بوده که ساختارهای سلولی را محافظت کرده و منجر به پایداری آنزیم‌ها می‌شود (KaviKishor et al., 2005).

قندهای محلول: اثر اصلی تنش رطوبتی و ژنوتیپ‌های گندم و برهمکنش آن‌ها بر تجمع قندهای محلول تأثیرگذار بود (جدول ۳). مقایسه میانگین‌ها نشان دهنده افزایش تجمع قندهای محلول در ژنوتیپ‌های گندم در اثر افزایش شدت تنش بودند. بالاترین ($0/988$ میلی‌گرم بر گرم وزن تر) و پایین‌ترین ($0/25$ میلی‌گرم بر گرم وزن تر) قندهای محلول سنتز شده به ترتیب در ژنوتیپ "Orom" در تنش شدید (35% ظرفیت زراعی) ظرفیت زراعی و ژنوتیپ "Mihan" در تنش (80% FC) مشاهده شد (شکل ۲). انباشت قندهای محلول در شرایط تنش رطوبتی، می‌تواند باعث کاهش پتانسیل اسمزی سلول شده و از

دستگاه سانتریفیوژ به مدت ۲۰ دقیقه و با سرعت 13000 دور در دقیقه قرار داده شد. بعد از سانتریفیوژ و پس از خارج شدن نمونه‌ها دارای دو فاز مجزا از هم بود که فاز بالایی ایجاد شده در داخل اپندورف برای فعالیت آنزیم‌های کاتالاز و پراکسیداز و پلی‌فنل اکسیداز استفاده شد. برای اندازه‌گیری فعالیت کاتالاز 60 میکرولیتر از عصاره پروتئینی را در $2/5$ میلی‌لیتر بافر تریس 50 میلی‌مولار با پی اچ 7 و $0/3$ میلی‌لیتر آب اکسیژنه 5 میلی‌مولار در حمام یخ اضافه نموده و میزان جذب در طول موج 240 نانومتر قرائت شد (ضریب خاموشی $39/4$ میلی‌مول بر سانتی‌متر). برای پراکسیداز نیز 50 میکرولیتر عصاره پروتئینی را در $2/5$ میلی‌لیتر بافر استخراج که شامل بافر تریس 100 میلی‌مولار و آب اکسیژنه 5 میلی‌مولار و پیروگالال 10 میلی‌مولار بود در حمام یخ افزوده و میزان جذب در طول موج 425 نانومتر قرائت شد (ضریب خاموشی $26/6$ میلی‌مول بر سانتی‌متر). برای اندازه‌گیری فعالیت آنزیم پلی‌فنل اکسیداز $1/5$ میلی‌لیتر تریس اسید کلریدریک $0/2$ مولار با $pH=7/6$ و $0/3$ میلی‌مولار پیروگالول $0/02$ مولار را با هم مخلوط کرده و سپس $0/1$ میلی‌لیتر از عصاره پروتئینی استخراج شده به آنها افزوده و سپس ورتکس شده و به مدت 5 دقیقه در بن ماری با دمای 25 درجه سانتی‌گراد قرار داده و سپس با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر در طول موج 420 نانومتر قرائت گردید (ضریب خاموشی $2/74$ میلی‌مول بر سانتی‌متر). فعالیت آنزیم‌ها براساس تغییرات جذب در میلی‌گرم پروتئین محاسبه گردید. میزان بیوماس با انتخاب 3 بوته از هر گلدان و خشک کردن آنها در دمای 70 درجه به مدت 48 ساعت و محاسبه بیوماس تک بوته صورت گرفت. تجزیه آماری داده‌های توسط نرم‌افزار SAS 9.1 و مقایسه میانگین با استفاده از آزمون LSD در سطح 5 درصد انجام شد. تجزیه رگرسیونی با استفاده از SPSS 22 و رسم نمودارها با استفاده از Excel 2013 صورت گرفت.

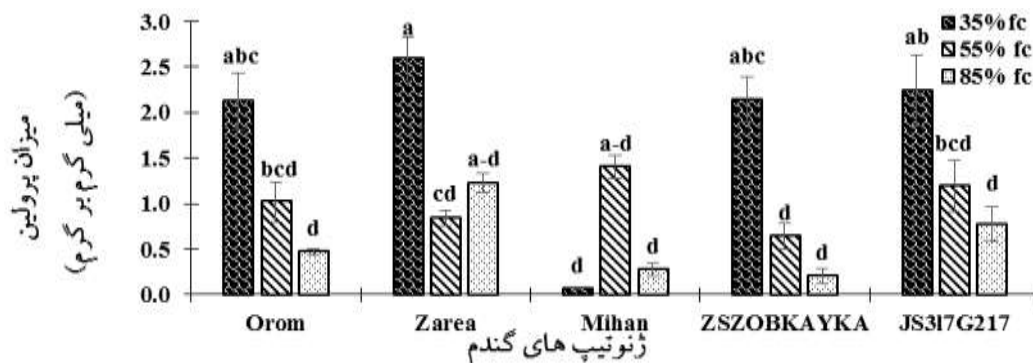
نتایج و بحث:

پرولین: میزان پرولین نیز تحت تأثیر اثرات اصلی و اثرات متقابل تنش کم آبی و ژنوتیپ‌های گندم در سطح 1 درصد

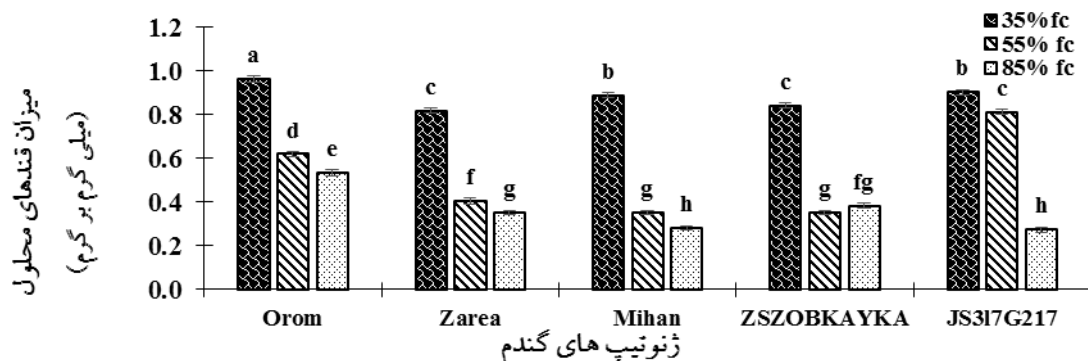
جدول ۳- نتایج تجزیه واریانس صفات اندازه‌گیری شده ژنوتیپ‌های مختلف گندم تحت تنش رطوبتی.

میانگین مربعات					درجه	منابع تغییرات
پروتئین	متیونین	لیزین	قندهای محلول	پرولین	آزادی	
۲۱۳۷/۲۶**	۰/۰۰۰۴۷**	۰/۹۶۶**	۱/۰۸۲**	۰/۹۵۷**	۲	تنش رطوبتی
۴۸۲/۵۳**	۰/۰۰۰۱۰**	۱/۹۶**	۰/۰۷۶**	۰/۳۹۶ ^{ns}	۴	ژنوتیپ‌های گندم
۵۰۸/۴۳**	۰/۰۰۰۰۵**	۰/۱۶۹**	۰/۰۴۵**	۰/۳۹۵*	۸	اثر متقابل
۴۴/۶۴	۰/۰۰۰۰۰۳۰	۰/۰۴۸	۰/۰۰۰۴۲	۰/۱۶۱	۳۰	خطا
۱۳/۸۴	۷/۳۵	۱۳/۳۷	۳/۵۲	۱۴/۲۶	-	ضریب تغییرات

ns و ** به ترتیب غیر معنی‌دار و معنی‌دار در سطح احتمال ۵٪ و ۱٪.



شکل ۱- تغییرات میزان پرولین در ژنوتیپ‌های مختلف گندم در شرایط تنش رطوبتی. حروف نامشابه نشان دهنده تفاوت معنی‌دار آزمون LSD در سطح ۵ درصد است.



شکل ۲- تغییرات میزان قندهای محلول در ژنوتیپ‌های مختلف گندم در شرایط تنش رطوبتی. حروف نامشابه نشان دهنده تفاوت معنی‌دار آزمون LSD در سطح ۵ درصد است.

شرایط تنش قندها اصلی‌ترین محلول‌های آلی هستند که در تنظیم اسمزی شرکت دارند. کربوهیدرات‌ها قادرند که نقش سیگنال‌های متابولیکی را ایفا کرد (Turkan, 2011). افزایش قندهای محلول در گیاهان تحت تنش باعث حفظ آماس سلولی و جلوگیری از پلاسمولیز می‌شود (Munnes and Tester, 2008).

طریق تنظیم اسمزی موجب بالاتر نگه داشتن میزان آب نسبی در ژنوتیپ‌های متحمل به کم آبی شود و در ساز و کار تحمل به تنش نقش مهمی داشته باشند. Bajji و همکاران (۲۰۰۱) افزایش معنی‌دار قندهای محلول در گیاهان تحت تنش را نسبت به گیاه شاهد گزارش کردند. آن‌ها بیان کردند که در

سوبسترای لازم برای سنتز پلی‌آمین‌ها و افزایش مقاومت گیاه به تنش می‌شود (Martin-Tanguy, 2001). لیزین نیز طی تنش با تبدیل شدن به آرژنین موجب تولید پلی‌آمین‌ها می‌شود. همچنین با تبدیل شدن به پرولین موجب پایداری پروتئین‌ها و حفاظت از ساختار آنزیم‌ها شده و نیز با تولید کوآنزیم A و وارد شدن آن به چرخه کربس در تولید ATP که انرژی مورد نیاز سلول را برای مقابله با تنش تأمین می‌کند (علیرضایی، ۱۳۹۱). همچنین لیزین در پاسخ به تنش و در برخی از برنامه‌های تکاملی ابتدا به گلوتامات و سپس به سایر متابولیت‌های مرتبط با تنش تبدیل می‌شود (Galili et al., 2001).

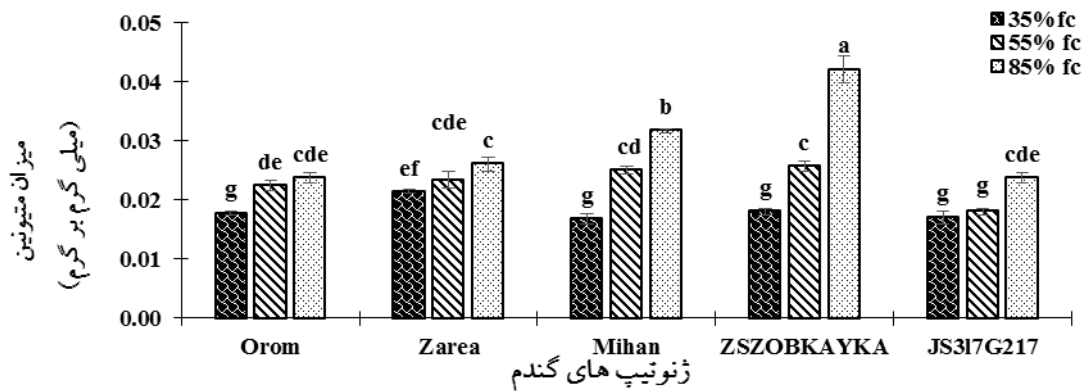
پروتئین: میزان پروتئین کل برگ‌ها تحت تأثیر تنش رطوبتی و ژنوتیپ‌های گندم و اثرات متقابل آن‌ها قرار گرفت (جدول ۳). نتایج مقایسه میانگین اثرات متقابل نشان داد، در اکثر ژنوتیپ‌های میزان پروتئین برگ‌ها در طی تنش کاهش پیدا کرد. بالاترین مقدار پروتئین در شرایط بدون تنش (۸۵٪ ظرفیت زراعی) از ژنوتیپ "Zarea" و کمترین مقدار پروتئین از ژنوتیپ "ZSZOBKAYKA" به دست آمد. همچنین بالاترین مقدار پروتئین در شدیدترین (۳۵٪ ظرفیت زراعی) سطح تنش از ژنوتیپ "Mihan" و کمترین مقدار آن از ژنوتیپ "Zarea" مشاهده شد (شکل ۵).

تغییرات کمی و کیفی پروتئین‌ها در شرایط تنش آب گزارش شده است و شواهد زیادی بین ارتباط و تجمع پروتئین ناشی از خشکی و سازگاری فیزیولوژیکی با محدودیت آب می‌باشد (Korotaeva et al., 2003). به نظر می‌رسد که کاهش محتوای پروتئین تحت تنش کم آبی در نتیجه واکنش پروتئین با رادیکال‌های آزاد و در نتیجه تغییر اسیدآمین، افزایش فعالیت آنزیم‌های تجزیه‌کننده پروتئین، کاهش سنتز پروتئین و نیز تجمع اسیدهای آمینه آزاد از جمله پرولین مرتبط است (Ranjan et al., 2001). همچنین گزارش شده است که مکانیزمی که قندها برای ایجاد محافظت از سلول‌ها در طی تنش کم‌آبی استفاده می‌کنند، شامل جایگزینی گروه هیدروژن قندها به عنوان قسمت آب دوست بوده و تأثیر متقابل بر پروتئین‌ها و غشاء سلولی در طی از دست رفتن آب دارد. به

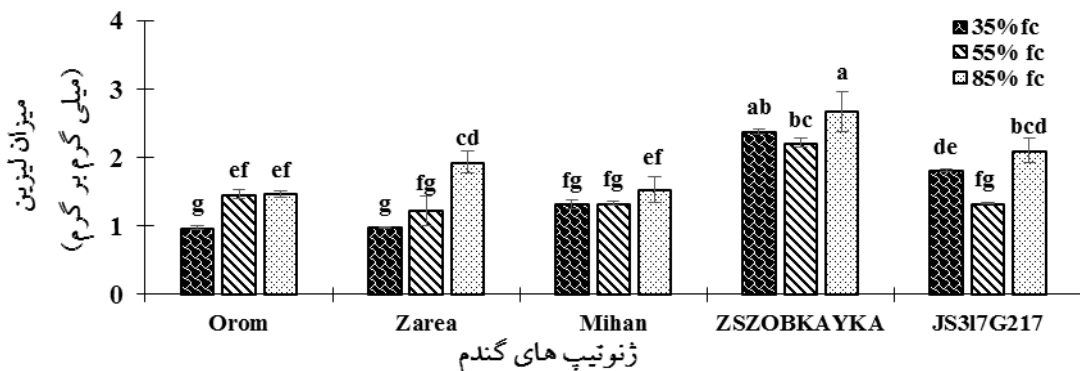
ساخته شدن قندهای محلول در برگ‌ها ممکن است دارای یک تأثیر محافظتی (اسموپروتکتانت) باشد. خصوصیت اسموتیکی قند می‌تواند نقش اساسی در افزایش نیروی محرکه‌ی ریشه برای جذب آب داشته باشد (Silveira et al., 2010).

لیزین و متیونین: اثر متقابل تنش رطوبتی و ژنوتیپ‌های گندم بر میزان متیونین در سطح ۱ درصد معنی‌دار بود (جدول ۳). افزایش تنش رطوبتی موجب کاهش میزان متیونین در ژنوتیپ‌های گندم شد به طوری که بیشترین میزان متیونین در ژنوتیپ "ZSZOBKAYKA" تحت شرایط بدون تنش با میانگین (۰/۳۸ میکروگرم بر گرم وزن تر) و کمترین میزان آن مربوط به ژنوتیپ "Mihan" تحت تنش شدید (۳۵٪ ظرفیت زراعی) با میانگین (۰/۱۲ میکروگرم بر گرم وزن تر) مشاهده شد (شکل ۳). میزان لیزین نیز تحت تأثیر اثرات اصلی و متقابل تنش رطوبتی و ژنوتیپ‌های گندم قرار گرفت (جدول ۳). با افزایش شدت تنش از میزان لیزین در اکثر ژنوتیپ‌های گندم کاسته شد. در شرایط بدون تنش (۸۵٪ ظرفیت زراعی) بالاترین میزان لیزین از ژنوتیپ "ZSZOBKAYKA" و کمترین مقدار آن از ژنوتیپ‌های "JS317G217" و "Orom" به دست آمد. بالاترین مقدار لیزین در تنش ۳۵٪ ظرفیت زراعی از ژنوتیپ "Zarea" مشاهده شد (شکل ۴).

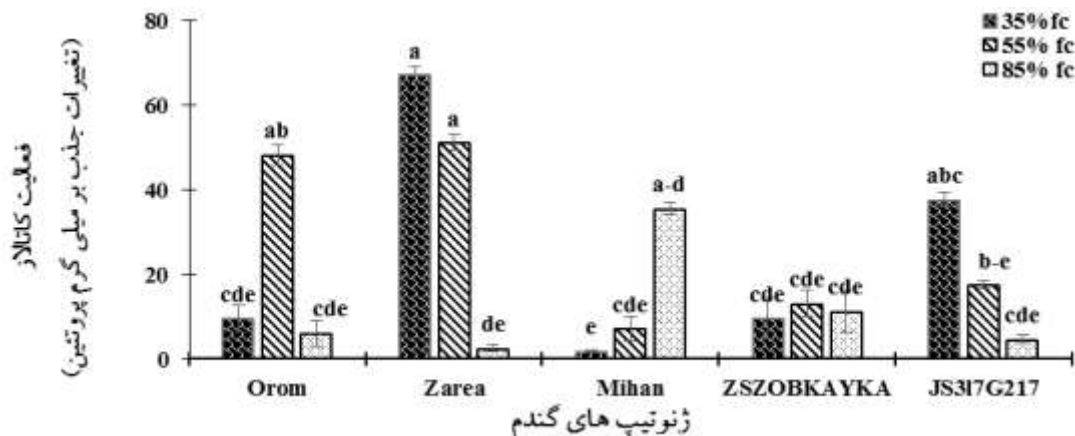
نتایج پژوهش‌های رشیدی و همکاران (۱۳۹۳) نشان دهنده‌ی کاهش میزان متیونین و لیزین در اثر تنش در لوبیا بودند. آن‌ها دلیل این کاهش را به نقش متیونین در متابولیت اساسی سلول‌های گیاهی تشکیل دهند جزء اصلی پروتئین نسبت دادند. برخلاف اکسیژن اتمسفری، انواع اکسیژن فعال از میل ترکیبی بالایی با بیومولکول‌های حیاتی سلول برخوردار بوده، به طوریکه سوپراکسید قادر است، اسیدآمین‌های متیونین، هیستیدین و تریپتوفان را اکسید نماید و از این طریق موجب کاهش مقدار آن‌ها در اثر تنش کم‌آبی شود (Breusegem et al., 2001). متیونین پیش ماده سنتز پلی‌آمین‌ها از جمله اسپرمیدین و اسپرمین می‌باشد (Pang et al., 2007) که تقویت‌کننده سیستم دفاعی گیاه در برابر کمبود آب محسوب می‌شوند. در طی تنش تجزیه این اسید آمینه موجب افزایش



شکل ۳- تغییرات میزان متیونین در ژنوتیپ‌های مختلف گندم در شرایط تنش رطوبتی. حروف نامشابه نشان دهنده تفاوت معنی‌دار آزمون LSD در سطح ۵ درصد است.



شکل ۴- تغییرات میزان لیزین در ژنوتیپ‌های مختلف گندم در شرایط تنش رطوبتی. حروف نامشابه نشان دهنده تفاوت معنی‌دار آزمون LSD در سطح ۵ درصد است.



شکل ۵- تغییرات فعالیت آنزیم کاتالاز در ژنوتیپ‌های مختلف گندم در شرایط تنش رطوبتی. حروف نامشابه نشان دهنده تفاوت معنی‌دار آزمون LSD در سطح ۵ درصد است.

تنش رطوبتی و ژنوتیپ‌های گندم در سطح ۱ درصد بر فعالیت آنزیم کاتالاز تأثیر معنی‌داری داشت. همچنین اثر متقابل تنش رطوبتی در ژنوتیپ‌های بر میزان فعالیت کاتالاز معنی‌دار بود (جدول ۳). مقایسه میانگین اثرات متقابل نشان داد، با افزایش

این ترتیب کربوهیدرات‌ها به وسیله تأثیر متقابل با پروتئین‌ها و غشاءها از طریق پیوند هیدروژنی، از غیرطبیعی شدن پروتئین‌ها جلوگیری می‌کند (Al- Rumaih, and Al- Rumaih, 2007). کاتالاز: نتایج تجزیه واریانس‌ها نشان می‌دهد، اثرات اصلی

ژنوتیپ‌های "ZSZOBKAYKA" و "Orom" و کمترین میزان فعالیت آن نیز در ژنوتیپ "Zarea" مشاهده شد. در شرایط تنش متوسط (۶۰٪ ظرفیت زراعی) از میزان فعالیت آنزیم در ژنوتیپ "JS317G217" کاسته شده و با شدیدتر شدن تنش، فعالیت آنزیمی آنها افزایش یافت. این در حالی است که در بقیه ژنوتیپ‌ها فعالیت آنزیم در تمام ژنوتیپ‌ها روند افزایشی بود. بالاترین فعالیت آنزیم ۱۳۶/۶ تغییرات جذب در میلی‌گرم پروتئین) در ۳۵٪ ظرفیت زراعی از ژنوتیپ "Zarea" و کمترین فعالیت (۴۲/۵ تغییرات جذب در میلی‌گرم پروتئین) از ژنوتیپ "Mihan" مشاهده شد (شکل ۷).

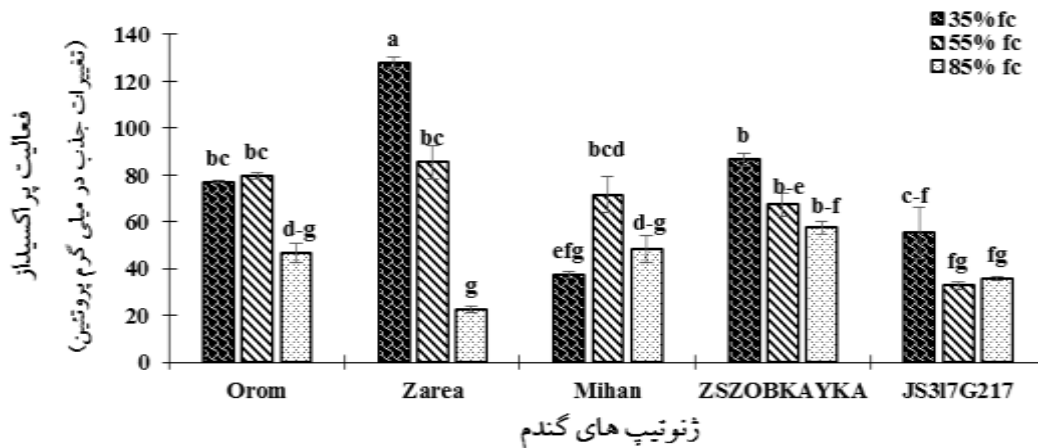
پراکسیداز یکی دیگر از آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانت بوده که در اثر افزایش تولید گونه‌های فعال اکسیژن و هیدروژن پراکسید در اثر تنش‌های اکسیداتیو فعالیت آن افزایش پیدا می‌کند (Foyer and Noctor, 2003). فعالیت پراکسیداز بیشتر در دیواره سلولی بوده و موجب تجزیه هیدروژن پراکسید به آب و اکسیژن می‌شود. آنزیم پراکسیداز بیش‌ترین تأثیر غیرمستقیم بر عملکرد کوانتومی را دارد و به عنوان کاتالیزور برای کوئینون-هایی که از فنل به دست می‌آیند عمل می‌کند. افزایش تنش کم‌آبی موجب افزایش فعالیت آن می‌شود. Jabari و همکاران (۲۰۰۶) در بررسی ارقام گندم تحت تنش شدید کم‌آبی، افزایش فعالیت این آنزیم را گزارش نمودند. Movludi و همکاران (۲۰۱۴) نیز بیان نمود فعالیت آنزیم‌های پراکسیداز، کاتالاز و پلی‌فنل اکسیداز جو بهاره در اثر کم‌آبی افزایش می‌یابد.

پلی‌فنل اکسیداز: اثر متقابل تنش رطوبتی در ژنوتیپ بر میزان فعالیت آنزیم پلی‌فنل اکسیداز نیز تأثیرگذار بود (جدول ۴). مقایسه میانگین اثرات متقابل نشان داد، فعالیت پلی‌فنل اکسیداز در تمام ژنوتیپ‌های گندم افزایش یافت. بیشترین میزان فعالیت این آنزیم (۴۹/۰۶ تغییرات جذب در میلی‌گرم پروتئین) در ژنوتیپ "Zarea" در تنش شدید و کمترین میزان فعالیت (۱۰/۱۱ تغییرات جذب در میلی‌گرم پروتئین) در حالت بدون تنش (۸۵٪ ظرفیت زراعی) در همین ژنوتیپ مشاهده شد (شکل ۷). این نتایج با گزارش‌های Bai و Sui (۲۰۰۶) در مورد فعالیت‌های آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانت تحت خشکی در

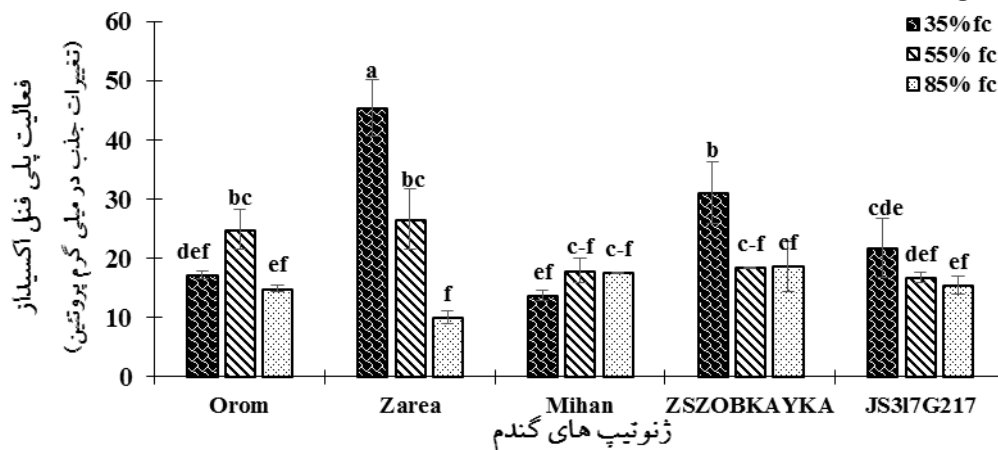
شدت تنش رطوبتی میزان فعالیت این آنزیم در تمامی ژنوتیپ‌های افزایش یافت. در شرایط بدون تنش ژنوتیپ "Mihan" بالاترین فعالیت را از خود نشان دادند، این در حالی است که در تنش (۶۰٪ ظرفیت زراعی) ژنوتیپ‌های "Zarea"، "Orom" بالاترین فعالیت کاتالاز را به خود اختصاص داده و همگی در یک کلاس آماری قرار گرفتند. با شدت یافتن تنش به (۳۵٪ ظرفیت زراعی) تفاوت بین ژنوتیپ‌های بیشتر شد. در این شرایط ژنوتیپ "Zarea" بالاترین فعالیت کاتالاز را نشان دادند (شکل ۶).

آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان، در گیاهان گروهی از سازش‌های فیزیولوژیک و بیوشیمیایی را در پاسخ به تنش نشان می‌دهند که از آن جمله می‌توان به تغییرات برخی آنزیم‌ها مانند پراکسیداز، کاتالاز و پلی‌فنل اکسیداز اشاره نمود (Jose *et al.*, 1999). تنش رطوبتی که در نهایت با افزایش تنش اکسیداتیو همراه است، باعث تجمع گونه‌های فعال اکسیژن و هیدروژن پراکسید در کلروپلاست، میتوکندری و پراکسی‌زوم می‌شود. در این شرایط فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان که به‌عنوان نوعی سازگاری متداول برای غلبه بر تنش اکسیداتیو در گیاهان به شمار می‌آید در گیاه القاء می‌شود (Foyer and Noctor, 2003). Ariano و همکاران (۲۰۰۵) مشاهده کردند که آنزیم‌های آسکوربات پراکسیداز، پراکسیداز و کاتالاز نقش موازی و مشابهی را در سیستم دفاعی گیاه ایفا می‌کنند. به‌طوری‌که وظیفه آنزیم، سم‌زدایی و تجزیه پراکسید هیدروژن تولید شده در سلول‌ها می‌باشد. آنزیم کاتالاز از سلول‌ها در برابر پراکسید هیدروژن محافظت می‌کند و موجب تجزیه این ماده به آب و اکسیژن می‌گردد. نتایج تحقیقات Movludi و همکاران (۲۰۱۴) نشان داد تنش خشکی موجب افزایش فعالیت آنزیم‌های کاتالاز در جوه بهاره شد.

پراکسیداز: فعالیت آنزیم پراکسیداز نیز تحت تأثیر اثرات اصلی و متقابل تنش رطوبتی و ژنوتیپ‌های گندم در سطح ۱ درصد قرار گرفت (جدول ۴). تنش رطوبتی بر فعالیت پراکسیداز ژنوتیپ‌های گندم متفاوت بود. بیش‌ترین فعالیت پراکسیداز در شرایط بدون تنش (۸۵٪ ظرفیت زراعی) از



شکل ۶- تغییرات فعالیت آنزیم پراکسیداز در ژنوتیپ‌های مختلف گندم در شرایط تنش رطوبتی. حروف نامشابه نشان دهنده تفاوت معنی‌دار آزمون LSD در سطح ۵ درصد است.



شکل ۷- تغییرات فعالیت آنزیم پلی فنل اکسیداز در ارقام مختلف گندم در شرایط تنش رطوبتی. حروف نامشابه نشان دهنده تفاوت معنی‌دار آزمون LSD در سطح ۵ درصد است.

جدول ۴- نتایج تجزیه واریانس صفات اندازه‌گیری شده ژنوتیپ‌های مختلف گندم تحت تنش رطوبتی.

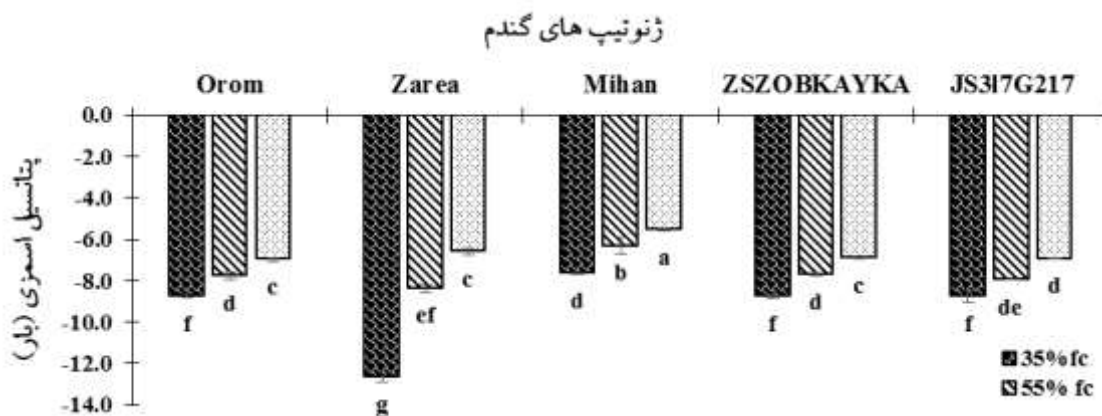
میانگین مربعات					درجه آزادی	منابع تغییرات
میزان بیوماس	پتانسیل اسمزی	پلی فنل اکسیداز	پراکسیداز	کاتالاز		
۰/۸۵۲**	۲۸/۴۶**	۴/۳۳۸**	۱۸/۴۶**	۱۰/۰۳ ^{ns}	۲	تنش رطوبتی
۰/۱۲۵ ^{ns}	۸/۲۶**	۱/۳۷۳**	۷/۰۶**	۷/۷۱ ^{ns}	۴	ژنوتیپ‌های گندم
۰/۱۶۵ ^{ns}	۲/۹۰**	۲/۱۱**	۶/۷۳**	۱۵/۷۰**	۸	اثر متقابل
۰/۱۳۳	۰/۰۹۲	۰/۵۲۹	۱/۰۰۶**	۳/۵۴	۳۰	خطا
۲۷/۳	۳/۸۷	۱۱/۹۰	۱۳/۰۷	۱۴/۲۸	-	ضریب تغییرات

ns ، ** و *** به ترتیب غیر معنی‌دار و معنی‌دار در سطح احتمال ۵٪ و ۱٪.

(Thipyapong et al., 2004).

پتانسیل اسمزی: نتایج تجزیه واریانس نشان داد، اثرات اصلی و متقابل تنش رطوبتی و ژنوتیپ‌های گندم بر پتانسیل

ذرت و Celina و همکاران (۲۰۰۴) در گندم مطابقت دارد. فعالیت آنزیم پلی فنل اکسیداز از تولید بیش از حد اجزای خطی انتقال الکترون در واکنش مهلر جلوگیری می‌کند



شکل ۸- تغییرات پتانسیل اسمزی برگ در ژنوتیپ‌های مختلف گندم در شرایط تنش رطوبتی. حروف نامشابه نشان دهنده تفاوت معنی‌دار آزمون LSD در سطح ۵ درصد است.

مطالعه میزان پروتئین و فعالیت آنزیم پلی‌فنل اکسیداز بالاترین ضریب تبیین را با تغییرات پتانسیل اسمزی نشان دادند. بنابراین می‌توان احتمال داد تغییرات پتانسیل اسمزی در طی تنش می‌تواند در اثر تغییر میزان این دو پارمتر باشد. همچنین مشاهده می‌شود ژنوتیپ "Mihan" که در شرایط تنش شدید بالاترین پتانسیل اسمزی را از خود نشان داد. در شرایط تنش بالاترین میزان پروتئین و کمترین فعالیت آنزیم پلی‌فنل اکسیداز را از خود نشان داد. همچنین مشاهده شد تغییرات تمام متابولیت‌های سازگاری و فعالیت آنتی‌اکسیدنتی با پتانسیل اسمزی معنی‌دار بود تغییرات از نوع درجه دوم بود (جدول ۵).

میزان بیوماس: نتایج تجزیه واریانس نشان داد، میزان بیوماس در سطح ۱ درصد در اثر تنش رطوبتی تغییر معنی‌دار پیدا نمود (جدول ۴). تنش رطوبتی موجب کاهش میزان بیوماس شد، به طوری که بالاترین مقدار میزان بیوماس در (۸۵٪ ظرفیت زراعی) با میانگین ۲/۷۹ گرم بر بوته و کمترین آن در تنش شدید (۳۵٪ ظرفیت زراعی) با میانگین ۱/۲۱ گرم بر بوته به دست آمد (شکل ۱۰). Mohammadi و همکاران (۲۰۰۶) و Pireivatlou و همکاران (۲۰۱۰) نیز نتایج مشابهی مبنی بر کاهش میزان بیوماس در اثر تنش خشکی گزارش کردند. گلپرور و همکاران (۱۳۸۱) نیز بیان داشتند که بین میزان بیوماس و عملکرد دانه و تعداد سنبله در گیاه رابطه معنی‌دار و مثبت برقرار است. بنابراین با توجه به کاهش میزان بیوماس در اثر تنش خشکی، کاهش عملکرد طبیعی می‌باشد. همچنین با

اسمزی تاثیر معنی‌دار داشت (جدول ۴). مقایسه میانگین‌ها در شکل ۸ نشان می‌دهد، تنش رطوبتی باعث کاهش مقدار پتانسیل اسمزی گردید. در شرایط بدون تنش ژنوتیپ "Mihan" بالاترین پتانسیل اسمزی و ژنوتیپ "JS317G217" کمترین پتانسیل اسمزی را به خود اختصاص داد. با وجود این در شرایط تنش (۳۵٪ ظرفیت زراعی) بالاترین و کمترین پتانسیل اسمزی به ترتیب متعلق به ژنوتیپ "Mihan" و "Zarea" با میانگین‌های ۸/۳- و ۱۳/۳- بار بود (شکل ۸).

پتانسیل اسمزی طی تنش کم‌آبی کاهش پیدا کرده کاهش معنی‌دار پتانسیل اسمزی می‌تواند به دلیل از دست دادن آب آزاد سلول‌ها و یا به دلیل وجود سازوکار فعال در جذب و یا تولید املاح کاهش دهنده پتانسیل اسمزی در محیط سلول و یا هر دو آن‌ها باشد. می‌توان این‌گونه نتیجه گرفت که تنش کم-آبی به دلیل کاهش پتانسیل اسمزی گیاه، ظرفیت فتوسنتزی گیاه را برای تولید محصول کاهش داده است. کاهش پتانسیل اسمزی از طریق تجمع املاح در سلول‌های گیاه حاصل شده و با حفظ پتانسیل تورگر سلول‌ها به توسعه سلولی و رشد گیاه در شرایط تنش یک مکانیزم تحمل خشکی در گیاهان می‌باشد (Bajii et al., 2001). کاهش پتانسیل اسمزی در تنش کم‌آبی در یافته‌های Soliman Amira و همکاران (۲۰۱۱) نیز دیده شده است. با توجه به نتایج تجزیه رگرسیونی موجود در جدول ۵ مشاهده می‌شود در بین متابولیت‌های سازگاری و فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدنت اندازه‌گیری شده در این

ژنوتیپ موجب افزایش سنتز پرولین، قندهای محلول و کاهش مقدار لیزین، متیونین و میزان پروتئین می‌شود. همچنین در طی تنش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانت کاتالاز، پراکسیداز و پلی‌فنل اکسیداز افزایش یافت که در نهایت کاهش پتانسیل اسمزی و بیوماس در طی تنش را موجب شده است. در بین متابولیت‌های سازگاری، میزان پروتئین و فعالیت آنزیم پلی‌فنل اکسیداز بالاترین سهم را در تعیین پتانسیل اسمزی نشان دادند که خود این صفت دارای تغییرات خطی با تغییرات بیوماس گندم می‌باشد. در بین ژنوتیپ‌های استفاده شده ژنوتیپ "Mihan" با داشتن بالاترین میزان پروتئین و کمترین فعالیت آنزیم‌های پلی‌فنل اکسیداز در نهایت بالاترین پتانسیل اسمزی را نشان داد، که این می‌تواند به عنوان متحمل‌ترین ژنوتیپ شناخته شود.

توجه به نتایج موجود در شکل ۱۱ مشاهده می‌شود، بین تغییرات پتانسیل اسمزی و میزان بیوماس یک رابطه خطی وجود دارد. پتانسیل اسمزی طی تنش رطوبتی کاهش یافته که این تغییر می‌تواند به دلیل از دست دادن آب آزاد سلول‌ها و تولید املاح کاهش دهنده پتانسیل اسمزی در محیط سلول و باشد. بنابراین می‌توان این‌گونه نتیجه گرفت که تنش رطوبتی به دلیل کاهش پتانسیل اسمزی گیاه، ظرفیت فتوسنتزی گیاه را برای تولید محصول کاهش داده و موجب کاهش بیوماس می‌گردد. همچنین کاهش پتانسیل اسمزی از طریق تاثیر بر پتانسیل تورگر سلول‌ها بر توسعه سلولی و رشد گیاه تاثیر می‌گذارد (Bajji et al., 2001).

نتیجه‌گیری:

با توجه به نتایج مشاهده می‌شود که تنش رطوبتی بستگی به

منابع:

- جباری، ف.، احمدی، ع.، پوستینی، ک.، عزیزاده، ه. (۱۳۸۵) بررسی ارتباط فعالیت برخی آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانت با پایداری غشای سلولی و کلروفیل در ارقام گندم نان مقاوم و حساس به تنش خشکی. مجله علوم کشاورزی ایران. ۳۷: ۳۱۶-۳۰۷.
- رازقی یدک، فرح لقا. (۱۳۸۶) بررسی اثر تنش‌های شوری و خشکی بر فعالیت آنزیم فسفاتاز در بذر ارقام گندم نان در مراحل اولیه جوانه‌زنی. پایان‌نامه کارشناسی ارشد، دانشگاه تهران.
- رشیدی، س.، عبادی، ع.، پرمون، ق.، جهانبخش، س. (۱۳۹۳). اثر منبع نیتروژن بر برخی صفات فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی لوبیا در شرایط تنش کم‌آبی. فرآیند و کارکرد گیاهی، ۳: ۱۱۰-۹۸.
- طالع احمدی، س.، حداد، ر. (۱۳۸۹) اثر سیلکسیون بر فعالیت آنزیم‌های ضد اکسنده و محتوای تنظیم‌کننده‌های اسمزی در دو ژنوتیپ گندم در شرایط تنش خشکی. مجله له زراعی و نهال و بذر. جلد ۲۶: ۲۲۵-۲۰۷.
- علیرضایی، ک.، جهانبخش، س.، رزمجو، ج.، عبادی، ع. (۱۳۹۱) بررسی بیان پروتئین‌های القاء شده تحت اثر زنگ زرد (*Puccinia striiformis fsp tritici*) در ژنوتیپ‌های مقاوم و حساس گندم نان با استفاده از تکنیک الکتروفورز ۲ بعدی. پایان‌نامه کارشناسی ارشد. دانشگاه محقق اردبیلی. ادبیل.
- قربانلی، م.، نیکان، م. (۱۳۸۴) بررسی اثر تنش خشکی بر روی میزان قندهای محلول، پروتئین، ترکیبات فنلی و فعالیت آنزیم نترات ردوکتاز گیاه سویا رقم گرگان. نشریه دانشگاه تربیت معلم دانشگاه آزاد اسلامی واحد گرگان
- گلپور، ا.، قنادها، م.، زالی، ع. (۱۳۸۱) تعیین بهترین صفات گزینش برای بهبود عملکرد ژنوتیپ‌های گندم نان در شرایط تنش خشکی. نهال و بذر. ۱۸: ۱۵۵-۱۴۴.
- Abbas-Zade, B., Sharifi, A., Abadi, A., Lebaschi, M. H., Naderi, M. and Maghdami, F. (2007) Effect of drought stress on proline, soluble sugars, chlorophyll and relative water content of (*Melissa officinalis* L). *Agronomy Journal* 23: 504-513.
- Al- Rumaih, M. M. and Al- Rumaih, M. M. (2007) Physiological response of two species of datura to uniconazole and salt stress. *Journal of Food Agriculture and Environment*. 5: 450-453.

- Ariano, S., Bartolomeo, D., Cristos, X. and Andras, M. (2005) Antioxidant defences in Olive tree during drought stresses: changes in activity of some antioxidant enzymes. *Functional plant Biology*. 32:45-53.
- Bai, L. P. and Sui, F. G. (2006) Effect of soil drought stress on leaf water status, membrane permeability and enzymatic antioxidant system of maize. *Pedosphere Journal*. 16:326-332.
- Bajji, M., Lutts, S. and Kinet, J. (2001) Water deficit effect on solute contribution to osmotic adjustment as a function of leaf ageing in three wheat cultivars performing differently in arid conditions. *Plant Science* 160: 669-681.
- Bates, L. S., Walderen, R. D. and Taere, I. D. (1973) Rapid determination of free proline for water stress studies. *Plant and Soil*, 39: 205-207.
- Bradford, M. M. (1979) 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.
- Breusegem, F. V., Vranova, E., Dat, J. F. and Inze, D. (2001) The role of active oxygen species in plant signal transduction. *Plant Science* 161: 405-414.
- Celina, M. L., Gabriela, M. P. and Simon, D. (2004) Drought and CAT gen expression in wheat. *Journal Experimental Botany* 56:417-423.
- Cicek, N. and Cakirlar, H. (2002) The effect of salinity on some physiological parameters in two maize cultivars. *Bulgarian Journal of Plant Physiology* 28: 66-74.
- Davies, M. J. (2005) The oxidative environment and protein damage. *Biochimica et Biophysica Acta* 1703: 93-109.
- Dehqanzadeh, H., Khajepour, M. R., Heidari Sharif Abad, H. and Soleimani, A. S. (2008) Effect of limited irrigation on the accumulation of proline, free soluble sugars and potassium in bread wheat cultivars. 10th Iran. Cong Agron. *Plant Breed Science* .430p.
- Dubois, M., Gilles, K. A., Hamilton, J. K., Rebers, P. A. and Smith, F. (1956) Colorimetric method for determination of sugars and related substances. *Analytical Chemistry* 28:350-356.
- Feller, R. E., Feller, D. A. and Shepherd, A. D. (1969) Determination of free lysine and Methionine in Amino acid-Fortified wheat 46: 614-620.
- Foyer, C. and Noctor, G. (2003) Redox sensing and signalling associated with reactive oxygen in chloroplasts, peroxisomes and mitochondria. *Physiology Plant* 119:355-364.
- Galili, G., Tang, G., Zhu, X. and Gakiere, B. (2001) Lysine catabolism: a stress and development super-regulated metabolic pathway. *Current Opinion in Plant Biology* 4:261-266.
- Galili, G., Tang, G., Zhu, X. and Gakiere, B. (2001) Lysine catabolism: a stress and development super-regulated metabolic pathway. *Current Opinion in Plant Biology* 4:261-266.
- Ghorbanli, M. and Niakan, M. (2005) Study the effect of drought stress on soluble sugars, protein, Proline, Phenol compounds and reductase enzyme activity in soybean plants cv. Gorgan 3. *Tarbiat Moallem University Science Magazin* 5: 537-550.
- Gunes, A., Inal, A., Adak, M. S., Bagci, E. G., Cicek, N. and Eraslan, F. (2008) Effect of drought stress implemented at pre-or post-anthesis stage on some physiological parameters as screening criteria in chickpea cultivars. *Russian Journal Plant Physiology* 55: 59- 67.
- Jabari, F., Ahmadi, A., Poustini, K. and Alizadeh, H. (2006) Evaluation of some antioxidant enzyme effects on chlorophyll and cell membrane in drought susceptible and tolerant wheat varieties. *Iranian Journal Agricultural Science* 37:307-316.
- Janardhan, K. V. and Krishnamorthy, V. (1975) A rapid method for determination of osmotic potential of plant cell. *Current Science* 44: 390-391
- Jose, M., Mates eristinaperez, G. (1999) Antioxidant Enzymes and Human Disease. *chemical Biochemistry* 32: 595-603.
- Karo, M. and Mishra, D. (1976) Catalase, peroxidase and polyphenol oxidase activity during rice leaf senescence. *Plant Physiology* 57: 315-319.
- KaviKishor, P. B., Sangam, S., Amrutha, R. N., Sri Laxmi, P., Naidu, K. R. and Rao, K. (2005) Regulation of proline biosynthesis, degradation, uptake and transport in higher plants: Its implications in plant growth and abiotic stress tolerance. *Current Science* 88: 424-438.
- Korotaeva, N., Borovskii, G. B. and Voinikov, V. K. (2003) Maize seedlings Accumulate SmHsPs in response to water stress. *Field Crop Science* 97: 291-298.
- Leinhose, N. and Beragman, V. H. (1995). Changes in the yield lignin content and protein pattern of barley induced by drought stress. *Angewandte- Botanik* 69: 206-210.
- Martin-Tanguy, J. (2001). Metabolism and function of polyamines in plants. *Recent development (new approaches)*. *Plant Growth Regulation* 34:135-148.
- Mohammadi, A., Majidi, E., Bihamta, M. R., Heidari, B. and Sharifabadi, H. (2006) Evaluation of drought stress on agromorphological characteristics in some wheat cultivars. *Crop Science* 73: 184-192.
- Moran, J. F., Becana, M., Ormaetxe, I. I., Frechilla, S. L., Klucase, R. V. and Tejo, D. A. (1994) Drought induces oxidative stress in pea plants. *Plant Science* 194: 346-352.
- Movludi, A., Ebadi, A., Jahanbakhsh, S., Davari, M., Parmoon, GH. (2014) The effect of water deficit and nitrogen on

- the antioxidant enzymes activity and quantum yield of barley (*Hordeum vulgare* L.). *Notulae Botanicae Horti Agrobotanici Cluj-Napoca*: 42:398-404.
- Munnes, R., Tester, M. (2008) Mechanisms of salinity tolerance. *Annual Review of Plant Biology* 59: 651-681.
- Nilsen, E.T. and Orcutt, D. M. (1996) Physiology of plant under stress (*Arabic factors*). Johan Wiley and sons. New York.
- Pang, X. M., Zhang, Z. Y., Wen, X. P., Ban, Y. and Moriguchi, T. (2007) Polyamines, allpurpose players in response to environment stresses in plants function of polyamines in plants: recent development (new approaches). *Plant Growth Regulation* 34: 135-148.
- Patger, M., Bragato, C. and Brix, H. (2005) Tolerance and physiological responses of phragmites australis to water deficit. *Aquatic Botany* 81: 285-299.
- Paul, E. V. and Robert, E. S. (1999) Proline accumulation in maize primary roots at low water potentials. II. Metabolic source of increased proline deposition in the elongation zone. *Plant Physiology* 119:1349-1360.
- Pireivatlou, A.S., Dehdar Masjedlou, B. and Ramiz, T.A. (2010) Evaluation of yield potential and stress adaptive traits in wheat genotypes under post anthesis drought stress. *Crop Science* 93: 55-72.
- Ranjan, R., Bohra, S. P. and Jeet, A. M. (2001) Book of plant senescence. Jodhpur, pp. 18-42. Agrobios New York
- Riahinia, S. H., Khazaei, H. R., Kafi, M. and Nezami, A. (2013) Effects of water stress and nitrogen levels on relative water content, chlorophyll fluorescence and membrane stability index in grain sorghum (*Sorghum bicolor* L.). *Research on Crops* 14: 88-94.
- Silveira, J. A. G., Sandro, S. A. M., Lima, J. P. M. S. and Viégas, R. A. (2009) Roots and leaves display contrasting osmotic adjustment mechanisms in response to NaCl-salinity in *Atriplex nummularia*. *Environmental and Experimental Botany* 66: 1-8.
- Soliman Amira, Sh., Shanan, N., Massoud, T., Osama, N. and Swelim, D. M. (2011) Improving salinity tolerance of (*Acacia saligna*) Plant by arbuscular mycorrhizal fungi and Rhizobium inoculation. *African Journal of Biotechnology* 11: 1259-1266 pp.
- Sudhakar, C., Lakshmi, A. and Giridara kumar, S., (2001) Changes in the antioxidant enzyme efficacy in two high yielding genotypes of mulberry (*Morus alba* L.) under NaCl salinity. *Plant Science* 167: 613-619.
- Thipyapong, P., Melkonian, J., Wolfe, D. W. and Steffens, J. C. (2004) Suppression of polyphenol oxidases increases stress tolerance in tomato. *Plant Science* 167: 693-703.
- Turkan, I. (2011) Plant responses to drought and salinity stress, Development in a post-Genomic era. *Advances in Botanical Research* 593p.
- Yang, J., Zhang, J., Hung, Z., Zhu, Q. and Wang, L. (2000) Remobilization of carbon reserves is improved by controlled soil drying during grain filling of wheat. *Crop Science* 40: 1645-1655.