

## Evaluation of some physiological and biochemical traits of wild species and wheat possessing the D genome under water deficit stress.

Hamid bayat<sup>1</sup>, Mansoor Omid<sup>2\*</sup>, Ali-Akbar Shaejati-Boushehri<sup>2</sup>, Mohammad Reza Naghavi<sup>2</sup>

1,2. Agriculture and Plant Breeding Department, College of Agriculture and Natural Resources, University of Tehran  
(Received: August 31, 2021 - Accepted: December 6, 2021)

### ABSTRACT

Water deficit as one of the main environmental factors reduces plants yield around the world and wheat is one of the most important cereal providing human's food demand. *Aegilops* is a wild species belonging to the wheat family that can be used as a suitable germplasm to discover new genes to improve wheat tolerance to biotic and abiotic stresses in breeding programs. In this regard, 3 different species of *Aegilops* (*Aegilops Tauschii*, *A. cylindrica*, and *A. Crassa*), as well as wheat were cultivated under normal (FC = 90%) and water-deficit stress (FC = 25%). Morphological, physiological, biochemical, and growth indices were studied to assess stress tolerance. Based on the results, leaf length, width and area in under stressed plants decreased sharply, so that the sensitive cultivar, Darya, showed the minimum value. Based on the biochemical analysis, peroxidase and catalase enzymes activities were increased either in wheat or in *Aegilops* under stress conditions, while ascorbate peroxidase decreased only in wheat in contrast to *aegilops*. A negative correlation was observed between catalase and ascorbate peroxidase under water-deficit stress. Among growth indices, wet and dry biomass rarely decreased in *A. cylindrica*. According to multifactorial analysis, *A. cylindrica* and *A. crassa* species were more tolerant than wheat. These could be useful to develop the tolerant cultivars to abiotic stress such as water- deficit.

**Keywords:** Drought stress, EST, miRNA, PGPR, *Phaseolus vulgaris* L.

## ارزیابی برخی صفات فیزیولوژیک و بیوشیمیایی در گونه‌های وحشی و گندم حاوی ژنوم D تحت تنش کم آبی

حمید بیات<sup>۱</sup>، منصور امید<sup>۲\*</sup>، علی اکبر شاه نجات بوشه‌ری<sup>۲</sup>، محمد رضا نقوی<sup>۲</sup>

۱ و ۲- دانشجو و استاد، گروه زراعت و اصلاح نباتات، پردیس کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه تهران.

(تاریخ دریافت: ۱۴۰۰/۶/۹ - تاریخ پذیرش: ۱۴۰۰/۹/۱۵)

### چکیده

تنش کم آبی یکی از اصلی‌ترین عوامل محیطی است که عملکرد گیاهان را در سراسر جهان محدود می‌کند و گندم یکی از مهم‌ترین غلات و تأمین‌کننده نیاز تغذیه‌ای بشر است. گیاه آزیلوپس یکی از گونه‌های وحشی متعلق به خانواده گندمیان است که می‌تواند به‌عنوان یک ژرم‌پلاس مناسب برای ژن‌های مقاومت به انواع تنش‌های زیستی و غیر زیستی در به نژادی گندم به کار رود. به همین منظور در این آزمایش از سه گونه مختلف *Aegilops tauschii*، *A. crassa* و *A. cylindrica* به همراه گندم، تحت دو شرایط نرمال (FC=90%) و تنش کم آبی (FC=25%) کشت شد و صفات مورفولوژیکی، فیزیولوژیکی، بیوشیمیایی و شاخص‌های رشدی جهت ارزیابی تحمل به کم آبی اندازه‌گیری شد. نتایج ارزیابی نشان دادند که طول، عرض و مساحت برگ در گیاهان تحت تنش به شدت کاهش یافت و بیشترین تغییرات در رقم حساس "دریا" مشاهده شد. نتایج حاصل از بررسی فعالیت آنزیم‌های پراکسیداز و کاتالاز نشان داد که با اعمال تنش کم آبی، میزان فعالیت این آنزیم‌ها افزایش یافت، ولی فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز، پاسخ‌های متفاوتی در بین گونه‌ها از خود نشان داد، به طوری که در گیاه گندم این آنزیم کاهش و در گونه‌های آزیلوپس‌ها افزایش داشت. در شرایط تنش کم آبی، بین آنزیم کاتالاز و آسکوربات پراکسیداز همبستگی منفی مشاهده شد. در شاخص‌های رشدی، کمترین کاهش زیست‌توده تر و خشک به گونه *A. cylindrica* تعلق داشت. بر اساس تجزیه چندعاملی، گونه‌های *A. crassa* و *A. cylindrica* نسبت به گندم متحمل‌تر بودند.

**واژه‌های کلیدی:** آزیلوپس، متحمل، آنتی‌اکسیدان، خشکی، شاخص‌های رشدی

### مقدمه

سرتاسر در جهان شده است (Ahmed *et al.*, 2012a, 2012b; Hui-Mean *et al.*, 2018). پژوهش‌های انجام شده در سال‌های اخیر نشان داده است که تغییرات آب

تغییرات آب و هوا یکی از نگرانی‌های اصلی کشاورزی معاصر است. از اثرات مهم تغییرات آب و هوا، افزایش دما و تغییر در بارندگی است که سبب خشکسالی

\* Corresponding author E-mail: momidi@ut.ac.ir

کلروپلاست به‌عنوان رنگیزه کمکی است؛ به بیانی دیگر کاروتنوئیدها از رنگیزه‌های کلیدی و مهم سیستم آنتی‌اکسیدانی در گیاهان به‌شمار می‌روند، اما به تخریب اکسایشی بسیار حساس هستند (Emadi *et al.*, 2013; Abbasi *et al.*, 2021).

گندم یکی از مهم‌ترین غلات در جهان است که در شرایط کم‌آبی بین ۵۰ تا ۹۰ درصد کاهش عملکرد در آن دیده می‌شود. با توجه تغییرات شدید آب و هوا و نیاز اصلی برای تغذیه جمعیت در حال افزایش، عملکرد این گیاه باید تا ۴۰ درصد افزایش یابد تا امنیت غذایی جهانی را تأمین کند (Awan *et al.*, 2017). افزایش عملکرد در واحد سطح که به‌عنوان مهم‌ترین راهکار برای نجات بشریت از فقر و گرسنگی است، عمدتاً متکی بر اصلاح و ایجاد ارقام پر محصول و با خصوصیات پتانسیل‌های کمی و کیفی بالا می‌باشد. (Vojdani & Meybodi, 1993). در این راستا، شناسایی ژن‌های مفید در ذخایر توارثی گیاهی، یکی از اصول مهم و راهبردی در اصلاح نباتات است.

کشور ایران از نظر موقعیت جغرافیایی در منطقه بسیار مناسبی قرار دارد و یکی از مناطق مهم تنوع ژنتیکی گونه‌های وحشی و زراعی گندم است (Pour-Aboughadareh *et al.*, 2019). گیاه آژیلوپس یکی از گونه‌های وحشی متعلق به خانواده گندمیان است که می‌تواند به‌عنوان یک ژرم‌پلاس مناسب برای ژن‌های مقاومت به انواع تنش‌های زیستی و غیر زیستی، ژن‌های مرتبط با عملکرد و کیفیت، در اصلاح گندم به کار رود. در یک مطالعه صورت گرفته توسط Sohail *et al.* (2011) به‌منظور بررسی و مقایسه پاسخ به تنش خشکی گندم‌های سنتتیک و مجموعه‌ای از جمعیت‌های وحشی *A. Tauschii* مشخص شد که برخی از توده‌های این گونه وحشی نسبت به ارقام سنتتیک گندم زراعی، تظاهر بهتری در پاسخ به تنش خشکی دارند و تحت شرایط تنش خشکی، میانگین صفات نمونه‌های وحشی نسبت به ارقام زراعی از کاهش کمتری برخوردار بود. در یک مطالعه، Econopouly *et al.* (2013) به‌منظور بررسی واکنش توده‌هایی از گونه *A. cylindrica* تحت شرایط تنش خشکی، ۳۰ توده جمع‌آوری شده از نواحی

و هوا بر تولیدات محصولات زراعی تأثیرات منفی گذاشته و بر اساس پیش‌بینی صورت گرفته، میزان این تأثیرات در سال‌های آتی بیشتر خواهد شد (Ramirez-Cabral *et al.*, 2017; Asseng *et al.*, 2019; Khan *et al.*, 2020; Pravalie *et al.*, 2020). حدود ۷۰ درصد غذای اصلی مردم دنیا که در زمین‌های دیم و کم‌آب تولید می‌شود، به دلیل تغییرات در بارندگی در معرض تهدید قرار گرفته است (Sharma *et al.*, 2010; Van-Ogrop *et al.*, 2014). تنش کم‌آبی در گیاهان سبب کاهش محتوای کلروفیل، مهار فتوسنتز، از دست دادن نفوذپذیری غشا سلولی و... می‌شود که در نهایت کاهش عملکرد نهایی را در پی دارد (Batoool *et al.*, 2013; Ma *et al.*, 2017; Ahmed *et al.*, 2019a, 2019b, 2019c).

یکی از دلایلی که تنش‌های محیطی مثل خشکی، رشد و توانایی فتوسنتزی گیاه را کاهش می‌دهند، اختلال در تعادل میان تولید رادیکال‌های آزاد اکسیژن و مکانیسم‌های برطرف‌کننده آن‌هاست که سبب تجمع گونه‌های فعال اکسیژن (ROS)، القای تنش اکسیداتیو، خسارت به پروتئین‌ها، لیپیدهای غشاء و سایر اجزای سلولی منجر می‌شود. گیاهان برای مقابله با این رادیکال‌های فعال از مکانیسم‌های آنتی‌اکسیدان آنزیمی و غیر آنزیمی استفاده می‌کنند که این مکانیسم باعث غیرفعال شدن ROS و در نهایت سبب کاهش خسارت‌های ناشی از آن‌ها می‌شود. سیستم دفاعی آنتی‌اکسیدانی آنزیمی شامل سوپراکسیددیسموتاز (SOD)، پراکسیداز (GPX)، کاتالاز (CAT)، آسکوربات پراکسیداز (APX) و... است (Naderi *et al.*, 2014). افزایش فعالیت کاتالاز در گندم تحت تنش خشکی گزارش شده است و این افزایش خصوصاً در وارپته‌های مقاوم بالاتر بوده است (Simonovicova *et al.*, 2010). تنش خشکی از طریق جلوگیری از سنتز کلروفیل، تسریع تجزیه آن توسط آنزیم کلروفیلاز (Reddy & Vora, 1986) و فتواکسیداسیون کلروفیل توسط ROS ها (Alonso *et al.*, 2001) سبب کاهش محتوای کلروفیل می‌شود. کاروتنوئیدها به‌عنوان رنگیزه کمکی در کلروپلاست‌ها عمل می‌کنند، اما توجه به نقش آنتی‌اکسیدانی آن‌ها به مراتب بالاتر از کمک به

(*aestivum*, *AABBDD*) و خویشاوندان وحشی گندم شامل آزیلوپس سیلندریکا (*A. cylindrica*, *DDCC*)، آزیلوپس تاوشیای (*A. tauschii* sp. *tauschii*, *DD*)، و آزیلوپس کراسا (*A. Crassa*, *DDMM*) از هر گونه یک اکسشن متحمل انتخاب و به همراه یک رقم گندم مقاوم به خشکی (سیروان) و یک رقم گندم حساس به خشکی (دریا) به عنوان شاهد کشت شدند (Pour-Aboughadreh *et al.*, 2019). بذره‌های گیاهان انتخابی به صورت آزمایش فاکتوریل و در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی با سه تکرار در گلخانه کشت شدند. شرایط رشدی گلخانه با دوره نوری ۱۶:۸ (روشنایی: تاریکی) و شرایط دمایی  $25 \pm 3$  درجه سانتی‌گراد در حد مطلوب برای رشد گیاهچه‌ها بهینه شد. پس از رشد و استقرار گیاهچه‌ها، شرایط اعمال تنش کم‌آبی در مرحله سه برگی و بر اساس ظرفیت زراعی مزرعه (FC) و در دو سطح آبی، شرایط شاهد (FC=90%) و تنش کم‌آبی (FC=25%) تعیین شد. ظرفیت زراعی هر گلدان با بر اساس روش پیشنهاد شده توسط Souza *et al.* (2000) تعیین و میزان آب داده شده به هر گلدان طی اعمال تنش بر اساس اختلاف وزن تر و خشک به دست آمده از خاک گلدان صورت گرفت. اعمال تنش‌ها تا مشاهده شدن اولین خسارت‌های فنوتیپی تنشی (۱۴ روز) ادامه داشت. بعد از اعمال تنش، نمونه‌های برگ‌ی برای اندازه‌گیری صفات بیوشیمیایی و فیزیولوژیکی در ازت مایع فریز شدند و سپس در یخچال با دمای  $80^{\circ}\text{C}$ - درجه سانتی‌گراد تا زمان انجام آزمایش‌ها نگهداری شدند. همچنین نمونه‌گیری برای اندازه‌گیری صفات مورفولوژیکی و شاخص‌های رشدی یک روز قبل از نمونه‌برداری اصلی انجام گرفت.

#### صفات مورد ارزیابی

**وزن تر و خشک کل اندام هوایی:** وزن تر کلیه اندام‌های هوایی موجود در هر واحد آزمایشی با استفاده از ترازوی دقیق به عنوان وزن تر اندام هوایی (SFW) اندازه‌گیری شد و سپس اندام‌های هوایی در پاکت کاغذی به درون آن با شرایط دمایی  $70^{\circ}\text{C}$  درجه سانتی‌گراد به مدت ۷۲ ساعت منتقل شدند و وزن خشک آن‌ها به عنوان وزن خشک اندام هوایی (SDW) در نظر گرفته شد.

مختلف انگلستان را در دو شرایط عدم تنش و تنش خشکی مورد ارزیابی قرار دادند. نتایج تحقیق آنان نشان داد که برخی از توده‌های این گونه، توانایی قابل توجهی در تحمل به تنش خشکی دارند.

Lonbani & Arzani (2011) بیان کردند که شناسایی صفات فیزیولوژیکی مسئول تحمل به تنش کم‌آبی باید در برنامه اصلاحی مورد توجه قرار گیرند، زیرا عملکرد دانه و مقاومت به خشکی در مکان‌های ژنتیکی مستقل کنترل می‌شود. بنابراین، استفاده از ویژگی‌های فیزیولوژیکی به عنوان یک انتخاب غیرمستقیم در افزایش روش‌های انتخاب بر اساس عملکرد مهم خواهند بود. این ویژگی‌های مورفو- فیزیولوژیکی باید قابلیت توارث و تا حد زیادی با تحمل به استرس همبستگی مثبت داشته باشند و به راحتی قابل ارزیابی باشند. از نظر خصوصیات مورفولوژیکی و فیزیولوژیکی مؤثر بر تحمل به خشکی در گیاه گندم می‌توان پارامترهای روزنه‌ها (اندازه، تعداد، دهانه)، برگ (شکل، طول، زاویه، عرض، پیری)، ریشه (طول، چگالی، وزن خشک)، راندمان استفاده از آب، محتوای نسبی آب، راندمان تبخیر و تعرق، سطح اسید آسبزیک و... نام برد.

ژنوم D به دلیل داشتن ژن‌های متعدد و متنوع، نقش به سزایی در ایجاد مقاومت به تنش‌ها و همچنین افزایش کیفیت نانواپی در طول تکامل گندم ایفا کرده است. در این بررسی، گندم نان به عنوان گیاه اصلی و گونه *A. tauschii* به عنوان گیاه حاوی ژنوم D انتخاب شدند. تایید و ردیابی تاثیر فعالیت این ژنوم بر سایر گونه‌های حاوی این ژنوم از دو گونه *A. cylindrica* و *A. crasaa* به عنوان گیاهان حد واسط استفاده شد. این گونه‌ها در صورت داشتن مقاومت می‌توانند منبع احتمالی ژن‌های کاندید برای تنش‌ها در برنامه‌های اصلاحی مورد استفاده قرار گیرند.

#### مواد و روش‌ها

این پژوهش در سال ۱۳۹۹ در گلخانه گروه زراعت و اصلاح نباتات پردیس کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه تهران انجام گرفت. بر اساس غربالگری‌های انجام شده تحت شرایط تنش کم‌آبی، از ۱۹۸ اکسشن (تهیه شده از بانک ژن غلات دانشگاه ایلام) مختلف گندم نان *T.*

عصاره آنزیمی برای سنجش فعالیت آنزیم‌های کاتالاز (CAT)، پراکسیداز (GPX) و آسکوربات پراکسیداز (APX) مورد استفاده قرار گرفت.

#### سنجش فعالیت آنزیم‌ها

فعالیت APX با روش Nakano & Asada (1981) اندازه‌گیری شد. اسید آسکوربیک با همکاری  $H_2O_2$  در حضور این آنزیم، سبب سنتز دهیدروآسکوربات می‌شود که به‌عنوان فعالیت آنزیم APX در طول موج ۲۹۰ نانومتر اندازه‌گیری می‌شود. حجم کل واکنش ۳۰۰ میکرو لیتر حاوی ۵۰ میلی‌مولار بافر فسفات، ۵۰ میلی‌گرم آسکوربات، ۰/۱ میلی‌مولار  $H_2O_2$  و ۲۰ میکرو لیتر عصاره آنزیم بود.

فعالیت آنزیم CAT بر اساس Hadwan (2018) اندازه‌گیری شد. مبنای این روش، اکسیداسیون کبالت II به کبالت III است که در طول موج ۴۴۰ نانومتر مورد ارزیابی قرار می‌گیرد. فعالیت آنزیم GPX در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد به روش Chance & Maehly (1955) با کمی تغییر اندازه‌گیری شد. نوع و میزان مواد لازم برای سنجش آنزیم پراکسیداز شامل بافر فسفات، ۱۰۰ میکرو لیتر محلول گایاکول ۲۰۰ میلی‌مولار و ۱۰ میکرو لیتر عصاره آنزیمی بود. فعالیت آنزیم به مدت چهار دقیقه و در فواصل زمانی ۲۰ ثانیه ثبت شد.

پس از اندازه‌گیری و محاسبه صفات، نتایج به‌دست آمده با استفاده از روش تجزیه واریانس و بر اساس طرح آزمایش فاکتوریل و در قالب طرح بلوک کامل تصادفی مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفتند و مقایسه میانگین‌ها به روش دانکن در سطح احتمال یک درصد و به کمک نرم‌افزار SAS (9.4) انجام گرفت. همبستگی بین صفات به روش پیرسون با نرم‌افزار R و تجزیه عاملی با استفاده از نرم‌افزار Xlstat و نمودارها با نرم‌افزار Excel (2016) ترسیم شدند.

#### نتایج و بحث

##### شاخص‌های رشدی

نتایج تجزیه واریانس نشان داد که اثرات اصلی تنش کم‌آبی، گونه‌ها و اثر متقابل بین آن‌ها بر زیست‌توده تر، وزن خشک اندام هوایی و محتوی نسبی آب معنی‌داری بود.

**محتوای نسبی آب برگ (RWC):** وزن تر برگ‌هایی که به‌منظور سنجش محتوای نسبی آب آن‌ها برداشت شده بودند، بلافاصله اندازه‌گیری شد و سپس نمونه‌های برگ به قطعات کوچک تقسیم و به مدت ۲۴ ساعت درون آب مقطر و در شرایط تاریکی نگهداری شدند. پس از این مدت نیز به‌منظور به‌دست آوردن وزن اشباع، مجدداً نمونه‌ها وزن شدند و سپس نمونه‌ها به مدت ۷۲ ساعت درون پاکت‌های کاغذی و در آون با دمای ۷۰ درجه سلسیوس کاملاً خشک شدند. در نهایت وزن خشک نمونه‌ها یادداشت شد و درصد محتوای نسبی آب برگ بر حسب درصد با استفاده از رابطه زیر به‌دست آمد (Schonfeld *et al.*, 1998).

$$RWC(\%) = \frac{(\text{وزن خشک} - \text{وزن تر})}{(\text{وزن خشک} - \text{وزن آماس})} \times 100$$

#### سنجش محتوای رنگدانه‌های فتوسنتزی

اندازه‌گیری میزان محتوای کلروفیل و کاروتنوئید بر مبنای روش Lichtenthaler (1987) انجام شد. بدین ترتیب که ابتدا ۰/۱ گرم نمونه برگ پودر شده، داخل فالكون ۱۵ میلی‌لیتری ریخته شد و پس از ورتکس شدن با پنج میلی‌لیتر اتانول ۹۶ درصد، نمونه‌ها به مدت یک شبانه‌روز در دمای اتاق در شرایط تاریک انکوبه شدند و در روز بعد، نمونه‌ها در پنج هزار دور در دقیقه سانتریفیوژ شدند. در نهایت ۳۰۰ ماکرولیتر از مایع رویی برداشته شد و در طول موج‌های ۴۷۰، ۶۴۹ و ۶۶۵ نانومتر با دستگاه پلیتریدر قرائت شد و با استفاده از فرمول‌های زیر میزان محتوای کلروفیل a، کلروفیل b، کلروفیل کل و کاروتنوئید محاسبه شد.

$$Chl\ a = 13.36A_{664} - 5.19 A_{649}$$

$$Chl\ b = 27.43A_{649} - 8.12 A_{664}$$

$$Chl\ T = Ch\ a + Ch\ b$$

$$CAR = (1000A_{470} - 2.13Cha - 97.63Chb) / 209$$

#### استخراج عصاره آنزیمی

برای تهیه بافر استخراج، از روش Pagariya *et al.* (2012) با کمی تغییر استفاده شد. برای استخراج عصاره آنزیمی، ۰/۱ گرم از نمونه پودر شده با بافر فسفات سرد با  $pH=7.6$  ورتکس شد و سپس نمونه‌ها با دور ۱۵ هزار دور در دقیقه به مدت ۲۰ دقیقه در دمای چهار درجه سانتی‌گراد سانتریفیوژ قرار گرفتند. مایع رویی به‌عنوان

جدول ۱- تجزیه واریانس صفات بر اساس شاخص‌های رشدی و مورفولوژیکی در گندم و گونه‌های آزیلوپس

Table 1. Variance Analysis (ANOVA) of growth indices and morphological traits in *Triticum* and *Aegilops* species.

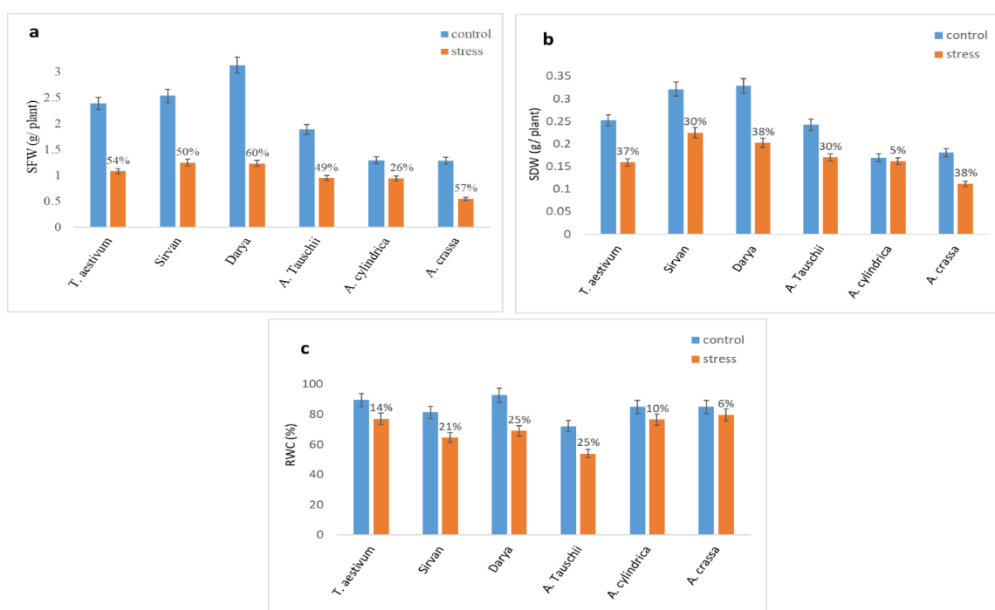
Source	DF	Leaf length	Leaf area	Leaf width	RWC	SFW	SWD
Treatment (T)	1	22.93**	42.71**	10.36**	23.97**	9.10**	0.46**
Accessions (A)	5	16.22**	40.31**	14.88**	5.29*	1.08**	0.12**
A×T	5	8.45**	22.61*	4.16*	2.01*	0.35*	0.0021*
Error	20	1.50	19.25	1.10	1.73	0.13	0.026
CV	-	13.28	20.97	21.33	17.61	23.96	25.05
Minimum		200.2	963.178	2.844	59.43	0.994	0.153
Maximum		364.8	3375.72	7.40	82.28	2.18	0.266
Mean		289.47	2122.416	5.077	74.73	1.488	0.203
Std. deviation		61.097	901.964	1.76	10.52	0.43	0.040

ns, \* و \*\* به ترتیب غیرمعنی‌دار و معنی‌دار در سطح احتمال پنج و یک درصد.

ns, \* and \*\*: non-significant and significant at 5% and 1% of probability levels, respectively.

*cylindrica* به ترتیب با ۲۶ و پنج درصد کاهش مشاهده شد. به طور کلی تنش کم‌آبی سبب کاهش ۵۱ درصدی در زیست‌توده تر، ۳۱ درصدی در زیست‌توده خشک و ۲۲ درصدی در محتوای نسبی آب شد و بیشترین حساسیت زیست‌توده تر و خشک اندام هوایی تحت شرایط کم‌آبی در گندم مشاهده شد (شکل ۱).

در اعمال هم‌زمان هر دو فاکتور، بیشترین وزن زیست‌توده تر و خشک مربوط به رقم دریا و تحت شرایط نرمال و کمترین آن‌ها مربوط به گونه *A. tauschii* و تحت تنش کم‌آبی مشاهده شد. بیشترین تغییرات زیست‌توده تر و خشک در شرایط تنش نسبت به گیاهان شاهد در رقم دریا به ترتیب با ۶۰ و ۳۸ درصد کاهش و کمترین تغییرات این صفات در گونه *A.*



شکل ۱- تاثیر تنش کم‌آبی بر صفات اندازه‌گیری شده در گندم و گونه‌های آزیلوپس. (a) وزن تر اندام هوایی، (b) وزن خشک اندام هوایی و (c) محتوای نسبی آب

Figure 1. Effect of water deficit stress in *Triticum* and *Aegilops* species. (a) Shoot dry weight (SDW); (b) Shoot fresh weight (SFW) and (c) Relative water content (RWC)

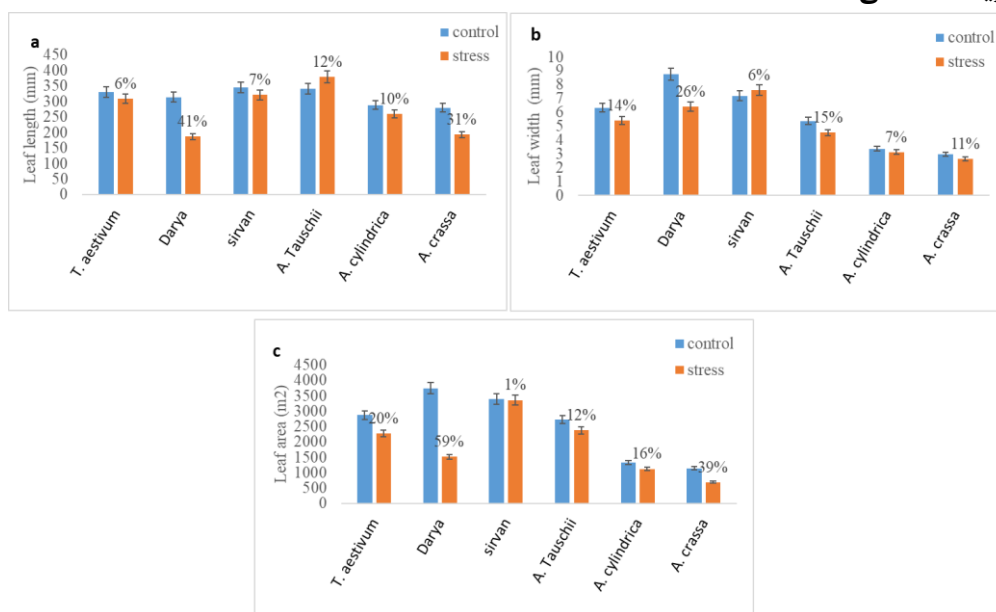
مورد بررسی قرار می‌گیرند. در این مطالعه، زیست‌توده‌های تازه و خشک ساقه به شدت در هر یک

در شناسایی ژنوتیپ‌های متحمل در مرحله نهالی، زیست‌توده تر و خشک از مهم‌ترین صفاتی هستند که

نتایج تجزیه واریانس برای پارامترهای طول، عرض و مساحت برگ نشان داد که اختلاف بسیار معنی‌داری در این پارامترها برای گونه‌ها و تنش کم‌آبی و اثر متقابل بین آن‌ها وجود داشت. اثر متقابل دوگانه نشان داد که بیشترین طول برگ به گونه *A. tauschii* تحت تنش کم‌آبی و کمترین آن به گونه *A. crassa* تحت تنش کم‌آبی تعلق داشت. به‌طور کلی تنش کم‌آبی باعث کاهش ۱۷ درصدی طول برگ در مقایسه با گیاهان شاهد شد. دامنه تغییرات طول برگ برای گیاهان بین ۲۸-۳۴ سانتی‌متر و برای گیاهان تحت تنش کم‌آبی بین ۱۸-۳۸ سانتی‌متر بود. تنش کم‌آبی در گونه *A. tauschii* سبب افزایش (۱۲ درصد)، ولی در سایر گونه‌ها سبب کاهش این پارامتر شد. بیشترین تغییر طول برگ در تنش کم‌آبی در رقم دریا با ۴۱ درصد کاهش و کمترین تغییرات در اکسشن گندم بومی با شش درصد نسبت به گیاهان شاهد مشاهده شد (شکل ۲).

از گونه‌ها کاهش یافت؛ اگرچه سطح کاهش در تنش آبی بین گونه‌ها متفاوت بود. محتوای نسبی آب یکی دیگر از ویژگی‌های کلیدی فیزیولوژیکی است که به‌عنوان شاخصی برای تعیین حساسیت گیاهان به کمبود آب و بافت از سلول استفاده می‌شود (Pour- Aboughadareh *et al.*, 2017). چندین مطالعه گزارش کرده‌اند که حداقل کاهش RWC در طی تنش کمبود آب نشانگر مقاومت به تنش است (Khalili *et al.*, 2013). به‌طور کلی نتایج نشان داد که درصد کاهش RWC در رقم دریا و در گونه *A. Tauschii* نسبت به سایر گونه‌ها بیشتر بود. یکی از حساس‌ترین فرایندهای فیزیولوژی گیاهان که به شدت تحت تاثیر تنش کم‌آبی قرار می‌گیرد، رشد گیاهان است. گسترش سلولی و رشد گیاه تنها زمانی اتفاق می‌افتد که فشار تورژسانس بیشتر از آستانه تحمل دیواره‌های سلولی باشد و با کاهش فشار تورژسانس در تنش کم‌آبی، رشد گیاهان متوقف می‌شود (Karthikeyan *et al.*, 2007).

#### صفات ریخت‌شناسی



شکل ۲- تاثیر تنش کم‌آبی بر شاخص‌های رشدی در گندم و گونه‌های آزیلوپس. (الف طول، ب عرض و ج مساحت برگ)  
 Figure 2. Effect of water deficit stress on growth indices of *Triticum* and *Agilops* species. (a) length, (b) width and (c) area of leaf

تنش کم‌آبی به ترتیب سبب کاهش ۱۵ و ۲۵ درصدی در عرض و مساحت برگ در مقایسه با گیاهان شاهد مشاهده شد. دامنه تغییرات برای عرض برگ در گیاهان

اثر متقابل دوگانه نشان داد که بیشترین عرض و سطح برگ به رقم دریا و تحت شرایط نرمال و کمترین آن‌ها به گونه *A. crassa* و تحت تنش کم‌آبی تعلق داشت.

هدر روی آب از سطح گیاه، عمدتاً به مساحت تعرق کننده گیاه وابسته است (Bhutta *et al.*, 2006). کاهش مساحت برگ و طول و عرض برگ پرچم در شرایط تنش خشکی را نیز می‌توان در مطالعات Huyuan *et al.*, (2007) مشاهده کرد که با نتایج آزمایش حاضر مطابقت دارد. مطالعه‌ای که در گیاه گندم و تریتیکاله توسط Lonbani & Arzani (2011) انجام شد مشخص شد که طول و مساحت برگ پرچم این گیاهان به دلیل تنش خشکی به‌طور قابل توجهی افزایش یافت؛ درحالی‌که عرض برگ پرچم، تغییر معنی‌داری نکرد. همچنین آن‌ها بیان کردند که طول و مساحت برگ پرچم تحت شرایط تنش آبی ژنوتیپ‌های گندم، دارای سطح برگ بالاتری نسبت به ژنوتیپ‌های تریتیکاله بودند و از نظر آماری تفاوت معنی‌داری داشتند.

#### محتوای کلروفیل‌ها و کاروتنوئید

بین اثرات اصلی گونه‌ها و تنش کم‌آبی و اثر متقابل دوگانه بین آن‌ها بر محتوای کلروفیل a در سطح یک درصد و محتوای کلروفیل b، کل و کاروتنوئیدها در سطح پنج درصد تفاوت معنی‌دار وجود دارد (جدول ۲).

شاهد بین ۲۹۰-۸۷۵ میلی‌متر و برای گیاهان تحت کم‌آبی بین ۲۶۴-۷۶۲ میلی‌متر بود. تنش کم‌آبی در رقم سیروان سبب افزایش عرض برگ (شش درصد)، ولی در سایر گونه‌ها سبب کاهش این پارامتر شد. بیشترین تغییر عرض و مساحت برگ مربوط به رقم دریا به ترتیب با ۲۵ و ۵۹ درصد کاهش و کمترین آن مربوط به گونه سیلدرینکا با شش درصد کاهش و مساحت برگ مربوط به رقم سیروان با یک درصد کاهش نسبت به گیاهان شاهد بود.

تنش‌های خشکی که در طول مراحل مختلف گیاه اتفاق می‌افتد، بسیاری از خصوصیات مورفولوژیکی گیاهی را نسبت به شرایط نرمال تغییر می‌دهد و گاهی موجب کوچک شدن برگ‌ها می‌شود و عموماً گیاهان متحمل به خشکی دارای برگ‌های کم طول و عرض هستند (Shahbazi *et al.*, 2014). همچنین Blum (2005) پیشنهاد کرد که کوچک شدن مساحت برگ، موجب کاهش از دست دادن آب در گیاه می‌شود. به‌نظر می‌رسد که تنش در مراحل ابتدایی، باعث افزایش سطح برگ شود که گیاه بتواند مواد فتوسنتزی بیشتری تولید کند و سریع‌تر دوره بلوغ خود را به پایان رساند، اما با افزایش شدت تنش، گیاه سطح برگ خود را تعدیل می‌کند تا از اتلاف آب از طریق تعرق جلوگیری کند.

جدول ۲- تجزیه واریانس صفات بیوشیمیایی و فیزیولوژی در گندم و گونه‌های آژیلوپس

Table 2. variance Analysis (ANOVA) OF physiological and biochemical traits in *Triticum* and *Aegilops* species.

Source	DF	APX	GPX	CAT	Car	Chl a	Chl b	Chl T
Treatment (T)	1	0.0003 <sup>ns</sup>	0.0094 <sup>**</sup>	0.010 <sup>**</sup>	0.46 <sup>ns</sup>	71.41 <sup>**</sup>	234.52 <sup>**</sup>	7785.92 <sup>**</sup>
Accessions (A)	5	0.010 <sup>**</sup>	0.001 <sup>**</sup>	0.0035 <sup>**</sup>	0.299 <sup>ns</sup>	9.9 <sup>*</sup>	18.78 <sup>*</sup>	45.30 <sup>*</sup>
A×T	5	0.013 <sup>**</sup>	0.0005 <sup>*</sup>	0.0083 <sup>ns</sup>	0.64 <sup>*</sup>	2.93 <sup>**</sup>	8.48 <sup>*</sup>	37.677 <sup>*</sup>
Error	20	0.0008	0.0006	0.0007	0.31	3.30	6.83	14.21
CV	-	23.5	32.95	30.87	28.57	16.06	38.30	21.34
Minimum		0.057	0.054	0.58	3.216	9.563	5.048	14.621
Maximum		0.179	0.105	0.118	4.364	12.414	9.969	22.383
Mean		0.127	0.080	0.086	3.94	11.146	6.900	18.046
Std. deviation		0.042	0.019	0.025	0.402	10.053	1.959	2.91

<sup>ns</sup>، \* و \*\*: به ترتیب غیرمعنی‌دار و معنی‌دار در سطح احتمال پنج و یک درصد.

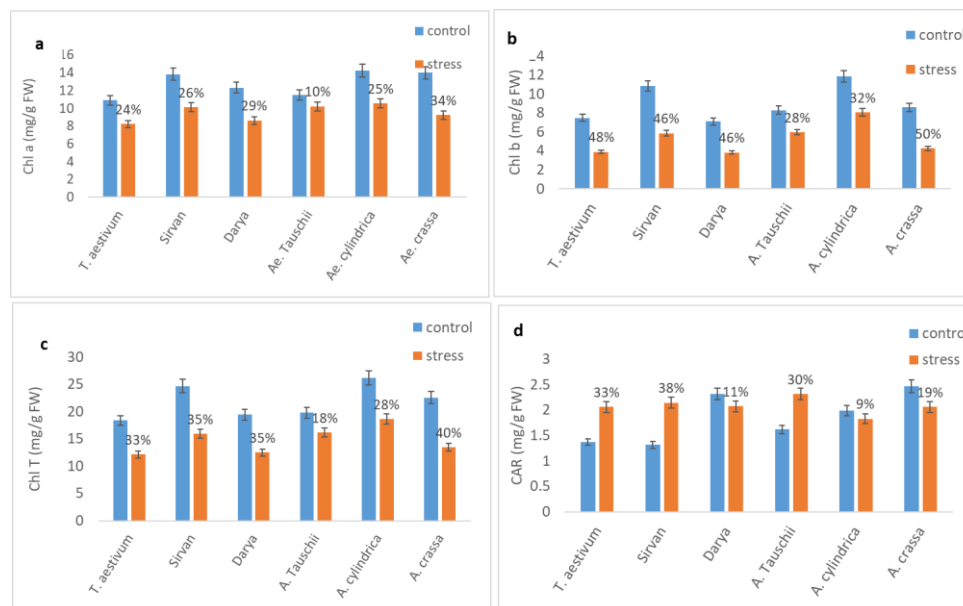
ns, \* and \*\*: non-significant and significant at 5% and 1% of probability levels, respectively.

شرایط نرمال مشاهده شد. محتوای کاروتنوئید در گونه‌های مختلف، پاسخ‌های متفاوتی از خود نشان دادند، به‌طوری‌که در رقم سیروان و گندم بومی و گونه

اثر متقابل دوگانه نشان داد که بیشترین محتوای کاروتنوئید مربوط به گونه *A. crassa* و تحت شرایط نرمال و کمترین آن‌ها مربوط به رقم سیروان و تحت

افزایش مربوط به رقم مقاوم سیروان و کمترین کاهش مربوط به گونه *A. cylindrica* بود.

*A. tauschii* سبب افزایش و در رقم دریا و گونه‌های *A. crassa* و *cylindrica* سبب کاهش آن شد. بیشترین



شکل ۳- تاثیر تنش کم‌آبی در گندم و گونه‌های آژیلوپس. (a) محتوای کلروفیل a، (b) محتوای کلروفیل b، (c) محتوای کلروفیل کل و (d) محتوای کاروتنوئید

Figure 3. Effect of water deficit stress on *Triticum* and *Aegilops* species. (a) chlorophyll a, (b) chlorophyll b, (c) total Chlorophyll and (d) carotenoid contents

است که تنش خشکی با تولید انواع اکسیژن واکنشی از قبیل  $O_2^-$  و  $H_2O_2$  منجر به پراکسیداسیون چربی و به دنبال آن تخریب کلروفیل شود (Foyer, 1994). با کاهش محتوای کلروفیل، رنگ سبز برگ به زرد تغییر می‌یابد و سبب افزایش بازتاب تشعشع تابشی می‌شود که به نظر می‌رسد این مکانیسمی برای محافظت از سیستم فتوسنتزی مقابل تنش باشد. کاهش جذب کربن در برخورد با کمبود آب، منجر به محدودیت سنتز روپیسکو ذخیره ATP می‌شود (Lawlor & Cornic, 2002). بر اساس پژوهش‌هایی که توسط Emadi *et al.* (2013) بر روی گندم انجام شد، مشخص شد که ژنوتیپ‌های مقاوم به خشکی، دارای میزان کاروتنوئید و کلروفیل بیشتری هستند که علت آن، فعالیت بیشتر آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان در مقایسه با ارقام حساس بیان نمودند.

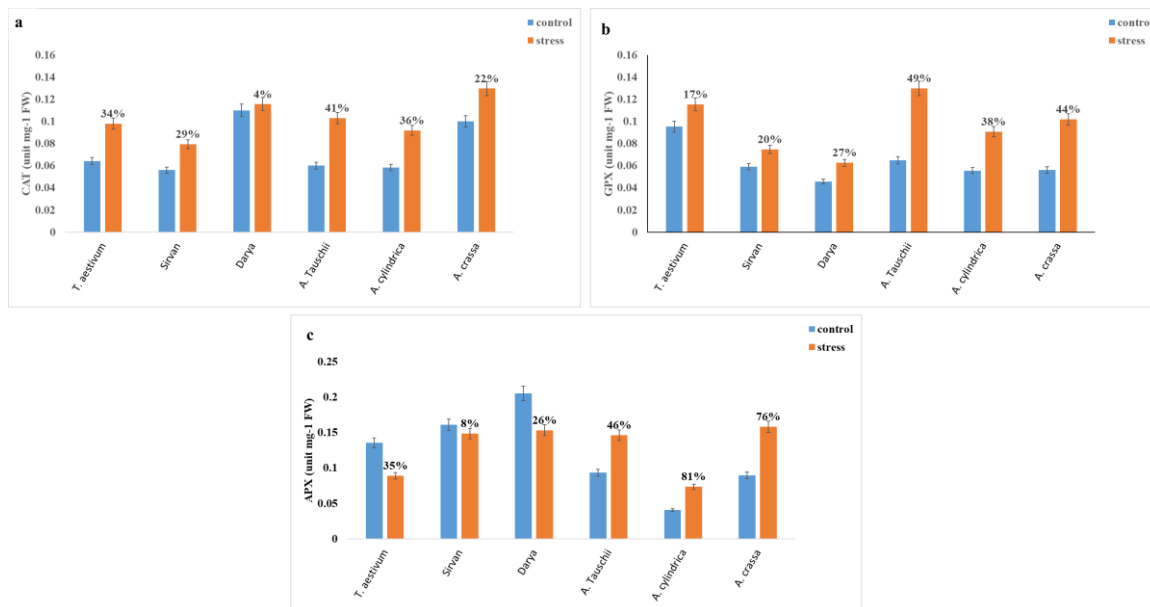
#### فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی

میزان کلروفیل، یکی از فاکتورهای اصلی تأثیرگذار بر ظرفیت فتوسنتزی است. واکنش در بین گونه‌های مختلف گیاهی بسیار متفاوت است، به طوری که در شرایط تنش، میزان کلروفیل کاهش یا افزایش یافته و یا بدون تغییر باقی می‌ماند که این تغییر، به میزان و مدت تنش بستگی دارد. تحت شرایط استرس خشکی، نگهداری کلروفیل برای فتوسنتز امری ضروری است. میزان کلروفیل در شرایط تنش کاهش می‌یابد، ولی این کاهش در ژنوتیپ‌های متحمل گندم، کمتر از ژنوتیپ‌های حساس می‌باشد (Tas & TAs, 2007). محتوای کلروفیل برگ، نشان‌دهنده توانایی فتوسنتزی بافت‌های گیاه است (Nageswara *et al.*, 2001). بر اساس آزمایشی که Fotovat *et al.* (2007) بر روی گیاه گندم انجام دادند، تحت تأثیر تنش خشکی شدید، میزان کلروفیل برگ‌ها به صورت معنی‌داری کاهش یافت. کمبود آب می‌تواند کلروفیل را تخریب و از ساخته شدن آن جلوگیری کند (Lessani & Mojtahedi, 2002). دلیل دیگر برای کاهش محتوای کلروفیل این



آنزیم‌های CAT و GPX تحت تنش کم‌آبی در تمامی گونه‌ها افزایش یافت، به طوری که بیشترین تغییر هر دو آنزیم در گونه *A. tauschii* با ۴۹ درصد برای آنزیم GPX و ۴۱ درصد برای آنزیم CAT افزایش ثبت شد. اثر متقابل دوگانه نشان داد که بیشترین فعالیت آنزیم APX به ترتیب در رقم دریا و تحت شرایط نرمال و کمترین آن‌ها در گونه *A. cylindrica* و تحت شرایط نرمال مشاهده شد. تنش کم‌آبی سبب افزایش فعالیت آنزیم APX در گونه‌های *A. tauschii*، *A. crassa* و *A. cylindrica* شد، اما کاهش فعالیت این آنزیم در گونه گندم (بومی، رقم سیروان و رقم دریا) را در پی داشت.

نتایج تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد که فعالیت آنتی‌اکسیدانی کاتالاز، آسکوربات پراکسیداز و پراکسیداز برای گونه‌های مختلف، سطوح مختلف آبی و اثر متقابل آن‌ها معنی‌داری بودند (جدول یک). اثر متقابل دوگانه نشان داد که بیشترین فعالیت آنزیم‌های CAT و GPX به ترتیب به گونه *A. Crassa* و گونه *A. tauschii* تحت تنش کم‌آبی و کمترین آن‌ها به رقم سیروان و رقم دریا تحت شرایط نرمال تعلق داشت. بیشترین افزایش، در گونه‌های *A. cylindrica* (۸۱) درصد و *A. crassa* (۷۶) درصد مشاهده شد. در بین گندم‌ها، کمترین کاهش فعالیت این آنزیم مربوط به رقم مقاوم سیروان با هشت درصد بود. فعالیت



شکل ۴- تاثیر تنش کم‌آبی بر صفات آنتی‌اکسیدانی در گندم و گونه‌های آزیلوپس. (a) فعالیت آنزیم CAT، (b) فعالیت آنزیم GPX و (c) فعالیت آنزیم APX

Figure 4. Effect of water deficit stress on antioxidant traits in *Triticum* and *Aegilops* species. (a) CAT, (b) GPX and (c) APX enzyme activities.

گندم تحت تنش خشکی انجام دادند نشان داده شد که فعالیت آنزیم CAT با APX همبستگی منفی دارد که با نتایج این تحقیق برای گیاهان گونه گندم مطابقت دارد. آنزیم GPX نقش کلیدی در سم‌زدایی  $H_2O_2$  و حذف مالون‌دی‌آلدهید دارد و در نهایت سبب حفظ ثبات و پایداری دیواره سلولی می‌شود (Hojati *et al.*, 2011). در مطالعات مختلفی افزایش فعالیت آنزیم GPX در تنش خشکی آخر فصل در

تحقیقات بسیاری از پژوهشگران نشان دهنده این است که ارتباط قوی بین تحمل به تنش اکسیداتیو که به دلیل تنش‌های محیطی ایجاد می‌شود و افزایش غلظت آنتی‌اکسیدان‌های گیاهی وجود دارد (Mudgal *et al.*, 2010). آنزیم‌های CAT و APX نقش مکمل در مقابله با  $H_2O_2$  دارند، به طوری که کاهش آنزیم CAT موجب افزایش آنزیم APX می‌شود (Willekens *et al.*, 1997). در پژوهشی که Derogar *et al.* (2019) بر روی گیاه

### تجزیه چندعاملی

مقاومت‌های متفاوت در مقابل خشکی ناشی از تنوع ژنتیکی گیاهان می‌باشد و انتخاب بر اساس یک عامل، معیار مناسبی در ارزیابی مقاومت نخواهد بود؛ بنابراین لازم است در انتخاب ارقام مقاوم به مجموعه‌ای از شاخص‌های مقاومت به خشکی که موجب تغییراتی در فیزیولوژی، آناتومی و مورفولوژی ارقام می‌شود، توجه شود. نتایج حاصل از تجزیه عاملی گیاهان مورد مطالعه نشان داد که دو مؤلفه نخست، ۶۶/۵۷ درصد کل تغییرات را توجیه کردند. مؤلفه نخست (F1) با توجیه ۴۷/۶۱ درصد از تغییرات کل، همبستگی مثبت و معنی‌داری با صفت سطح برگ داشت و مؤلفه دوم (F2) با توجیه ۱۸/۹۶ درصد از تغییرات، رابطه مثبت و معنی‌داری با صفت محتوای کاروتنوئید مؤلفه اول شاخص‌های رشدی داشت. با توجه به نتایج به دست آمده از این تجزیه، انتخاب اکسشن‌های متحمل به تنش کم‌آبی، بر اساس مقادیر بالای دو مؤلفه نخست صورت گرفت؛ بنابراین همان‌گونه که در شکل ملاحظه می‌شود، گونه *A. cylindrica* به‌عنوان متحمل‌ترین و گونه *A. tauschii* و گندم بومی به‌عنوان نیمه متحمل‌ها و رقم دریا به‌عنوان حساس‌ترین ارقام معرفی شدند؛ از این‌رو می‌توان نتیجه گرفت که اثر متقابل مثبتی بین این ساختارهای ژنومی در پاسخ به تنش کم‌آبی وجود دارد. بنابراین اهمیت به کارگیری از این گونه‌های خویشاوندی در برنامه‌های اصلاحی آینده به‌منظور بهبود تحمل به خشکی گندم زراعی توصیه می‌شود.

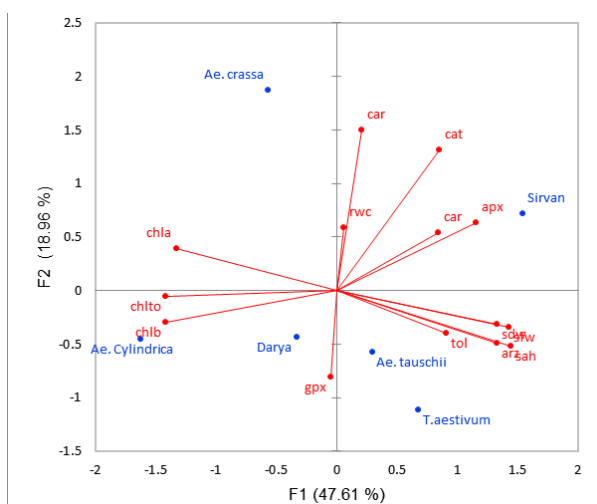
### همبستگی

رابطه بین صفات با استفاده از تجزیه همبستگی نیز مورد بررسی قرار گرفت (جدول ۳، ۴). همان‌طور که مشاهده می‌شود، همبستگی‌های مثبت و منفی زیادی میان صفات مختلف وجود دارد. در شرایط نرمال، زیست‌توده تر و خشک که در مرحله نهالی مهم‌ترین صفت برای گیاه است، دارای همبستگی مثبت با آنزیم APX، طول، عرض و مساحت برگ بود. طول، عرض و مساحت برگ در شرایط تنش کم‌آبی با محتوای نسبی آب همبستگی منفی داشت که نشان دهنده این است که افزایش این پارامترها، باعث کاهش محتوای نسبی

گیاهان متفاوتی همانند گندم (Shao *et al.*, 2006) و ارقام کلزا (Abedi & Pakniyat, 2010) گزارش شده است که با یافته‌های این مطالعه همخوانی داشت. سرعت فعالیت آنزیم GPX در ارقام مقاوم نسبت به ارقام حساس افزایش بیشتری داشت (Siosemardeh *et al.*, 2003). آنزیم APX، با استفاده از آسکوربات به‌عنوان دهنده الکترون، باعث تجزیه بیشتر پراکسید هیدروژن می‌شود و افزایش در فعالیت این آنزیم، باعث تجزیه بیشتر و مؤثرتر پراکسید هیدروژن می‌شود که در نتیجه مقاومت بیشتر نسبت به تنش اکسیداتیو را در پی خواهد داشت (Yoshimura *et al.*, 2000; Ozkur *et al.*, 2009). افزایش فعالیت آنزیم APX در شرایط تنش مانند آنزیم‌های SOD و POX بر اثر افزایش گونه‌های فعال اکسیژن است که با فعال کردن مسیرهای انتقال پیام، باعث افزایش بیان ژن‌های آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان و افزایش فعالیت این آنزیم‌ها می‌شوند (Bian & Jiang, 2009). فعالیت بالای آنزیم APX در گونه‌های وحشی گندم حاکی از آن است که حذف  $H_2O_2$  در این ژنوتیپ‌ها به‌صورت موثقتری انجام پذیرفته است. خویشاوندان وحشی گیاهان زراعی، پتانسیل بالایی از لحاظ تحمل به تنش زیستی و غیر زیستی دارا هستند (Nevo & Chen., 2010). بنابراین به نظر می‌رسد که افزایش فعالیت آنزیم CAT و GPX در تمامی گونه‌های مورد پژوهش، نمایانگر توانایی این گونه‌ها جهت تحمل به شرایط تنش خشکی است. در این مطالعه، کاهش فعالیت آنزیم APX با افزایش فعالیت CAT در گونه گندم همراه بود. نکته‌ای که در تمام بررسی‌ها و تحقیقات به‌دست آمده 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 به این علت باشد که ارقام مختلف از مسیرهای آنتی‌اکسیدانی متفاوتی برای کاهش مقدار ROS استفاده کنند.

شد. احتمالاً این دو آنزیم نقش عمده‌ای در تجزیه ROS تولیدی این گیاهان دارند. سطح فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز بالاتر از آنزیم کاتالاز بود؛ بدین معنی که قسمت عمده فعالیت‌های آنتی‌اکسیدانی توسط این آنزیم انجام گرفته است.

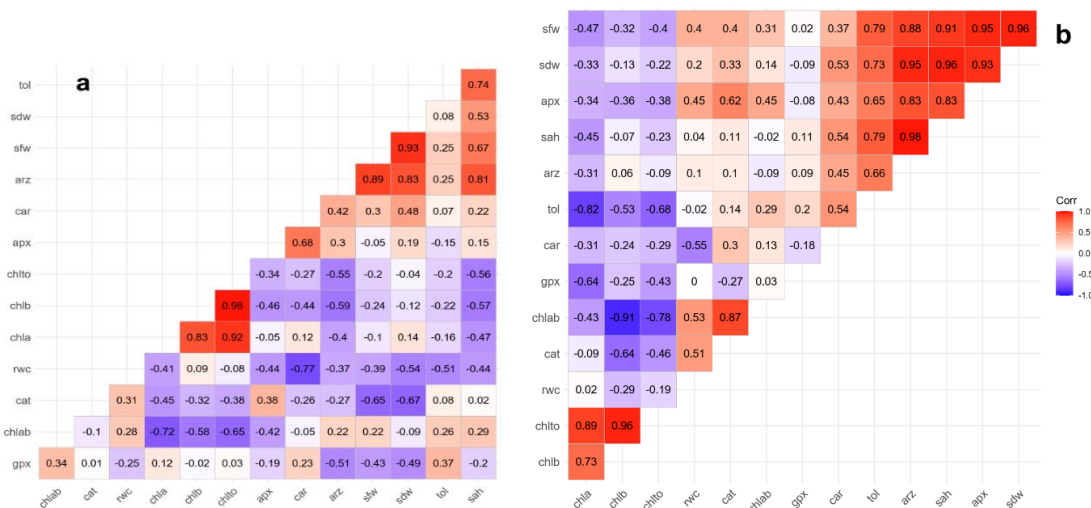
آب می‌شود. Blum (2005) پیشنهاد کرد که در شرایط تنش، یک برگ کوچک‌تر به دلیل جلوگیری از هدرروی آب می‌تواند سبب افزایش تحمل به کم‌آبی شود. همچنین همبستگی مثبت بین فعالیت آنزیم‌های CAT و APX در شرایط تنش کم‌آبی و نرمال مشاهده



شکل ۵- نمودار بای پلات حاصل از تجزیه چند عاملی برای گونه‌های مورد ارزیابی بر اساس صفات اندازه‌گیری شده تحت تنش کم‌آبی

Figure 5. The Biplot of MFA of species based on the measured traits under water deficit stress

جدول ۳- ضرایب همبستگی صفات در گونه‌های مورد مطالعه. (a) تحت تنش کم‌آبی و (b) تحت شرایط نرمال. Table 3. Correlation coefficients of traits in the studied species. a) under water deficit conditions and b) under normal conditions



کاهش یافت. به‌طور کلی، گونه‌های وحشی نسبت به گندم کمترین تغییرات کاهش را در زیست‌توده تر و خشک را خود نشان دادند. فعالیت آنزیم‌های

### نتیجه‌گیری کلی

طبق نتایج حاصل از این پژوهش، شاخص‌های رشدی در شرایط تنش کم‌آبی در تمامی گونه‌ها مورد مطالعه

گونه *A. tauschii* بود. محتوای کلروفیل‌های a, b و کل تحت تنش کم‌آبی به شدت کاهش یافت، ولی محتوای کاروتنوئید در برخی گونه‌ها افزایش و در برخی گونه‌ها کاهش یافت.

آنتی‌اکسیدان GPX و CAT در اثر تنش کم‌آبی در تمامی گونه‌ها افزایش یافت، ولی فعالیت آنزیم APX در گونه‌های وحشی افزایش و در هر سه گندم کاهش یافت. بیشترین فعالیت آنزیم‌های APX, CAT و GPX به ترتیب در گونه *A. tauschii*، گونه *A. cylindrica* و

## REFERENCES

1. Abbasi, A., Malekpour, M. & Sobhanverdi, S. (2021). The Arabidopsis expansin gene (AtEXPA18) is capable to ameliorate drought stress tolerance in transgenic tobacco plants. *Molecular Biology Reports*, 48(8), 5913-5922.
2. Abdi, H., Williams, L. J. & Valentin, D. (2013). Multiple factor analysis: principal component analysis for multitable and multiblock data sets. *Wiley Interdisciplinary Reviews: Computational Statistics*, 5(2), 149-179.
3. Abedi, T. & Pakniyat, H. (2010). Antioxidant enzyme changes in response to drought stress in ten cultivar of oilseed rape (*Brassica napus* L.). *Czech Journal of Genetics and Plant Breeding*, 46(1), 27- 34.
4. Ahmed, H.G.M.D., Sajjad, M., Li, M., Azmat, M.A., Rizwan, M., Maqsood, R.H. & Khan, S.H. (2019b). Selection criteria for drought-tolerant bread wheat genotypes at seedling stage. *Sustainability*, 11 (9), 2584.
5. Ahmed, M., Aslam, M.A., Hassan, F., Hayat, R. & Ahmad, S. (2019a). Biochemical, physiological and agronomic response of wheat to changing climate of rainfed areas of Pakistan. *Pakistan Journal of Botany*, 51, 535-551.
6. Ahmed, M., Hassan, F. & Asif, M. (2012b). Physiological response of bread wheat (*Triticum aestivum* L.) to high temperature and moisture stresses. *Australian Journal of Crop Science*, 6, 749-755
7. Ahmed, M., Hassan, F.U., Aslam, M. & Aslam, M.A. (2012a). Physiological attributes based resilience of wheat to climate change. *International Journal of Agriculture and Biology*, 14, 407-412.
8. 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* L. *Plant, Cell and Environment*, 24(9), 905-916.
9. Amini, Z. & Haddad, R. (2013). Role of photosynthetic Pigments and antioxidant enzymes against oxidative stress. *Veterinary Journal*, 81, 383-386. (In Persian)
10. Asseng, S., Martre, P., Maiorano, A., Rötter, R. P., O'Leary, G. J., Fitzgerald, G. J. & Ewert, F. (2019). Climate change impact and adaptation for wheat protein. *Global Change Biology*, 25(1), 155-173.
11. Awan, S. I., Ahmad, S. D., Mur, L. & Ahmed, M.S. (2017). Marker-Assisted Selection for Durable Rust Resistance in a Widely Adopted Wheat Cultivar" Inqilab-91". *International Journal of Agriculture and Biology*, 19, 1319-1324.
12. Batool, A., Noorka, I. R., Afzal, M. & Syed, A.H. (2013). Estimation of heterosis, heterobeltiosis and potence ratio over environments among pre and post Green Revolution Spring wheat in Pakistan. *Journal of Basic and Applied Sciences*, 9, 36.
13. Bhutta, W.M., Ibrahim, M. & Tahira, A. (2006). Association analysis of some morphological trait of wheat (*Triticum aestivum* L.) under field stress conditions. *Plant Soil Environment*, 52(4), 171-177.
14. Bian, S. & Jiang, Y. (2009). Reactive oxygen species, antioxidant enzyme activities and gene expression patterns in leaves and roots of Kentucky Bluegrass in response to drought stress and recovery. *Scientia Horticulturae*, 120, 264-270.
15. Blum, A. (2005). Drought resistance, water-use efficiency, and yield potential are they compatible, dissonant, or mutually exclusive. *Australian Journal of Agricultural Research*, 56(11), 1159-1168.
16. Chance, B. & Maehly, A.C. (1955) Assay of Catalase and Peroxidase. *Methods in Enzymology*, 2, 764-775.
17. 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.
18. Derogar, H., Fakheri, B., Mehdinezhad, N. & Mohammadi, R. (2019). Evaluation of some biochemical traits in cultivars and wild species of wheat under drought stress. *Environmental Stresses in Crop Sciences*, 12(3), 685-696.

19. Econopouly, B. F., McKay, J. K., Westra, P., Reid, S. D., Helm, A. L. & Byrne, P. F. (2013). Phenotypic diversity of *Aegilops cylindrica* (jointed goatgrass) accessions from the western United States under irrigated and dryland conditions. *Agriculture, Ecosystems & Environment*, 164, 244-251.
20. Emadi, N., Balouchi, H.R. & Jahan, B.S. (2012). Effect of drought stress and plant density on yield, yield components and some morphological characters of pinto bean (cv. CO S16) in Yasouj region. *Electronic Journal of Crop Production*, 5 (2), 1 -17.
21. Fotovat, R., Valizadeh, M. & Toorchi, M. (2007). Association between water-use efficiency components and total chlorophyll content (SPAD) in wheat (*Triticum aestivum* L.) under well-watered and drought stress conditions. *Journal of Food Agriculture and Environment*, 5(3/4), 225.
22. Foyer, C.H., Lelandais, M. & Kunert, K.J. (1994). Photooxidative stress in plants. *Physiologia Plantarum*, 92(4), 696-717.
23. Hadwan, M.H. (2018). Simple spectrophotometric assay for measuring catalase activity in biological tissues. *BMC Biochemistry*, 19, 1-8.
24. Hojati, M., Modarres-Sanavy, A.M.M., Karimi, M. & Ghanati, F. (2011). Responses of growth and antioxidant systems in *Carthamus tinctorius* L. under water deficit stress. *Acta Physiologia Plantarum*, 33, 105-112.
25. Hui-Mean, F., Yusop, Z. & Yusof, F. (2018). Drought analysis and water resource availability using standardised precipitation evapotranspiration index. *Atmospheric Research*, 201, 102-115.
26. Huyuan, F., Xue, Li.S. & Wang, L.X. (2007). The interactive effects of enhanced UV-B radiation and soil drought on spring wheat. *South African Journal of Botany* 73, 429-434.
27. Jagtap, V., Bhargava, S., Streb, P. & Feierabend, J. (1998). Comparative effect of water, heat and light stresses on photosynthetic reactions in *Sorghum bicolor* (L.) Moench. *Journal of Experimental Botany*, 49(327), 1715-1721.
28. Karthikeyan, N., Prasanna, R., Nain, L. & Kaushik, B.D. (2007). Evaluating the potential of plant growth promoting cyanobacteria as inoculants for wheat. *European Journal of Soil Biology*, 43(1), 23-30.
29. Khalili, M., Aboughadareh, A.P. & Naghavi, M.R. (2013). Screening of drought tolerant cultivars in barley using morpho-physiological traits and Integrated Selection Index under water deficit stress condition. *Advanced Crop Science*, 3(7), 462-471.
30. Khan, M.A., Tahir, A., Khurshid, N., Ahmed, M. & Boughanmi, H. (2020). Economic effects of climate change-induced loss of agricultural production by 2050: a case study of Pakistan. *Sustainability*, 12(3), 1216.
31. Lawlor, D. W. & Cornic, G. (2002). Photosynthetic carbon assimilation and associated metabolism in relation to water deficits in higher plants. *Plant, Cell and Environment*, 25(2), 275-294.
32. Lessani, H. & M. Mojtahedi. (2002). Introduction to Plant Physiology (Translation). 6th Edn., *Tehran University Press*, Iran, pp: 726. (In Persian)
33. Lichtenthaler, H.K. (1987). Chlorophyll fluorescence signatures of leaves during the autumnal chlorophyll breakdown. *Journal of Plant Physiology*, 131, 101-110.
34. Lonbani, M. & Arzani, A. (2011). Morpho-physiological traits associated with terminal drought-stress tolerance in triticale and wheat. *Agronomy Research*, 9(1-2), 315-329.
35. Ma, J., Li, R., Wang, H., Li, D., Wang, X., Zhang, Y., & Li, Y. (2017). Transcriptomics analyses reveal wheat responses to drought stress during reproductive stages under field conditions. *Frontiers in Plant Science*, 8, 592.
36. Mittler, R. (2006). Abiotic stress, the field environment and stress combination. *Trends in Plant Science*, 11(1), 15-19.
37. Mudgal, V., Madaan, N. & Mudgal, A. (2010). Biochemical mechanisms of salt tolerance in plants: a review. *International Journal of Botany*, 6(2), 136-143.
38. Naderi Zarnaghi, R., Valizadeh, M. & Firoozi, S. (2014). The effects of drought stress in tillering stage on glutathione reductase and ascorbate peroxidase activities of winter wheat genotypes. *Iranian Journal of Dryland Agriculture*, 3(2), 127-139 (In Persian)
39. Nageswara Rao, R.C., Talwar, H. S. & Wright, G.C. (2001). Rapid assessment of specific leaf area and leaf nitrogen in peanut (*Arachis hypogaea* L.) using a chlorophyll meter. *Journal of Agronomy and Crop Science*, 186(3), 175-182.

40. Nakano, Y. & Asada, K. (1981). Hydrogen peroxide is scavenged by ascorbate-specific peroxidase in spinach chloroplasts. *Plant and Cell Physiology*, 22, 867-880.
41. Nevo, E. & Chen, G. (2010). Drought and salt tolerances in wild relatives for wheat and barley improvement. *Plant, Cell and Environment*, 33, 670-685.
42. Ozkur, O., Ozdemir, F., Bor, M. & Turkan, I. (2009). Physiochemical and antioxidant responses of the perennial Xerophyte *Capparis ovata* Desf. to Drought. *Environmental and Experimental Botany*, 66, 487-492.
43. Pagariya, M.C., Devarumath, R.M. & Kwar, P.G. (2012). Biochemical characterization and identification of differentially expressed candidate genes in salt stressed sugarcane. *Plant Science*, 184, 1-13.
44. Pour-Aboughadareh, A., Ahmadi, J., Mehrabi, A.A., Etminan, A., Moghaddam, M. & Siddique, K.H. (2017). Physiological responses to drought stress in wild relatives of wheat: implications for wheat improvement. *Acta Physiologiae Plantarum*, 39(4), 106.
45. Pour-Aboughadareh, A., Omidi, M., Naghavi, M.R., Etminan, A., Mehrabi, A.A., Poczai, P. & Bayat, H. (2019). Effect of water deficit stress on seedling biomass and physio-chemical characteristics in different species of wheat possessing the D genome. *Agronomy*, 9(9), 522.
46. Pravalie, R., Sirodoev, I., Patriche, C., Roşca, B., Piticar, A., Bandoc, G. & Iordache, Ş. (2020). The impact of climate change on agricultural productivity in Romania. A country-scale assessment based on the relationship between climatic water balance and maize yields in recent decades. *Agricultural Systems*, 179, 102767.
47. Ramirez-Cabral, N.Y., Kumar, L. & Shabani, F. (2017). Global alterations in areas of suitability for maize production from climate change and using a mechanistic species distribution model (CLIMEX). *Scientific Reports*, 7(1), 1-13.
48. 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 (Praha)*, 20(1), 50-55.
49. Sánchez-Blanco, M.J. Rodríguez, P., Olmos, E., Morales, M.A., & Torrecillas, A. (2004). Differences in the Effects of Simulated Sea Aerosol on Water Relations, Salt Content, and Leaf Ultrastructure of Rock-Rose Plants. *Journal of Environmental Quality*, 33(4), 1369-1375.
50. Schonfeld, M.P., Richard, J.C, Carver, B.F. & Mornhi, N.W. (1988). Water relations in winter wheat as drought resistance indicators. *Crop Science*, 28, 526-531.
51. Shahbazi, H., Arzani, A. & Esmailzadeh, M. (2014). The effect of drought stress on physiological properties in recombinant wheat inbred lines. *Journal of Crop Production and Processing*, 4 (11), 285-293. (In Persian)
52. Shao, H.B., Liang, Z.S. & Shao, M.A. (2006). Osmotic regulation of 10 wheats (*Triticum aestivum* L.) genotypes at soil water deficits. *Colloids of Surfases*. 47, 32-139.
53. Sharma, B.R., Rao, K.V., Vittal, K.P.R., Ramakrishna, Y.S. & Amarasinghe, U. (2010). Estimating the potential of rainfed agriculture in India: Prospects for water productivity improvements. *Agricultural Water Management*, 97(1), 23-30.
54. Simonovicova, A., Barteková, J., Janovová, Ľ. & Luptáková, 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 Biotechnologica et Chimica*, 10, 63-69.
55. Siosemardeh, A., Ahmadi, A., Poustini, K. & Ebrahimzade, H. (2003). Stomata and nonstopmatal limitations to photosynthesis and their relationship with drought resistance in wheat cultivars. *Iranian Journal of Agricultural Science*. 34(4), 4. (In Persian)
56. Sohail, Q., Inoue, T., Tanaka, H., Eltayeb, A.E., Matsuoka, Y. & Tsujimouka, H. (2011) 'Applicability of *Aegilops tauschii* drought tolerance traits to breeding of hexaploid wheat', *Breeding Science*, 61, 347-357.
57. Souza, C.C.D., Oliveira, F.A.D., Silva, I.D.F.D. & Amorim Neto, M.D.S. (2000). Evaluation of methods of available water determinaton and irrigation management in" terra roxa" under cotton crop. *Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental*, 4(3), 338-342.
58. Tas, S. & Tas, B. (2007). Some physiological responses of drought stress in wheat genotypes with different ploidity in Turkiye. *World Journal of Agricultural Sciences*, 3(2), 178-183.

59. Van-Ogtrop, F., Ahmad, M. & Moeller, C. (2014). Principal components of sea surface temperatures as predictors of seasonal rainfall in rainfed wheat growing areas of Pakistan. *Meteorological Applications*, 21(2), 431-443.
60. Vojdani P. & Meybodi M. (1993). Distribution and genetic diversity of primitive bread wheats in Iran. In: Damania A.B. (ed.), Biodiversity and Wheat Improvement. *John Wiley and Sons*, 409-415.
61. Willekens, H., Chamnongpol, S., Davey, M., Schraudner, M., Langebartels, C., Van Montagu, M. & Van Camp, W. (1997). Catalase is a sink for H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> and is indispensable for stress defence in C3 plants. *The EMBO Journal*, 16(16), 4806-4816.
62. Yoshimura, K., Yabute, Y., Ishikawa, T. & Shigeoka, S. (2000). Expression of spinach ascorbate peroxidase isoenzymes in response to oxidative stresses. *Plant Physiology*, 123: 223-233.