Cereal Biotechnology and Biochemistry

Online ISSN: 2783-5170

Homepage: https://cbb.razi.ac.ir

Investigation of activity of antioxidant enzymes under drought stress conditions in some bread wheat advanced genotypes

Atefeh Esmaeili [1], Alireza Zebarjadi [2,5] ✉, Abdolah Nadjaphy [3,5] & Mohsen Saeidi [4,5]

[1] Department of Plant Production and Genetics, Campus of Agriculture and Natural Resources, Razi University, Kermanshah, Iran. E-mail: atefeh.esmaeili22@yahoo.com

[2]✉ Department of Plant Production and Genetics, Campus of Agriculture and Natural Resources, Razi University, Kermanshah, Iran. E-mail: zebarjadi@razi.ac.ir

[3] Department of Plant Production and Genetics, Campus of Agriculture and Natural Resources, Razi University, Kermanshah, Iran. E-mail: nadjaphy@yahoo.com

[4] Department of Plant Production and Genetics, Campus of Agriculture and Natural Resources, Razi University, Kermanshah, Iran. E-mail: msaeidi@razi.ac.ir

[5] Cereal Research Center, Razi University, Kermanshah, Iran.

ABSTRACT

Introduction: Wheat is one of the main cereals in cultivated areas and production rate worldwide. This product is the primary source of carbohydrates and protein in the human diet, and almost half of Iran's agricultural land is under wheat cultivation. On the other hand, drought stress stimulates a wide range of plant responses, from physiological and biochemical to molecular, and causes oxidative damage in plants. Plants use antioxidant enzymes to deal with these stresses. Regarding the role and importance of antioxidant enzymes, the activity of these enzymes in irrigation and drought conditions was investigated in some wheat genotypes.

Materials and methods: In this research, the activity of peroxidase, catalase, superoxide dismutase enzymes and grain yield for 20 advanced bread wheat genotypes under drought stress conditions was carried out. The experiment was laid out in a randomized complete block design with three replications in two conditions, irrigated and rainfed conditions. The present research was carried out in the Research Field of the Department of Plant Production and Genetics, Campus of Agriculture and Natural Resources, Razi university.

Results: Based on the simple analysis of variance, genotypes showed significant differences in the activity of all three enzymes, peroxidase, catalase, and superoxide dismutase. The effect of environment, genotype, and the interaction effect of environment × genotype were significant for catalase, peroxidase, and superoxide dismutase enzyme activity, where the data were analyzed in the form of combined analysis. In irrigation conditions, the highest activity of peroxidase enzyme was observed in Genotype 12, catalase in Genotype 10 and superoxide dismutase in Genotype 15. In this condition, the lowest activity of peroxidase enzyme was observed in Genotype 11, catalase in Genotype 11 and superoxide dismutase in Genotype 7. Also, in dryland conditions, the highest level of peroxidase enzyme activity was observed in Genotypes 6, catalase in Genotype 2 and superoxide dismutase in Genotype 15, and the lowest level of peroxidase enzyme activity was observed in Genotypes 4, catalase in Genotype 8 and superoxide dismutase in Genotype 1. In terms of seed yield trait, the highest amount in irrigation conditions is related to Genotypes 10, 7, and 8, and the lowest amount is related to Genotypes 12, 13, and 11. In dryland conditions, the highest yield is related to Genotypes 4, 10, and 17, and the lowest level is related to Genotype 9.

Conclusion: The results showed that the activity level of peroxidase, catalase, and superoxide dismutase enzymes is higher in drought environment than in irrigated conditions, and different genotypes show different responses to drought stress. In fact, the activity of antioxidant enzymes increased with drought stress. In fact, plants increase the activity of their antioxidant enzymes to deal with drought stress, eliminate oxygen free radicals, and deal with the oxidative stress that has occurred and affects the grain yield by spending energy. Based on this, knowing more about antioxidant factors and the factors affecting them, valuable solutions can be adopted to deal with drought stress in plants.

Keywords: Active Oxygen, Drought condition, Catalase.

Article Type: Research Article

Article history: Received: 22/10/2022, **Revised:** 14/12/2022, **Accepted:** 21/12/2022, **Published online:** 26/12/2022

Cite this article: Esmaeili, A., Zebarjadi, A. R., Nadjaphy, A. & Saeidi, M. (2022). Investigation of activity of antioxidant enzymes under drought stress conditions in some bread wheat advanced genotypes. Cereal Biotechnology and Biochemistry. 1 (4). 496-509. DOI: 10.22126/cbb.2022.8408.1023

© The Author(s).

Publisher: Razi University

10.22126/cbb.2022.8408.1023

بیوتکنولوژی و بیوشیمی غلات

شاپا الکترونیکی: ۵۱۷۰-۲۷۸۳

Homepage: https://cbb.razi.ac.ir

بررسی میزان فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدان تحت شرایط تنش خشکی در برخی ژنوتیپ‌های پیشرفته گندم نان

عاطفه اسماعیلی[۱]، علیرضا زبر جدی[۲و۵] ✉، عبداله نجفی[۳و۵] و محسن سعیدی[۴و۵]

[۱] گروه مهندسی تولید و ژنتیک گیاهی، دانشکده علوم و مهندسی کشاورزی، پردیس کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه رازی، کرمانشاه، ایران. رایانامه: atefeh.esmaeili22@yahoo.com

[۲] ✉ گروه مهندسی تولید و ژنتیک گیاهی، دانشکده علوم و مهندسی کشاورزی، پردیس کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه رازی، کرمانشاه، ایران. رایانامه: zebarjadi@razi.ac.ir

[۳] گروه مهندسی تولید و ژنتیک گیاهی، دانشکده علوم و مهندسی کشاورزی، پردیس کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه رازی، کرمانشاه، ایران. رایانامه: nadjaphy@yahoo.com

[۴] گروه مهندسی تولید و ژنتیک گیاهی، دانشکده علوم و مهندسی کشاورزی، پردیس کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه رازی، کرمانشاه، ایران. رایانامه: msaeidi@razi.ac.ir

[۵] مرکز تحقیقات غلات، دانشگاه رازی، کرمانشاه، ایران.

چکیده

مقدمه: گندم یکی از غلات اصلی از لحاظ سطح زیر کشت و میزان تولید در جهان به شمار می‌رود. این محصول منبع اصلی کربوهیدرات و پروتئین در رژیم غذایی انسان به‌شمار می‌رود و تقریباً نیمی از زمین‌های زراعی ایران نیز تحت کشت گندم قرار دارد. از طرفی، تنش خشکی طیف وسیعی از پاسخ‌های گیاهی اعم از فیزیولوژیکی، بیوشیمیایی تا مولکولی را تحریک می‌کند و موجب صدمات اکسیداتیو در گیاهان می‌شود و گیاهان از آنزیم‌های ضد اکسنده برای مقابله با این تنش‌ها بهره می‌برند. از این رو، با توجه به نقش و اهمیت آنزیم‌های ضد اکسنده، نحوه فعالیت این آنزیم‌ها در شرایط دیم و آبی در برخی ژنوتیپ‌های گندم بررسی شد.

مواد و روش‌ها: در این تحقیق به بررسی میزان فعالیت آنزیم‌های پراکسیداز، کاتالاز و سوپراکسید دیسموتاز برای ۲۰ ژنوتیپ پیشرفته گندم نان تحت شرایط تنش خشکی در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی با سه تکرار و در دو شرایط تنش کمبود آب (دیم) و بدون تنش پرداخته شد. تحقیق حاضر در مزرعه تحقیقاتی گروه مهندسی تولید و ژنتیک گیاهی، پردیس کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه رازی اجرا گردید.

یافته‌ها: بر اساس نتایج حاصل از تجزیه واریانس ساده، ژنوتیپ‌ها از نظر فعالیت هر سه آنزیم پراکسیداز، کاتالاز، سوپراکسید دیسموتاز و عملکرد دانه اختلاف معنی‌داری نشان دادند. همچنین در تجزیه واریانس مرکب برای صفات بیوشیمیایی، اثر محیط، اثر ژنوتیپ و اثر متقابل محیط × ژنوتیپ نیز برای فعالیت آنزیم کاتالاز، پراکسیداز، سوپراکسید دیسموتاز و عملکرد دانه معنی‌دار بود. در شرایط آبی بیشترین میزان فعالیت آنزیم پراکسیداز در ژنوتیپ ۱۲، کاتالاز در ژنوتیپ ۱۰ و سوپراکسید دیسموتاز در ژنوتیپ ۱۵ مشاهده شد و کم‌ترین میزان فعالیت آنزیم پراکسیداز در ژنوتیپ ۱۱، کاتالاز در ژنوتیپ ۱۱ و سوپراکسیددیسموتاز در ژنوتیپ ۷ بود. همچنین در شرایط دیم بیشترین میزان فعالیت آنزیم پراکسیداز در ژنوتیپ ۶، کاتالاز در ژنوتیپ ۲ و سوپراکسیددیسموتاز در ژنوتیپ ۱۵ مشاهده شد و کم‌ترین میزان فعالیت آنزیم پراکسیداز در ژنوتیپ ۴، کاتالاز در ژنوتیپ ۸ و سوپراکسیددیسموتاز در ژنوتیپ ۱ بود. از نظر صفت عملکرد دانه نیز بیشترین میزان در شرایط آبی مربوط به ژنوتیپ‌های ۱۰، ۷ و ۸ و کمترین میزان عملکرد مربوط به ژنوتیپ‌های ۱۲، ۱۳ و ۱۱ بود. در شرایط دیم بیشترین میزان عملکرد مربوط به ژنوتیپ‌های ۴، ۱۰ و ۱۷ و کمترین میزان مربوط به ژنوتیپ ۹ بود.

نتیجه‌گیری: نتایج نشان داد که میزان فعالیت آنزیم‌های پراکسیداز، کاتالاز و سوپراکسید دیسموتاز در محیط دیم بیشتر از آبی است و ژنوتیپ‌های مختلف، پاسخ‌های متفاوتی به تنش خشکی نشان می‌دهند. در واقع می‌توان گفت گیاهان برای مقابله با تنش خشکی و از بین بردن اکسیژن‌های رادیکال‌های آزاد و مقابله با تنش اکسیداتیو حادث شده، فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدانت خود را افزایش می‌دهند و با صرف انرژی بر میزان عملکرد دانه تأثیر می‌گذارند. بر این اساس، با شناخت بیشتر عوامل ضد اکسنده و عوامل مؤثر بر آن‌ها می‌توان راهکارهای مفیدی را برای مواجه با تنش خشکی در گیاهان اتخاذ نمود.

واژه‌های کلیدی: اکسیژن فعال، شرایط دیم، کاتالاز.

نوع مقاله: مقاله پژوهشی

نوع مقاله: دریافت: ۱۴۰۱/۰۷/۳۰ **اصلاح:** ۱۴۰۱/۰۹/۲۳ **پذیرش:** ۱۴۰۱/۰۹/۳۰، **انتشار آنلاین:** ۱۴۰۱/۱۰/۰۵

استناد: اسماعیلی، ع.، زبرجدی، ع. ر.، نجفی، ع. و سعیدی، م. (۱۴۰۱). بررسی میزان فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدان تحت شرایط تنش خشکی در برخی ژنوتیپ‌های پیشرفته گندم نان. بیوتکنولوژی و بیوشیمی غلات. ۱ (۴). ۵۰۹-۴۹۶. DOI: 10.22126/cbb.2022.8408.1023

ناشر: دانشگاه رازی

© نویسندگان.

CC BY NC

مقدمه

خشکی یکی از عوامل اجتناب‌ناپذیری است که در محیط-های مختلف بدون هشدار از مرزها عبور کرده است و در نتیجه باعث ایجاد اختلال در زیست‌توده، تولید و کیفیت محصول می‌شود. این تنش مهم محیطی به دلیل بالابودن دما، شدت نور و بارندگی کم رخ می‌دهد (Seleiman *et al*., 2021). گندم یکی از غلات اصلی در جهان و منبع اصلی کربوهیدرات و پروتئین در رژیم غذایی انسان محسوب می‌شود (Yang *et al*., 2022).

تنش خشکی به عنوان یک تنش چندبعدی، طیف وسیعی از پاسخ‌های گیاهی اعم از فیزیولوژیکی، بیوشیمیایی تا مولکولی را تحریک می‌کند (Moayedinezhad *et al*., 2022). کمبود آب می‌تواند موجب صدمات اکسیداتیو شود. بنابراین سلول‌های گیاهی به سازوکارهای مختلف برای سم-زدایی اکسیژن فعال اضافی[1] (ROS) نیاز دارند (Kavas *et al*.,2013). کمبود آب در گیاه باعث افزایش مقادیر اشکال اکسیژن فعال (ROS) از قبیل آنیون سوپراکساید (O_2)، پراکسید هیدروژن(H_2O_2)، رادیکال هیدروکسیل (HO) و اکسیژن منفرد (O_2) می‌شود. این مولکول‌های فعال موجب صدمه به ماکرومولکول‌ها و نیز ساختار سلولی گردیده یا اینکه به‌عنوان مولکول منفرد موجب فعال شدن سلسله پاسخ‌های دفاعی گیاه می‌گردند. گیاهان از دو سیستم آنزیمی و غیر آنزیمی برای دفاع در مقابل گونه‌های اکسیژن فعال استفاده می‌نمایند. گیاهان برای مقابله با این تنش اکسیداتیو، یک سیستم دفاعی با کارایی بالایی دارند که قادر هستند رادیکال‌های آزاد را نابود و خنثی نمایند. آنزیم‌های مؤثر در این سیستم دفاعی عبارتند از سوپراکسید دیسموتاز[2] (SOD)، کاتالاز[3] (CAT)، آسکوربات پراکسیداز[4] (APX) و گلوتاتیون ردوکتاز[5] (GR) (Blokhin *et al*.,2003). آنزیم‌های PRX، CAT و APX نقش مشابهی را در سیستم دفاعی گیاهان ایفا می‌کنند. وظیفه این سه آنزیم سم‌زدایی و تجزیه پراکسید هیدروژن تولید شده در سلول‌ها می‌باشد (Adriano *et al*., 2005). سعیدی و همکاران (Saeidi *et al*., 2018) بیان کردند که در برخی از گونه‌های گیاهی، آسیب ناشی از گرما یا خشکی، سبب تحریک تنش اکسیداتیو شده که منجر به تولید و انباشته شدن انواع اکسیژن سمی نظیر رادیکال‌های سوپراکسید، آب اکسیژنه و رادیکال‌های هیدروکسیل می‌شود. انواع اکسیژن فعال که طی تنش تولید می‌شوند، می‌توانند به برخی از ترکیبات سلولی نظیر چربی‌ها، پروتئین‌ها، کربوهیدرات‌ها و اسیدهای نوکلئیک آسیب برسانند. در آزمایشی با هدف ارزیابی ویژگی‌های فتوسنتزی و قابلیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانت برگ‌های ژنوتیپ‌های گندم که در معرض تنش قرار گرفته‌اند، نشان داده شد که یک رابطه ژنتیکی مشخصی بین تحمل ژنوتیپ‌های گندم با سطح فعالیت

[1] Reactive oxygen species

[2] Superoxide dismutase
[3] Catalase
[4] Ascorbate peroxidase
[5] Glutathione reductase

آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانت وجود دارد (Huseynova, 2012).

در طی آزمایشی که با هدف بررسی تحمل اکسیداتیو در دو رقم گندم نان در واکنش به تنش خشکسالی انجام شد، بیان شد که پاسخ آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی به تنش خشکی، به طور قابل ملاحظه‌ای در برگ‌های گندم نان بعد از دوره آبرسانی به‌خصوص در ارقام حساس فعال می‌شود (Alghamdi, 2009). یکی از عوامل مهم در بالابردن مقاومت گیاهان به تنش رطوبتی، افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان است که با ایجاد مکانیسم دفاعی مؤثر در مقابل گونه‌های اکسیژن فعال، آن‌ها را در مقابل واکنش اکسیداتیو و تخریبی محافظت خواهد کرد (Akbarian & Arzani, 2015).

آنزیم SOD یک آنزیم ضداکسنده می‌باشد که در گیاه نقش حفاظتی را به عهده دارد. SOD به عنوان یکی از آنزیم ها نقش تبدیل رادیکال های O_2 را به H_2O_2 بر عهده دارد و نقش مهمی را در جلوگیری از تنش اکسیداتیو ناشی از تنش خشکی ایفا می‌کند. افزایش فعالیت این آنزیم همزمان با افزایش فعالیت آنزیم POD باعث می‌شود که اثرات منفی تنش اکسنده به دست آمده از رادیکال های فعال اکسیژن، کمتر شود و در نتیجه مقاومت بیشتری نسبت به تنش خشکی ایجاد شود (Amini *et al.*, 2014). تنش خشکی در ارقام مختلف گندم سرعت آنزیم SOD را نسبت به دو آنزیم CAT و POD بیشتر بالا می برد (Shao *et al.*, 2005). از طرفی، هنگامی که فعالیت آنزیم SOD کاهش می‌یابد، رادیکال سوپراکسید تجمع پیدا می‌کند و این رادیکال با پراکسید هیدروژن ترکیب شده و با اجرای واکنش هابر - ویز رادیکال بسیار خطرناک هیدروکسیل را به وجود می‌آورد (Mittler *et al.*, 2004).

یکی دیگر از آنزیم‌های ضداکسنده، آنزیم CAT می‌باشد. H_2O_2 در بسیاری از شرایط تنش نقش دارد. هنگامی که سلول‌ها برای تولید انرژی تحت فشار هستند و به سرعت در حال تولید H_2O_2 از طریق فرآیندهای کاتابولیکی هستند، H_2O_2 توسط CAT با صرف انرژی کارآمد تجزیه می شود (Mallick & Mohen, 2000). آنزیم CAT در سلول های گیاهی تنها در پراکسی‌زوم و گلی اکسی‌زوم مستقر می‌باشد که از یون‌های فلزی به عنوان کوفاکتور استفاده می‌کند. با مقایسه نقش آنزیم‌های آنتی اکسیدان و پرولین در تحمل به خشکی می‌توان گفت که آنزیم‌های آنتی اکسیدان به ویژه پراکسیداز در مقایسه با پرولین نقش مهم تری در حفظ و پایداری عملکرد و اجزای عملکرد کلزا دارند (Jabbari *et al.*, 2014). با افزایش میزان CAT به دلیل نقش آن در زدودن H_2O_2 از محیط، به کاهش تنفس نوری و کاهش نقطه جبرانی CO_2 نیز کمک می‌کند. CAT علاوه بر این که H_2O_2 را از محیط حذف می‌کند، کمبود اکسیژن حاصل از واکنش مهلر را نیز جبران می‌کند (Taleahmad & Hadad, 2010).

دیگر آنزیم اکسیدانت، POD می‌باشد، فعالیت بالای POD نیز با مقاومت نسبی گیاهان زراعی به تنش خشکی در ارتباط است (Gillham & Dodge, 1987). تنش آب به عنوان یک عامل تنش‌زای دیگر می‌تواند تجمع لایه هایی از POD را افزایش دهد (Huseynova, 2012). نظام POD گیاهان به صورت آیزوزایم‌های چندگانه موجود است که به طور دقیق تنظیم شده و در پاسخ به محرک های محیطی فعال می گردد. افزایش در فعالیت این آنزیم از جمله پاسخ‌های عمومی به انواع تنش‌های اکسیدکننده می‌باشد (Taleahmad & Hadad, 2010). در مطالعه‌ای روی گیاه ذرت به منظور بررسی الگوی ایزوزیمی آنزیم های آنتی‌اکسیدان بیان شد که ایزوزایم های CAT، POD، SOD را می‌توان به عنوان ایزوزیم هایی که تحت تنش خشکی در شناسایی ژنوتیپ های برتر کمک می‌کنند و کارایی بالایی در برنامه‌های بهنژادی مولکولی ذرت دارند، معرفی نمود (Mafakheri *et al*., 2022). از این رو با توجه به نقش آنزیم‌های ضد اکسنده، نحوه فعالیت این آنزیم ها در شرایط دیم و آبی در برخی ژنوتیپ‌های گندم بررسی شد.

مواد و روش‌ها

تحقیق حاضر در مزرعه تحقیقاتی گروه مهندسی تولید و ژنتیک گیاهی، پردیس کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه رازی اجرا گردید. بذور گندمنان از بخش غلات مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی کرمانشاه تهیه گردید. ارزیابی ژنوتیپ‌ها در قالب طرح بلوک های کامل تصادفی با سه تکرار و با تراکم حدود ۴۰۰ بوته در متر مربع در دو شرایط تنش کمبود آب (دیم) و بدون تنش انجام پذیرفت. برای سهولت، ژنوتیپ‌ها از شماره ۲۰-۱ نام گذاری شدند (جدول۱). مزرعهٔ تحقیقاتی پردیس کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه رازی کرمانشاه در طول جغرافیایی ۴۷ درجه و ۹ دقیقه و عرض جغرافیایی ۳۴ درجه و ۲۱ دقیقه و ارتفاع ۱۳۱۹ متر از سطح دریا واقع شده است. مقادیر بارندگی مربوط به سال ۹۲-۱۳۹۱ و همچنین میانگین دمای هوا در سال زراعی که کشت انجام شد، در جدول ۲ آمده است. کشت در تاریخ ۱۳۹۱/۸/۱۱ انجام شد و اولین بارندگی پس از کاشت (۱۳۹۱/۸/۲۲) به‌عنوان تاریخ کشت در نظر گرفته شد.

جدول ۱- مشخصات ژنوتیپ‌های مورد مطالعه.

Table 1. Characteristics of studied genotypes.

کد ژنوتیپ	نام ژنوتیپ	کد ژنوتیپ	نام ژنوتیپ
Genotype code	Genotype name	Genotype code	Genotype name
1	Parsi	11	AR-M-25
2	Sivand	12	AR-M-27
3	AR-M-8	13	PwSn3033

4	PwSn3035	14	PwSn3037
5	PwSn3045	15	AR-M-30
6	AR-M-14	16	AR-M-31
7	AR-M-15	17	PwSn3029
8	AR-M-16	18	A-M-35
9	AR-M-17	19	O-N-11
10	AR-M-20	20	REZAOO

جدول ۲- میانگین دما و بارش ماهانه در سال زراعی ۹۲-۹۱.

Table 2. A**verage temperature and monthly precipitation in growing season 2012-2013.**

ماه Month	بارندگی Rainfall (mm)	متوسط دما Mean temperature (Cº)	میانگین رطوبت نسبی Mean relative humidity (%)	تعداد روز یخبندان No. freezing days
مهر Octobr	2.0	20.1	27	0
آبان November	115.3	12.8	62	0
آذر December	62.4	6.3	68	15
دی January	52.4	2.8	61	21
بهمن February	61.0	6.9	56	15
اسفند March	19.2	8.9	52	10
فروردین April	10.7	13.4	42	5
اردیبهشت May	69.5	15.1	44	0
خرداد June	0.2	23.3	54	0
Total	292.7	-	-	66

روش عصاره‌گیری برای اندازه‌گیری سرعت فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی

به‌منظور عصاره‌گیری آنزیم‌های آنتی اکسیدانی ۵۰ میلی‌لیتر بافر استخراج تهیه شد. در این روش ابتدا ۰/۶۰۷ گرم تریس را با ۰/۰۵ گرم PVP[6] در ۴۰ میلی‌لیتر آب مقطر به خوبی حل نموده و پس از قرار دادن محلول در داخل یخچال و رساندن دمای آن به چهار درجه سانتی گراد، pH محلول توسط اسیدکلریدریک روی هشت تنظیم گردید. در مرحله بعد، حجم محلول را به ۵۰ میلی‌لیتر رسانده تا زمان استفاده در یخچال نگهداری گردد. به‌منظور عصاره‌گیری یک میلی-لیتر از بافر تهیه شده به ۰/۲۵ گرم از نمونه برگی (تهیه شده

[6] Polyvinylpyrrolidone

در مرحله اوایل پرشدن دانه) که با استفاده از ازت پودر گردیده بود، اضافه شده و پس از ورتکس به‌مدت یک شبانه روز در یخچال (دمای چهار درجه سانتی‌گراد) قرار داده شد. در مرحله آخر مخلوط به‌دست آمده به مدت ۱۵ دقیقه با ۱۳۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفیوژ و فاز بالایی محلول جهت قرائت محتوی پروتئین محلول و فعالیت آنزیم‌ها استفاده شد (Ramachandra Reddy *et al*., 2004).

با استفاده از روش چانس و ماهلی (Chance & Maehly, 1995) اندازه‌گیری آنزیم POX صورت گرفت. بر این اساس، یک میلی‌لیتر از پیش ماده (سوبسترا) پراکسیداز که حاوی ۱۳ میلی مولار گایاکول، پنج میلی مولار پراکسید هیدروژن (H_2O_2) و ۵۰ میلی‌مولار بافر فسفات پتاسیم (۷ pH) است، با ۳۳ میکرولیتر از عصاره آنزیمی رقیق شده (به نسبت ۱:۴) مخلوط و سپس جذب آن با فواصل ۱۰ ثانیه و به‌مدت بیست دقیقه در طول موج ۴۷۰ نانومتر توسط دستگاه الیزا (Bio Tek Powerwave XS2) قرائت گردید. در این روش برای ساختن ۱۰۰ میلی‌لیتر بافر فسفات، ۳۹ میلی‌لیتر فسفات پتاسیم مونوباز یک ۵۰ میلی مولار با ۶۱ میلی‌لیتر فسفات پتاسیم دی‌باز یک ۵۰ میلی مولار ترکیب شد. محلول اندازه‌گیری سرعت فعالیت آنزیم سوپراکسیددیسموتاز (SOD) با استفاده از روش بیچامپ و فریدوویچ (Beauchamp & Fridovich, 1971) که بر اساس توانایی این آنزیم در متوقف کردن احیاء فتو شیمیایی نیتروبلو تترازولیوم (NBT[7]) توسط رادیکال های سوپراکسید در حضور ریبوفلاوین در نور صورت می‌گیرد، به دست آمد. در این روش، مقادیر ۵۰، ۱۰۰، ۱۵۰ و ۲۰۰ میکرولیتر از عصاره استخراج توسط محلول استخراج، به حجم ۲۰۰ میکرولیتر رسانده و با چهار میلی‌لیتر محلول اندازه‌گیری سوپراکسید دیسموتاز مخلوط گردید. دو نمونه حاوی ۲۰۰ میکرولیتر بافر استخراج و بدون عصاره به عنوان بلانک مورد استفاده قرار گرفت. در مرحله بعد، محلول ریبوفلاوین که در شرایط تاریکی به پلیت ۹۶ خانه‌ای حاوی عصاره استخراج و بافر اندازه‌گیری سوپراکسید دیسموتاز، اضافه گردید و سپس به‌مدت ۲۰ دقیقه در اتاقک نور قرار داده شد. محلول حاصل با استفاده از دستگاه الیزا و در طول موج ۵۶۰ نانومتر قرائت شد.

برای اندازه‌گیری فعالیت آنزیم کاتالاز (CAT) از روش سینها (Sinha, 1972) استفاده شد. در این روش، ۵۰۰ میکرولیتر محلول هیدروژن پراکسید ۶۰ میلی‌مولار به مخلوط ۵۰۰ میکرولیتر عصاره آنزیمی رقیق شده (نسبت ۱:۴) و یک میلی‌لیتر بافر فسفات ۱۰۰ میلی‌مولار (۷ pH) اضافه گردید. با استفاده از ۴۱۶ میلی‌لیتر معرف دی‌کرومات (۵٪) اسید استیک (۱:۳) و پس از گذشت زمان‌های معین (۲، ۴، ۶ و ۸ دقیقه از شروع واکنش) واکنش خاتمه یافت. در مرحله بعد پس از تشکیل رنگ سبز در نمونه‌هایی که داخل حمام آب جوش به‌مدت ۱۰ دقیقه قرار گرفته بودند،

[7] Nitro Blue Tetrazolium

جهت قرائت توسط دستگاه الیزا در طول موج جذبی ۵۷۰ نانومتر استفاده شد. از منحنی استاندارد به‌منظور تعیین میزان پراکسید هیدروژن مصرفی توسط آنزیم کاتالاز استفاده گردید. محلول‌های ۱۵، ۳۰، ۵۰ و ۷۵ میلی‌مولار از پراکسید هیدروژن تهیه و طبق دستورالعمل تیتر شدند.

از روش برادفورد (Bradford, 1976) که بر مبنای اتصال رنگ کوماکسی بریانت بلو G250 موجود در معرف اسیدی به مولکول پروتئین است، برای تعیین غلظت پروتئین استفاده شد. در این روش ۰/۰۱ گرم کوماکسی بریانت بلو G_{250} (Comassie Brilliant Biue G_{250}) در پنج میلی‌لیتر اتانول ۹۶ درصد با کمک هاون مغناطیسی (مگنت) به‌خوبی حل و سپس ۱۰ میلی‌لیتر اسید فسفریک ۸۵ درصد قطره قطره به مخلوط فوق اضافه و در نهایت با آب مقطر، حجم نهایی محلول به ۱۰۰ میلی‌لیتر رسانده شد. از طرفی، برای اندازه‌گیری غلظت پروتئین، ۲۰ میکرولیتر عصاره استخراج شده را در ۸۰ میکرولیتر بافر استخراج رقیق کرده و پنج میلی‌لیتر معرف کوماکسی بلو تازه به آن افزوده و دو دقیقه به‌هم زده و پس از پنج دقیقه، میزان جذب نوری آن در طول موج ۵۹۵ نانومتر توسط دستگاه الیزا قرائت شد. از سرم آلبومین گاوی[8] (BSA) جهت رسم منحنی استاندارد و برای به‌دست آوردن غلظت پروتئین استفاده شد.

اندازه‌گیری عملکرد دانه

برای اندازه‌گیری عملکرد دانه، سنبله‌های دو خط یک متری از هر کرت برداشت شده و پس ازخرمن کوبی، وزن دانه‌های به‌دست آمده به عنوان عملکرد دانه محاسبه شد.

به‌منظور انجام تجزیه‌های آماری از نرم‌افزار های EXCEL و SPSS استفاده شد. مقایسه میانگین ها به‌روش حداقل اختلاف معنی دار (LSD) در سطح احتمال پنج درصد انجام شد.

نتایج

بر اساس نتایج حاصل از جدول تجزیه واریانس ساده، ژنوتیپ‌ها از نظر فعالیت هر سه آنزیم پراکسیداز، کاتالاز، سوپراکسید دیسموتاز و عملکرد دانه اختلاف معنی‌داری نشان دادند (داده‌ها نشان داده نشده است). همچنین طبق نتایج تجزیه واریانس مرکب صفات بیوشیمیایی (جدول ۳)، اثر محیط، اثر ژنوتیپ و اثر متقابل محیط × ژنوتیپ نیز برای فعالیت آنزیم کاتالاز، پراکسیداز، سوپراکسید دیسموتاز و عملکرد دانه معنی‌دار بود. مقایسه میانگین (جدول ۴) صفات نشان داد که میزان فعالیت هر سه آنزیم در محیط دیم بیشتر از آبی است. در شرایط آبی، بیشترین میزان فعالیت آنزیم پراکسیداز در ژنوتیپ AR-M-27 (۶۶۷/۲)، کاتالاز در ژنوتیپ AR-M-20 (۱۳۰۸۳) و سوپراکسید دیسموتاز در ژنوتیپ AR-M-30 (۴۳/۷۲) مشاهده شد و کم‌ترین میزان فعالیت آنزیم پراکسیداز در ژنوتیپ AR-M-25 (۲۱۵/۳۳)، کاتالاز در ژنوتیپ AR-M-25 (۱۶۶۸) و

[8] Bovine Serum Albumin

سوپراکسیددیسموتاز در ژنوتیپ AR-M-15 (۶/۷۵) بود. همچنین در شرایط دیم بیشترین میزان فعالیت آنزیم پراکسیداز در ژنوتیپ AR-M-14 (۱۲۵۶)، کاتالاز در ژنوتیپ Sivand (۳۱۰۹۶) و سوپراکسیددیسموتاز در ژنوتیپ AR-M-30 (۶۳/۸۴) مشاهده شد. همچنین تحت این شرایط، کم‌ترین میزان فعالیت آنزیم پراکسیداز در ژنوتیپ PwSn3035 (۴۶۳)، کاتالاز در ژنوتیپ AR-M-16 (۳۹۷۰) و سوپراکسیددیسموتاز در ژنوتیپ Parsi (۱۷/۷۴) بود. برای صفت عملکرد دانه در شرایط آبی حداکثر مقادیر برای ژنوتیپ‌های AR-M-20 (۵۹۵/۲ گرم در مترمربع)، AR-M-16 (۵۵۵ گرم در مترمربع) و AR-M-15 (۵۵۹ گرم در مترمربع) و حداقل مقادیر برای ژنوتیپ‌های AR-M-27 (۲۴۰/۸ گرم در مترمربع)، PwSn3033 (۲۴۵/۸ گرم در مترمربع) و AR-M-25 (۲۶۱/۱ گرم در مترمربع) مشاهده شد. در شرایط دیم نیز حداکثر مقادیر برای ژنوتیپ‌های PwSn3035 (۵۱۱/۵ گرم در مترمربع)، AR-M-20 (۴۶۶/۹ گرم در مترمربع) و PwSn3029 (۴۶۳/۹ گرم در مترمربع) و حداقل مقادیر برای ژنوتیپ AR-M-17 (۱۴۴/۷ گرم بر مترمربع) مشاهده شد.

گیاهان در مواجه با تنش خشکی و برای از بین بردن اکسیژن‌های رادیکال‌های آزاد و مقابله با تنش اکسیداتیو به وجود آمده، فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانت خود را افزایش داده و این افزایش منجر به صرف انرژی در گیاه می‌شود و لذا عملکرد را نیز تحت تاثیر قرار می‌دهد (Khademian *et al.*, 2019). جین و همکاران (Jin *et al.*, 2006) گزارش کردند که سرعت فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز با افزایش تنش خشکی افزایش می‌یابد. افزایش فعالیت سوپراکسید دیسموتاز می‌تواند به دلیل افزایش رادیکال‌های سوپراکسید و یا اینکه یک سیستم دفاعی علیه تنش اکسیداتیو در گیاهان باشد (Sharma & Dubey, 2005). در تحقیقی دیگر یانگ و همکاران (Yang *et al.*, 2006) به نتیجه ای عکس دست یافتند و بیان کردند که با افزایش تنش خشکی، فعالیت آنزیم سوپراکسیددیسموتاز کاهش می‌یابد. احتمالاً این نتایج به نوع محیط و نوع گونه گیاهی برمی‌گردد. بررسی‌های رنو و دوارشی (Renu & Devarshi, 2007) نشان دادند که ارقام مقاوم گندم دارای میزان کاتالاز بیشتری نسبت به ارقام حساس هستند و میزان افزایش آن در ارقام حساس معنی دار نبوده است. در مقاله دیگری بحرالعلومی و همکاران (Bahrololomi *et al.*, 2019) اثر تنش خشکی روی فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان، مقادیر مالون‌دی‌آلدئید و همچنین پروتئین محلول و نیتروژن کل برگ را در گیاه سویا مطالعه کردند و به این نتیجه دست یافتند که فعالیت آنزیم پراکسیداز در تجزیه و بی‌اثر کردن ROSها نسبت به کاتالاز کمتر بود. همچنین بیان کردند که با آنکه در تنش‌های شدید بر فعالیت پراکسیداز اضافه و از فعالیت کاتالاز کاسته شد، همچنان کاتالاز مقدار بیشتری داشت. در تنش‌های شدید بررسی‌های سیف زاده و رشیدی (Sayfzadeh &

Rashidi, 2010) نشان داد که در گیاهان تحت تنش آب، افزایش معنی‌داری در میزان فعالیت آنزیم‌های کاتالاز، سوپراکسید دیسموتاز و گلوتاتیون پراکسیداز در برگ ها مشاهده می‌شود. از آنجایی که اصلاح برای عملکرد دانه معمولا به دلیل وراثت‌پذیری پایین آن مشکل است، بایستی به دنبال خصوصیات فیزیولوژیک و بیوشیمیایی مناسبی گشت که حداکثر رابطه را با عملکرد دانه در شرایط متنوع محیطی داشته باشند (Abdoli *et al*., 2013).

جدول ۳- تجزیه واریانس مرکب برای صفات بیوشیمیایی مورد مطالعه در دو محیط آبی و دیم در مورد سرعت فعالیت آنزیم‌های پراکسیداز، کاتالاز و سوپراکسید دیسموتاز در ژنوتیپ‌های مختلف گندم.

Table 3. Compound analysis of variance for the studied biochemical traits in both irrigation and drought environments regarding the activity speed of peroxidase, catalase and superoxide dismutase enzymes in different wheat genotypes.

منابع تغییرات S.O.V	درجه آزادی df	پراکسیداز Peroxidase	کاتالاز Catalase	سوپراکسید دیسموتاز Superoxide dismutase	عملکرد دانه Grain yield
محیط Environment	1	5187662.21**	2296256242**	10331.60**	9098.98
تکرار در داخل محیط Replication in the Environment	4	4609.22	4109792	8.95	903.46
ژنوتیپ Genotype	19	213861.92**	82378052**	496.12**	6692.28**
ژنوتیپ × محیط Genotype × Environment	19	80522.92**	87057872**	92.88**	7469.05**
خطا Error	76	3467.92	3132595	4.66	2154.79
ضریب تغییرات (درصد) C.V. (%)	-	9.95	16.28	9.34	23.25

* و ** به ترتیب معنی‌دار در سطح احتمال ۵ و ۱ درصد.

* and ** are significant at the probability levels of five and one percent, respectively.

جدول ۴- مقایسه میانگین صفات بیوشیمیایی دردو محیط دیم و آبی در ژنوتیپ‌های مختلف گندم.

Table 4. Mean Comparison of biochemical traits in two drought and irrigation environments in different wheat genotypes.

ژنوتیپ Genotype	پراکسیداز Peroxidase (unit g^{-1} FW)		کاتالاز Catalase (unit g^{-1} FW)		سوپراکسیددیسموتاز Superoxide dismutase (unit g^{-1} FW)		عملکرد دانه Grain yield ($g\ m^{-2}$)	
	آبی Irrigated	دیم Drought	آبی Irrigated	دیم Drought	آبی Irrigated	دیم Drought	آبی Irrigated	دیم Drought
Parsi	337.5	742.3	7921	17190	8.80	17.74	421.6	375.2
Sivand	475.1	532.0	2208	31096	24.32	38.70	496.6	429.8
AR-M-8	272.1	480.2	4094	21255	8.34	25.21	445.5	421.8
PwSn3035	253.5	463.0	7252	10685	14.07	34.00	411.1	511.5
PwSn3045	364.1	571.1	2383	6381	13.36	20.17	400.5	422.1
AR-M-14	425.0	1256.0	9841	12779	8.90	35.80	470.2	304.1
AR-M-15	451.0	768.9	10012	21252	6.75	34.25	559.0	391.4
AR-M-16	384.0	871.1	7248	3970	10.65	20.76	555.0	285.9
AR-M-17	240.1	525.7	4452	10429	13.64	47.55	537.4	144.7
AR-M-20	413.8	1215.9	13083	24474	16.16	35.98	595.2	466.9
AR-M-25	215.3	482.0	1668	11118	7.56	28.70	261.1	422.3
AR-M-27	667.2	1174.0	11915	14610	14.85	50.02	240.8	299.4
PwSn3033	328.9	757.1	2381	13745	8.43	27.67	245.8	351.7
PwSn3037	374.9	736.3	2669	21592	13.90	24.54	282.9	311.2
AR-M-30	320.6	727.0	7961	16655	43.72	63.84	405.2	441.4
AR-M-31	430.6	1227.1	10929	9082	13.77	25.57	381.4	417.5
PwSn3029	331.3	1090.1	9086	15347	16.65	32.13	410.9	463.9
A-M-35	644.2	1203.1	6995	12624	11.50	29.49	348.8	353.2
O-N-11	421.3	696.7	5369	10197	8.23	20.01	309.9	439.4
REZAOO	327.3	474.87	2386	20349	12.74	35.35	529.4	380.4
LSD (0.05)	63.02	122.3	3282.8	2518.1	3.23	3.88	133.44	171.1
حداکثر Max	667.2	1256	13083	31096	43.73	63.85	595.28	511.5
حداقل Min	215.3	463	1668	3970	6.76	17.75	240.82	144.7
میانگین Ave.	383.9	799.7	6492.7	15241.5	13.82	32.37	416.56	380.3

LSD: آزمون حداقل اختلاف معنی‌دار در سطح ۵ درصد

نتیجه‌گیری

نتایج حاصل از این پژوهش نشان داد که در ژنوتیپ‌های مقاوم به تنش، میزان فعالیت آنزیم‌های پراکسیداز، کاتالاز و

سوپراکسید دیسموتاز افزایش یافته است و در واقع یک مکانیسم دفاعی در مقابل تنش اکسیداتیو و خشکی محسوب می‌شود. آنچه از این پژوهش به دست آمد، نشان می‌دهد که ژنوتیپ‌های مختلف، پاسخ‌های متفاوتی به تنش خشکی نشان می‌دهند. در واقع می‌توان گفت تنش خشکی موجب تغییر فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان در گیاهان خواهد شد. از این رو، شناخت بیشتر آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان و عوامل مؤثر بر آن‌ها می‌تواند راهکارهای مفیدی را برای مقابله با تنش خشکی در اختیار پژوهشگران قرار بدهد. همچنین در گیاهان به دلیل صرف انرژی برای افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدان و مقابله با تنش خشکی، عملکرد دانه تحت تأثیر قرار می‌گیرد

References

Abdoli, M., Saeidi, M., Jalali-Honarmand, S., Mansourifar, S., & Ghobadi, M. E. 2013. Evaluation of some physiological and biochemical traits and their relationships with yield and its components in some improved wheat cultivars under post-anthesis water deficit. Environmental Stresses in Crop Sciences, 6 (1), 47-63. [In Persian].

Adriano, S., Bartolomeo, D., Cristos, X., & Andras, M. 2005. Antioxidant defenses in olive trees during drought stress: changes in activity of some antioxidant enzymes. Functional Plant Biology, 32, 45-53. https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/32689110/

Akbarian, A., & Arzani, A. 2015. Effects of drought stress on antioxidant enzymes activity in triticale lines. Journal of Crop Breeding, 7 (16), 158-167. [In Persian]. http://jcb.sanru.ac.ir/article-1-512-en.html

Alghamdi, A.A. 2009. Evaluation of oxidative stress tolerance in two wheat (*Triticum aestivum*) cultivars in response to drought. International Journal of Agriculture Biology, 11, 7-12. http://www.fspublishers.org/

Amini Z., Moalemi N.A., & saadati, S. 2014. Effects of water deficit on proline content and activity of antioxidant enzymes among three olive (*Olea europaea* L.) cultivars. Journal of Plant Research, 27 (2), 156-167. https://plant.ijbio.ir/article_348.html

Bahrololomi, S. M. J., Raeini Sarjaz, M., & Pirdashti, H. 2019. The effect of drought stress on the activity of antioxidant enzymes, malondialdehyde, soluble protein and leaf total nitrogen contents of soybean (*Glycine max* L.). Environmental Stresses in Crop Sciences, 12(1), 17-28. [In Persian]. http://dx.doi.org/10.22077/escs.2018.1243.1252

Beauchamp, C., & Fridovich, I. 1971. Superoxide dismutase: improved assays and an assay applicable to acrylamide gels. Analytical Biochemistry, 44, 276–287. https://doi.org/10.1016/0003-2697(71)90370-8

Blokhin, O., Virolainen, E., & Fagerstedt, K. V. 2003. Antioxidant, oxidative damage and oxygen deprivation stress: a review. Annals of Botany, 91, 179-194. https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/12509339/

Bradford, S., & Letey, J. 1992. Simulation effects of water table and irrigation scheduling as factor in cotton production. Irrigation Science, 13, 101-107. https://doi.org/10.1007/BF00191051

Chance, B., & Maehly, A. C. 1995. Assay of catalase and peroxidases. Methods Enzymology, 2, 764-775. https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/13193536/

Gillham, D., & Dodge, A. 1987. Chloroplast superoxide and hydrogen peroxide scavenging systems from pea leaves: Seasonal variations. Plant Science, 50, 105–109. https://doi.org/10.1016/0168-9452(87)90145-2

Huseynova, M. I. 2012. Photosynthetic characteristics and enzymatic antioxidant capacity of leaves from wheat cultivars exposed to drought. Biochemical et Biophysical Acta, 1817, 1516–1523. https://doi.org/10.1016/j.bbabio.2012.02.037

Jabbari, H., Akbari, A., Khosh kholgh Sima, N. A., Alahdadi, I., Shirani rad, A. H., Tabatabaee, S. A., & Hamed, A. Comparison of antioxidant enzymes and proline roles in drought tolerance of rapeseed (*Brassica napus* L.). Journal of Oil Plants Production, 1 (1), 15-31. [In Persian]. http://yujs.yu.ac.ir/jopp/article-1-26-en.html

Jin, J., Ningwei, Sh., Jinhe, B., & Junping, G. 2006. Regulation of ascorbate peroxides at the transcript level is involved in tolerance to post harvest water deficit stress in the cut rose *(Rose hybrida* L.*)* cv. Samantha. Journal Agriculture Science Technology, 7, 90-103. https://agris.fao.org/agris-search/search.do?recordID=US201300744614

Kavas, M., Baloglu, C. B., Akca, O., Kose, F. S., & Gokcay, D. 2013. Effect of drought stress on oxidative damage and antioxidant enzyme activity in melon seedlings. Turkish Journal of Biology, 37, 491-498. https://doi.org/10.3906/biy-1210-55

Khademian, R., Ghorbani Nohooji, M., & Asghari, B. 2019. Effect of jasmonic acid on physiological and phytochemical attributes and antioxidant enzymes activity in safflower (*Carthamus tinctorius* L.) under water deficient. Journal of Medicinal Plants, 18 (72), 122-134. [In Persian]. http://jmp.ir/article-1-2707-en.html

Mafakheri, Kh., Valizadeh, V., & Mohammadi, S. A. 2022. Banding patterns activity of antioxidant enzymes and physiological indices in the maize (*Zea mays* L.) genotypes under water deficit stress. Journal of Crop Breeding, 14 (43), 64-75. [In Persian]. http://jcb.sanru.ac.ir/article-1-1296-en.html

Mallick, N., & Mohn, F. H. 2000. Reactive oxygen species: response of algal cells. Journal of Plant Physiology, 157 (2), 183-193. https://doi.org/10.1016/S0176-1617(00)80189-3

Mittler, R., Vanderauwera, S., Gollery, M., & Breusegem, F.V. 2004. Reactive oxygen gene network of plants. Trends in Plant Science, 9, 490-498. https://doi.org/10.1016/j.tplants.2004.08.009

Moayedinezhad, A., Mohammadparast, B., Hosseini Salekdeh, Gh., Mohseni fard, E. & Ali Nejatian, M. 2020. Effects of drought stress on total phenolic, phenolic acids, polyamines and some organic acids in

two important Iranian grapevine cultivars. Journal of Plant Process and Function, 8 (34), 19-26. http://jispp.iut.ac.ir/article-1-1199-en.html

Ramachandra. R., chaitanya, K. V., Jutur, P. P., & Sumithra, K. 2004. Differential antioxidative response to weather stress among five mulberry cultivars. Environmental and Experimental Botany, 50 (1), 33-42. https://www.infona.pl/resource/bwmeta1.element.elsevier-72c9fb04-0e32-377b-ac19-8b44e852d065

Renu, K. C., & Devarshi, S. 2007. Acclimation to drought stress generates oxidative stress tolerance in drought-resistant than susceptible wheat cultivar under field conditions. Environmental and Experimental Botany, 60 (2), 276–283. https://doi.org/10.1016/j.envexpbot.2006.11.004

Saeidi, M., Ardalani, Sh., Jalali-Honarmand, S., Ghobadi, M. E., & Abdoli, M. 2018. Antioxidant enzyme responses and crop yield of wheat under drought stress and re-watering at vegetative growth period. Iranian Journal of Plant Physiology, 8 (1), 2257-2267. https://ijpp.saveh.iau.ir/article_539069_7061cf4f24cb266393f6fc69e0c9241b.pdf

Sayfzadeh, S., & Rashidi, M. 2010. Effect of drought stress on antioxidant enzyme activities and root yield of sugar beet *(Beta vulgaris)*. American-Eurasian Journal Agriculture and Environment Science, 9 (3), 223-230. https://www.idosi.org/aejaes/jaes9(3)/1.pdf

Seleiman, M. F., Al-Suhaibani, N., Ali, N., Akmal, M., Alotaibi, M., Refay, Y., Dindaroglu, T., Haleem Abdul-Wajid, H., & Leonardo Battaglia, M. 2021. Drought stress impacts on plants and different approaches to alleviate its adverse effects. Plants (Basel), 10 (2), 1-25. https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7911879/

Shao, H. B., Liang, Z.S., & Shao, M. A. 2005. Changes of some anti-oxidative enzymes under soil water deficits among 10 wheat genotypes at maturation stage. Colloids and Surfaces B: Biointerfaces, 45, 7–13. DOI: 10.1016/j.colsurfb.2005.02.007

Sharma, P., & Dubey, R. S. 2005. Drought induces oxidative stress and enhances the activities of antioxidant enzymes in growing rice seedlings. Plant Growth Regulation, 46, 209- 221. https://link.springer.com/content/pdf/10.1007/s10725-005-0002-2.pdf

Sinha, A. K. 1972. Colorimetric assay of catalase. Analytical Biochemistry, 47 (2), 389-394. https://doi.org/10.1016/0003-2697(72)90132-7

Taleahmad, S., & Hadad, R. 2010. Effect of silicon on antioxidant enzymes activities and osmotic adjustment contents in two bread wheat genotypes under drought stress conditions. Seed & Plant Production, 26 (2), 207-225. [In Persian]. http://www.ikiu.ac.ir/public-files/profiles/items/1303035322.pdf

Yang, J., & Zhang, J. 2006. Grain filling of cereals under soil drying. New Phytologist, 169, 223–236. https://nph.onlinelibrary.wiley.com/doi/pdf/10.1111/j.1469-8137.2005.01597.x

Yang, F., Zhang, J., Liu, Q., Liu, H., Zhou, Y., Yang, W., Ma, W. 2022. Improvement and re-evolution of tetraploid wheat for global environmental challenge and diversity consumption demand. International Journal of Molecular Sciences, 23, 1-23. https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC8878472/