تنش‌های محیطی در علوم زراعی
Environmental Stresses in Crop Sciences
جلد دوازدهم، شماره سوم، پائیز ۱۳۹۸
۶۸۵-۶۹۶
http://dx.doi.org/10.22077/escs.2019.1473.1325

مقاله پژوهشی

ارزیابی برخی صفات بیوشیمیایی در چند گونه زراعی و وحشی گندم تحت تنش خشکی

حامد دروگر[۱]، براتعلی فاخری[۲]، نفیسه مهدی‌نژاد[۳]*، رحمت محمدی[۴]

۱. دانشجوی کارشناسی ارشد اصلاح نباتات، گروه اصلاح نباتات و بیوتکنولوژی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه زابل
۲. استاد گروه اصلاح نباتات و بیوتکنولوژی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه زابل
۳. استادیار گروه اصلاح نباتات و بیوتکنولوژی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه زابل
۴. استادیار موسسه تحقیقات کشاورزی دیم کشور، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، مراغه

تاریخ دریافت: ۹۷/۰۱/۲۱؛ تاریخ پذیرش: ۹۷/۰۳/۰۵

چکیده

تنش خشکی یک تنش غیرزنده است که به‌عنوان یکی از عوامل مهم کاهش‌دهنده رشد محصولات کشاورزی در بیشتر نقاط جهان مخصوصاً ایران بوده و منجر به تنش اکسیداتیو می‌شود. به‌منظور بررسی تأثیر سطوح مختلف تنش خشکی بر برخی صفات ویژگی‌های بیوشیمیایی، پژوهشی در گلخانه تحقیقاتی دانشکده کشاورزی زابل به‌صورت آزمایش فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار در سال ۱۳۹۵-۱۳۹۶ انجام گرفت. فاکتور اول گونه‌های گندم (تائوشی، اسپلتوئیدز، اورارتو، شبرنگ، بهرنگ، سیستان، ارگ) و فاکتور دوم سطوح آبیاری (۹۰، ۷۰، ۵۰ و ۳۰ درصد ظرفیت زراعی) بودند. نتایج نشان داد که اثر تنش خشکی بر غلظت پروتئین، کلروفیل a، b، کاروتنوئید، آنزیم کاتالاز، سوپر اکسید دیسموتاز، آسکوربات پراکسیداز و مالون دی‌آلدئید تأثیر معنی‌داری داشت.

این در حالی است که با افزایش تنش میزان آسکوربات پراکسیداز متغیر بود به‌طوری‌که ابتدا افزایش و سپس کاهش یافت. این وضعیت نشان‌دهنده فعال شدن سیستم آنتی‌اکسیدانی در گونه‌های مختلف گندم برای افزایش تحمل به خشکی است. پروتئین، کلروفیل و کاروتنوئید با افزایش تنش خشکی تا سطح ۵۰ درصد ظرفیت زراعی ابتدا افزایش و با شدیدتر شدن تنش باعث کاهش این مقادیر شد. احتمالاً فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی مانع از تجزیه پروتئین و سایر اجزا سلولی شده است. در این تحقیق رقم شبرنگ نسبت به دیگر ارقام برتری داشت درحالی‌که کمترین مقادیر مربوط به گونه هگزاپلوئید سیستان بود.

واژه‌های کلیدی: **آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان، پروتئین، کلروفیل، گونه‌های گندم، مالون دی آلدئید**

مقدمه

گندم یکی از مهم‌ترین غلات و منابع اصلی نیاز کالری و پروتئین است به‌طور تقریبی ۸۵ و ۸۲ درصد جمعیت جهان به ترتیب جهت تأمین کالری و پروتئین خود وابسته به گندم هستند (Chaves et al., 2013). گونه‌های وحشی و اهلی گندم ازلحاظ تعداد کروموزوم به سه گروه دیپلوئید (۲n=۲x=۱۴)، تتراپلوئید (۲n=۲۸) و هگزاپلوئید (۲n=۴۲) تقسیم می‌شوند. گونه‌های وحشی حاوی ژن‌های بسیار مفید و با ارزش برای بهبود مقاومت به برخی تنش‌های زیستی و غیر زیستی از قبیل خشکی، سرما، گرما، مقاومت به آفات و امراض هستند و به‌عنوان منابع و مخازن ژنی مورداستفاده پژوهشگران قرار می‌گیرند (Vojdani, 1996; Ahmadabadi et al., 2005; Wang et al., 2010). گندم‌های وحشی دیپلوئید (۲n=۲x=۱۴) هستند و شامل گندم تائوشی (*Ageilops tauschii*) دارای ژنوم DD و دهنده ژنوم D به گندم نان (Dvorak et al., 1998)، اسپلتوئیدز (*Aegilops speltoides*) داری ژنوم BB و اورارتو (*Triticum urartu*) ژنوم AA (Sishen et al., 2007) است.

* نگارنده پاسخگو: نفیسه مهدی‌نژاد. پست الکترونیک: nmahdinezhad@uoz.ac.ir

کمبود آب یکی از شدیدترین تنش‌های زیست‌محیطی است که بر بهره‌وری محصول و کشاورزی پایدار در سراسر جهان تأثیرگذار بوده که منجر به پیامدهای عمده‌ای برای امنیت غذایی و اقتصاد مناطق مختلف جهان شده است (Singh et al., 2016; Thirumalaikumar et al., 2018).

گیاهان در مقابله با تنش خشکی تغییرات متفاوتی را در تمام جنبه‌های رشدی ازجمله فیزیولوژیکی، بیوشیمیایی، مورفولوژی و آناتومی از خود نشان می‌دهند (Sarmedinia and Koocheki, 1992)، بنابراین تنش خشکی به‌عنوان یک محیط ناسازگار و پیچیده‌ترین تنش در مقیاس جهانی بر بسیاری از فعالیت‌های رشدی و متابولیکی در گونه‌های مختلف گیاهان اثر بسیار مهمی گذاشته (Ghasemi Pirbalouti et al., 2014) و عامل تحریک گیاه به پاسخ‌های دفاعی در سطوح مختلف مولکولی، سلولی و فیزیولوژیکی می‌شود (FAO, 2013). این شرایط نامطلوب محیطی شامل: استرس زیستی مانند عفونت پاتوژن‌ها و حمله گیاه‌خواران و تنش غیر زیستی مانند خشک‌سالی، گرما، سرما، کمبود مواد مغذی؛ که دراین‌بین تنش خشکی اثرات منفی چند جانبه‌ای بر متابولیسم گیاهان ازجمله: انقباض سلولی، آسیب غشای سلولی، عملکرد خراب آنزیم‌های وابسته به غشاء، اکسیداسیون لیپید و پروتئین‌ها از طریق تولید بیش‌ازحد گونه‌های واکنش‌پذیر اکسیژن (ROS) به‌عنوان یک عامل مهم در تحریک مهار فعالیت فتوسنتز است (Farooq et al., 2011; Fedoroff et al., 2010; Tak et al., 2017; Thirumalaikumar et al., 2018).

از شدیدترین فرایندهای مرتبط با آسیب اکسیداتیو پراکسیداسیون چربی غشاء است (Zahang and Kirkham., 1995). پراکسیداسیون چربی فاکتور شناخته‌شده در هر موجود زنده‌ای به‌عنوان مخرب‌ترین عامل در نظر گرفته شده است. در واکنش اکسیداسیون اسیدهای چرب، فراورده‌هایی نظیر کیتون‌ها، هیدروپراکسیداز، مالون دی‌آلدئید (MDA) و ترکیبات مرتبط با آن‌ها تشکیل می‌شود، بنابراین آسیب غشایی به‌عنوان یک مارکر حیاتی و عامل تخریبی در سطوح بیوملکول‌هایی مثل چربی‌های غشا تحت تنش‌های مختلف مورداستفاده قرار می‌گیرد (Gill and Tuteja, 2010). تا به امروز تعدادی از مولکول‌های غیررادیکالی مانند هیدروژن پراکسید (H_2O_2)، اکسیژن منفرد (O_2) همراه با رادیکال‌های آزاد مانند رادیکال هیدروکسیل (OH^-) و رادیکال‌های سوپر اکسید (O^{2-}) به‌عنوان قابل‌توجه‌ترین انواع ROS به‌عنوان محصول جانبی طی فرآیندهای عادی متابولیکی مانند فتوسنتز و تنفس در بخش‌های مختلف سلولی تولید می‌شوند (Bhattacharjee, 2010; Sharma et al., 2012; Gupta and Huang, 2014).

بااین‌حال عامل استرس اکسیداتیو در طول شرایط استرس و عدم تعادل متابولیکی منجر به انفجار اکسیداتیو و تشکیل بیش‌ازحد ظرفیت ROS در گیاه شده که می‌توانند عامل تخریب و یا دگرگونی گردند و با اجزای مختلف سلولی واکنش نشان دهند لذا تولید بیش‌ازحد آن عامل مهم تخریب ماکرومولکول‌های سلولی همچون لیپیدها، پروتئین‌ها و DNAبوده و منجر به تغییر ساختار عملکردی و یا مهار آن‌ها در گیاه می‌شود، درنهایت نقش مهمی در توسعه بیماری‌ها و پاسخ فوق‌العاده شدید حساسیت می‌شود (Gupta and Huang 2014; Abdollahi et al., 2015; Hassani et al., 2016).

گیاهان برای مقابله با خسارت ROS و کاهش سمیت رادیکال‌های آزاد از مکانیسم‌های زیادی (حفاظتی، بازسازی و...) استفاده می‌کنند. گیاهان برای سم‌زدایی، کاهش و تعمیر آسیب توسط ROS، سیستم آنتی‌اکسیدانی خود را توسعه داده‌اند (Vrancken et al., 2013). در این راستا آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی اصلی شامل سوپر اکسید دیسموتاز (SOD)، کاتالاز (CAT)، آسکوربات پراکسیداز (APX) است (Ahmad, 2014) که در قسمت‌های مختلف سلولی به‌عنوان آیزوزایم‌ها مخصوصاً در کلروپلاست و میتوکندری‌ها ایفای نقش می‌کنند (Ahmad et al., 2010). ازآنجایی‌که آنزیم سوپر اکسید دیسموتاز (SOD) به‌عنوان اولین خط دفاعی در راستای حذف ROS وارد عمل شده و باعث تخریب رادیکال‌های سوپراکسید به پراکسید هیدروژن (H_2O_2) می‌شود، تبدیل پراکسید هیدروژن به مولکول آب و اکسیژن توسط CAT و APX با مشارکت GR در چرخه (Rossatto et al., 2017) به ASH / GSH به‌منظور دفع اثرات سمی گونه‌های فعال اکسیژن در حین مواجهه با شرایط تنش نیز انجام می‌گیرد (Gill and Tuteja, 2010)، اما به‌طور ویژه آسکوربات پراکسیداز دارای میل بالاتری نسبت به H_2O_2 بوده که در کلروپلاست، سیتوزول، میتوکندری، پراکسی زوم و نیز فضای آپوپلاستی با استفاده از آسکوربات پراکسیداز به‌عنوان اهداکننده الکترون آن را به آب (H_2O) تبدیل می‌کند (Sofo

et al., 2015). بااین‌حال دو آنزیم اصلی که باعث شکسته شدن H_2O_2 به آب و مولکول اکسیژن می‌شود را آنزیم کاتالاز و پراکسیداز رهبری می‌کند (Janda et al., 2005; Yong et al., 2008).

تنش خشکی می‌تواند غلظت کلروفیل را از طریق جلوگیری از سنتز کلروفیل، تسریع تجزیه آن توسط آنزیم کلروفیلاز (Reddy and Vora, 1986) و فتواکسیداسیون کلروفیل توسط ROSها (Alonso et al., 2001) کاهش دهد. کاروتنوئیدها به‌عنوان رنگیزه کمکی در کلروپلاست‌ها عمل می‌کنند، اما توجه به نقش آنتی‌اکسیدانی آن‌ها به‌مراتب بالاتر از کمک به کلروپلاست به‌عنوان رنگیزه کمکی است (Emadi et al., 2013). به بیانی دیگر کاروتنوئیدها از رنگیزه‌های کلیدی و مهم سیستم آنتی‌اکسیدانی در گیاهان بشمار می‌روند، اما به تخریب اکسایشی بسیار حساس هستند. افزایش فعالیت کاتالاز در گندم تحت تنش خشکی گزارش شده است و این افزایش خصوصاً در واریته‌های مقاوم بالاتر بود (Simonovicova et al., 2010). ژانگ و همکاران (Zhang et al., 2012) این مطلب را تائید نمودند که میزان فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان تحت شرایط تنش افزایش می‌یابد به‌طوری‌که این تغییرات بسته به زمان مواجهه به تنش، متفاوت اعلام کردند.

با توجه به مطالبی که در بالا ذکر گردید این تحقیق به‌منظور دستیابی به اهدافی چون بررسی فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانت، پروتئین، کلروفیل a، b، کاروتنوئید و شاخص پراکسیداسیون لیپیدی در گونه‌های وحشی و اهلی گندم تحت تنش خشکی موردمطالعه قرار گرفت.

مواد و روش‌ها

این تحقیق به‌منظور بررسی تأثیر سطوح مختلف تنش خشکی بر خصوصیات بیوشیمیایی در گونه‌های مختلف گندم در سال ۱۳۹۶-۱۳۹۵ در گلخانه تحقیقاتی دانشکده کشاورزی دانشگاه زابل اجرا شد. بذرهای سه گونه گندم دیپلوئید (تائوشی، اسپلتوئیدز و اورارتو) از مرکز پژوهشی دانشگاه زابل و همچنین دو رقم تتراپلوئید (شبرنگ و بهرنگ) و دو رقم هگزاپلوئید (سیستان و ارگ) از مرکز تحقیقات کشاورزی سیستان تهیه شدند. این تحقیق به‌صورت آزمایش فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار انجام گرفت. گونه‌های گندم به‌عنوان فاکتور اول در هفت سطح (تائوشی، اسپلتوئیدز، اورارتو، شبرنگ، بهرنگ، سیستان و ارگ) و سطوح آبیاری به‌عنوان فاکتور دوم در چهار شرایط آبی شامل تیمار آبیاری ۹۰ درصد ظرفیت زراعی (شاهد)، تیمار آبیاری ۷۰ درصد ظرفیت زراعی (تنش ملایم)، تیمار آبیاری ۵۰ درصد ظرفیت زراعی (تنش متوسط) و ۳۰ درصد ظرفیت زراعی (تنش شدید) بود. بذرها در یک ترکیب متشکل از کوکوپیت و پرلیت (۱:۱) درون گلدان‌ها (گلدان‌های پلاستیکی با قطر دهانه ۲۰ سانتی‌متر و ارتفاع ۲۵ سانتی‌متر) در عمق یک سانتی‌متری کشت گردیدند. بعد از سبز شدن، بوته‌ها تنک گردیدند و درنهایت داخل هر گلدان چهار بوته نگهداری شد. تا رسیدن به مرحله چهار برگی بوته‌ها، گلدان‌ها به مقدار یکسان و هم‌زمان آبیاری گردیدند و بعدازآن، اعمال تیمارهای تنش خشکی به روش وزنی انجام شد. حدود سه هفته پس از شروع تیمارهای تنش (زمانی که ۵۰ درصد بوته‌ها به مرحله شش برگی رسیده بودند) جهت انجام بررسی‌های بیوشیمیایی گلدان‌ها به آزمایشگاه تحقیقات دانشکده کشاورزی منتقل‌شده و درنهایت چند برگ بالایی جدا و در فریزر منفی ۸۰ درجه سانتی‌گراد نگه‌داری شدند.

به‌منظور ارزیابی فعالیت‌های آنزیمی و پروتئین کل ابتدا استخراج عصاره آنزیمی طبق روش (MacAdam, 1992) صورت گرفت. از عصاره به‌دست‌آمده برای قرائت مقدار پروتئین کل و سنجش کمی فعالیت آنزیم‌های سوپر اکسید دیسموتاز (SOD)، کاتالاز (CAT) و آسکوربات پراکسیداز (APX) استفاده شد. در این پژوهش فعالیت آنزیم سوپر اکسید دیسموتاز (Beachamp and Fridovich, 1971)، فعالیت آنزیم کاتالاز (Beers and Sizer, 1952) و میزان فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز (Yoshimura et al., 2000) با استفاده از اسپکتوفتومتر (Labomed مدل uv-3200) تعیین گردیدند و داده‌ها به‌صورت میلی‌گرم در پروتئین گزارش شدند. پروتئین کل بر اساس روش برادفورد (Bradford, 1976)، کلروفیل a، b و کاروتنوئید به روش آرنون (Arnon, 1949) و پراکسیداسیون لیپیدی غشاءها با استفاده از اندازه‌گیری مالون‌دی‌آلدئید به‌عنوان فراورده نهایی پراکسیداسیون لیپیدی غشاء طبق روش هیث و پاکر (Heath and Packer, 1968) انجام گرفت. پروتئین و رنگیزه‌های فتوسنتزی به‌صورت میلی‌گرم بر لیتر و پراکسیداسیون لیپیدی به‌صورت میکرومول بر گرم وزن تر گزارش شدند. تجزیه‌وتحلیل داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار آماری SAS نسخه ۹/۱، مقایسات میانگین داده‌ها توسط آزمون توکی در سطح

احتمال یک درصد ترسیم نمودارها توسط نرم‌افزار Excel انجام شد.

نتایج و بحث

پروتئین کل

با توجه به نتایج تجزیه واریانس داده‌ها اثر ساده رقم و تنش خشکی و اثر متقابل رقم × سطوح متفاوت تنش خشکی بر میزان پروتئین در سطح احتمال یک درصد معنادار بود (جدول ۱).

بررسی‌ها نشان داده است که پاسخ پروتئین برگ به تنش خشکی متغیر بوده و می‌تواند افزایشی، کاهشی یا بدون تغییر باشد؛ که در این تحقیق میزان پروتئین با افزایش تنش خشکی در ارقام مختلف گندم ابتدا تا سطح ۵۰ درصد تنش افزایش و سپس روند کاهشی را نشان داد. کاهش قابل‌ملاحظه غلظت پروتئین در شرایط تنش شدید می‌تواند به کاهش زیر واحدهای روبیسکو و افزایش در اکسیداسیون پروتئین مرتبط باشد (Tahkokorpi, 2010). بیش‌ترین و کم‌ترین میانگین این صفت در تنش ملایم مربوط به گونه وحشی رقم اسپلتوئیدز (۱/۲ میلی‌گرم بر لیتر) و گندم هگزاپلوئید رقم سیستان (۰/۵۰۱ میلی‌گرم بر لیتر) بود (شکل ۱). افزایش پروتئین تحت تنش خشکی در غلات (Borovskii et al., 2002) گزارش شده است که با نتایج این تحقیق مطابقت دارد. افزایش کارایی پروتئین در گیاهان می‌تواند مقیاسی از درجه تحمل گیاه به تنش خشکی باشد (Zhao et al., 2008)، به عبارتی می‌توان گفت که افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانت تحت تنش کمبود آب احتمالاً مانع از تجزیه پروتئین‌های گیاهی در تنش خشکی گردیده است.

جدول ۱. میانگین مربعات صفات مختلف بیوشیمیایی در ارقام زراعی و گونه‌های وحشی گندم تحت شرایط تنش خشکی

Table 1. Mean squares under drought stress on biochemical traits of cultivars and wild species of wheat.

S. O. V	منابع تغییرات	درجه آزادی df	پروتئین Protein	کلروفیل a Chlorophyll a	کلروفیل b Chlorophyll b	کاروتنوئید Carotenoid
Species (A)	گونه	6	0.136**	73.73**	2.496**	0.3998 ns
Stress (B)	تنش	3	0.126**	10.37 ns	3.734**	0.2815 ns
A×B	تنش×گونه	18	0.069**	13.00**	1.612**	0.5763**
Error	خطا	56	0.0096	3.81	0.558	0.2394
CV%	ضریب تغییرات (٪)	-	*12.30*	*15.87*	*15.56*	*14.98*

جدول ۱. ادامه

Table 1. Continued

S. O. V	منابع تغییرات	درجه آزادی df	کاتالاز Catalases	آسکوربات پراکسیداز Ascorbate peroxidases	سوپر اکسید دیسموتاز Superoxid dismutase	مالون دی‌آلدئید Malondialdehyde
Species (A)	گونه	6	0.204×10^{-4}**	0.132×10^{-6}**	0.0057**	0.187**
Stress (B)	تنش	3	0.108×10^{-3}**	0.199×10^{-5}**	0.00158**	0.0685**
A×B	تنش×گونه	18	0.613×10^{-5}**	0.136×10^{-6}**	0.00288**	0.0523**
Error	خطا	56	0.84×10^{-6}	0.144×10^{-9}	0.00014	0.0026
CV%	ضریب تغییرات (٪)	-	*11.43*	*6.24*	*13.47*	*14.97*

ns عدم تفاوت معنی‌دار و ** معنی‌دار در سطح احتمال یک درصد

ns; Non significant and **, Significant at 1% level of probability

کلروفیل a و b

نتایج تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد که بین ارقام گندم اختلاف معنی‌داری ازنظر محتوی کلروفیل a و b در سطح احتمال یک درصد وجود داشت (جدول ۱). اختلاف بین ارقام در کلروفیل a و b احتمالاً می‌تواند بیانگر اختلاف ژنتیکی و یا بهبود ژنتیکی در اثر تکامل بین گونه‌ها باشد. در مورد کلروفیل a تنش خشکی تغییر معنی‌داری در میزان این صفت ایجاد نکرد، در رقم تائوشی بیش‌ترین مقدار کلروفیل a

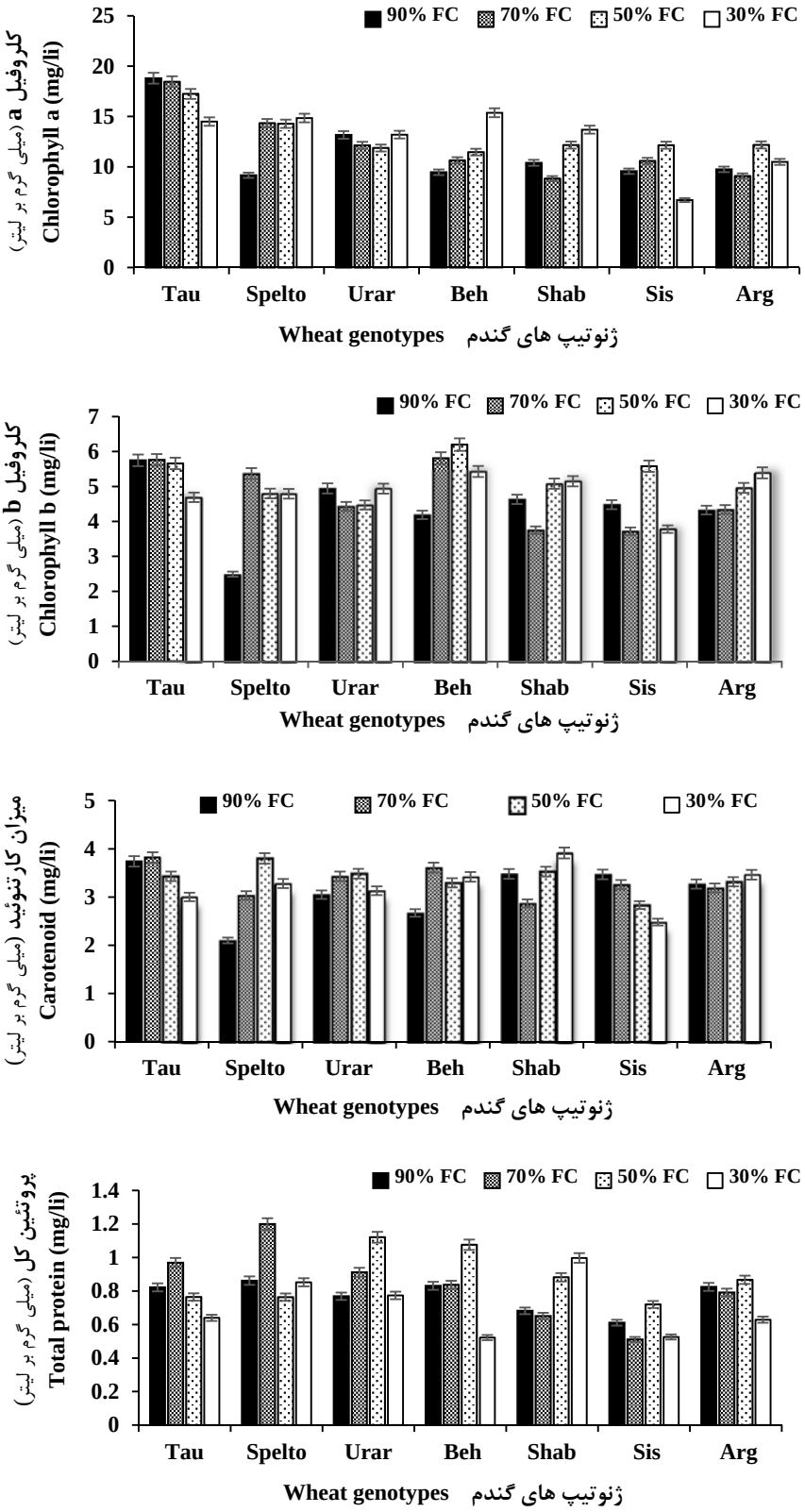
(۱۸/۷۹ میلی‌گرم بر لیتر) در حالت شاهد و سطح تنش ملایم (۱۸/۴۵ میلی‌گرم بر لیتر) مشاهده شد که یک‌روند کاهشی را داشت و رقم سیستان دارای کمترین مقدار (۶/۶۲ میلی‌گرم بر لیتر) در سطح تنش شدید بود که با تشدید تنش میزان کلروفیل یک‌روند افزایشی و سپس کاهش معنی‌داری را طی نمود (شکل ۱). بیش‌ترین مقدار کلروفیل b (۶/۲۰۴ میلی‌گرم بر لیتر) مربوط به رقم بهرنگ در ۵۰ درصد ظرفیت زراعی و کم‌ترین مقدار این صفت مربوط به حالت شاهد (بدون تنش) ژنوتیپ Speltoides (۲/۹۴ میلی‌گرم بر لیتر) بود. برخی محققین نیز بیان داشته‌اند که تنش طولانی‌مدت و شدید باعث کاهش محتوای کلروفیل می‌شود. بر اساس نتایج محققین دلیل اصلی کاهش محتوای کلروفیل در شرایط تنش خشکی تولید ROS است که منجر به پراکسیداسیون لیپیدی و نهایتاً تخریب کلروپلاست و کلروفیل می‌شود (Smirnoff, 1996; Foyer et al., 1994). دوام فتوسنتز و حفظ کلروفیل برگ تحت شرایط تنش ازجمله شاخص‌های فیزیولوژیکی مقاومت به تنش است (Pessarkli, 1999). شاید دلیل اینکه محتوای کلروفیل تا سطح تنش ۵۰ درصد کاهش نیافته این باشد که شدت تنش به‌اندازه کافی شدید نبوده و یا افزایش میزان آنزیم کاتالاز مانع از تخریب کلروفیل‌ها شده است؛ اما تنش شدیدتر (۷۰ درصد) به‌تنهایی باعث کاهش مقدار کلروفیل شد؛ بنابراین افزایش مقدار کلروفیل در اثر تنش خشکی تا سطح ۵۰ درصد ظرفیت زراعی نسبت به شاهد از نتایج این پژوهش است که با نتایج دیگر محققین مطابقت دارد (Xu et al., 2008). افزایش محتوای کلروفیل (Kamel manesh et al., 2010) و کاهش کلروفیل توسط (Gregersen and Holm, 2007) نیز گزارش شده است. عمادی و همکاران نیز (Emadi et al., 2013) افزایش کلروفیل b و کاهش کلروفیل a را نیز گزارش کردند.

کارتنوئیدها

اثر رقم و تنش خشکی بر کارتنوئید معنی‌دار نگردید بااین‌وجود علت معنی‌دار شدن اثر متقابل بین رقم و تنش خشکی بر میزان کارتنوئید می‌تواند بیانگر پاسخ و عکس‌العمل متفاوت ارقام به سطوح متفاوت تنش خشکی برای این صفت باشد. درهرصورت بیش‌ترین مقدار کارتنوئید مربوط به ارقام تائوشی، اسپلتوئیدز و شبرنگ بود (شکل ۱). در مورد کارتنوئید در گندم‌های تائوشی و سیستان در تمام سطوح تنش خشکی سبب کاهش غیر معنی‌داری در مقایسه با شاهد شدند؛ در اسپلتوئیدز، اورارتو، شبرنگ، بهرنگ و ارگ روند تغییرات میزان کارتنوئید در طی اعمال سطوح مختلف تنش خشکی متفاوت بود. مقدار کارتنوئید در این تحقیق همانند نتایج امینی و حداد (Amini and Hadad, 2013) در ابتدای دوره تنش افزایش پیدا کرد ولی با افزایش شدت تنش از مقدار آن کاسته شد. شاید یکی از دلایل تفاوتی که در نتایج مشاهده می‌شود، اختلاف در شرایط اجرای آزمایش ازجمله شدت و مدت تنش نیز باشد (Ahmadi et al., 2000). افزایش میزان کاروتنوئید در شرایط تنش گزارش شده است (Emadi et al., 2013). بر اساس پژوهش‌های انجام‌شده بر روی گندم مشخص شد ژنوتیپ‌های گندم مقاوم به خشکی دارای میزان کاروتنوئید و کلروفیل بیشتر بوده که علت آن فعالیت بیشتر آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان در مقایسه با ارقام حساس تحت شرایط تنش رطوبتی بود (Sairam and Saxena, 2000).

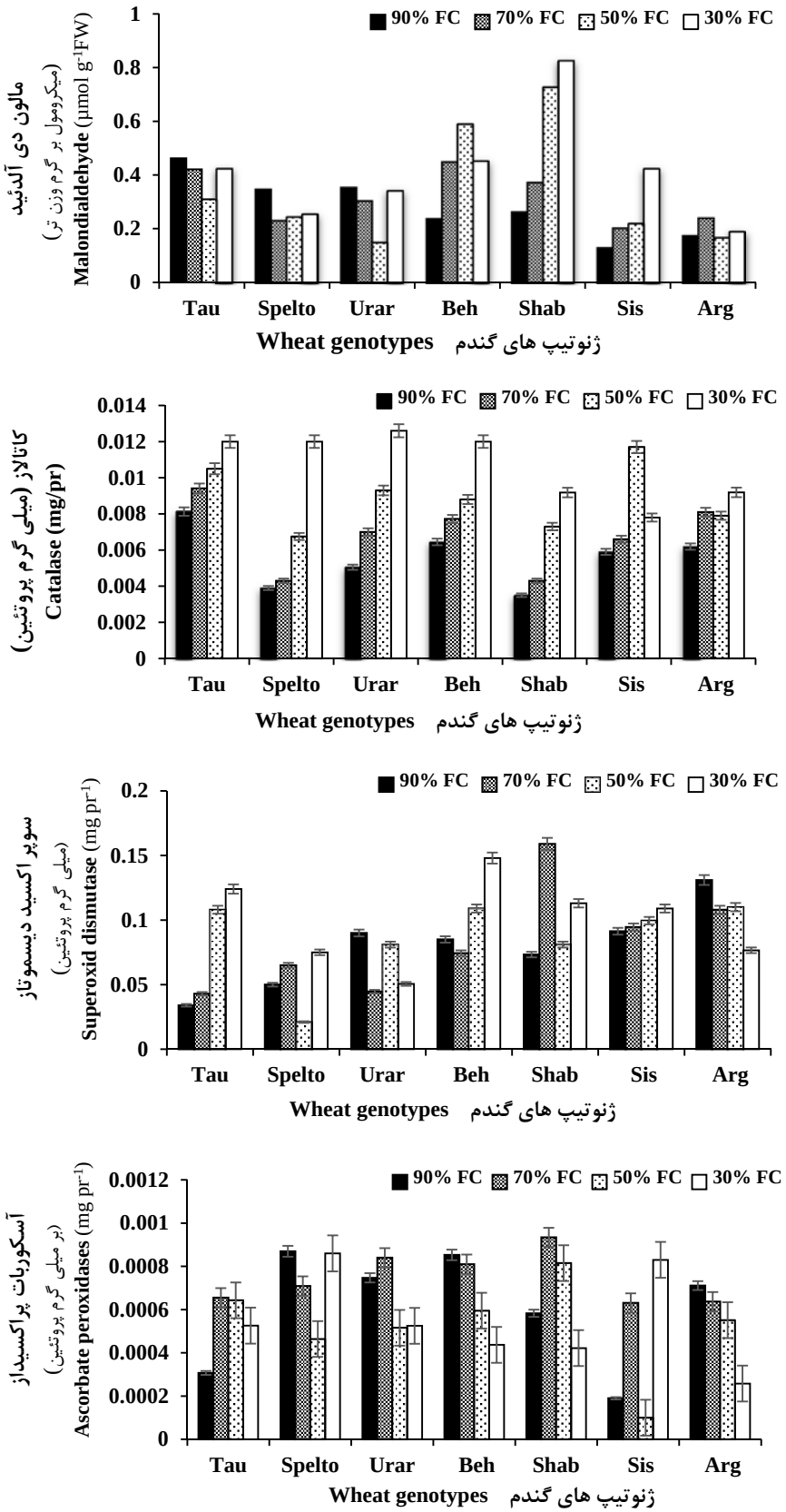
مالون دی‌آلدئید

نتایج تجزیه واریانس نشان داد که سطوح تنش، ارقام و اثر متقابل آن‌ها اثر معنی‌داری در سطح احتمال یک درصد بر مقدار مالون دی آلدئید یا پراکسیداسیون لیپیدی داشت (جدول ۱). در تحقیق حاضر در بین تمام سطوح تنش خشکی سطح ۵۰ درصد به ۳۰ درصد ظرفیت زراعی بیش‌ترین تغییر مالون دی‌آلدئید را داشت. در این بررسی اعمال تیمارهای تنش خشکی بر صفت MDA نتایج نشان داد که در بین ارقام با افزایش سطح تنش میزان MDA یا آسیب به غشا افزایش‌یافته که رقم شبرنگ با ۰/۸۲۶ میکرومول بر گرم برگ تازه ازنظر مالون دی آلدئید بیش‌ترین میزان را در شرایط تنش شدید (۳۰ درصد ظرفیت زراعی) داشت همچنین رقم سیستان با ۰/۱۳۱ میکرومول بر گرم وزن برگ تازه کمترین میزان را در حالت بدون تنش داشت (شکل ۲). در این تحقیق و در گیاهان مختلف در مطالعات گوناگون، افزایش پراکسیداسیون چربی و به دنبال آن کاهش شاخص پایداری غشاء سلول در گیاهانی مثل گندم (Sairam and Saxena, 2000)، در جو (Ahmad et al., 2013) و سویا (Anjum, 2011) در اثر تنش خشکی نسبت به شاهد گزارش شده است.



شکل ۱. مقایسه میانگین اثر تنش خشکی بر صفات مختلف فیزیولوژیکی ژنوتیپ های مختلف گندم ارگ (Arg)، سیستان (Sis)، شبرنگ (Shab)، بهرنگ (Beh)، اورارتو (Urar)، اسپلتوئیدز (Spelto) و تائوشی (Tau)

Fig. 1. Mean comparison of drought stress effect on different physiological traits of wheat genotypes, Argh (Arg), Sistan (Sis), Shabrang (Shabrang), Behrang (Beh), Urartu (Ura), Speltoides (Spelto) and Tauschii (Tau).



شکل ۲. مقایسه میانگین اثر تنش خشکی بر صفات مختلف بیوشیمیایی ژنوتیپ های مختلف گندم ارگ (Arg)، سیستان (Sis)، شبرنگ (Shab)، بهرنگ (Beh)، اورارتو (Urar)، اسپلتوئیدز (Spelto) و تائوشی (Tau)

Fig. 2. Mean comparison of drought stress effect on different biochemical traits in the wheat genotypes, Argh (Arg), Sistan (Sis), Shabrang (Shabrang), Behrang (Beh), Urartu (Ura), Speltoides (Spelto) and Tauschii (Tau)

فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی

با توجه به نتایج تجزیه واریانس داده‌ها، اثر ساده رقم و تنش و اثر متقابل رقم × تنش خشکی بر میزان فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی (کاتالاز، سوپر اکسید دیسموتاز و آسکوربات پراکسیداز) ارقام متفاوت گندم در سطح احتمال یک درصد معنادار بود (جدول ۱). در این آزمایش اعمال تیمارهای تنش خشکی بر آنزیم سوپر اکسید دیسموتاز نتایج نشان داد که در بین ارقام با افزایش سطح تنش خشکی میزان آنزیمSOD افزایش‌یافته که در رقم شبرنگ با ۰/۱۵۹ میلی‌گرم بر پروتئین بیش‌ترین میزان را در شرایط تنش ملایم (۷۰ درصد ظرفیت زراعی) و رقم اسپلتوئیدز با ۰/۰۲۱ میلی‌گرم بر پروتئین کمترین میزان این آنزیم در شرایط تنش متوسط (۵۰ درصد ظرفیت زراعی) داشت (شکل ۲). افزایش معنی‌داری در فعالیت آنزیم سوپر اکسید دیسموتاز در گیاهان تنش دیده نسبت به شاهد در این تحقیق مطابقت خوبی با گزارش‌های (Zhang and Kirkham, 1995; Borzoi, 2006) در گندم، جو (Simonovicova et al., 2004) در داشت. سوپر اکسید دیسموتاز به‌عنوان اولین خط دفاعی برای از بین بردن رادیکال آزاد اکسیژن وارد عمل می‌شود (Alscher et al., 2002)، بنابراین افزایش این آنزیم در این ارقام نشان‌دهنده دفاع از سلول در برابر رادیکال‌های آزاد اکسیژن و درنتیجه تولید و افزایش یک ماده سمی به نام هیدروژن پراکسید است؛ که در ادامه توسط دیگر اجزای سیستم دفاع آنتی‌اکسیدانی شامل کاتالاز و آسکوربات پراکسیداز تجزیه می‌شود.

آنزیم کاتالاز

بررسی اثر تنش خشکی بر میزان آنزیم سوپر اکسید دیسموتاز در طول دوره اعمال تنش خشکی نشان از اختلاف معنی‌داری در اثر ساده رقم، تنش و اثر متقابل رقم × تنش خشکی داشت (جدول ۱). فعالیت آنزیم‌های کاتالاز با افزایش تنش یک‌روند افزایشی داشت. با توجه به جدول مقایسه میانگین‌ها بیش‌ترین میانگین آنزیم کاتالاز مربوط به رقم اورارتو (۰/۰۱۲۶ میلی‌گرم بر پروتئین) در تنش شدید و کم‌ترین مقدار آن مربوط به رقم شبرنگ (۰/۰۰۳۵ میلی‌گرم بر پروتئین) در حالت شاهد بود (شکل ۲). با توجه به اینکه هیدروژن پراکسید (یک ماده بسیار سمی) در طی روند اعمال تنش خشکی توسط آنزیم سوپر اکسید دیسموتاز (به‌عنوان اولین خط دفاعی علیه گونه‌های فعال) تولید می‌شود باید سریعاً توسط سایر اجزای سیستم دفاع آنتی‌اکسیدانی به اجزای سازنده آن تجزیه شود لذا می‌توان گفت از دلایل افزایش آنزیم کاتالاز در این آزمایش تجزیه هیدروژن پراکسید به آب و اکسیژن است تا اثر سمیت آن را کاهش دهد. افزایش فعالیت آنزیم کاتالاز در شرایط تنش خشکی در گندم (Zhang and Kirkham, 1995; Kafi and Damghanii, 2000) و جو (Ahmed, 2013) و دیگر تحقیقات در گونه‌های مختلف گزارش شده است. خویشاوندان وحشی گیاهان زراعی پتانسیل بالایی ازلحاظ تحمل به تنش زیستی و غیر زیستی دارا هستند (Nevo and Chen, 2010). لذا به نظر می‌رسد افزایش فعالیت آنزیم کاتالاز در ارقام وحشی گندم، نمایانگر توانائی این ارقام جهت تحمل به شرایط تنش خشکی است.

آنزیم آسکوربات پراکسیداز

بررسی اثر تنش خشکی بر میزان آنزیم آسکوربات پراکسیداز در طول دوره اعمال تنش خشکی نشان از اختلاف معنی‌داری در اثر ساده رقم، تنش و اثر متقابل رقم × تنش خشکی داشت (جدول ۱). در این آزمایش نتایج نشان داد که در بین ارقام با افزایش سطح تنش خشکی میزان آنزیم آسکوربات پراکسیداز افزایش‌یافته که در رقم شبرنگ با ۰/۰۰۰۹۳۴ میلی‌گرم بر پروتئین بیش‌ترین میزان را در شرایط تنش ملایم (۷۰ درصد ظرفیت زراعی) و رقم سیستان با ۰/۰۰۰۱۰ میلی‌گرم بر پروتئین کمترین میزان این آنزیم در شرایط تنش متوسط (۵۰ درصد ظرفیت زراعی) داشت (شکل ۲). تحقیقات پیشین نشان داده است که کاتالاز و آسکوربات پراکسیداز نقش مکمل در مقابله با H_2O_2 دارند به‌طوری‌که کاهش کاتالاز موجب تولید آسکوربات پراکسیداز می‌شود (Willekens et al., 1997) لذا در این مطالعه کاهش فعالیت آسکوربات پراکسیداز با افزایش فعالیت کاتالاز همراه گردیده است. نکته‌ای که در تمام بررسی‌ها و تحقیقات به‌دست‌آمده است این است که تمام آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان در طی روند اعمال تنش خشکی افزایش پیدا نمی‌کنند بلکه بسته به نوع و غلظت تنش، گونه گیاهی، مرحله رشد و نمو گیاهی دسته خاصی از آنتی‌اکسیدان‌ها افزایش می‌یابد (Costa et al., 2005). اثرات متفاوت تنش بر فعالیت آنزیم APX در این تحقیق می‌تواند به‌این‌علت باشد که ارقام مختلف از سیستم‌های متفاوتی برای کاهش مقدار هیدروژن پراکسید (H_2O_2) استفاده کنند. همان‌طور که بیان شد با افزایش تنش مقدار آنزیم آسکوربات

پراکسیداز کاهش یافته است که با نتایج (Amini and Hadad, 2013) مطابقت داشت.

نتیجه‌گیری کلی

به‌طورکلی از نتایج به‌دست‌آمده چنین استنباط می‌شود اغلب صفات اندازه‌گیری شده به‌صورت معنی‌داری تحت تأثیر تیمارهای اعمال‌شده قرار داشته‌اند، با افزایش تنش خشکی پروتئین، کلروفیل a و b و کارتنوئید تا سطح ۵۰ درصد افزایش و سپس کاهش یافتند که برای پروتئین این کاهش معنی‌دار و برای کلروفیل a، کلروفیل b و کارتنوئید بی‌معنی بود. طبق بررسی‌های گذشته و نتایج این تحقیق مشخص شد که ارقام و ژنوتیپ‌های این تحقیق که مقاومت خاصی به تنش خشکی دارند از میزان پروتئین، کلروفیل و کارتنوئید بیشتری برخوردار هستند که علت این افزایش احتمالاً مرتبط با فعالیت بیشتر آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان در مقایسه با ارقام حساس‌تر باشد. به عبارتی افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان تحت تنش کمبود آب احتمالاً مانع از تجزیه پروتئین‌های گیاهی در تنش خشکی شده است. طبق نتایج تجزیه واریانس این تحقیق، فعالیت آنزیم‌های سوپر اکسید دیسموتاز و کاتالاز تحت تنش خشکی به‌طور معنی‌داری افزایش یافت به‌طوری‌که بین آنزیم‌های موردمطالعه، آنزیم آسکوربات پراکسیداز فعالیت کمی داشته و لذا احتمالاً نقش ضعیفی در محافظت گیاه از تنش خشکی ایفا می‌نماید؛ با تجزیه‌وتحلیل این آزمایش می‌توان نتیجه گرفت که رقم شبرنگ در فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانت بیش‌ترین میزان را داشت به‌طوری‌که در اکثر آزمایش‌ها برتری این رقم مشخص شده است و کمترین مقادیر صفات بیوشیمیایی مربوط به گونه هگزاپلوئید رقم سیستان بود لذا رقم سیستان از میان تمام ارقام در پایین‌ترین رده قرار گرفت.

منابع

Abdollahi, H., Ghahremani, Z., Erfaninia, K., Mehrabi, R., 2015. Role of electron transport chain of chloroplasts in oxidative burst of interaction between Erwinia amylovora and host cells. Photosynthesis Research. 124, 231–242.

Ahmad, P., 2010. Growth and antioxidant responses in mustard (*Brassica juncea* L.) plants subjected to combined effect of gibberellic acid and salinity. Archives of Agronomy and Soil Science. 56, 575-588.

Ahmadabadi, M., Ahmadi Tehrani, P., Omidi, M., Davoodi, D., 2005. Studies on interspecific caryotypic diversity in *Aegilops triuncialis* in north-western Iran. Journal of Agricultural Science. 36, 969-977. [In Persian with English summary].

Ahmadi, A. Child, A., Baker, A., 2000. Stomata factors limiting photosynthesis in wheat under drought stress. Journal of Agricultural Sciences. 31, 79-89.

Ahmed, I.M., Dai, H., Zheng, W., Cao, F., Zhang, G., Sun, D., Wu, F., 2013. Genotypic differences in physiological characteristics in the tolerance to drought and salinity combined stress between Tibetan wild and cultivated barley. Plant Physiology and Biochemistry. 63, 49-60.

Alonso, R., Elvira, S., Castillo, F.J., Gimeno, B.S., 2001. Interactive effects of ozone and drought stress on pigments and activities of antioxidative enzymes in *Pinus halepensis*. Plant, Cell and Environment. 24, 905-916.

Alscher, R.G., Erturk, N., Heath, L.S., 2002. Role of superoxide dismutases (SOD) in controlling oxidative stress in plant. Experimental Botany. 153, 1331-1341.

Amini, Z., Hadad, R., 2013. The role of photosynthetic pigments and antioxidant enzymes against oxidative stress. Journal of Cellular and Molecular Research, (Iranian Journal of Biology). 26, 265-251. [In Persian with English summary].

Anjum, S.A., Wang, L., Farooq, M., Khan, I., Xue, L., 2011. Methyl jasmonate-induced alteration in lipid peroxidation, antioxidative defence system and yield in soybean under drought. Journal of Agronomy and Crop Science. 197, 296-301.

Beachamp, C., Fridovich, F., 1971. Superoxide dismutase: improved assay and an assay applicable to acrylamide gels. Analytical Biochemistry. 44, 276-287.

Bhattacharjee, S., 2010. Sites of generation and physicochemical basis of formation of reactive oxygen species in plant cell. In: Gupta, S.D. (ed.), Reactive Oxygen Species and Antioxidants in Higher Plants, 1–30. Science Pub. Edenbridge Ltd. British Channel Island. New Hampshire. USA. CRC Press (Taylor and Francis)

Borzoi, A., Khazaei, H., Shahriari. F., 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.

Bradford, M., 1976. A rapid and sensitive method for the quantization of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. Analytical Biochemistry, 72, 248-254.

Chaves, M.S., Martinelli, J.A., Wesp-Guterres, C., Graichen, F.A.S., Brammer, S.P., Scagliusi, S.M., Consoli, L., 2013. The importance for food security of maintaining rust resistance in wheat. Food Security. 5, 157-176.

Costa, P.H.A.D., Neto, A.D.D.A., Bezerra, M.A., Prisco, J.T., Gomes-Filho, E., 2005. Antioxidant-enzymatic system of two sorghum genotypes differing in salt tolerance. Brazilian Journal of Plant Physiology. 17, 353-362.

Emadi, N., Jahangin, Sh., Balochi, h. R., 2013. Effect of drought Stress and plant density on yield and some physiological characters of pinto bean (*Phaseolus vulgaris* L.) in Yasouj region. Journal of Crop Production. 5(2), 1-17. [In Persian with English summary].

FAO., 2013. Published online at: Http//faostate.fao.org/sit /339/default.aspx.

Farooq, M., Bramley, H., Palta, J.A., Siddique, K.H., 2011. Heat stress in wheat during reproductive and grain-filling phases. Critical Reviews in Plant Sciences, 30, 491-507.

Fedoroff, N.V., Battisti, D.S., Beachy, R.N., Cooper, P.J., Fischhoff, D.A., Hodges, C.N., Reynolds, M.P., 2010. Radically rethinking agriculture for the 21st century. Science. 327, 833-834.

Ferreira, I. C., Abreu, R., 2007. Stress oxidativo, antioxidantes e fitoquímicos. Bioanálise. 2, 32-39.

Foyer, C. H., Lelandais, M., Kunert, K.J., 1994. Photooxidative stress in plants. Physiologia Plantarum. 92, 696-717.

Ghasemi Pirbalouti, A., Samani, M.R., Hashemi, M., Zeinali, H., 2014. Salicylic acid affects growth, essential oil and chemical compositions of thyme (*Thymus daenensis* Celak.) under reduced irrigation. Plant Growth Regulation. 72, 289-301.

Gill, S.S., Tuteja, N., 2010. Reactive oxygen species and antioxidant machinery in abiotic stress tolerance in crop plants. Plant Physiology and Biochemistry. 48, 909-930.

Gregersen, P.L., Holm, P.B., 2007. Transcriptome analysis of senescence in the flag leaf of wheat (*Triticum aestivum* L.). Journal of Plant Biotechnology. 5, 192-206.

Gupta, B., Huang, B., 2014. Mechanism of salinity tolerance in plants: physiological, biochemical, and molecular characterization. International Journal of Genomics. 1-18. Article ID 701596

Hassani, M., Salami, S.A., Nasiri, J., Abdollahi, H. Ghahremani, Z., 2016. Phylogenetic analysis of PR genes in some pome fruit species with the emphasis on transcriptional analysis and ROS response under *Erwinia amylovora* inoculation in apple. Genetica. 144, 9-22.

Heath, R.L., Packer, L., 1968. Photoperoxidation in isolated chloroplasts. I. Kinetics and stoichiometry of fatty acid peroxidation. Archives of Biochemistry and Biophysics.125, 189-198.

Janda, T., Kosa, E.L., Szalai. G., Paldi, E., 2005. Investigatin of antioxidant activity of maize during low temperature stress. Journal of Plant Physiology. 49, 53-54.

Kamelmanesh, M., Bagherizadeh, M., Javanmadi, Sh., 2010. Effect of drought stress on ionic content changes, soluble carbohydrate content, chlorophyll content and relative water content in white bean genotypes. The 2nd National Conference on Agriculture and Sustainable Development, Opportunities and Challenges. Islamic Azad University of Shiraz. [In Persian].

Kafi, M., Bagheri, A., Nabati, J., Zare Mehrjerdi, M., Masoumi, AS., 2010. Effect of salinity stress on some physiological variables of 11 chickpea genotypes in hydroponic environment. Journal of Greenhouse Culture Science and Technology. 4, 55-69. [In Persian with English summary].

MacAdam, J.W., Nelson, C.J., Sharp, R.E., 1992. Peroxidase activity in the leaf elongation zone of tall fescue I. Spatial distribution of ionically

bound peroxidase activity in genotypes differing in length of the elongation zone. Plant Physiology. 99, 872-878.

Neidzwiedz, I., Bogatek, R., Come, D., Coibineau, F., 2004. Effects of drying rate on dehydration sensitivity of excised wheat seedling shoots as related to sucrose metabolism and antioxidant enzyme activities. Plant Science. 167, 879-888.

Nevo, E., Chen, G., 2010. Drought and salt tolerances in wild relatives for wheat and barley improvement. Plant, Cell and Environment. 33, 670-685.

Pessarkli, M., 1999. Handbook of Plant and Crop Stress. Marcel Dekker Inc. 697p.

Reddy, M.P. Vora, A.B., 1986. Changes in pigment composition, Hill reaction activity and saccharides metabolism in Bajra (*Pennisetum typhoides* S and H) leaves under NaCl salinity. Photosynthetica. 20, 50-55.

Rossatto, T., do Amaral, M.N., Benitez, L.C., Vighi, I.L., Braga, E.J.B., de Magalhaes Júnior, A.M., da Silva Pinto, L., 2017. Gene expression and activity of antioxidant enzymes in rice plants, cv. BRS AG, under saline stress. Physiology and Molecular Biology of Plants, 23, 865-875.

Sairam, R.K., Srivastava, G.C., 2001. Water stress tolerance of wheat (*Triticum aestivum* L.): variations in hydrogen peroxide accumulation and antioxidant activity in tolerant and susceptible genotypes. Journal of Agronomy and Crop Science, 186, 63-70.

Sarmedinia, Gh., Koocheki, A., 1992. Physiological Aspects of Dry Farming. Ferdowsi University of Mashhad Publication. 280 p. [In Persian].

Sharma, P., Jha, A.B., Dubey, R.S., Pessarakli, M., 2012. Reactive oxygen species, oxidative damage, and antioxidative defense mechanism in plants under stressful conditions. Journal of Botany.

Simonovicova, A., Bartekova, J., Janovova, L., Luptakova, A., 2010. Behaviour of Fe, Mg and Ca in acid mine drainage and experimental solutions in the presence of *Aspergillus niger* species isolated from various environment. Nova Biotechnology. 10, 63-69.

Simonovicova, M., Tamas, L., Huttová, J., Mistrik, I., 2004. Effect of aluminium on oxidative stress related enzymes activities in barley roots. Biologia Plantarum. 48, 261-266.

Singh, D., Yadav, N.S., Tiwari, V., Agarwal, P. K., Jha, B., 2016. A SNARE-like superfamily protein SbSLSP from the halophyte *Salicornia brachiata* confers salt and drought tolerance by maintaining membrane stability, K^+/Na^+ ratio, and antioxidant machinery. Frontiers in Plant Science. 7, 1-15.

Sishen, L., Xianyun Wei, J.J., Linzhi Li, X.Z.h., Chen, H., Fan, Y., Sun, H., Zhao, X., Yunfong Xu, T., Jiang, F., Wang, H., Lihui, L., 2007. An intervarietal genetic map and QTL analysis for yield traits in wheat. Molecular Breeding. 20, 167-178.

Smirnoff, N., 1996. The function and metabolism of ascorbic acid in plants. Annals of Botany. 78, 661-669.

Sofo, A., Scopa, A., Nuzzaci, M., Vitti, A., 2015. Ascorbate peroxidase and catalase activities and their genetic regulation in plants subjected to drought and salinity stresses. International Journal of Molecular Sciences, 16, 13561-13578.

Tahkokorpi, M., 2010. Anthocyanins under drought and drought-related stresses in blueberry (*Vaccinium myrtillus* L.). Acta Universitatis Ouluensis: A Scientiae Rerum Naturalium. 556, 1-46.

Tak, H., Negi, S., Ganapathi, T.R., 2017. Banana NAC transcription factor MusaNAC042 is positively associated with drought and salinity tolerance. Protoplasma. 254, 803-816.

Thirumalaikumar, V. P., Devkar, V., Mehterov, N., Ali, S., Ozgur, R., Turkan, I., Balazadeh, S., 2018. NAC transcription factor JUNGBRUNNEN 1 enhances drought tolerance in tomato. Plant Biotechnology Journal. 16, 354-366.

Vojdani, P., 1996. Importance of protection methods in natural origin and that’s role in protect and use from plant resources. Proceedings of 4th Iranian Crop Sciences Congress. Esfahan University. 554-573. [In Persian].

Vrancken, K., Holtappels, M., Schoofs, H., Deckers, T., Valcke, R., 2013. Pathogenicity and infection strategies of the fire blight pathogen *Erwinia amylovora* in Rosaceae: state of the art. Microbiology. 159, 823-832.

Wang, M.J., Zhang, Y., Lin, Z.S., Ye, X.G., Yuan, Y.P., Ma, W., Xin, Z.Y., 2010. Development of EST-PCR markers for Thinopyrum intermedium chromosome 2Ai# 2 and their application in characterization of

novel wheat-grass recombinants. Theoretical and Applied Genetics. 121, 1369-1380.

Willekens, H., Chamnongpol, S., Davey, M., Schraudner, M., Langebartels, C., Van Montagu, M., Van Camp, W., 1997. Catalase is a sink for H_2O_2 and is indispensable for stress defence in C3 plants. The EMBO Journal. 16, 4806-4816.

Xu, X., Peng, G., Wu, C., Korpelainen, H., Li, C., 2008. Drought inhibits photosynthetic capacity more in females than in males of *Populus cathayana*. Tree Physiology. 28, 1751-1759.

Yong, Z., T. Hao-Ru., L. Ya., 2008. Variation in antioxidant enzyme activities of two strawbreey cultivars with short-term low temperature stress. Journal of Agricultural Sciences. 4, 456-462.

Zhang, J., Kirkham, M. B., 1995. Water relations of water-stressed, split-root C4 (*Sorghum bicolor*; Poaceae) and C3 (*Helianthus annuus*; Asteraceae) plants. American Journal of Botany.1220-1229.

Zhang, P.P., Feng, B.L., Wang, P.K., Dai, H. P., Song, H., Gao, X.L., Chai, Y., 2012. Leaf senescence and activities of antioxidant enzymes in different broomcorn millet (*Panicum miliaceum* L.) cultivars under simulated drought condition. Journal of Food, Agriculture and Environment. 10, 438-444.

Zhao, Z., Cai, Y., Fu, M., Bai, Z., 2008. Response of the soils of different land use types to drought: eco-physiological characteristics of plants grown on the soils by pot experiment. Ecological Engineering. 34, 215-222.