

تأثیر تنش خشکی و اشعه ماوراء بنفش (UV-C) بر سیستم دفاع آنتی‌اکسیدانی آنزیمی و غیر آنزیمی در سه رقم گندم (*Triticum aestivum* L.)

زینب رضایی فر^۱، سیامک فلاحی^۱ و اسماعیل قلی‌نژاد^{۲*}

^۱گروه زیست‌شناسی، دانشگاه پیام نور، ^۲گروه علمی علوم کشاورزی، دانشگاه پیام نور

(تاریخ دریافت: ۱۳۹۵/۱۲/۱۴، تاریخ پذیرش نهایی: ۱۳۹۶/۰۶/۲۸)

چکیده:

تنش خشکی و اشعه UV به عنوان عوامل محیطی تنش‌زا اثرات زیانباری بر فرایندهای فیزیولوژیکی و رشد گونه‌های گیاهی دارند. لذا به منظور بررسی تأثیر تنش خشکی و UV-C بر سیستم دفاع آنتی‌اکسیدانی آنزیمی و غیر آنزیمی در ارقام مختلف گیاه گندم (*Triticum aestivum* L.)، آزمایشی گلدانی به صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار در سال ۱۳۹۴ اجرا گردید. عامل اول شامل تنش خشکی در دو سطح (شاهد و تنش خشکی با اعمال ۲۵ درصد ظرفیت زراعی)، عامل دوم شامل اشعه UV در دو سطح (شاهد و اشعه UV-C) و عامل سوم سه رقم گندم ("زارع"، "پیشگام" و "میهن") بود. در این تحقیق صفات مورفولوژیک، رنگیزه‌های فتوسنتزی و آنزیم‌های موثر بر سیستم دفاعی مورد بررسی قرار گرفتند. نتایج نشان داد که در شرایط تنش خشکی و اشعه UV محتوای فلاونوئیدها در رقم "میهن" افزایش و در رقم "پیشگام" کاهش معنی‌داری یافت در حالی که در همین شرایط (تنش خشکی و اشعه UV) محتوای آنتوسیانین‌ها افزایش معنی‌داری نشان داد. تیمار خشکی و اشعه UV سبب ایجاد تنش اکسیداتیو در ارقام مختلف گیاه گندم شد. علاوه بر این تنش خشکی ترکیبات فنلی را افزایش داد و موجب افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان نظیر کاتالاز، سوپراکسید دیسموتاز و پراکسیداز شد. محتوای کربوهیدرات‌های محلول نیز تحت شرایط تنش خشکی افزایش معنی‌داری یافت. در شرایط تنش خشکی، کاربرد اشعه UV محتوای پرولین را در کلیه ارقام حدود ۳۱ درصد افزایش داد در حالی که این افزایش در شرایط بدون تنش خشکی ۲۲ درصد بوده است. افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی در هر سه واریته مشاهده شد، همچنین محتوای مالون‌دی‌آلدئید و پرولین در هر سه رقم مورد مطالعه افزایش یافت. اشعه UV باعث کاهش معنی‌دار محتوای کلروفیل a، b و کلروفیل کل شد. همچنین تیمار با اشعه UV-C باعث کاهش وزن خشک ریشه و ساقه و طول ریشه و ساقه در هر سه رقم شد. کاربرد توام تنش خشکی و اشعه UV باعث تشدید خسارات وارده به گیاه شد. همچنین رقم "زارع" با توجه به افزایش میزان فلاونوئیدها و آنتوسیانین نسبت به ارقام "میهن" و "پیشگام" رقم متحمل به تنش خشکی شناخته شد.

واژه‌های کلیدی: آنتوسیانین، اشعه UV، تنش خشکی، فلاونوئیدها، گندم

مقدمه:

هستند. بنابراین روز به روز از میزان زمین‌های مناسب برای کشاورزی کاسته می‌شود، در حالی که نیاز غذایی بشر روز به روز در حال افزایش است. تنش آبی نفوذ پذیری غشا را افزایش می‌دهد و تجمع رادیکال‌های آزاد را در گیاهان القا

خشکی، وسیع‌ترین عوامل ایجاد کننده تنش در گیاهان در سطح جهان می‌باشند. بیش از ۴۵ درصد از زمین‌های کشاورزی جهان به طور دائم یا مکرر تحت تأثیر خشکی

آنتوسیانین مورد بررسی قرار دادند و مشاهده نمودند که رشد رویشی به طور معنی‌داری کاهش یافته است (قناتی و همکاران، ۱۳۸۵). همچنین در آزمایش دیگری اشعه UV-C باعث کاهش معنی‌دار پروتئین برگ در گندم دوروم (*Triticum turgidum* L.) گردید (بلوچی و همکاران، ۱۳۸۷). تابش اشعه UV-C منجر به کاهش معنی‌دار محتوای کلروفیل، کاروتنوئید، پروتئین و کربوهیدرات در گیاه گندم شد (رحمت زاده و خارا، ۱۳۸۷؛ Bandurska et al., 2013؛ Sakuraba et al., 2014).

گندم مهم‌ترین غله در جهان می‌باشد. به علت راندمان تولید زیاد و نیز امکان کشت آن در اکثر نقاط جهان و همچنین قابلیت پخت و خواص منحصر به فرد تغذیه‌ای و صنعتی و کیفیت فوق‌العاده گلوتن، هیچ غله‌ای نمی‌تواند با آن رقابت نماید (Al-Mahasneh, 2006). با توجه به اینکه تاکنون هیچ تحقیقی در مورد تاثیر متقابل تنش خشکی و اشعه UV-C بر ارقام مختلف گندم که آینده غذایی انسان‌ها را تحت تاثیر قرار می‌دهد انجام نشده است لذا این پژوهش با هدف بررسی تأثیر تنش خشکی و اشعه UV بر رنگیزه‌های فتوسنتزی، سیستم دفاع آنتی‌اکسیدانی آنزیمی و غیر آنزیمی روی سه رقم گندم انجام گرفت.

مواد و روش‌ها:

بذرهای ارقام ("زارع"، "پیشگام" و "میهن") گندم (*Triticum aestivum* L) (بدلیل معرفی شدن به عنوان ارقام متحمل به بیماری زنگ، سرما و کم آبیاری توسط مرکز تحقیقات جهاد کشاورزی و استفاده در سطح وسیع توسط کشاورزان در استان و زود بازده بودن آن) از سازمان تحقیقات جهاد کشاورزی استان آذربایجان غربی تهیه گردید. بذرهای ارقام مورد مطالعه پس از ضد عفونی شدن و جوانه‌زنی در گلدان‌های حاوی ماسه و خاک به نسبت ۵ به ۱، به صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار کشت گردید. رشد تحت شرایط دمایی کنترل شده 2 ± 25 درجه سانتی‌گراد با تناوب نوری روشنایی ۱۶ ساعته انجام گرفت. از آب مقطر (حدود ۱۰ سی‌سی) برای آبیاری یک در روز در میان و محلول غذایی

می‌کند (Sun and Waters, 2003). محققان گزارش کردند که تنش خشکی باعث کاهش معنی‌دار کلروفیل a، کلروفیل b، کاروتنوئیدها، پرولین و کربوهیدرات‌های محلول در گیاه گندم شد (جهان بین و همکاران، ۱۳۹۴؛ شهبازی و همکاران، ۱۳۹۵؛ خواجه و همکاران، ۱۳۹۴؛ Ganji Arjenaki et al., 2012؛ Salwa and Osama, 2014). در آزمایش دیگری گزارش شد با افزایش تنش کم آبی، صفات میزان پروتئین، فلاونوئید، کلروفیل کل و کاروتنوئیدهای گیاه گندم دوروم (*Triticum turgidum* L.) کاهش معنی‌داری یافت (بلوچی و همکاران، ۱۳۸۷). کاهش ضخامت لایه ازن در اثر افزایش آلاینده‌ها، سبب کاهش جذب پرتوهای ماوراءبنفش خورشید به وسیله‌ی این لایه و وارد آمدن آسیب به موجودات زنده، از جمله گیاهان می‌شود (Krizek et al., 1998). از جمله اثرات مضر این اشعه در گیاهان می‌توان به کاهش فرایند فتوسنتز بدنال کاهش رنگدانه‌های فتوسنتزی، تجزیه پروتئین‌ها و اسیدهای نوکلئیک و القاء تنش اکسیداتیو اشاره کرد (Allen et al., 1998). گونه‌های گیاهی مختلف پاسخ‌های متفاوتی در برابر آسیب‌های اشعه UV بروز می‌دهند (Wargent and Jordan., 2013). از جمله پاسخ‌های گیاهان، تجمع رنگیزه‌های جذب‌کننده طیف نوری در ناحیه ماوراء بنفش، مانند آنتوسیانین‌ها و فلاونوئیدها می‌باشد (Buer et al., 2010). علاوه بر نقش متنوع فلاونوئیدها در فیزیولوژی، بیوشیمی و اکولوژی گیاهان، فلاونوئیدها نقش بسیار مهمی در تغذیه انسان دارند (Martens and Mithofer, 2005). موثرترین مکانیسم حفاظتی غیرآنزیمی تحریک شده تحت تنش خشکی و UV، بیوسنتز فلاونوئیدها و ترکیب‌های فنلی جذب‌کننده اشعه UV است (Jaakola, 2013) که علاوه بر نقش آنتی‌اکسیدانی به عنوان ترکیبات جذب‌کننده ویژه اشعه UV نقش مهمی ایفا می‌کنند. محققان نشان دادند که اشعه UV-C باعث کاهش طول اندام‌های هوایی، تعداد و طول ریشه در گیاه آلوئه ورا (*Aloe vera* L.) شد اما تعداد شاخساره را افزایش داد (صادقی و همکاران، ۱۳۸۹). پژوهشگران دیگری نیز تاثیر اشعه UV-C را بر برخی صفات گیاه صبر زرد (*Aloe vera* L.) مانند کلروفیل، فلاونوئید و

شدن کامل نمونه‌ها، وزن خشک آن‌ها اندازه‌گیری شد.

سنجش محتوای کلروفیل و کاروتنوئید: برای سنجش

محتوای کلروفیل و کاروتنوئید از روش Lichtenthaler (۱۹۸۷) استفاده شد. بدین منظور ۰/۲ گرم از برگ‌های دوم و سوم گیاه با ۱۰ سی‌سی استون ۸۰٪ v/v در هاون چینی کاملاً تمیز و خشک بطور کامل سائیده شد و پس از ۱۰ دقیقه سانتریفیوژ (Chalice ساخت شرکت Wagtech) در ۴۰۰۰ دور در دقیقه (rpm)، میزان جذب نوری آن‌ها در مقابل نمونه شاهد (استون) توسط دستگاه اسپکتروفوتومتر (Universal ساخت کمپانی Hettich) در طول موج‌های ۶۶۳ (برای کلروفیل a)، ۶۴۸ (برای کلروفیل b) و ۴۷۰ نانومتر (برای کاروتنوئید) خوانده شد و پس از تعیین درصد جذب نوری آنها با استفاده از روابط زیر محتوای کلروفیل a و b و کاروتنوئیدها تعیین گردید و با واحد mg/gFW ارائه شد.

$$\text{Chla } (\mu\text{g/ml}) = 12/25A_{663/2} - 2/79A_{648/8} \quad (1) \text{ رابطه}$$

$$\text{Chlb } (\mu\text{g/ml}) = 21/5A_{663/2} - 5/1A_{648/8} \quad (2) \text{ رابطه}$$

$$\text{Carotenoid} = \frac{(100 \cdot A_{470} - 1.82 \cdot \text{Chla} - 95.02 \cdot \text{Chlb})}{198} \quad (3) \text{ رابطه}$$

سنجش فلاونوئیدها: برای سنجش فلاونوئیدها ۰/۲ گرم

ماده گیاهی شامل بافت ریشه و برگ‌ها در ۳ میلی لیتر اتانول اسیدی (اتانول و اسید استیک به نسبت ۹۹ به ۱) خوب ساییده و به مدت ۱۵ دقیقه در ۱۲۰۰۰ rpm سانتریفیوژ شد. محلول رویی به مدت ۱۰ دقیقه در حمام آب گرم با دمای ۸۰ درجه سانتیگراد قرار داده شد. میزان جذب نمونه‌ها پس از سرد شدن توسط اسپکتروفوتومتر در سه طول موج ۲۷۰، ۳۰۰ و ۳۳۰ نانومتر خوانده شد. برای محاسبه محتوای فلاونوئیدها، از منحنی استاندارد کوئرستین ساخت شرکت مرک با غلظت‌های ۸۰-۲۰ میلی‌گرم در لیتر استفاده شد (Krizek et al., 1998).

سنجش آنتوسیانین‌ها: برای سنجش آنتوسیانین، ۰/۲ گرم از

اندام هوایی گیاه در ۳ میلی لیتر متانول اسیدی (متانول و اسید کلریدریک به نسبت ۹۹ به ۱) خوب ساییده و سپس عصاره حاصل به مدت ۱۵ دقیقه در ۱۲۰۰۰ × g سانتریفیوژ شد. محلول رویی به مدت یک شب در تاریکی داخل دسیکاتور جهت حذف حلال قرار داده شد و بعد بمدت ۱۰ دقیقه با ۴۰۰۰ rpm

هوگلند در هفته یک بار جهت بهبود شرایط رشد گیاهان استفاده گردید (سامانی و همکاران، ۱۳۹۵).

عامل اول شامل تنش خشکی در دو سطح (شاهد و تنش خشکی با اعمال ۲۵ درصد ظرفیت زراعی)، عامل دوم شامل اشعه UV در دو سطح (شاهد و اشعه UV-C) و عامل سوم ارقام گندم بود.

پس از مرحله چهار برگی شدن ارقام گندم، اعمال تیمار های تنش خشکی و اشعه UV آغاز شد. برای اعمال تنش خشکی ابتدا ظرفیت زراعی گلدان‌ها محاسبه و ۲۵ درصد ظرفیت زراعی برای آبیاری نمونه‌های تحت تنش خشکی استفاده شد. برای تعیین ظرفیت زراعی خاک گلدان‌ها، گلدانی را که دارای زهکش است پر از آب نموده و رویش با پلاستیکی پوشش داده شد تا تبخیر صورت نگیرد و آب اضافی فقط از طریق زهکش خارج گردد بعد از ۲۴ ساعت از خاک گلدان نمونه برداشته و وزن خاک مرطوب اندازه‌گیری شد سپس خاک مرطوب به مدت ۲۴ ساعت در آون در دمای ۱۰۵ درجه سانتی‌گراد قرار داده شد تا وزن خاک خشک بدست آید درصد رطوبت وزنی خاک که همان ظرفیت زراعی است با استفاده از رابطه ۱ محاسبه گردید (موسوی و اخوان، ۱۳۸۶):

$$\text{رابطه ۱} \quad 100 \times \frac{\text{وزن رطوبت}}{\text{وزن خاک خشک}} = \text{ظرفیت زراعی}$$

برای اعمال تنش اشعه UV-C از یک عدد لامپ (UV-C) (China-T8 30W) ۹۰ سانتی‌متری با طول موج ۲۵۴ نانومتر و ولتاژ ۱۰۲ ولت، توان مصرفی ۳۰ وات و جریان ۳۷۰ میلی آمپر استفاده گردید. گیاهان به مدت ۱۰ روز و هر روز ۳ دقیقه (در طرف صبح و حوالی ساعات ۱۱-۱۳ در خاموشی)، تحت تیمار اشعه UV-C با شدت روزانه ۱۲ کیلوژول بر متر مربع قرار گرفتند در حالی که گیاهان شاهد اشعه دریافت نکردند. نمونه‌ها ۱۰ روز پس از اعمال تیمارها برداشت شدند و برای سنجش صفات مورد نظر استفاده شدند.

تعیین وزن خشک بخش هوایی و ریشه: برای اندازه‌گیری

وزن خشک، بخش هوایی و ریشه گیاه به‌طور جداگانه به مدت ۴۸ ساعت در دمای ۷۰ درجه سانتی‌گراد در آون (SHIMAZCO ساخت ایران) قرار داده شدند و پس از خشک

آنزیم‌ها توسط بافر فسفات سدیم ۰/۱ مولار (pH=۷) حاوی پلی‌وینیل‌پیرولیدون (PVP) ۲٪ از برگ‌ها انجام گرفت و روش‌ناور پس از ۲۰ دقیقه سانتریفیوژ در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد با ۲۰۰۰۰ دور در دقیقه مورد استفاده قرار گرفت.

بررسی فعالیت آنزیم سوپراکسیددیسموتاز (SOD):

فعالیت آنزیم سوپراکسیددیسموتاز براساس ممانعت فتوشیمیایی از احیای نیتروبلوترازولیوم اندازه‌گیری شد. ۲/۶۵ میلی‌لیتر محلول واکنش شامل (بافر فسفات پتاسیم ۶mmol/L EDTA ۰/۲ mL، pH= ۷/۸)، ۰/۱ mmol/L حاوی سیانیدسدیم ۰/۳ mmol/L، ۵۰ μL عصاره آنزیمی، ۰/۱ نیتروبلوترازولیوم ۱/۵ mmol/L و ۵۰ μL ریبوفلاوین) مخلوط و یکنواخت گردید. این محلول به مدت ۱۵ دقیقه در زیر تابش نور سفید با شدت ۵۰۰۰ لوکس قرار گرفت و سپس جذب آن در ۵۶۰ nm قرائت گردید. مقداری از آنزیم که نصف حداکثر ممانعت از احیای NBT را باعث شود به‌عنوان یک واحد از آنزیم معرفی می‌شود (Winterbourn et al., 1976).

بررسی فعالیت آنزیم پراکسیداز (POD): سرعت

بخشیدن به پلیمریزاسیون گایاکول توسط پراکسیداز مبنای سنجش فعالیت این آنزیم قرار گرفت. مخلوط واکنش از ۱/۵mL بافر سیترات- فسفات- بورات ۰/۱ mol/L (۷/۵) pH= ۵۰ μL، گایاکول ۱۵ mmol/L، ۲۵ μL عصاره آنزیمی و ۵۰ μL پراکسید هیدروژن ۳/۳ mmol/L تشکیل شده بود. با استفاده از افزایش جذب در ۴۷۰ nm و ضریب خاموشی ۱ cm⁻¹ ۲۶/۶۱ برای گایاکول فعالیت پراکسیداز محاسبه گردید. مقدار آنزیم لازم برای تولید ۱ میکرومول تترآگایاکول در دقیقه بر میلی‌گرم پروتئین به عنوان یک واحد آنزیم پراکسیداز در نظر گرفته شد (Chance and Maehly, 1955).

بررسی فعالیت آنزیم کاتالاز (CAT): فعالیت کاتالاز با

دنبال نمودن تجزیه H₂O₂ در طول موج ۲۴۰ nm و اعمال ضریب خاموشی ۱ cm⁻¹ ۳۹/۴ محاسبه گردید. مخلوط واکنش از ۱/۵ mL بافر سیترات- فسفات- بورات ۰/۱ mol/L (۷/۵) pH=، عصاره آنزیمی و ۱۳ μL H₂O₂ ۱۰ mmol/L تشکیل شده بود. مقدار آنزیم لازم برای تجزیه

سانتریفیوژ گردید و جذب محلول رویی آن در طول موج ۵۵۰ نانومتر با دستگاه اسپکتروفتومتر (UV 2100, UNICO USA) خوانده شد. برای محاسبه‌ی محتوای آنتوسیانین، از ضریب خاموشی cm²mol⁻¹ ۳۳۰۰۰⁻⁶ استفاده شد (Masukasu et al., 2003).

سنجش محتوای کربوهیدرات‌های محلول: ابتدا بخش

هوایی و ریشه گیاه در آن با دمای ۷۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۴۸ ساعت خشک و آسیاب شدند. ۰/۱ گرم از نمونه آسیاب شده توزین و درون لوله آزمایش حاوی ۱۰ میلی‌لیتر اتانول ۷/۷٪ ریخته شد و به مدت یک هفته در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد قرار گرفت. سپس محلول‌ها با کاغذ واتمن صاف گردید. به منظور حذف رسوبات اضافی و ترکیبات دیگر، به هر محلول، پنج میلی‌لیتر از محلول ۰/۵٪ سولفات روی و پنج میلی‌لیتر از محلول هیدروکسید باریم ۳٪ N اضافه شد و محلول حاصل به مدت ۱۰ دقیقه با سرعت ۳۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفیوژ شد. به ۲ میلی‌لیتر از محلول روئی نمونه‌ها، یک میلی‌لیتر محلول ۰/۵٪ فنل و پنج میلی‌لیتر اسید سولفوریک ۹۸٪ v/v اضافه شد. سی دقیقه پس از آماده سازی محلول‌ها، جذب آن‌ها با دستگاه اسپکتروفتومتر در طول موج ۴۸۵ نانومتر قرائت شد. محتوای کربوهیدرات نمونه‌ها با استفاده از محلول‌های استاندارد گلوکز و با واحد میلی‌گرم در گرم وزن خشک (mg/g. DW) محاسبه شد (Sheligl, 1986).

سنجش محتوای پروتئین‌های محلول کل: برای محاسبه

پروتئین از روش برادفورد استفاده شد (Bradford, 1976). برای این منظور ۰/۱ گرم از بافت ریشه و برگ‌ها در ۱۰ میلی‌لیتر بافر فسفات ۵۰ میلی‌مولار ساییده و عصاره حاصل به مدت ۱۵ دقیقه در ۱۴۰۰۰ دور سانتریفیوژ شد. مقدار ۱ میلی‌لیتر بافر برادفورد (۱۰٪ کوماسی بیرلیانت بلو v/w با ۵ میلی‌لیتر اتانول ۹۵٪ v/v) با ۰/۱ میلی‌لیتر عصاره پروتئینی مخلوط گردید. پس از ۵ دقیقه جذب نمونه توسط دستگاه اسپکتروفتومتر در طول موج ۵۹۵ نانومتر خوانده شد. از آلبومین گاوی برای رسم منحنی استاندارد و تعیین محتوای پروتئین نمونه‌ها با واحد mg.g⁻¹.FW⁻¹ استفاده شد.

استخراج آنزیم‌های سیستم آنتی‌اکسیدان: استخراج

مدت ۱ ساعت درون یخ سرد شدند. مقدار ۴ میلی‌لیتر تولوئن به محلول لوله‌ها اضافه و به مدت ۲۰ ثانیه با دستگاه ورتکس به هم زده شد. پس از اندازه‌گیری جذب محلول‌ها در طول موج ۵۲۰ نانومتر منحنی استاندارد رسم و معادله خط تعیین شد. با قراردادن جذب نمونه‌ها در معادله خط، محتوای پرولین محاسبه شد (در طول آزمایش نمونه‌ها در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد نگهداری شد) (Bates et al., 1973). برای رسم منحنی استاندارد از پرولین استفاده گردید.

روش‌های آماری: تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها با استفاده از نرم افزار SAS، MSTATC و رسم نمودارها با استفاده از Excel انجام و مقایسه میانگین‌ها نیز توسط آزمون دانکن در سطح ۵ درصد صورت گرفت.

نتایج و بحث:

تجزیه واریانس صفات: نتایج تجزیه واریانس اثرات ساده تنش خشکی، اشعه UV، رقم و همچنین اثرات متقابل آنها بر صفات مورد مطالعه در جدول یک نشان داده شده است (جدول ۱).

مقایسه میانگین صفات رشدی: مقایسه میانگین داده‌ها نشان داد بیش‌ترین و کم‌ترین طول ساقه به ترتیب از ارقام "زارع" در شرایط بدون تنش خشکی و بدون اشعه UV و میهن در شرایط تنش خشکی بدست آمد (جدول ۲ و ۳). تنش خشکی در مقایسه با آبیاری مطلوب، طول ساقه را حدود ۱۶ درصد کاهش داد (جدول ۲). در شرایط تنش خشکی، کاربرد اشعه UV طول ساقه را در کلیه ارقام حدود ۱۰ درصد کاهش داد در حالی که این کاهش در شرایط بدون تنش خشکی ۱۷ درصد بوده است.

بیش‌ترین و کم‌ترین طول ریشه به ترتیب از ارقام پیشگام در شرایط بدون تنش اشعه UV تحت آبیاری نرمال و "زارع" در شرایط تنش خشکی و اعمال اشعه UV بدست آمد (جدول ۴). تنش خشکی در مقایسه با آبیاری مطلوب، طول ریشه را حدود ۲۰ درصد کاهش داد (جدول ۴). در شرایط

یک میکرومول آب‌اکسیژنه در دقیقه به عنوان یک واحد آنزیم کاتالاز معرفی می‌شود (Obinger et al., 1997).

سنجش مالون‌دی‌آلدئید (MDA): برای اندازه‌گیری مالون‌دی‌آلدئید ۰/۲ گرم بافت گیاهی تر شامل ریشه و برگ های گیاه با ۲ میلی‌لیتر محلول تری‌کلرواستیک‌اسید ۰/۱ استخراج و به مدت ۱۵ دقیقه در rpm ۱۲۰۰۰ سانتریفیوژ شد، سپس ۰/۵ میلی‌لیتر از روشناور با ۲ میلی‌لیتر محلول تری‌کلرواستیک‌اسید ۲۰٪ حاوی ۰/۵٪ تیوباربتوریک‌اسید مخلوط شده و به مدت ۳۰ دقیقه در حمام آب‌جوش با دمای ۹۵ درجه سانتی‌گراد قرار داده شد. بعد از این مدت لوله‌ها را سریع در یخ سرد کرده و جذب آن‌ها را در طول موج ۵۳۲ نانومتر در مقابل شاهد که به جای عصاره حاوی محلول استخراج است، اندازه‌گیری کرده و محتوای مالون‌دی‌آلدئید نمونه‌ها با واحد $nmol.g^{-1}.FW^{-1}$ با استفاده از ضریب خاموشی $1.55cm^{-1}.mmol^{-1}$ محاسبه شدند (Heath and Packer, 1968).

سنجش پراکسید هیدروژن (H_2O_2): محلول استخراج شده در تری‌کلرواستیک‌اسید (۰/۱ درصد w به v) به مدت ۱۵ دقیقه در ۱۲۰۰۰ سانتریفیوژ شده و روشناور مورد استفاده قرار گرفت. ۵۰۰ میکرولیتر از عصاره به یک میلی‌لیتر از محلول واکنشی شامل ۱۰ میلی‌مولار بافر فسفات پتاسیم (pH=۷) و یک مولار یدید پتاسیم اضافه شده و مخلوط حاصل به مدت ۶۰ دقیقه در تاریکی به منظور انجام واکنش قرار گرفت. جذب نمونه‌ها در ۳۹۰ نانومتر توسط اسپکتروفتومتر اندازه‌گیری شد. مقادیر بر اساس منحنی استاندارد H_2O_2 محاسبه شد (Zhang et al, 2012).

اندازه‌گیری محتوای پرولین: ۰/۲ گرم ماده تر گیاهی با هاون خرد شده و درون لوله آزمایش ریخته شد، سپس ۱۰ میلی‌لیتر سولفوسالیسیلیک‌اسید ۳٪ به آن اضافه شد و نمونه‌ها درون یخ قرار داده شد. پس از سانتریفیوژ در ۱۵۰۰۰ دور به مدت ۱۰ تا ۱۵ دقیقه در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد، مقدار ۲ میلی‌لیتر از عصاره حاصل با ۲ میلی‌لیتر نین‌هیدرین و ۲ میلی‌لیتر اسیداستیک گلاسیال مخلوط شد.

نمونه‌ها پس از قرارگیری در حمام آب گرم ۸۰ درجه به

جدول ۱- خلاصه نتایج تجزیه واریانس صفات مورد مطالعه در گیاه گندم

میانگین مربعات (MS)				درجه			منابع تغییرات
کلروفیل b	کلروفیل a	وزن خشک ریشه	وزن خشک ساقه	طول ریشه	طول ساقه	آزادی	
۵۲/۶۸ ^{ns}	۱۷/۱۶*	۰/۰۰۰۰۶۹ ^{ns}	۰/۰۰۰۰۲۵ ^{ns}	۱۳/۹۳ ^{ns}	۲۲۸/۵۱**	۱	تنش خشکی
۹۲/۱۲*	۱۱۴/۵۶**	۰/۰۰۰۰۰۲۷ ^{ns}	۰/۰۰۰۰۰۲۷ ^{ns}	۲۰/۵۵ ^{ns}	۱۸۳/۶۰**	۱	UV
۵۲/۴۸ ^{ns}	۲۷/۰۴**	۰/۰۰۰۰۴*	۰/۰۰۰۰۳۵ ^{ns}	۱۶۴/۸۶**	۷۴/۵۸**	۲	رقم
۷۱/۴۰**	۱۴۸/۹۲**	۰/۰۰۰۰۰۲۷ ^{ns}	۰/۰۰۰۰۳۳ ^{ns}	۰/۴۹ ^{ns}	۲۲/۵۶ ^{ns}	۱	تنش خشکی × UV
۲۱/۲۰**	۲۶/۱۵**	۰/۰۰۱۰**	۰/۰۰۰۰۳۰ ^{ns}	۲/۹۵ ^{ns}	۳۰/۱۲۱*	۲	تنش خشکی × رقم
۴۸/۴۸ ^{ns}	۹/۴۸ ^{ns}	۰/۰۰۰۰۱ ^{ns}	۰/۰۰۱*	۴۷/۲۸*	۲۹/۷۹*	۲	رقم × UV
۲۴/۸۶ ^{ns}	۱/۲۷ ^{ns}	۰/۰۰۰۰۱۴ ^{ns}	۰/۰۰۰۰۳۰ ^{ns}	۱۵۷/۵۵**	۱۳/۶۲ ^{ns}	۲	تنش خشکی × UV × رقم
۲۳/۴۴	۴/۴۶	۰/۰۰۰۰۱	۰/۰۰۰۰۳۲	۱۱/۰۸۶	۸/۱۶	۲۴	خطا
۲۲/۱۹	۱۰/۶۷	۳۰/۲۶	۲۵/۸۳	۱۷/۲۳	۹/۶۴	-	ضریب تغییرات (C.V.)

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

ادامه جدول ۱-

میانگین مربعات (MS)				درجه			منابع تغییرات
کربوهیدرات	فلاونوئیدها	آنتوسیانین‌ها	کاروتنوئید	کلروفیل کل	آزادی	منابع تغییرات	
۸۶۳/۳۹**	۳/۲۵**	۰/۷۰*	۹۴/۱۸**	۱۲۹/۹۹*	۱	تنش خشکی	
۸۶۲/۰۳**	۰/۹۴**	۰/۴۸*	۱۹/۹۳ ^{ns}	۴۱۲/۰۲**	۱	UV	
۵۸۹/۴۴**	۱/۱۴**	۳۲/۷۸**	۱۲/۱۸ ^{ns}	۱۳۴/۱۲**	۲	رقم	
۴۲۰/۸۶**	۰/۶۴**	۱۹/۰۹**	۰/۲۶ ^{ns}	۱۵۱/۴۸**	۱	تنش خشکی × UV	
۱۳۶۰/۲۱**	۱/۵۷**	۳/۰۴**	۷۰/۸۲**	۳۷۱/۵۸**	۲	تنش خشکی × رقم	
۲۱۷/۸۷**	۱/۹۱**	۱۹/۰۱*	۱۵/۵۲ ^{ns}	۲۰/۰۹ ^{ns}	۲	رقم × UV	
۲۰۷۶/۶**	۲/۰۳**	۳/۲۶**	۱۱۶/۵۵**	۲۶/۷۲ ^{ns}	۲	تنش خشکی × UV × رقم	
۲/۹۴	۰/۰۵	۰/۱۰۸	۹/۸۹	۲۱/۷۴	۲۴	خطا	
۲/۰۹	۳/۷۶	۹/۹۴	۲۰/۶۷	۱۱/۲۰	-	ضریب تغییرات (C.V.)	

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

ماوراءبنفش عمدتاً منجر به تشکیل دیمرها‌های پریمیدین سیکلو بوتانت و پریمیدین پریمیدون می‌گردند که منجر به جهش در گیاهان می‌شود چنانچه جهش در قسمت فعال ژن اتفاق افتد ممکن است سبب خسارت اقتصادی در کشاورزی، تأخیر در گل دهی و غیره شود (Pal et al., 1998). تاثیر پرتو UV بر گیاهان شامل تغییرات مورفولوژیک از جمله ایجاد میان گره های کوچک، کاهش وزن، کاهش بیوماس، وزن تر و خشک

تنش خشکی، کاربرد اشعه UV طول ریشه را در کلیه ارقام به جز رقم پیشگام حدود ۷ درصد کاهش داد در حالی که این کاهش در شرایط بدون تنش خشکی جز در رقم پیشگام حدود ۲۳ درصد بوده است. بررسی نتایج حاصل از اندازه‌گیری طول ریشه و ساقه نشان داد که اشعه UV-C باعث کاهش معنی‌دار طول ریشه و ساقه شد. علت این امر کاهش تقسیم سلولی در نتیجه اثر اشعه ماوراء بنفش بر همانند سازی DNA است. اشعه

ادامه جدول ۱-

MDA	میانگین مربعات (MS)					درجه آزادی	منابع تغییرات
	آنزیم پراکسیداز	آنزیم کاتالاز	آنزیم SOD	پروتئین	پرولین		
۹۸۶/۹**	۰/۴۲**	۸۷۲۰۷/۹۹**	۸۷۵۰/۹۷**	۸/۹۱**	۰/۰۴ ^{ns}	۱	تنش خشکی
۴/۹ ^{ns}	۰/۰۰۱ ^{ns}	۲۷۱۹/۲۷**	۲۶۳۵۳/۱۹**	۱/۳۱ ^{ns}	۴۰/۵۷ ^{ns}	۱	UV
۲۶۶/۶**	۰/۰۲۳**	۸۳۶۹/۸۶**	۱۱۰۵۴/۰۸**	۰/۲۹ ^{ns}	۵۵/۶۷ ^{ns}	۲	رقم
۶۵/۷۹ ^{ns}	۰/۰۱۲**	۴/۲۷ ^{ns}	۴۲۸۵/۰۱۱**	۰/۲۵ ^{ns}	۱۷/۱۹ ^{ns}	۱	تنش خشکی × UV
۱۰۲/۵۳**	۰/۰۱۶**	۷۷۱۰/۵۲**	۱۷۹۸۱/۵۸**	۱/۸۷ ^{ns}	۱۱۸/۷۵*	۲	تنش خشکی × رقم
۳۱۹/۱۷**	۰/۱۲**	۸۱۱۲/۹۴**	۱۰۹۹۱/۶۳**	۰/۲۷ ^{ns}	۳۱/۹۱ ^{ns}	۲	رقم × UV
۴۷۸/۰۲**	۰/۱۲۳**	۶۸۳۶/۶۵**	۱۸۹۲۴/۱۵**	۰/۱۶ ^{ns}	۵۲/۸۲ ^{ns}	۲	تنش خشکی × UV × رقم
۱۷/۴۹	۰/۰۰۰۵۸	۲/۹۶	۱۳/۳۳	۰/۶۷۲	۳۰/۱۶	۲۴	خطا
۳۱/۸۱	۱۵/۱۱	۲/۴۸	۸/۸۶	۱۰/۸۶	۳۳/۵۸	-	ضریب تغییرات (C.V.)

**، * و ns به ترتیب اختلاف معنی دار در سطح احتمال ۱٪، ۵٪ و غیر معنی دار

جدول ۲- مقایسه میانگین اثرات متقابل تنش خشکی × رقم بر صفات مورد مطالعه در گیاه گندم

پرولین	کلروفیل کل	وزن خشک ریشه	طول ساقه	تیمار
(میلی گرم بر گرم وزن تر گیاه)	(میلی گرم بر گرم وزن تر گیاه)	(گرم)	(سانتی متر)	(تنش خشکی × رقم)
۱۵/۴۵ ^{ab}	۳۰/۵۶ ^c	۰/۰۳۳ ^{bc}	۲۲/۸۳ ^a	تنش خشکی × "پیشگام"
۲۰/۲۷ ^a	۴۰/۴۵ ^b	۰/۰۲۳ ^c	۱۵/۸۵ ^b	تنش خشکی × "میهن"
۲۰/۵۰ ^a	۴۰/۶۰ ^b	۰/۰۳۱ ^{bc}	۱۷/۴۰ ^b	تنش خشکی × "زارع"
۱۲/۶۹ ^b	۴۵/۲۵ ^{ab}	۰/۰۵۱ ^a	۲۴/۳۳ ^a	آبیاری نرمال × "پیشگام"
۱۲/۹۹ ^b	۴۴/۷۳ ^{ab}	۰/۰۳۸ ^{ab}	۱۷/۹۳ ^b	آبیاری نرمال × "میهن"
۱۶/۱۹ ^{ab}	۴۸/۱۶ ^a	۰/۰۴۳ ^{ab}	۱۷/۵۵ ^b	آبیاری نرمال × "زارع"

اعدادی که حروف مشابه دارند از نظر آماری اختلاف معنی دار در سطح احتمال ۵ درصد بر اساس آزمون دانکن ندارند.

جدول ۳- مقایسه میانگین اثرات متقابل اشعه UV × رقم بر صفات مورد مطالعه در گیاه گندم

کلروفیل کل	وزن خشک ساقه	طول ساقه	تیمار
(میلی گرم بر گرم وزن تر گیاه)	(گرم)	(سانتی متر)	(اشعه UV × رقم)
۳۳/۳۱ ^c	۰/۰۳۵ ^{ab}	۲۵/۵۱ ^b	اشعه UV × "پیشگام"
۳۹/۰۴ ^b	۰/۰۴۰ ^{ab}	۲۴/۷۸ ^b	اشعه UV × "میهن"
۴۲/۳۶ ^{ab}	۰/۰۲۵ ^b	۳۱/۸۱ ^a	اشعه UV × "زارع"
۴۲/۴۹ ^{ab}	۰/۰۵۵ ^a	۳۰/۱۳ ^a	شاهد × "پیشگام"
۴۶/۱۳ ^a	۰/۰۴۱ ^{ab}	۳۲/۴۰ ^a	شاهد × "میهن"
۴۶/۴۰ ^a	۰/۰۴۳ ^{ab}	۳۳/۱۳ ^a	شاهد × "زارع"

اعدادی که حروف مشابه دارند از نظر آماری اختلاف معنی دار در سطح احتمال ۵ درصد بر اساس آزمون دانکن ندارند.

جدول ۴- مقایسه میانگین اثرات متقابل تنش خشکی × UV-C × رقم بر صفات مورد مطالعه

تیمار (تنش خشکی × UV-C × رقم)		طول ریشه (سانتی متر)		کاروتنوئید (میلی گرم بر گرم وزن تر گیاه)		کربوهیدرات (میلی گرم بر گرم وزن تر گیاه)		آنزیم سوپراکسید دیسموتاز (واحد بر میلی گرم پروتئین)	
تنش خشکی	آبیاری نرمال	تنش خشکی	آبیاری نرمال	تنش خشکی	آبیاری نرمال	تنش خشکی	آبیاری نرمال	تنش خشکی	آبیاری نرمال
UV-C × "پیشگام"	۲۰/۶۶ ^{bcd}	۲۵ ^{ab}	۱۲/۴۸ ^b	۱۴/۸۱ ^{ab}	۱۰۳/۳۴ ^b	۵۶/۹۳ ⁱ	۹۴/۷۷ ^a	۱۵/۷۹ ^{def}	
UV-C × "میهن"	۱۶/۴۶ ^{de}	۱۶/۰۶ ^{de}	۱۲/۱۰ ^b	۱۸/۷۷ ^a	۸۴/۱۱ ^e	۶۵/۲۶ ^h	۲۱/۰۶ ^{bcd}	۹/۴۷ ^{fg}	
UV-C × "زارع"	۱۱/۰۸ ^e	۱۷/۳۳ ^d	۱۷/۹۳ ^{ab}	۱۸/۶۸ ^a	۱۰۰/۹۰ ^{bc}	۵۲/۷۰ ^j	۲۴/۷۴ ^b	۲۱/۰۶ ^{bcd}	
بدون اشعه × "پیشگام"	۱۹/۳۳ ^{bcd}	۲۹/۳۳ ^a	۱۳/۵۳ ^{ab}	۱۷/۷۰ ^{ab}	۱۲۸/۹۸ ^a	۶۸/۶۰ ^g	۲۳/۱۶ ^{bc}	۱۱/۵۸ ^{efg}	
بدون اشعه × "میهن"	۱۸/۳۳ ^{cd}	۱۹/۰۳ ^{bcd}	۱۷/۰۴ ^{ab}	۱۷/۵۸ ^{ab}	۹۵/۵۱ ^d	۵۷/۳۱ ⁱ	۱۶/۵۰ ^{cde}	۷/۳۷ ^g	
بدون اشعه × "زارع"	۱۴/۶۶ ^{de}	۲۴/۰۶ ^{abc}	۴/۷۱ ^c	۱۷/۱۷ ^{ab}	۹۸/۳۴ ^{cd}	۷۲/۱۸ ^f	۱۶/۸۵ ^{cde}	۹/۴۷ ^{fg}	

اعدادی که حروف مشابه دارند از نظر آماری اختلاف معنی دار در سطح احتمال ۵ درصد بر اساس آزمون دانکن ندارند.

ادامه جدول ۴- مقایسه میانگین اثرات متقابل تنش خشکی × UV-C × رقم بر صفات مورد مطالعه

تیمار (تنش خشکی × UV-C × رقم)		آنزیم کاتالاز (واحد بر میکروگرم پروتئین)		آنزیم پراکسیداز (واحد بر میکروگرم پروتئین)		MDA (نانومول بر گرم وزن تر گیاه)		فلاونوئید (میلی گرم بر گرم وزن تر گیاه)		آنتوسیانین	
تنش خشکی	آبیاری نرمال	تنش خشکی	آبیاری نرمال	تنش خشکی	آبیاری نرمال	تنش خشکی	آبیاری نرمال	تنش خشکی	آبیاری نرمال	تنش خشکی	آبیاری نرمال
UV-C × "پیشگام"	۷۸/۸۶ ^d	۱۶/۷۴ ^h	۰/۲۴ ^c	۰/۰۴۳ ^f	۳۶/۱۱ ^a	۸/۰۶ ^{bc}	۵/۱۷ ^d	۶/۲۳ ^{ab}	۲/۴۲ ^e	۱/۲۴ ^f	
UV-C × "میهن"	۱۹۷/۱۵ ^a	۳۳/۵۹ ^g	۰/۴۴ ^b	۰/۰۹ ^e	۱۲/۵۵ ^{bc}	۶/۰۴ ^{bc}	۶/۳۷ ^{ab}	۶/۳۹ ^{ab}	۲/۲۴ ^e	۱/۱۲ ^f	
UV-C × "زارع"	۱۸۳/۶۴ ^b	۳۷/۰۵ ^f	۰/۵۶ ^a	۰/۰۹ ^e	۱۱/۶۳ ^{bc}	۶/۶۶ ^{bc}	۶/۲۵ ^{ab}	۶/۱۷ ^{ab}	۶/۶۶ ^a	۵/۴۵ ^c	
بدون اشعه × "پیشگام"	۵۴/۳۶۰ ^e	۱۷/۳۰ ^h	۰/۱۵ ^d	۰/۰۴ ^f	۹/۹۲ ^{bc}	۱۴/۱۱ ^b	۵/۵۸ ^c	۶/۰۳ ^b	۳/۳۳ ^d	۶/۰۵ ^b	
بدون اشعه × "میهن"	۱۴۲/۶۲ ^c	۴/۵۷ ^j	۰/۰۵ ^{ef}	۰/۰۱۳ ^f	۳۱/۸۳ ^a	۷/۴۴ ^{bc}	۳/۹۱ ^e	۶/۳۶ ^{ab}	۱/۹۷ ^e	۱/۳۶ ^f	
بدون اشعه × "زارع"	۵۴/۵۳ ^e	۱۱/۳۰ ⁱ	۰/۱۵ ^d	۰/۰۲۳ ^f	۸/۲۲ ^{bc}	۵/۱۲ ^c	۶/۵۲ ^a	۶/۲۳ ^{ab}	۲/۳۶ ^e	۵/۴۵ ^c	

اعدادی که حروف مشابه دارند از نظر آماری اختلاف معنی دار در سطح احتمال ۵ درصد بر اساس آزمون دانکن ندارند.

پیشگام در شرایط آبیاری نرمال و بدون اشعه UV و رقم "میهن" در شرایط تنش خشکی بدست آمد (جدول ۲). تنش خشکی در مقایسه با آبیاری مطلوب، وزن خشک ریشه را حدود ۲۱ درصد کاهش داد (جدول ۲). در شرایط تنش خشکی، کاربرد اشعه UV طول ریشه را در کلیه ارقام حدود ۳۵ درصد کاهش داد در حالی که این کاهش در شرایط بدون تنش خشکی ۲۰ درصد بوده است. کاهش وزن خشک ریشه در گیاه گندم با افزایش تنش خشکی در سایر تحقیقات نیز

ریشه، وزن تر و خشک اندام های هوایی، کاهش سطح برگ و همچنین کاهش تولید مثل و ممانعت از رشد و طویل شدن هیپوکوتیل می باشد (رحمت زاده و خارا، ۱۳۸۷).

مقایسه میانگین نشان داد بیشترین (۰/۰۵۵ گرم) و کم ترین (۰/۰۲۵ گرم) وزن خشک ساقه به ترتیب از ارقام پیشگام در شرایط بدون اشعه UV و "زارع" در شرایط اعمال اشعه UV بدست آمد (جدول ۳).

حداکثر و حداقل وزن خشک ریشه به ترتیب از ارقام

کلروفیل a و b ارقام مختلف گندم معنی‌دار است و موجب کاهش کلروفیل a و b در گیاهان شد. کاهش محتوای کلروفیل در نتیجه خشکی در ارقام مختلف گیاه گندم با نتایج به دست آمده در گیاه گندم (شهبازی و همکاران، ۱۳۹۵) مطابقت دارد. کاهش محتوای کلروفیل به دلیل ممانعت از سنتز آن و یا افزایش فعالیت کلروفیلاز (Muller et al., 2014) و همچنین فتواکسیداسیون غیرآنزیمی کلروفیل در اثر تابش پرتوهای ماوراءبنفش اتفاق می‌افتد (Piri et al., 2011). مطالعات انجام گرفته توسط محققان دیگر در بیشتر موارد حاکی از کاهش محتوای کلروفیل در گیاهان تحت تیمار اشعه‌ی UV می‌باشد، کاهش این رنگیزه‌ها در گیاهانی مانند گندم (Rahmatzadeh and Khara, 2007; Nyoman Rupiasih et al., 2016) گزارش شده است.

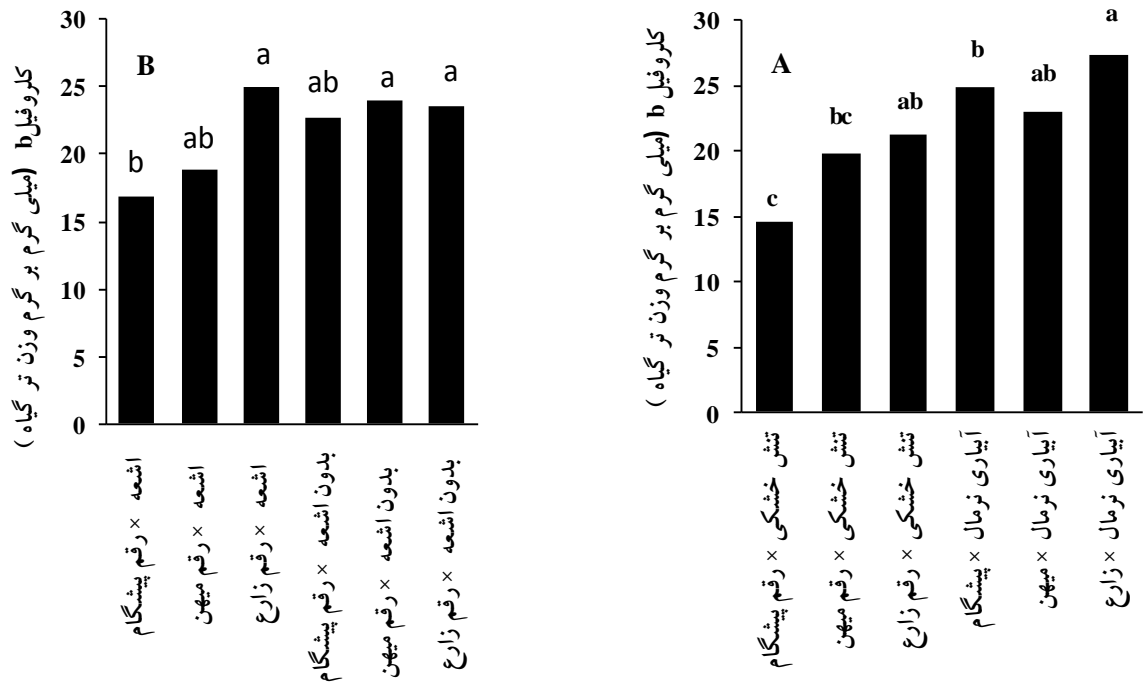
بیش‌ترین میزان کاروتنوئید به ترتیب از رقم "میهن" (۱۸/۷۷ میلی‌گرم بر گرم وزن تر گیاه) و رقم "زارع" (۱۸/۶۸ میلی‌گرم بر گرم وزن تر گیاه) در شرایط بدون تنش خشکی و با اعمال تنش UV حاصل شد. کم‌ترین محتوای کاروتنوئید نیز از رقم "زارع" (۴/۷۱ میلی‌گرم بر گرم وزن تر گیاه) در شرایط تنش خشکی و بدون اعمال تنش UV بدست آمد (جدول ۴). تنش خشکی در مقایسه با آبیاری نرمال (بدون تنش خشکی) میزان کاروتنوئید را به میزان ۲۵ درصد کاهش داد (جدول ۴). بهشتی و تدین (۱۳۹۶) نیز در بررسی تنش خشکی روی لوبیا (*Phaseolus lunatus* L.) نشان دادند که تنش خشکی میزان کاروتنوئید را کاهش داد این نتایج با یافته‌های ما در این تحقیق مطابقت داشت. در شرایط تنش خشکی، تنش اشعه UV در مقایسه با شاهد (بدون اعمال تنش اشعه UV) محتوای کاروتنوئید را در رقم "زارع" حدود ۷۴ درصد افزایش داد در حالی که اعمال تنش اشعه UV در دو رقم "پیشگام" و "میهن"، محتوای کاروتنوئید را کاهش داد (جدول ۴). اگرچه کاروتنوئیدها نسبت به کلروفیل‌ها حساسیت کمتری در برابر تنش‌ها دارند، ولی گزارش شده است که تنش آبی و شوری محتوای کاروتنوئیدها را در تعدادی از گیاهان کاهش داده است (Parida et al., 2004). تأثیر اشعه‌ی UV در افزایش محتوای

گزارش شده است (گلستانی‌فر و همکاران، ۱۳۹۶؛ Salwa and Osama, 2014).

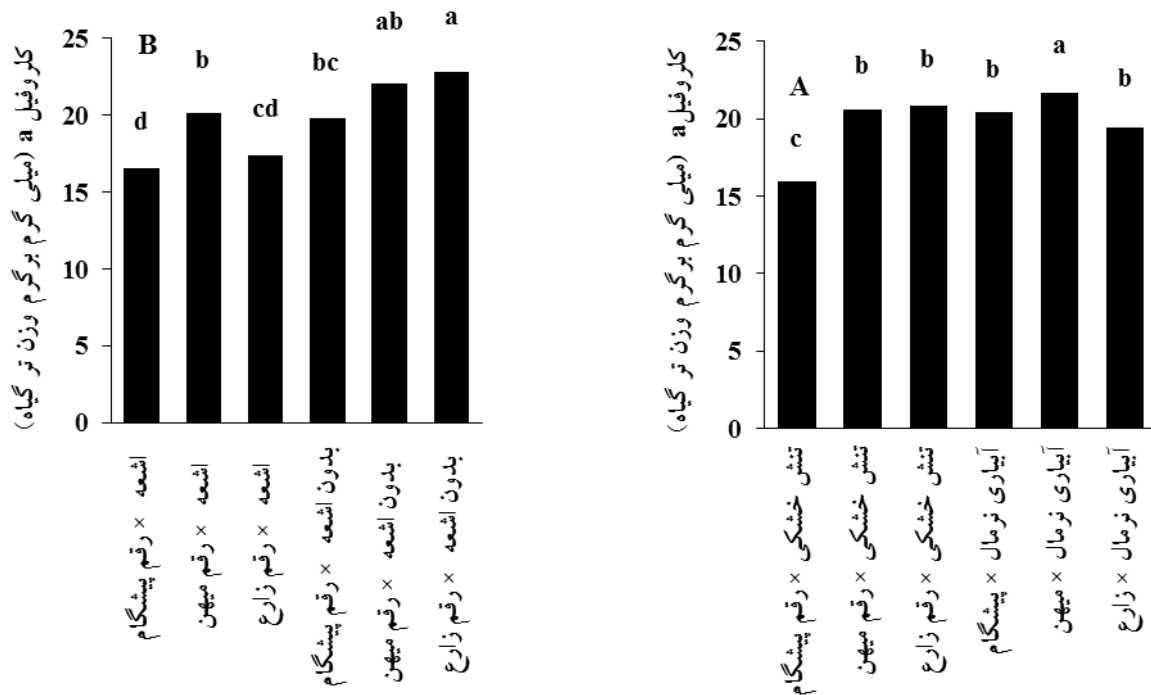
همچنین در این تحقیق، تیمار UV-C باعث کاهش معنی‌دار وزن خشک ساقه هر سه رقم گندم شد. در گیاهانی مانند باقلا (*Vicia faba*) و گندم (Nyoman Rupiasih et al., 2016)، آفتابگردان (*Helianthus annuus*)، ذرت (*Zea mays*) و چاودار (*Secale cereale*) (Tossi et al., 2009) و گیاه چاودار (*Begonia semperflorens*) (Zhang et al., 2012) کاهش رشد و ارتفاع گیاه در اثر UV گزارش شده است. کاهش وزن ریشه و ساقه تحت تاثیر اشعه‌ی UV، بیانگر کاهش تولید بیوماس در این تیمارها است و این یک پاسخ عمومی در بسیاری از گونه‌های گیاهی است. یکی از دلایل کاهش وزن ریشه و ساقه تحت شرایط تنش شوری، کاهش فعالیت آنزیم روبیسکو و کاهش فتوسنتز است (Ahmad and Sharma, 2010).

مقایسه میانگین رنگیزه‌های فتوسنتز: نتایج نشان داد که محتوای کلروفیل a و b در گیاهانی که در محیط خشک رشد کردند، کاهش یافت (شکل ۱-A و شکل ۲-C). مقایسه میانگین نشان داد کم‌ترین محتوای کلروفیل a تحت تنش خشکی مربوط به رقم پیشگام بود اما اعمال تنش خشکی تفاوت معنی‌داری بین ارقام "زارع" و میهن ایجاد نکرد (شکل ۱-A). همچنین کم‌ترین محتوای کلروفیل a تحت تنش اشعه UV مربوط به رقم پیشگام بود (شکل ۱-B). بیش‌ترین (۲۴/۹۸ میلی‌گرم بر گرم وزن تر گیاه) و کم‌ترین (۱۶/۷۹ میلی‌گرم بر گرم وزن تر گیاه) محتوای کلروفیل b به ترتیب از رقم "زارع" و "پیشگام" در شرایط اعمال تنش اشعه UV بدست آمد (شکل ۲-D). تنش خشکی در مقایسه با آبیاری مطلوب، محتوای کلروفیل گیاه را حدود ۱۶ درصد کاهش داد (شکل ۱-A). همچنین محتوای کلروفیل کل گیاه نیز تحت تنش خشکی و اشعه UV کاهش معنی‌داری نشان داد (جدول ۲ و ۳).

مقایسه میانگین‌ها نشان داد که تیمار خشکی و اشعه UV در مقایسه با شاهد کلروفیل کل را به ترتیب به میزان ۲۰ و ۱۵ درصد کاهش داد (جدول ۲ و ۳). نتایج حاصل از این تحقیق نشان داد که اثر توام خشکی و اشعه UV-C بر محتوای



شکل ۲- تاثیر تنش خشکی (A) و اشعه UV (B) بر محتوای کلروفیل b (mg / g . FW) در ارقام مختلف گندم. اختلاف بین مقادیر مربوط به ستون‌هایی که دارای حروف غیرمشترک هستند، از لحاظ آماری نسبت به یکدیگر معنی دار می‌باشند ($p < 0.05$, $n=3$).



شکل ۱- تاثیر تنش خشکی (A) و اشعه UV (B) بر محتوای کلروفیل a (mg / g . FW) در ارقام مختلف گندم. اختلاف بین مقادیر مربوط به ستون‌هایی که دارای حروف غیرمشترک هستند، از لحاظ آماری نسبت به یکدیگر معنی دار می‌باشند ($p < 0.05$, $n=3$).

کاروتنوئید در اغلب گیاهان به اثبات رسیده است که در ارتباط با نقش آن در حفاظت از ساختارهای فتوسنتزی در برابر اثرات

محافظت می‌کنند (Gould *et al.*, 2009). افزایش آنتوسیانین در شرایط تنش خشکی و اشعه UV-C در سایر مطالعات روی گیاه گندم گزارش شده است (Balouchi *et al.*, 2009). ترکیبات جذب کننده UV که اغلب فلاونوئیدها یا مشتقات هیدروکسی سینامیک اسید مثل آنتوسیانین هستند می‌توانند در اپیدرم و در واکنش تجمع یابند و یا به صورت باند به دیواره یا کوتیکول قرار بگیرند که تجمع آن‌ها نوعی مکانیسم حفاظتی برای جلوگیری از نفوذ پرتوهای ماوراء بنفش است (Carvalho *et al.*, 2010). افزایش میزان آنتوسیانین در گیاهان مختلف تحت تنش‌های زیستی گزارش شده است (Gould *et al.*, 2009).

همان‌طور که در جدول (۴) مشاهده می‌شود، تیمار خشکی باعث افزایش معنی‌دار محتوای کربوهیدرات‌های محلول، در گیاهان شد اما تنش اشعه UV در هر دو شرایط (آبیاری نرمال و تنش خشکی) باعث کاهش در محتوای کربوهیدرات‌ها شد (جدول ۴). به طور کلی بیش‌ترین میزان افزایش در رقم "پیشگام" تحت تنش خشکی مشاهده شد. در پژوهش حاضر تحت تنش خشکی محتوای کربوهیدرات‌های محلول اندام هوایی افزایش یافت. نتایج مشابه در گیاهانی مثل گندم (Keles and Oncel, 2004) مشاهده شده است که در ارتباط با افزایش تجزیه نشاسته و تجمع کربوهیدرات‌های محلول مثل گلوکز، فروکتوز، سوکروز و فروکتان است.

نتایج حاصل از بررسی محتوای کربوهیدرات‌های محلول تحت تابش UV-C نشان داد که این پرتو در هر رقم باعث کاهش معنی‌دار سطح کربوهیدرات‌های محلول در اندام هوایی شد. علت کاهش کربوهیدرات‌ها می‌تواند کاهش میزان فتوسنتز باشد زیرا اشعه UV با تأثیر بر فتوسیستم ۲، غشاء تیلاکوئیدی، آنزیم روبیسکو و برخی از آنزیم‌های چرخه کلورین سنتز کربوهیدرات‌ها را کاهش می‌دهد (مهدویان و همکاران، ۱۳۸۵). همچنین گزارش شده است تنش اشعه UV باعث تخریب پروتئین‌ها، اسیدهای نوکلئیک و کربوهیدرات‌ها می‌گردد (Costa *et al.*, 2002). کاهش محتوای کربوهیدرات‌های محلول تحت تأثیر پرتوهای ماوراء بنفش در گیاه گندم توسط

مضر این اشعه می‌باشد (Zhang *et al.*, 2012, Yao, 2014, Yeo *et al.*, 2011). ولی گزارشات محدودی مبنی بر کاهش کاروتنوئیدها در گیاهان تحت تنش اشعه UV در دسترس می‌باشد (Tossi *et al.*, 2009).

مقایسه میانگین آنتی‌اکسیدان‌های غیر آنزیمی: در شرایط تنش خشکی محتوای فلاونوئیدها را کاهش داد البته در رقم "میهن" و "زارع" افزایش مشاهده شد که معنی‌دار نبود (جدول ۴). بیشترین و کمترین فلاونوئید به ترتیب از تیمار تنش خشکی و بدون اشعه UV از رقم "زارع" (۶/۵۲ میلی‌گرم بر گرم وزن تر گیاه) و رقم "میهن" (۳/۹۱ میلی‌گرم بر گرم وزن تر گیاه) بدست آمد (جدول ۴). در شرایط تنش خشکی، ارقام مختلف گندم نسبت به تیمار اشعه UV عکس‌العمل‌های متفاوتی نشان دادند به طوری که کاربرد اشعه UV محتوای فلاونوئید در رقم "میهن" را به میزان ۳۹ درصد افزایش داد در حالی که در رقم "پیشگام" کاربرد اشعه UV محتوای فلاونوئید را کاهش داد (جدول ۴). افزایش ترکیبات فنلی جذب کننده اشعه UV در پاسخ به تنش ناشی از این اشعه یک پاسخ شناخته شده در گیاهان می‌باشد که در گستره وسیعی از گیاهان مشاهده شده است (Syed *et al.*, 2012; Buer *et al.*, 2010).

بیشترین (۶/۶۶ میلی‌گرم بر گرم وزن تر گیاه) و کمترین (۱/۱۲ میلی‌گرم بر گرم وزن تر گیاه) محتوای آنتوسیانین به ترتیب از ارقام "زارع" در شرایط تنش خشکی و اشعه UV و تنش خشکی و "میهن" در شرایط بدون تنش اشعه UV و بدون اعمال تنش خشکی بدست آمد (جدول ۴). در شرایط تنش خشکی و اشعه UV در مقایسه با شرایط تنش خشکی و بدون اشعه UV، محتوای آنتوسیانین‌ها افزایش معنی‌داری یافت (شکل ۴). در شرایط تنش خشکی، کاربرد اشعه UV محتوای آنتوسیانین‌ها را در ارقام "میهن" و "زارع" به ترتیب حدود ۱۳ و ۶۵ درصد افزایش داد در حالی که در شرایط آبیاری نرمال، کاربرد اشعه UV، محتوای آنتوسیانین‌ها را در رقم "پیشگام" حدود ۸۰ درصد کاهش داد (جدول ۴). به‌طور کلی آنتوسیانین‌ها به‌عنوان جاذب پرتوهای ماوراء بنفش در اپیدرم عمل کرده و بافت‌های گیاهی را از صدمات ناشی از این پرتوها

پروپانال دی‌متیل‌استال می‌باشند که افزایش آنها به عنوان شاخص افزایش تنش اکسیداتیو محسوب می‌شود. مالون‌دی‌آلدئید حاصل تجزیه اسیدهای چرب غیراشباع است، که به عنوان شاخص زیستی پراکسیداسیون لیپیدها زمانی که در معرض ROS قرار گرفته‌اند، شناخته می‌شود (Eraslan et al., 2008). آزمایشی که در دو گونه برنج انجام گرفت، نیز نشان داد که گونه حساس برنج (MDA (28-IR) بیشتری در شرایط تنش داشت، ولی گونه مقاوم Pokkali محتوای MDA کمتری تولید کرد (Demiral and Turkan, 2005). اشعه UV-C باعث افزایش معنی‌دار محتوای مالون‌دی‌آلدئید می‌شود. افزایش مشاهده شده برای محتوای MDA تحت تنش اشعه UV در این مطالعه با نتایج سایر محققان روی گندم مطابقت داشت (Balouchi et al., 2009).

مقایسه میانگین آنتی‌اکسیدان‌های آنزیمی: نتایج نشان داد

با اعمال تنش خشکی فعالیت آنزیم سوپراکسیددیسموتاز افزایش معنی‌داری پیدا کرد (جدول ۴). در هر دو شرایط آبیاری نرمال و تنش خشکی، اعمال تنش اشعه UV محتوای SOD را نسبت به تیمار شاهد (بدون اشعه UV) در تمامی ارقام مورد مطالعه افزایش داد به طوری که در شرایط تنش خشکی، اشعه UV در مقایسه با شاهد بدون اشعه UV محتوای SOD را حدود ۶۰ درصد افزایش داد. در شرایط آبیاری نرمال مقدار افزایش محتوای SOD با کاربرد اشعه UV حدود ۴۰ درصد بود و این نشان دهنده این موضوع است که تنش خشکی تاثیر اشعه UV بر محتوای SOD را در تمامی ارقام تشدید کرده است (جدول ۴).

بین سه رقم مورد مطالعه، بیش‌ترین تغییرات در رقم "پیشگام" مشاهده شد. به طور کلی بیش‌ترین محتوای فعالیت آنزیم، در رقم "پیشگام" تحت تنش خشکی و اشعه UV مشاهده شد و کم‌ترین محتوای فعالیت در رقم "میهن" مشاهده شد (جدول ۴). سلول‌های گیاهی با داشتن سیستم دفاع آنتی‌اکسیدان و افزایش ظرفیت آن در شرایط تنش‌زا تا حد امکان در مقابل تنش اکسیداتیو مقاومت می‌کنند (Turkan et al., 2009). تحقیقات در گیاهانی مانند گندم (Abedini and Daei-Hassani,

سایر محققان گزارش شده است (Zu et al., 2004). به طور کلی بیش‌ترین میزان افزایش در رقم "پیشگام" تحت تنش خشکی و بدون اشعه UV مشاهده شد.

بیش‌ترین و کم‌ترین محتوای پرولین به ترتیب از ارقام "زارع" و "میهن" در شرایط تنش خشکی بدست آمد (جدول ۲). تنش خشکی، محتوای پرولین را در کلیه ارقام حدود ۲۶ درصد افزایش داد (جدول ۲). بررسی نتایج حاصل از اندازه‌گیری محتوای پرولین نشان داد که خشکی محتوای پرولین را به طور معنی‌داری افزایش داد. تجمع پرولین در انواع تنش‌ها مثل شوری، خشکی و فلزات سنگین در بسیاری از گیاهان به دلیل افزایش سنتز آن و یا کاهش تخریب آن گزارش شده است (Parida and Das, 2005; Kavi Kishor et al., 2005). تاثیر اشعه UV-C در این مطالعه روی پرولین معنی‌دار نبود (جدول ۱).

به طور کلی تغییرات محتوای پروتئین فقط تحت تنش خشکی معنی‌دار بود و در سایر تیمارها تغییرات معنی‌داری مشاهده نشد. نتایج حاصل نشان داد که خشکی باعث کاهش محتوای پروتئین شد.

با اعمال تنش خشکی محتوای مالون‌دی‌آلدئید در هر سه رقم مورد مطالعه افزایش معنی‌داری یافت. تنش خشکی در مقایسه با آبیاری نرمال محتوای MDA را حدود ۵۷ درصد افزایش داد (جدول ۴). عکس‌العمل ارقام مورد مطالعه گندم از نظر محتوای MDA نسبت به تیمار تنش اشعه UV متفاوت بود. در شرایط تنش خشکی، کاربرد اشعه UV محتوای MDA را در رقم "پیشگام" افزایش معنی‌داری یافت در حالی که در همین شرایط محتوای MDA در رقم "میهن" کاهش معنی‌داری پیدا کرد (جدول ۴). در شرایط آبیاری نرمال، تغییرات محتوای MDA در هر سه رقم معنی‌دار نبود (جدول ۴). یکی از موارد آسیب خشکی، پراکسیداسیون لیپیدهای غشا می‌باشد که منجر به آسیب غشایی، تخریب پروتئینی، غیر فعال شدن آنزیم‌ها، از بین رفتن رنگدانه‌ها و تخریب رشته DNA می‌باشد. حاصل پراکسیداسیون لیپیدهای غشا، ترکیباتی مثل مالون‌دی‌آلدئید، پروپانال، بوتانال، هگزانال، هپتانال و

پراکسیدازها (گروه III) که نقش آن‌ها اکسید کردن فنل‌ها با استفاده از H_2O_2 است در حفاظت طبیعی در برابر اشعه UV در گیاهان نقش دارند (Syed et al., 2012).

نتیجه‌گیری

نتایج حاصل از بررسی شاخص‌های بیوشیمیایی و فیزیولوژیکی ارقام مختلف گیاه گندم در این تحقیق نشان داد که تنش خشکی و اشعه UV-C باعث وارد آمدن آسیب به این گیاه شد. تنش خشکی و اشعه UV موجب کاهش میزان کلروفیل، طول ریشه و ساقه و وزن خشک ریشه و ساقه شد. ارقام گندم جهت حفظ وضعیت خود و مقابله با تنش، سیستم دفاع غیرآنزیمی خود را افزایش داد. ارقام مختلف گندم عکس‌العمل‌های متفاوتی در مقابله تنش‌های وارده از خود نشان دادند. افزایش میزان ترکیبات جاذب UV مانند فلاونوئیدها که مکانیسم دفاعی در برابر پرتوهای ماوراءبنفش هستند، مشاهده گردید. با توجه به افزایش میزان فلاونوئیدها و آتوسیانین در رقم "زارع" نسبت به اثر توام تنش خشکی و اشعه UV-C این رقم مقاوم‌تر از دو رقم پیشگام و میهن می‌باشد. خشکی و تنش ماوراءبنفش، باعث القاء تنش اکسیداتیو و افزایش مالون‌دی‌آلدئید شد که با تغییر سطح فعالیت آنزیم‌های سیستم دفاع آنتی‌اکسیدان همراه بود. بنابراین در نتیجه‌گیری کلی می‌توان بیان کرد که گیاه گندم تا حدی توانایی مقابله با تنش خشکی و اشعه UV را دارد. ولی اگر شدت تنش خشکی زیاد باشد، حتی مکانیسم‌های مقاومتی گیاه نمی‌تواند با این تنش شدید مقابله کرده و از گیاه دفاع کند؛ ولی اشعه UV اثرات تخریبی کمتری نسبت به تنش خشکی در گیاه گندم ایجاد کرد. اما کاربرد توام تنش خشکی و اشعه UV اثرات تخریبی شدیدی بر گیاه گندم داشت.

و برنج (*Oriza sativa*) (Chawla et al., 2013) نشان داده است که گیاهان متحمل در مقایسه با گیاهان غیرمتحمل دارای سیستم دفاع آنتی‌اکسیدانی کارآمدتری می‌باشند.

تیمار گیاه توسط اشعه‌ی UV باعث افزایش معنی‌دار فعالیت آنزیم‌های سوپراکسیددیسموتاز، پراکسیداز و کاتالاز شد. مشابه این نتیجه برای گیاهانی مانند آراییدوپسیس (*Arabidopsis thaliana*)، ذرت، سیب‌زمینی (*Solanum tuberosum*) و کلزا (*Brassica napus*) در پاسخ به تاثیر اشعه‌ی UV گزارش شده است (Muller et al., 2014; Tossi et al., 2009).

تنش خشکی سبب افزایش فعالیت آنزیم کاتالاز در هر سه رقم گیاه گندم شد که این افزایش از نظر آماری معنی‌دار بود. اشعه UV نیز موجب افزایش فعالیت آنزیم کاتالاز شد که نسبت به گیاهان شاهد در سطح احتمال ۵ درصد معنی‌دار بود. کاربرد توام خشکی و اشعه UV اثر افزایشی بر فعالیت آنزیم کاتالاز داشت و باعث افزایش قابل توجه در فعالیت آنزیم کاتالاز شد. بیش‌ترین محتوای آنزیم کاتالاز مربوط به رقم "میهن" تحت تنش خشکی و اشعه UV بود که این افزایش از نظر آماری معنی‌دار بود (جدول ۴). یافته‌های ما در این تحقیق با نتایج سایر محققان مطابقت دارد (Syed et al., 2012; Tossi et al., 2009).

تنش خشکی سبب افزایش فعالیت آنزیم پراکسیداز در گیاه گندم شد. در شرایط تنش خشکی، کاربرد اشعه UV محتوای آنزیم پراکسیداز را افزایش داد در حالی که کاربرد اشعه UV در شرایط نرمال محتوای آنزیم پراکسیداز را کاهش داد (جدول ۴). به طور کلی بیش‌ترین میزان فعالیت آنزیم مربوط به رقم "زارع" تحت تنش خشکی و اشعه UV و کم‌ترین میزان مربوط به رقم "میهن" بدون دریافت تنش خشکی و اشعه UV بود (جدول ۴). آنزیم پراکسیداز نیز یکی از اجزای مهم سیستم دفاعی گیاهان می‌باشد که باعث حذف H_2O_2 تولید شده به واسطه عمل SOD می‌شود. POD در مراحل اولیه‌ی ریشه زایی و القا نمو بهتر ریشه‌های فرعی دخالت دارد. گروهی از

منابع

بلوچی، ح.ر.، مدرس ثانوی، س.ع.م.، امام، ی. و برزگر، م. (۱۳۸۷) تاثیر تنش کم آبی، ازدیاد دی اکسید کربن و اشعه UV بر صفات کیفی برگ پرچم گندم دوروم (*Triticum turgidum* L.)، علوم و فنون کشاورزی و منابع طبیعی ۱۲(۴۵): ۱۶۷-۱۸۱.

- بهشتی، ص. و تدین، ع. (۱۳۹۶) اثر تنش خشکی و محلول پاشی اسید هیومیک بر برخی از شاخص‌های فیزیولوژیکی لوبیا لیما (*Phaseolus lunatus* L.)، فرآیند و کارکرد گیاهی ۶(۱۹): ۱-۱۴.
- جهان بین، ش.، وفاپور، م.، یدوی، ع.ر. و بهزادی، ی. (۱۳۹۴) بررسی رشد و برخی خصوصیات گندم رقم الوند در شرایط کم آبیاری و محلول پاشی پتاسیم دی هیدرات فسفات، نشریه دانش کشاورزی و تولید پایدار ۲۵(۳): ۱۰۳-۱۱۸.
- خواجه، م.، موسوی نیک، س.م.، سیروس مهر، ع.ر.، یدالهی ده چشمه، پ. و امیری، ا. (۱۳۹۴) اثر تنش کم آبی و محلول پاشی سیلیکون بر عملکرد و رنگیزه‌های فتوسنتزی گندم در منطقه سیستان، فصلنامه علمی پژوهشی فیزیولوژی گیاهان زراعی ۷(۲۶): ۱۹-۵.
- رحمت زاده، س. و خارا، ج. (۱۳۸۷) تاثیر پرتوی UV-C بر روی رشد و برخی از فاکتورهای ریخت شناسی و فیزیولوژیک در گیاهان گندم همزیست با سه گونه از قارچ‌های میکوریز، مجله زیست شناسی ایران ۲۱(۱): ۵۲-۶۳.
- سامانی، م.، دردی پور، ا.، خرمالی، ف. و بازرگان، ک. (۱۳۹۵) تاثیر نسبت‌های مختلف Ca: B بر عملکرد و جذب عناصر غذایی در گندم، نشریه مدیریت خاک و تولید پایدار ۶(۳): ۱۷۳-۱۸۲.
- شهبازی، ه.، ارزانی، ا. و اسماعیل زاده مقدم، م. (۱۳۹۵) تاثیر تنش خشکی بر خصوصیات فیزیولوژیک در لاین‌های اینبرد نوترکیب گندم، مجله فرآیند و کارکرد گیاهی ۵(۱۵): ۱۲۳-۱۳۱.
- صادقی، ن.، شفیع‌ی حاجی آباد، م. و شوکتی، ا.م. (۱۳۸۹) بررسی اثر اشعه UV-C و تنظیم کننده‌های رشد گیاهی بر آلوده ورا (*Aloe vera* L.)، داروهای گیاهی ۲: ۳۷-۴۶.
- قناتی، ف.، احمدی، ز. و عبدالمالکی، پ. (۱۳۸۵) تاثیر پرتوی فرابنفش C بر برخی پارامترهای فیزیولوژیکی در گیاه صبر زرد (*Aloe vera* L.)، فصلنامه علمی پژوهشی تحقیقات گیاهان دارویی و معطر ایران ۲۲: ۳۱۵-۳۳۱.
- گلستانی فر، ف.، محمودی، س.، زمانی، غ. و سیاری زهان، م.ح. (۱۳۹۶) اثر تنش خشکی بر کارایی مصرف آب و وزن خشک ریشه گندم (*Triticum aestivum* L.) و چاودار (*Secale cereal* L.) در شرایط رقابت، پژوهش‌های زراعی ایران ۱۵(۲): ۱-۱۲.
- موسوی، س. ف. و اخوان، س. (۱۳۸۶) اصول آبیاری. انتشارات کنکاش. ۴۱۰ صفحه.
- مهدویان، ک.، قربانلی، م.، منوچهری کلانتری، خ. و محمدی، غ.ع. (۱۳۸۵) تاثیر باندهای مختلف اشعه ماوراء بنفش بر عوامل فیزیولوژیکی و ریخت شناسی فلفل (*Capsicum annum* L.)، مجله زیست شناسی ایران ۱۹(۱): ۴۳-۵۳.
- Abedini, M. and Daie-Hassani, B. (2015) Salicylic acid affects wheat cultivars antioxidant system under saline and non-saline condition. *Russian Journal of Plant Physiology* 62: 604-610.
- Ahmad, P. and Sharma, S. (2010) Physio-biochemical attributes in two cultivars of mulberry (*Morus alba* L.) under NaHCO₃ stress. *International Journal of Plant Production* 4: 79-86.
- Allen, D. J., Nogues, S. and Baker, R. N. (1998) Ozone depletion and increased UV-B radiation: is there a real threat to photosynthesis. *Journal of experimental Botany* 328:1775-1788.
- Al-Mahasneh, M. A. (2006) Effect of moisture content on some physical properties of green wheat. *Journal of Food Engineering* 2: 120-130.
- Balouchi, H. R., Sanavy, S. A. M. M., Emam, Y. and Dolatabadian, A. (2009) UV radiation, elevated CO₂ and water stress effect on growth and photosynthetic characteristics in durum wheat. *Plant Soil Environment* 10: 443-453.
- Bandurska, H., Niedziela, J. and Chadzinikolau, T. (2013) Separate and combined responses to water deficit and UV-B radiation. *Plant Science* 213:98-105.
- Bates, L. S., Walderen, R. D. and Taere, I. D. (1973) Rapid determination of free proline for water stress studies. *Plant Soil* 39: 205-207.
- Bradford, M. M. (1976) A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Analytical Biochemistry* 72(1-2): 248-254.
- Buer, C. S., Imin, N. and Djordjevic, M. A. (2010) Flavonoids: New Roles for Old Molecules. *Journal of Integrative Plant Biology* 52: 98-111.

- Carvalho, R. F., Quecini, V. and Peres, L. E. P. (2010) Hormonal modulation of photo morphogenesis-controlled anthocyanin accumulation in tomato (*Solanum lycopersicum* L. cv *Micro-Tom*) hypocotyls: Physiological and genetic studies. *Plant Science* 178: 258-264.
- Chance, B. and Maehly, A. C. (1955) Assay of catalases and peroxidases, in *Methods in Enzymology*. Academic Press. 764-775.
- Chawla, J. Zhu, C. Li, L. Sun, Z. and Pan, X. (2013) effects of exogenous salicylic acid on growth and H₂O₂-metabolizing enzymes in rice seedlings under lead stress. *Journal of Environmental Sciences* 191: 44-49.
- Costa, H., Gallego, S. M. and Tomaro, M. L. (2002). Effects of UV-B radiation on antioxidant defense system in sunflower cotyledons. *Plant Science* 162 (6): 939-945.
- Demiral, T. and Turkan, I. (2005) Comparative lipid peroxidation, antioxidant defense system and proline content in roots of two rice cultivars differing in salt tolerance. *Journal of Environmental and Experimental Botany* 53: 247-257.
- Eraslan, F., Ali, I., David, A., Pilbeam, J. and Gunes, A. (2008) Interactive effects of salicylic acid and silicon on oxidative damage and antioxidant activity in spinach (*Spinacia oleracea* L. cv). *Matador* grown under boron toxicity and salinity. *Plant Growth Regulation* 55: 207-219.
- Ganji Arjenaki, F., Jabbari, R. and Morshedi, A. (2012) Evaluation of drought stress on relative water content, chlorophyll content and mineral elements of wheat (*Triticum aestivum* L.) varieties. *International Journal of Agriculture and Crop Scien* 4(11): 726-729.
- Gould, K., Davies, K. and Winefield, C. (2009) Anthocyanin, Biosynthesis, Functions, and Applications. 1(3):117-231.
- Heath, R. L. and Packer, L. (1968) Photoperoxidation in isolated chloroplasts: I. Kinetics and stoichiometry of fatty acid peroxidation. *Archives of Biochemistry and Biophysics* 125(1): 189-198.
- Jaakola, L. (2013) New insights into the regulation of anthocyanin biosynthesis in fruits. *Journal of Trends Plant Science* 18: 477-483.
- Kavi Kishor, P. B., Sangam, S., Amrutha, R. N., Sri Laxmi, P., Naidu, K. R., Rao, K. R. S. S., Rao, S., Reddy, K. J., Theriappan, P. and Steenivasulu, N. (2005) Regulation of proline biosynthesis, degradation, uptake and transport in higher plants :Its implications in plant growth and abiotic stress tolerance. *Current Science* 883: 424-438.
- Keles, Y. and Oncel, I. (2004) Growth and solute composition in two wheat species experiencing combined influence of stress conditions. *Russian Journal of plant physiology* 51: 203-208.
- Krizek, D. T., Britz, S. J. and Mirecki, R. M. (1998) Inhibitory effects of ambient levels of solar UV-A and UV-B radiation on growth of cv. New Red Fire lettuce. *Physiologia Plantarum* 103(1): 1-7.
- Lichtenthaler, H. K. (1987) Chlorophylls and carotenoids: Pigments of photosynthetic biomembranes. *Methods in Enzymology* 148: 350-382.
- Martens, S. and Mithofer, A. (2005) Flavones and flavone synthases. *Phytochemistry* 66: 2399-2407.
- Masukasu, H., Karin, O. and Kyoto, H. (2003) Enhancement of anthocyanin biosynthesis by sugar in radish (*Raphanus sativus*) hypocotyls. *Plant Science* 164: 2: 259 - 265.
- Muller-Xing, R., Xing, Q. and Goodrich, J. (2014) Footprints of the sun: memory of UV and light stress in plants. *Frontiers in Plant Science* 5: 1-12.
- Nyoman Rupiasih, N. and Pandit B. V. (2016) Effect of UV-C radiation and hypergravity on germination, growth and content of chlorophyll of wheat seedlings. *Proceeding of the 4th International Conference on Theoretical and Applied Physics* P.1719.
- Obinger, C., Maj, M., Nicholls, P. and Loewen, P. (1997) Activity, Peroxide Compound Formation, and Heme d Synthesis in *Escherichia coli* Catalase. *Archives of Biochemistry and Biophysics* 342(1): 58-67.
- Pal, M., Jain, V. and Sengupta, U. K. (1998) Influence of enhanced UV-B radiation on mustard: Cultivar response. *Indian Journal of Plant Physiology* 3(3): 188-193.
- Parida, A. K. and Das, A. B. (2005) Salt tolerance and salinity effects on plants :a review. *Ecotoxicology and Environmental Safety* 60: 324-349.
- Parida, A. K., Das, A. B., Mitra, B. and Mohanty, P. (2004) Salt-stress induced alterations in protein profile and protease activity in the mangrove, *Bruguiera parviflora* L. *Naturforsch* 59 :408-414.
- Piri, E., Babaeian, M., Tavassoli, A. and Esmaeilian, Y. (2011) Effects of UV irradiation on plants. *African Journal of Microbiology Research* 5: 1710-1716.
- Rahmatzadeh, S. and Khara, J. (2007) Influence of Ultraviolet-C radiation on some growth parameters of mycorrhizal wheat plants. *Pakistan Journal of Biological Sciences* 10 (23): 4275-4278.
- Sakuraba, Y., Lee, S.H., Kim, Y.S., Park, O.K., Hörtensteiner, S. and Paek, N.C. (2014) Delayed degradation of chlorophylls and photosynthetic proteins in *Arabidopsis* autophagy mutants during stress-induced leaf yellowing. *Journal of Experimental Botany* 65(14):3915-25.
- Salwa A. R. and Osama A. M. (2014) Physiological and biochemical studies on drought tolerance of wheat plants by application of amino acids and yeast extract. *Annals of Agricultural Science* 59(1): 133-145
- Sheligh, H. Q. (1986) Die verwertung orgngischer souren durch chlorella lincht. *Planta Journal* 47-51.

- Sun, T. L. and Waters, I. (2003) Review of prospects for germplasm improvement for water logging tolerance in wheat, barley and oats. *Plant Soil* 253: 1- 34.
- Syed, S. B., Lakshmi, N. M. and Gowda, B. B. (2012) Poly phenolics profile and antioxidant properties of *Raphanus sativus* L. *Natural Product Research* 26(6): 557–563.
- Tossi, V., Lamattina, L. and Cassia, R. (2009) An increase in the concentration of abscisic acid is critical for nitric oxide-mediated plant adaptive responses to UV-B irradiation. *The New Phytologist* 181(4): 871-879.
- Turkan, M., Iwanzik, W. and Teramura, A. H. (2009) Effects of water logging damage in wheat seedling. Effects on Growth, Protein and Flavonoid Content. *Zeitschrift für Pflanzenphysiologie* 110(5): 459-467.
- Wargent, J., Jordan, B. R. (2013) From Ozone Depletion to Agriculture: Understanding the Role of UV Radiation in Sustainable Crop Production. *New Phytologist* 197: 1058-1076.
- Winterbourn, C. C., Mcgrath, B. M. and Carrell, R.W. (1976) Reactions involving superoxide and normal and unstable haemoglobins. *The Biochemical Journal* 3(155): 493–502.
- Yao, X. (2014) Grain yield, starch, protein, and nutritional element concentrations of winter wheat exposed to enhanced UV-B during different growth stages. *Journal of Cereal Science* 60(1): 31-36.
- Yeo, Y., Danna, C. H., Zemp, F. J., Titov, V., NazemCiftci, O. and Przybylski, R. (2011) UV-C irradiated *Arabidopsis* and *Tobacco* emit volatiles that trigger genomic instability in neighboring Plants. *Journal of the Plant Cell* 23: 3842–3852
- Zhang, K. M., Yu, H. J., Shi, K., Zhou, Y. H., Yu, J. Q. and Xia, X. J. (2012) Photo protective roles of anthocyanin in *Begonia semperflorens*. *International Journal of Plant Science* 179: 202-208.
- Zu, Y., Li, Y., Chen, J. and Chen, H. (2004). Intraspecific responses in grain quality of 10 wheat cultivars to enhanced UV-B radiation under field conditions. *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology* 74 (2-3): 95-100.

The effect of drought stress and Ultraviolet on antioxidant defensive system of enzyme and non-enzyme in three varieties of wheat (*Triticum aestivum* L.)

Zeynab Rezayi Far¹, Siamak Fallahi¹ and Esmaeil Gholinezhad²

¹Department of Biology – University of Payame Noor

²Department of Agricultural Sciences, Payame Noor University

(Received: 04/03/2017, Accepted: 19/09/2017)

Abstract

Drought stress and ultraviolet radiation as stressful environmental factors have deleterious effects on physiological and growth of plants. So in order to evaluate the effect of drought stress and Ultraviolet on photosynthesis pigments and antioxidant defensive system of enzyme and non-enzyme in three varieties of wheat (*Triticum aestivum* L.), a pot experiment was conducted by using factorial based on completely randomized design (RCD) with three replications in 2015. Treatments were drought stress in two levels (control and drought stress by applying 25% of field capacity) and ultraviolet radiation (control and UV-C) and three wheat varieties ("Zare", "Pishgham" and "Mihan"). In this study, morphological traits, photosynthetic pigments and enzymes affecting on defense system were studied. The results showed that under drought stress and UV rays, the content of flavonoids increased in "Mihan" and decreased significantly in "Pishgham" cultivar, while in the same conditions (drought stress and UV radiation), the content of anthocyanins increased significantly. Treatment drought stress and UV caused oxidative stress in different varieties of wheat. In addition drought stress increased phenolic compounds and cause to enhance antioxidant enzymes such as catalase activity, superoxide dismutase and peroxidase. The content of soluble sugars increased under drought stress conditions. In drought stress condition, application UV increased proline amount in all three varieties about 31 percent but in optimum irrigation increased up to 22 percent. Increase of activity of antioxidant enzymes was observed in all three varieties, as well as the content of malondialdehyde and proline increased in all three varieties. UV radiation caused a significant reduction in the concentration of chlorophyll a, b and total chlorophyll. Also drought stress and UV reduced significantly root and stem dry weight, root and stem length. The interaction between drought stress and ultraviolet radiation increased damage to the plant. Also "Zare" variety according to increasing flavonoids and anthocyanin comparison with "Pishgham" and "Mihan" varieties was proven as tolerant to drought stress.

Key words: Anthocyanin, Drought stress, Flavonoids, UV radiation, Wheat.

Gholinezhad1358@yahoo.com