

## شناسایی ژنوتیپ‌های گندم متحمل به تنش شوری با استفاده از ارزیابی تغییرات سیستم دفاعی آنزیمی و شاخص‌های تحمل به تنش

آمنه قاسمی<sup>۱</sup>، محمود سلوکی<sup>۲\*</sup>، صابر گلکاری<sup>۳</sup>، نفیسه مهدی نژاد<sup>۴</sup>، براتعلی فاخری<sup>۲</sup>، میترا جباری<sup>۴</sup>

۱- دانشجوی دکتری اصلاح نباتات دانشگاه زابل، زابل، ایران

۲- گروه اصلاح و بیوتکنولوژی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه زابل، زابل، ایران

۳- گروه تحقیقات کشاورزی دیم کشور، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، مراغه، ایران

۴- عضو هیات علمی-آموزش عالی سراوان، سراوان، ایران

\* مسئول مکاتبه: [mahmood.solouki@uoz.ac.ir](mailto:mahmood.solouki@uoz.ac.ir)

DOI: 10.22034/CSRAR.2021.299379.1123

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۰/۰۸/۱۸

تاریخ دریافت: ۱۴۰۰/۰۵/۳۰

### چکیده

تنش شوری یکی از مهم‌ترین تنش‌های غیرزیستی است که باعث کاهش شدید عملکرد و کیفیت محصولات گیاهان زراعی می‌شود. ارزیابی تحمل گیاهان زراعی به تنش‌های زیست محیطی عامل مهمی در انتخاب آن‌ها برای کشت در شرایط مختلف می‌باشد. در همین راستا و به منظور ارزیابی و شناسایی ژنوتیپ‌های گندم مقاوم به تنش شوری با استفاده از شاخص‌های تحمل به تنش و تغییرات برخی شاخص‌های بیوشیمیایی آزمایشی به صورت کرت‌های خرد شده در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی با سه تکرار اجرا گردید. عوامل آزمایشی شامل شوری در سه سطح (صفر (شاهد یا نرمال)، سطح شوری ۹ دسی‌زیمنس و سطح شوری ۱۲ دسی‌زیمنس) و ۲۰ ژنوتیپ گندم بومی ایران بودند. نتایج نشان داد که با اعمال تنش شوری میزان لیپوکسی‌ژناز، شاخص سطح اکسیداسیونی سلول (TBARM) و کاروتنوئید در تمامی ژنوتیپ‌ها افزایش یافت. با افزایش سطح شوری از ۹ دسی‌زیمنس به ۱۲ دسی‌زیمنس این شاخص‌ها در برخی از ژنوتیپ‌های روند کاهشی داشت. همچنین با اعمال تنش شوری مقدار غلظت پروتئین و پرولین نیز در تعدادی از ژنوتیپ‌ها در سطح شوری ۹ دسی‌زیمنس افزایش یافت. برخی از ژنوتیپ‌های با افزایش سطح شوری از ۹ به ۱۲ دسی‌زیمنس کاهش معنی‌داری در مقدار غلظت پروتئین و پرولین نشان دادند. نتایج حاصل از تجزیه و تحلیل هم‌بستگی بین شاخص‌ها و میانگین عملکرد در شرایط نرمال و تنش شوری نشان داد که هر چهار شاخص TOL, GMP, STI, SSI برای غربال کردن ژنوتیپ‌ها مناسب هستند. با توجه به نتایج حاصل از شاخص‌های مورد استفاده و عملکرد در دو محیط شوری و نرمال، همچنین نتایج ارزیابی خصوصیات بیوشیمیایی، ژنوتیپ‌های G151 و G2, G11, G86, G109, G205 می‌توان به عنوان ژنوتیپ متحمل به تنش شوری معرفی نمود.

واژه‌های کلیدی: پروتئین، پرولین، شاخص سطح اکسیداسیون سلولی، کلروفیل

### مقدمه

نفوذپذیری انتخابی یون‌ها در غشاءها یا اثرات متقابل رقابتی بر جذب مواد غذایی اثر می‌گذارند (Chaves et al., 2009; Flowers et al., 2008). تنش شوری مانند دیگر تنش‌های محیطی باعث تجمع یون‌های سوپراکسید، پراکسید هیدروژن و رادیکال هیدروکسیل در سلول و آسیب رساندن به لپیدهای غشاء و پروتئین و اسیدهای نوکلئید می‌شود (Sinha et al., 2006). پراکسیداسیون چربی‌ها نمایانگر تنش‌های اکسیداتیو در گیاهان است که می‌تواند تحت تأثیر رادیکال‌های آزاد یا گونه‌های فعال اکسیژن ایجاد شود. در اثر تخریب پراکسیدهای اسیدهای چرب اشباع نشده، مالون‌دی‌آلدهید<sup>۱</sup> به وجود می‌آید

گندم (*Triticum aestivum* L.) به عنوان یکی از مهم‌ترین محصولات زراعی در سطح جهانی حدود ۲۰ درصد از غذای انسان را تأمین می‌کند. در بین غلات گندم بیشترین سازگاری را با شرایط نامساعد محیطی دارد (Munns et al., 2006). از بین تنش‌های غیر زنده، تنش شوری و خشکی مهم‌ترین و بزرگ‌ترین محدود کننده‌های تولید محصولات زراعی بشمار می‌رود (Munns et al., 2006). تنش شوری با تجمع کاتیون سمی Na<sup>+</sup> و یون دامنه وسیعی از اختلالات را در سلول‌ها در تمام گیاه ایجاد می‌کند. در نهایت از طریق

<sup>1</sup> Malon de Aldehyd (MDA)

شناسایی این صفات است ( Flowers and Flowers, 2005; Dadashi *et al.*, 2007). در تحقیقات اخیر محققان تنوع بالایی میان ارقام و لاین‌های گندم نان از نظر تحمل به تنش شوری گزارش نموده‌اند که بیانگر وجود فرصت‌های زیادی در جهت افزایش تحمل به شوری در گندم نان از طریق انتخاب و اصلاح می‌باشد ( Passioura *et al.*, 2006; Inamulla *et al.*, 2006).

شاخص‌های متفاوتی برای ارزیابی واکنش‌های ژنوتیپ‌ها در شرایط محیطی مختلف و تعیین مقاومت و حساسیت آن‌ها ارائه شده است. طبق نظر فرناز؛ مناسب‌ترین معیار جهت انتخاب در محیط‌های تنش معیاری است که قادر به تشخیص ژنوتیپ‌هایی با عملکرد بالا در هر دو شرایط تنش و نرمال باشد و شاخص‌هایی که در دو محیط نرمال و تنش دارای همبستگی بالایی با عملکرد دانه باشند به عنوان بهترین شاخص‌ها معرفی می‌شوند (Fernandez, 1992). یکی از مهم‌ترین شاخص‌های انتخاب، شاخص حساسیت به تنش<sup>۴</sup> (SSI) می‌باشد که فیشر و مورر آن را پیشنهاد دادند. مقدار کمتر SSI نشان‌دهنده تغییرات کم عملکرد یک ژنوتیپ در شرایط تنش و در نتیجه پایداری بیشتر آن است (Fischer and Maurer, 1987). روزیل و هامبلین شاخص‌های تحمل<sup>۴</sup> (TOL) و میانگین بهره‌وری<sup>۵</sup> (MP) را معرفی نمودند. مقدار بالای TOL بیانگر حساسیت ژنوتیپ به تنش بوده و انتخاب ژنوتیپ‌ها بر اساس مقادیر کم آن می‌باشد (Rosielli and Hamblin, 1982).

با در نظر گرفتن اینکه بسیاری از زمین‌های کشاورزی در سراسر کشور عزیزمان همواره در معرض تنش شوری می‌باشد و با توجه به این‌که بهترین راه و کم هزینه‌ترین راه انتخاب ژنوتیپ مقاوم به تنش شوری می‌باشد؛ بنابراین پژوهش حاضر به منظور انتخاب بهترین ژنوتیپ مقاوم به تنش از بین ژنوتیپ‌های بومی گندم، طراحی و اجرا گردید. هدف از تحقیق حاضر بررسی و مقایسه پاسخ‌های مختلف فیزیولوژیک در ژنوتیپ‌های بومی گندم نسبت به شوری است تا تصویر صحیحی از مقاومت ژنوتیپ‌های مورد استفاده به شوری فراهم گردد و بهترین ژنوتیپ‌ها معرفی شود.

که به‌عنوان یک نشان‌گر برای مشخص کردن مقدار صدمات اکسیداتیو به لیپیدها به کار می‌رود ( Ashraf and Neilly, 2004).

اکسیداسیون اسیدهای چرب و واکنش متابولیک متداول در سیستم‌های زنده در جهت سازگاری به تنش‌های زنده و غیر زنده می‌باشد. محصولات حاصل از فرایندهای اکسیداسیون اسیدهای چرب در مجموع اکسی لیپین<sup>۱</sup> نامیده می‌شود که به طور عمده توسط آنزیم لیپوکسی ژناز<sup>۲</sup> (LOX) کاتالیز می‌شوند. محصولات اولیه فعالیت آنزیم LOX، هیدروپروکسید اسید چرب می‌باشد که از نظر واکنشی فعال بوده و قادر به تولید رادیکال‌های آزاد و باعث خسارت به غشا و مرگ سلولی می‌شود (Nemchenko *et al.*, 2006; Blée, 2002). بنابراین اندازه‌گیری شاخص سطح اکسیداسیون سلولی (TBARM) در کنار میزان لیپواکسی‌ژناز اطلاعات تکمیلی و مفیدی را به منظور بررسی دامنه مقاومت نسبی گیاه به تغییرات نسبی یون پراکسید هیدروژن و تأثیر آن بر روند اکسیداسیون سلول فراهم می‌آورد (Heidarvand and Maali-Amiri, 2013).

توانایی گیاهان در افزایش تحمل به تنش طی فرایندهای سازگاری با تغییرات متعددی در بیان ژن، فیزیولوژی و مورفولوژی همراه بوده که این تغییرات شامل افزایش یا کاهش بیان ژن‌ها، کاهش یا توقف رشد، تغییر در ترکیب لیپیدی غشا، تغییر در ترکیب محلول‌های سازگار (مثل پرولین و بتائین و قندهای محلول) و افزایش آنتی اکسیدان‌های آنزیمی و غیر آنزیمی سلول و به طور کلی تغییر متابولیت‌های اولیه و ثانویه هستند ( Heidarvand and Maali-Amiri, 2013; Kazemi Shahandashti *et al.*, 2014).

با توجه به پیچیدگی پاسخ به تنش شوری، ژنوتیپ‌های مختلف گندم از نظر تحمل به تنش دارای تنوع زیادی می‌باشند. در نتیجه پژوهش‌گران همواره بدنبال منابع جدید ژنتیکی برای بهبود عملکرد گندم هستند. تلاش برای یافتن معیارهایی که بتوان از آن‌ها به طور مؤثری در انتخاب ژنوتیپ‌های متحمل یا مقاوم بهره گرفت، ادامه دارد. استفاده از تنوع گیاهی برای گزینش صفات مطلوب در شرایط تنش، از راه‌های مؤثر در

<sup>4</sup> Stress Tolerance

<sup>5</sup> Mean productivity

<sup>1</sup> Oxylipin

<sup>2</sup> Lipoxygenase

<sup>3</sup> Stress susceptibility index

## مواد و روش‌ها

محلول ۲/۵ در هزار قارچ‌کش بنومیل همراه با هیپوکلریت سدیم ۵ درصد به منظور ضد عفونی خیسانده و سپس با آب مقطر شستشو شدند. پس از شستشو با آب مقطر بذرها در پتری‌دیش در محل تاریک با دمای ۲۵ درجه سلسیوس به مدت یک هفته نگهداری شد تا جوانه بزینند. پنج ردیف بذر جوانه زده که هر ردیف حاوی سه بذر از هر ژنوتیپ بود را در گلدان مستطیلی شکل به ابعاد طول ۵۰ سانتی‌متر، عرض ۳۰ سانتی‌متر و ارتفاع ۲۰ سانتی‌متر کشت شدند (در واقع در هر گلدان ۱۵ بذر با فاصله ۱۰ سانتی‌متر کشت گردید). تیمار شوری با کلرید سدیم (بصورت محلول در آب آبیاری) در سه سطح شوری صفر (شاهد)، ۹ و ۱۲ دسی‌زیمنس بر متر اعمال شد.

پژوهش حاضر در پاییز ۱۳۹۷ در گلخانه دانشگاه زابل به صورت کرت‌های خردشده در قالب طرح بلوک کامل تصادفی با سه تکرار به اجرا در آمد. فاکتورهای آزمایشی شامل شوری در سه سطح (شامل: صفر، ۹ دسی‌زیمنس و ۱۲ دسی‌زیمنس) و ۲۰ ژنوتیپ گندم بومی ایران بودند. در این پژوهش شوری به عنوان عامل اصلی و ژنوتیپ‌ها عامل فرعی بود. بذر ژنوتیپ‌های گندم از موسسه تحقیقات دیم کشور واقع در مراغه تهیه شدند. لازم به ذکر می‌باشد که این ژنوتیپ‌ها از یک توده هشت هزار ژنوتیپی انتخاب شدند. طبق استانداردهای جهانی دارای کدهایی در موسسه سیمیت<sup>۱</sup> می‌باشند که در جدول ۱ اطلاعات ژنوتیپ‌های انتخابی و کدها و شماره‌ها مشخص شده است. پس از انتخاب و جداسازی بذرهای سالم، به مدت ۱۵ دقیقه در

جدول ۱- اطلاعات مربوط به ژنوتیپ‌ها

Table 1- Information on genotypes

Taxon	Origity	Collsite	Cid	GID	Ent
-	-	-	299978	319956	2
Undetermined sp.	IRAN	Saghez	178271	187505	11
Triticum aestivum subsp. aestivum	IRAN		176907	189040	77
Triticum aestivum subsp. aestivum	IRAN	-	176948	189193	81
Triticum aestivum subsp. aestivum	IRAN	-	176978	189280	86
Triticum aestivum subsp. aestivum	IRAN	Hamedan	350316	189956	101
Triticum aestivum subsp. aestivum	IRAN	Kermanshah	177264	190095	109
Triticum aestivum subsp. aestivum	IRAN	Zanjan	268851	283138	120
Triticum aestivum subsp. aestivum	IRAN	Mashhad	348935	283449	124
Triticum aestivum subsp. aestivum	IRAN	Mashhad	348960	283553	126
Triticum aestivum subsp. aestivum	IRAN	Mashhad	349005	283602	127
Undetermined sp.	IRAN	Ilam	350238	374133	151
Triticum aestivum subsp. aestivum	IRAN	Mashhad	349936	375454	191
Triticum aestivum subsp. aestivum	IRAN	Mashhad	350063	375564	199
Triticum aestivum subsp. aestivum	IRAN	Kerman	267912	375626	204
Triticum aestivum subsp. aestivum	IRAN	Kerman	268045	375659	205
Triticum aestivum subsp. aestivum	IRAN	Kerman	268362	375743	213
Triticum aestivum subsp. aestivum	IRAN	Esfahan	179295	375963	232
Triticum aestivum subsp. aestivum	IRAN	Tehran	350576	2437249	239

<sup>1</sup> International Maize and Wheat Improvement Center (CIMMYT)

با ازت مایع درون هاون‌های چینی کوبیده گردید. درون فالکون‌های ۱۵ میلی‌لیتری ریخته شد. سپس ۱۰ میلی‌لیتر اسید سولفوسالیسیلیک سه درصد به نمونه‌ها اضافه گردید و محلول به مدت ۱۰ دقیقه با دور ۱۳ هزار دور در دقیقه سانتریفیوژ گردید. بعد از سانتریفیوژ، دو میلی‌لیتر محلول نین هیدرین اضافه شد. محلول در حمام بخار با دمای ۱۰۰ درجه سانتی‌گراد به مدت یک ساعت قرار گرفت. پس از این زمان جهت جلوگیری از ادامه واکنش، لوله‌ها به مدت ۱۰ دقیقه در مخلوط آب و یخ قرار داده شدند. بعد از هم دما شدن با محیط، چهار میلی‌لیتر تولوئن به نمونه‌ها اضافه شد و سپس ورتکس گردید. در نهایت با دستگاه اسپکتروفوتومتر در طول موج ۵۲۰ نانومتر خوانده شد (Bates et al., 1973).

### سنجش شاخص سطح اکسیداسیونی سلول (TBARM<sup>۶</sup>)

سنجش TBARM برای سنجش میزان تنش اکسیداسیونی می‌باشد، در آن میزان مالون دی‌آلدید که محصول نسبتاً پایدار و نهایی واکنش اکسیداسیون مولکول‌های بزرگ است، اندازه‌گیری می‌شود. برای سنجش TBARM یک میلی‌لیتر اسید تری‌کلرواستیک (15% w/v) به ۰/۵ گرم برگ اضافه گردید. سپس ۱۰ میلی‌لیتر استون به آن مخلوط اضافه شد و مخلوط را با دور ۴۷۵۰ در دقیقه به مدت ۱۵ دقیقه سانتریفیوژ گردید. جهت شستشوی رسوب کوچک حاصل از سانتریفیوژ مقدار ۵ میلی‌لیتر استون استفاده گردید، سپس ورتکس شد و مجدداً با دور ۴۷۵۰ در دقیقه به مدت ۱۰ دقیقه سانتریفیوژ گردید. مقدار ۳ میلی‌لیتر اسید فسفریک (w/v) 1% و یک میلی‌لیتر اسید تیوباربیوریک (0.6% w/v) اضافه گردید. محلول برای مدت ۳۰ دقیقه در دمای ۱۰۰ درجه سانتی‌گراد قرار داده شد. جهت متوقف کردن واکنش، لوله‌های آزمایش را سریع به داخل یخ انتقال داده شد. در نهایت مقدار جذب محلول حاصل را با طول موج ۵۳۲ و ۵۹۰ نانومتر توسط دستگاه اسپکتروفوتومتر اندازه‌گیری گردید (Hagege et al., 1990).

### شاخص‌های کمی تحمل به تنش

شاخص تحمل (TOL<sup>۱</sup>) با رابطه

$$TOL = Y_p - Y_s \quad (۱)$$

عملکرد بالقوه هر ژنوتیپ در محیط نرمال و  $Y_s$ :

عملکرد بالقوه هر ژنوتیپ در تنش

شاخص میانگین بهره‌وری (MP<sup>۲</sup>) از طریق رابطه

$$MP = (Y_p + Y_s)/2 \quad (۲)$$

شاخص حساسیت به تنش (SSI<sup>۳</sup>) از طریق رابطه

$$SSI = [1 - (Y_s/Y_p)]/SI \quad (۳)$$

شدت تنش (SI<sup>۴</sup>) برای هر کدام از ارقام طبق رابطه (۴)

محاسبه شد.

$\bar{Y}_s$  میانگین عملکرد کلیه ژنوتیپ‌ها در شرایط تنش می

باشد در این مقاله  $\bar{Y}_s$  میانگین عملکرد کلیه ژنوتیپ‌ها در سطح

شوری ۱۲ دسی‌زیمنس می‌باشد همچنین  $\bar{Y}_p$  میانگین عملکرد

کلیه ژنوتیپ‌ها در شرایط نرمال می‌باشد.

$$SI = [1 - (\bar{Y}_s/\bar{Y}_p)]$$

شاخص میانگین هندسی بهره‌وری (GMP) صفت در هر

دو محیط رابطه شماره (۵)

$$GMP = \sqrt{\bar{Y}_p} \times Y_s$$

شاخص‌های تحمل به تنش (STI<sup>۵</sup>) در دو محیط رابطه

شماره (۶)

$$STI = (Y_p \times Y_s) / (\bar{Y}_p)^2$$

### اندازه‌گیری میزان پروتئین

جهت سنجش پروتئین مقدار ۰/۰۱ میلی‌لیتر از عصاره

پروتئینی را با پنج میلی‌لیتر معرف بیوره مخلوط گردید و سریع

ورتکس شد. مبنای این روش بر اساس اتصال رنگ کوماکسی

برایانت بلو G250 موجود در معرف اسیدی به مولکول پروتئین

می‌باشد. میزان جذب نوری آن در طول موج ۵۹۵ نانومتر با

دستگاه اسپکتروفوتومتر خوانده شد (Bradford, 1976)

### پرولین

جهت اندازه‌گیری میزان پرولین ۰/۱ گرم از بافت برگ تازه

<sup>۴</sup> Stress index

<sup>۵</sup> Stress Tolerance index

<sup>۶</sup> Thiobarbituric Acid Reactive Material

<sup>۱</sup> Stress Tolerance

<sup>۲</sup> Mean productivity

<sup>۳</sup> Stress susceptibility index

### سنجش آنزیم لیپوکسیژناز<sup>۱</sup> (LOX)

برای اندازه‌گیری میزان LOX، ۲/۵ گرم نمونه برگ در آب سرد خالص یکنواخت گردید و سپس در دور ۱۲۰۰۰g به مدت ۱۰ دقیقه سانتریفیوژ شد. محلول فوقانی حذف و بقیه با کمک ستون ژل PD 10 خالص شد. به مقدار مساوی بافر فسفات پتاسیم (۵۰ Mm، pH=6) اضافه گردید و محلول یکنواخت شده با اسید لینولئیک (۸۰ nmol) و بافر نمک سدیم همگن و با کمک اسپکتروفتومتر در طول موج ۲۳۴ nm قرلنت گردید (Mosquera-Minguez *et al.*, 1993).

### استخراج کلروفیل

جهت اندازه‌گیری میزان کلروفیل ۰/۵ گرم نمونه برگ تازه را با ۱۰ میلی‌لیتر استون ۸۰ درصد مخلوط گردید. سپس در دور ۸۰۰۰rpm به مدت ۱۵ دقیقه سانتریفیوژ گردید و فاز رویی برای سنجش کلروفیل و کاروتنوئید جدا شد. در نهایت با دستگاه اسپکتروفتومتر (Uvikon – Kontron) میزان جذب (A) در طول موج‌های ۶۴۶/۶، ۶۶۳/۶ و ۷۵۰ نانومتر ثبت گردید. در نهایت میزان کلروفیل (Chla) a و کلروفیل (Chlb) b بر اساس رابطه‌های (۷ و ۸) بدست آمد (Porra *et al.*, 1998)

$$\text{Chla (mgml}^{-1}\text{)} = 12.25A_{663.6} - 2.55A_{646.6}$$

$$\text{Chlb (mgml}^{-1}\text{)} = 20.31A_{646.6} - 4.91A_{663}$$

### تجزیه و تحلیل آماری

تمامی صفات مورد بررسی در مرحله پنجه‌زنی اندازه‌گیری گردید و داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار آماری SAS 9.2 تجزیه شد و مقایسه میانگین‌ها با استفاده از آزمون LSD انجام گردید. همچنین جهت رسم نمودارها از نرم‌افزار Excel 2013 استفاده شد.

### نتایج و بحث

#### شاخص‌های تحمل به تنش

نتایج حاصل از این پژوهش در رابطه با عملکرد و شاخص‌های تحمل به تنش در شرایط تنش شوری ۱۲ دسی‌زیمنس و شاهد در ژنوتیپ‌های مورد مطالعه نشان داد که

ژنوتیپ‌های G109, G2, G239, G213, G151, G232 بیشترین مقدار عملکرد در شرایط تنش (Ys) را داشتند. ژنوتیپ‌های G191, G199, G120, G77, G205 عملکرد متوسطی داشتند و ژنوتیپ‌های G124, G101, G81, G204, G126 و G210 کمترین میزان Ys داشتند.

هم‌چنین از نظر شاخص TOL ژنوتیپ‌های G101, G81, G109, G191, G232, G151 دارای کم‌ترین مقدار شاخص تحمل TOL می‌باشند. ژنوتیپ‌های G127, G204, G213, G124, G81 و G210 بیش‌ترین مقدار شاخص تحمل TOL را به خود اختصاص دادند. شاخص تحمل TOL به اختلاف بین عملکرد تحت شرایط نرمال و تنش تعریف می‌شود و ژنوتیپ‌هایی متحمل‌تر محسوب می‌گردند که مقادیر کمتری از این شاخص را به خود اختصاص دهند (Fernandez, 1992). هم‌چنین بطور متوسط ژنوتیپ‌های G2, G109, G232, G205, G151, G86, G11 و G239 از نظر شاخص‌های STI, MP و GMP بیش‌ترین مقادیر و از نظر شاخص SSI کمترین مقدار را به خود اختصاص داد. بر اساس شاخص تحمل به تنش هر چه اختلاف بین عملکرد در شرایط تنش و عملکرد در شرایط نرمال بیشتر باشد مقدار این شاخص کمتر خواهد بود؛ بالا بودن این مقدار نشان‌دهنده تحمل به تنش بیشتر در ژنوتیپ‌ها خواهد بود (Fernandez, 1992). ژنوتیپ‌های G126, G124, G81, G101, G204 و G210 کم‌ترین میزان شاخص STI, MP و GMP به خود اختصاص دادند هم‌چنین از نظر شاخص‌های SSI و TOL بیش‌ترین میزان را به خود اختصاص دادند (جدول ۲).

شاخص SSI بیشتر جهت حذف ژنوتیپ‌های حساس استفاده می‌شود و بر اساس شاخص SSI ژنوتیپی که مقادیر بالاتری از آن را به خود اختصاص دهد در برابر تنش حساس‌تر می‌باشد (Fischer and Maurer, 1987).

بر اساس شاخص تحمل به تنش (STI) هر چه اختلاف بین عملکرد در شرایط تنش و عملکرد در شرایط نرمال بیشتر باشد، مقدار این شاخص کمتر خواهد بود. ژنوتیپ‌هایی متحمل‌تر محسوب می‌گردند که مقادیر بیشتری از این شاخص را به خود اختصاص دهند (Fernandez, 1992).

<sup>1</sup> Lipoxygenase

بیشتری از این شاخص‌ها را داشته باشند (Munns and James, 2003; Fernandez, 1992). بنابراین بر اساس مطالب فوق ژنوتیپ‌های G239 و G151, G86, G11, G2, G109, G205 می‌توانند عملکرد بهتری نسبت به ژنوتیپ‌های G204, G101, G127, G213, G124, G81 و G210 داشته باشند.

شاخص تحمل (TOL) نیز به صورت اختلاف بین عملکرد تحت شرایط نرمال و تنش تعریف شده است، ژنوتیپ‌هایی متحمل‌تر محسوب می‌گردند که مقادیر کمتری از این شاخص را به خود اختصاص دهند (Fernandez, 1992). بر اساس شاخص‌های متوسط باروری و میانگین هندسی باروری ژنوتیپ‌هایی متحمل‌تر محسوب می‌گردد که میزان

جدول ۲- شاخص‌های تحمل به تنش برای ژنوتیپ‌های گندم در شوری ۱۲ دسی‌زیمنس

Table 2- Stress tolerance indices of wheat genotypes at salinity of 12 dS

Genotypes	YP(g/m <sup>2</sup> )	YS(g/m <sup>2</sup> )	SSI	TOL	GMP	STI	MP
2	759.09	600.98	0.35	158.11	16557.95	1.29	680.04
11	359.63	253.50	0.52	106.13	4807.35	0.26	306.57
77	619.90	290.72	0.94	329.18	7238.29	0.51	455.31
81	173.89	155.91	0.18	17.98	2055.94	0.08	164.90
86	554.89	328.78	0.72	226.11	7744.78	0.52	441.84
101	174.18	57.66	1.18	116.52	760.98	0.03	115.92
109	712.48	689.29	0.06	23.19	18398.75	1.39	700.89
120	518.23	395.74	0.42	122.49	9008.89	0.58	456.99
124	177.37	38.01	1.39	139.36	506.22	0.02	107.69
126	278.59	53.50	1.42	225.09	892.97	0.04	166.05
127	579.22	124.12	1.39	455.10	2987.19	0.20	351.67
151	636.35	543.38	0.26	92.97	13707.29	0.98	589.87
191	535.16	403.27	0.43	131.89	9329.06	0.61	469.22
199	424.61	396.05	0.12	28.56	8161.03	0.48	410.33
204	88.72	73.15	0.31	15.57	689.01	0.02	80.94
205	628.05	316.80	0.87	311.25	7939.30	0.56	472.43
210	380.25	27.55	1.64	352.70	537.23	0.03	203.90
213	718.55	655.43	0.15	63.12	17569.31	1.33	686.99
232	728.11	668.82	0.14	59.29	18047.11	1.38	698.47
239	632.74	560.90	0.20	71.84	14109.06	1.01	596.82

شاخص حساسیت به تنش: شاخص تحمل (TOL)، شاخص متوسط باروری (MP)، شاخص تحمل به تنش (STI)، میانگین هندسی باروری (GMP) عملکرد در شرایط تنش ۱۲ دسی‌زیمنس (YS)، عملکرد در شرایط نرمال (YP)، شاخص حساسیت به تنش (SSI).

Stress susceptibility index: Stress tolerance (TOL), Mean productivity (MP), Stress susceptibility index (SSI), Geometric mean productivity (GMP). Yield stress in 12 dS (YS). Stress Tolerance index (STI). Yield Potential (YP).

با توجه به نتایج بدست آمده از جدول همبستگی (جدول ۳) عملکرد در شرایط نرمال (Yp) همبستگی بالا و معنی‌دار با شاخص‌های TOL, GMP, STI و MP داشت. همچنین شاخص تحمل به تنش (STI)، میانگین هندسی بهره‌وری (GMP)، شاخص‌های متوسط باروری (MP) با شاخص عملکرد همبستگی مثبت و معنی‌داری در شرایط تنش (Ys) داشت. اما شاخص حساسیت به تنش (SSI) دارای همبستگی منفی و معنی‌داری با شاخص Ys است. شاخص‌های متوسط باروری، شاخص تحمل به تنش و میانگین هندسی بهره‌وری همبستگی منفی و معنی‌داری با شاخص حساسیت به تنش نشان داد. شاخص‌های GMP و MP با شاخص TOL همبستگی مثبت و معنی‌داری داشت.

## پروتئین

سنتز پروتئین در پاسخ به تنش‌های محیطی نظیر تنش شوری، تنش خشکی، تنش سرما، شرایط بی‌هوازی، شوک اسمزی، شوک گرمایی، تغییر می‌کند. بطور کلی تنش‌هایی محیطی باعث کاهش سنتز برخی از پروتئین‌ها و افزایش سنتز برخی دیگر از پروتئین‌ها می‌گردد. به نظر می‌رسد که پروتئین‌های القا شده با تنش شوری در تحمل به این تنش می‌توانند مؤثر واقع شود (Kang et al., 2012). نتایج حاصل از تجزیه واریانس صفات مورد بررسی نشان داد که تأثیر تنش شوری بر صفت پروتئین در ژنوتیپ‌های مورد مطالعه معنی‌دار بود (جدول ۴).

جدول ۳- همبستگی بین شاخص‌های تحمل به تنش در ژنوتیپ‌های گندم در سطح شوری ۱۲ دسی‌زیمنس

Table 3- Correlation between stress tolerance indices in wheat genotypes at salinity level of 12 dS

	YP	YS	SSI	TOL	GMP	STI	MP
YP	1	-.07 <sup>ns</sup>	.16 <sup>ns</sup>	.81 <sup>**</sup>	.74 <sup>**</sup>	.77 <sup>**</sup>	.95 <sup>**</sup>
YS		1	**.56	.341 <sup>ns</sup>	**.81	**.94	**.86
SSI			1	.59 <sup>**</sup>	-.44 <sup>*</sup>	*.48	*.43
TOL				1	.48 <sup>*</sup>	.27 <sup>ns</sup>	.61 <sup>**</sup>
GMP					1	.99 <sup>**</sup>	.90 <sup>**</sup>
STI						1	.92 <sup>**</sup>
MP							1

ns ، \* و \*\*: به ترتیب عدم اختلاف معنی‌دار و اختلاف معنی‌دار در سطوح احتمال پنج و یک درصد می‌باشند.

Ns, \* and \*\* Respectively are not significantly different  $p < 0.01$  , significant at  $p \leq 0.05$ , and significant at  $p \leq 0.01$

شوری چارپون‌های مولکولی هستند. تعدادی نیز برای مقابله با تنش اکسیداتیو ناشی از شوری سنتز می‌شوند و از تخریب پروتئین‌های ساختمانی و عملکردی در اثر تنش اکسیداتیو جلوگیری می‌کنند (Saqib *et al.*, 2006; Smirnov, 1993); بنابراین افزایش پروتئین‌های حاصل از تنش برای بقاء سلول در سطوح مهار متابولیسمی در تنش‌های اسمزی یا یونی ضروری است. این راهکارها ممکن است سازگاری اسمزی و فیزیولوژیکی دیگر مانند تغییر در رشد ریشه و بخش‌های هوایی و نیز ترقق را در برگ‌برد که حاکی از سنتز مجدد پروتئین‌ها تحت تنش شوری و گسترش سیستم دفاعی باشد که مهم‌ترین واکنش سلول‌های گیاهی می‌باشد (Kang *et al.*, 2012; Ashraf, 1989). در ژنوتیپ‌های G77, G101, G126, G204, G210, G213 و G127 با اعمال تنش شوری پروتئین با تغییرات شدیدتری رخ داد؛ بطوری‌که گروه شاهد کمترین و گروه شوری ۹ دسی‌زیمنس بیشترین میزان پروتئین را داشت (شکل ۱). کاهش بسیار معنی‌دار پروتئین در ژنوتیپ‌های G77, G101, G213, G210, G204, G126, G127 و G127 در سطح شوری ۱۲ دسی‌زیمنس نسبت به سطح شوری ۹ دسی‌زیمنس به دلیل تخریب پروتئین و کاهش سنتز آن می‌باشد. به نظر می‌رسد که کاهش پتانسیل آب در برگ‌ها، باعث اختلال در تعادل بین تولید و حذف رادیکال‌های آزاد اکسیژن می‌شود که منجر به تجمع رادیکال‌های آزاد اکسیژن می‌گردد. باتوجه به این‌که رادیکال‌های آزاد اکسیژن، میل ترکیبی بالایی با پروتئین‌ها دارد، سبب اکسید شدن آن‌ها می‌گردد (Popova *et al.*, 2008; Chen *et al.*, 2007).

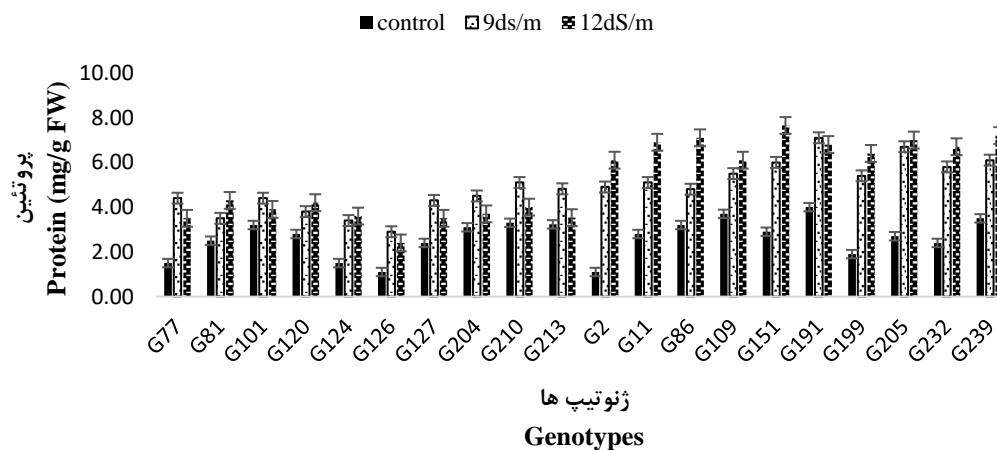
با توجه به نتایج حاصل از مقایسات میانگین پروتئین با افزایش تنش شوری مقدار پروتئین در تمامی ژنوتیپ‌ها افزایش یافت (شکل ۱)؛ اما با افزایش سطح شوری به ۱۲ دسی‌زیمنس این افزایش در ژنوتیپ‌های G77, G101, G124, G126, G210, G213, G213 و G204 پایدار نبود بطوری‌که در این ژنوتیپ‌ها با افزایش تنش شوری از سطح ۹ دسی‌زیمنس به ۱۲ دسی‌زیمنس مقدار پروتئین کاهش یافت، اما در ژنوتیپ‌های G2, G86, G109, G151, G199, G205, G232 و G11 هم‌چنان روند افزایشی مشاهده شد (شکل ۱). تنش شوری باعث تغییرات کیفی و کمی در مقدار پروتئین محلول سلول‌های گیاه می‌گردد. پروتئین‌هایی که در گیاهان در شرایط تنش شوری افزایش می‌یابد ممکن است یک شکل ذخیره‌ای از نیتروژن باشد که بعداً مورد استفاده گیاه قرار می‌گیرند. هم‌چنین ممکن است موجب مصرف مجدد آن‌ها برای سنتز پروتئین‌های ساختاری گردند و یا باعث تغییر ساختار دیواره سلولی شوند (Ashraf and Harris, 2013; Hajheidari, 2005). در پژوهش حاضر با افزایش تنش شوری در تمامی ژنوتیپ‌های مورد مطالعه غلظت پروتئین‌های محلول برگی افزایش یافت (شکل ۱) در ژنوتیپ‌های G2, G11, G86, G232, G205, G199, G151, G109 و G239 گروه شاهد کمترین و شوری ۱۲ دسی‌زیمنس بیشترین میزان پروتئین محلول برگی داشت. می‌توان چنین بیان نمود که مواد ضد ترقق، موجب افزایش فعالیت‌های آنتی‌اکسیدانی و هم‌چنین جلوگیری از تخریب پروتئین‌ها و در نتیجه افزایش میزان پروتئین می‌شوند. بسیاری از پروتئین‌های القاء شده در اثر تنش

جدول ۴- تجزیه واریانس صفات مورد بررسی در ژنوتیپ‌های گندم

Table 4- Analysis of variance of Biochemical traits of wheat genotypes

منابع تغییر	درجه آزادی	پروتئین	پروترین	لیپوکسی ژنار	TBARM	کلروفیل a b	کلروفیل کل	کلروفیل کل	کاروتنوئید
S.O.V	DF	Protein	Proline	LOX	TBARM	Chla	Chlb	Chl Total	Cara
تکرار	2	5.4 <sup>ns</sup>	9.5 <sup>ns</sup>	7.8 <sup>ns</sup>	9.12 <sup>ns</sup>	3.65 <sup>ns</sup>	1.97 <sup>ns</sup>	3.3 <sup>ns</sup>	10.56 <sup>ns</sup>
Rep									
تنش شوری	2	120 <sup>**</sup>	175 <sup>**</sup>	265 <sup>**</sup>	475 <sup>**</sup>	9.65 <sup>**</sup>	9.45 <sup>**</sup>	29 <sup>**</sup>	395 <sup>**</sup>
Salt Stress (A)									
خطا	6	11.13	11.5	12.23	5.6	16.73	1.17	24.33	332
Error									
ژنوتیپ	19	9.6 <sup>**</sup>	11 <sup>**</sup>	24 <sup>**</sup>	17 <sup>**</sup>	21.21 <sup>**</sup>	9.07 <sup>**</sup>	64 <sup>**</sup>	794 <sup>**</sup>
Genotype(B)									
اثر متقابل ژنوتیپ و تنش									
شوری	38	2.25 <sup>**</sup>	2 <sup>**</sup>	7.79 <sup>**</sup>	4.99 <sup>**</sup>	23.24 <sup>**</sup>	3.75 <sup>**</sup>	28 <sup>**</sup>	1226 <sup>**</sup>
Reaction Genotype and salinity stress (AB)									
خطا	114	0.106	0.11	0.299	0.205	0.091	0.022	0.164	4.36
Error									
ضریب تغییرات	-	7.65	9.11	9.03	7.51	1.78	2.29	1.80	2.83
Coefficient of variation									

\*\* معنی داری در سطح احتمال یک درصد، ns عدم معنی داری

\*\* - significant at  $p \leq 0.01$ , <sup>ns</sup> are not significantly different  $p < 0.01$ 

شکل ۱- مقایسه میانگین پروتئین بعد از ۲۱ روز تنش شوری در ژنوتیپ‌های مورد مطالعه

Figure 1- Comparison of mean Protein of wheat exposed to various concentration of NaCl after 21 days

افزایش شوری در گیاهان مقاوم به شوری تجمع پروتئین افزایش می‌یابد (Kishor *et al.*, 2005; Ghogdi *et al.*, 2013). بنابراین می‌توان چنین بیان نمود که هر چه مقدار افزایش پروتئین در بافت‌های گیاهی بیشتر باشد، گیاه نیز دارای مقاومت بیشتری به تنش خواهد بود. با اعمال تنش شوری پروتئین در تمامی ژنوتیپ‌ها افزایش یافت؛ اما با افزایش سطح شوری از ۹ دسی‌زیمنس به ۱۲ دسی‌زیمنس پروتئین در ژنوتیپ‌های G77, G127, G124, G120, G151, G191, G199, G232 و G239 روند

## پروتئین

با توجه به نتایج تجزیه واریانس (جدول ۴) اثر تنش شوری بر پروتئین معنی دار بود. آزمون مقایسه میانگین‌ها حاکی از آن است که با افزایش سطح شوری میزان تجمع پروتئین در تمامی ژنوتیپ‌ها افزایش می‌یابد (شکل ۲)؛ بنابراین تجمع مواد محلول سازگار با حفظ تعادل اسمزی سلولی در فیزیولوژی تنش گیاهی، می‌تواند بسیار مؤثر واقع شوند (Valliyodan and Nguyen, 2006; Allahmorad *et al.*, 2013). برای مثال با

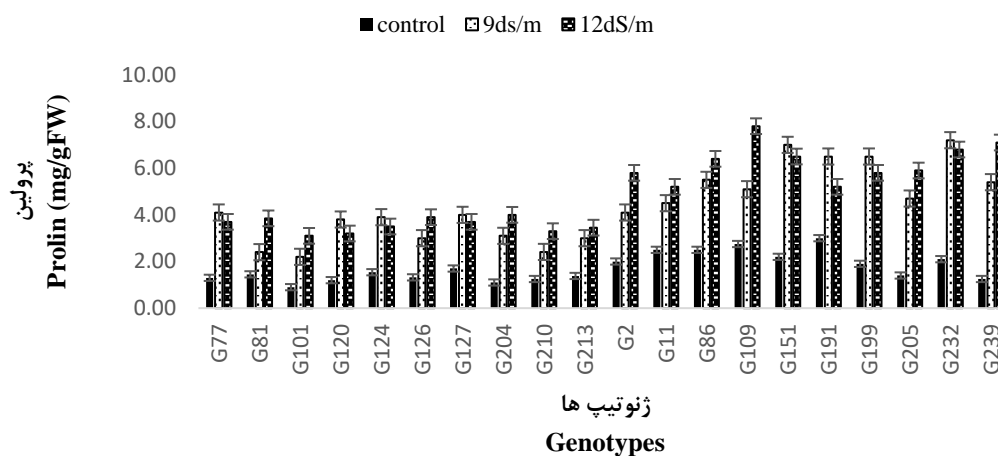


Savoure, 2010; Borzouei *et al.*, 2012; Ashraf *et al.*,  
(2013; Amin *et al.*, 2015

تنش‌های محیطی از جمله عوامل مؤثر است که باعث افزایش میزان پرولین در گیاهان می‌شود. گیاهان به منظور تنظیم و کنترل پتانسیل اسمزی محیط درونی خود به تولید و تجمع میزان پرولین می‌پردازد؛ بنابراین پرولین از جمله عوامل حائز اهمیت در ایجاد تحمل یا مقاومت گیاهان به شرایط نامناسب محیطی می‌باشد. شرایط نامناسب می‌تواند شامل عوامل محدود کننده برای رشد بهینه گیاهان باشد. گیاهانی که در معرض شوری قرار می‌گیرند از طریق انباشتگی مواد آلی، فشار اسمزی خود را تنظیم می‌کنند (Allahmorad *et al.*, 2013). پرولین به همراه آنیون‌ها و قندها و اسیدهای آمینه دیگر در پایداری ساختمان پروتئین‌ها و نیز در حذف رادیکال‌های آزاد که باعث تخریب و فروپاشی غشاها در شرایط تنش می‌شوند نقش مهمی را ایفا می‌کنند (Ashraf *et al.*, 2013; Ashraf *et al.*, 2012). با توجه به اینکه پرولین در تنظیم اسمزی نقش دارد و تنظیم اسمزی یک نقش تطابقی به تنش آب می‌باشد افزایش محتوای پرولین در شرایط تنش باعث محافظت غشا سلولی، آنزیم‌های سیتوپلاسمی، پروتئین‌ها و مهار گونه‌های فعال اکسیژن در نهایت حذف رادیکال‌های آزاد می‌شود (Ghorbanli *et al.*, 2013; Liang *et al.*, 2013). بنابراین افزایش سطح پرولین و القای فعالیت‌های آنزیم‌های ضد اکسیداسیونی از جمله پاسخ‌های گیاهان در برابر تنش می‌باشد (Allahmorad *et al.*, 2013).

کاهش‌ی داشت (شکل ۲). با این تفاوت که در ژنوتیپ‌های G11, G205, G81, G101, G126, G86, G2 و هم‌چنان با افزایش شوری مقدار پرولین افزایش یافت (شکل ۲). می‌توان بیان نمود که ممکن است این خود دلالت بر مقاومت بیشتر ژنوتیپ‌های G205, G101, G81, G126, G86, G11, G2, و G109 نسبت به ژنوتیپ‌های G151, G120, G124, G77, G232, G199, G191, و G127 در برابر شوری باشد. بنابراین می‌توان چنین بیان نمود که در شرایط تنش در گیاه پرولین به عنوان یک محافظت‌کننده اسمزی افزایش می‌یابد. این عمل می‌تواند کمک به کاهش اثرات NaCl بر تخریب غشای سلولی و هم‌چنین کمک به پایداری غشا کند (Ashraf and Orooj, 2006; Mahboob *et al.*, 2016).

پرولین در شرایط تنش، در حذف رادیکال‌های آزاد، حفظ پتانسیل اسمزی و حفاظت ماکرومولکول‌ها از دنا توره شدن PH سلولی نقش بسیار مهمی دارد. علاوه بر این پرولین به عنوان منبع مهم کربن و نیتروژن برای گیاهان در شرایط تنش شدید عمل می‌نماید و باعث افزایش تحمل گیاه در برابر تنش می‌گردد (Amini *et al.*, 2015)؛ بنابراین می‌توان چنین بیان داشت که پرولین یکی از مؤثرترین ماده تنظیم‌کننده فشار اسمزی در گیاهان در شرایط تنش محیطی می‌باشد. در شرایط تنش شوری پرولین در ایجاد سازگاری اسمزی و حفظ ساختار غشاء و ساختار آنزیم‌ها در سلول‌ها دارای نقش مهمی می‌باشد؛ بنابراین ژنوتیپ‌هایی که پرولین بیشتری تولید کنند قادر خواهند بود در برابر تنش‌ها مقاوم‌تر باشند. (Szabados and



شکل ۲- مقایسه میانگین پرولین بعد از ۲۱ روز تنش شوری در ژنوتیپ‌های مورد مطالعه

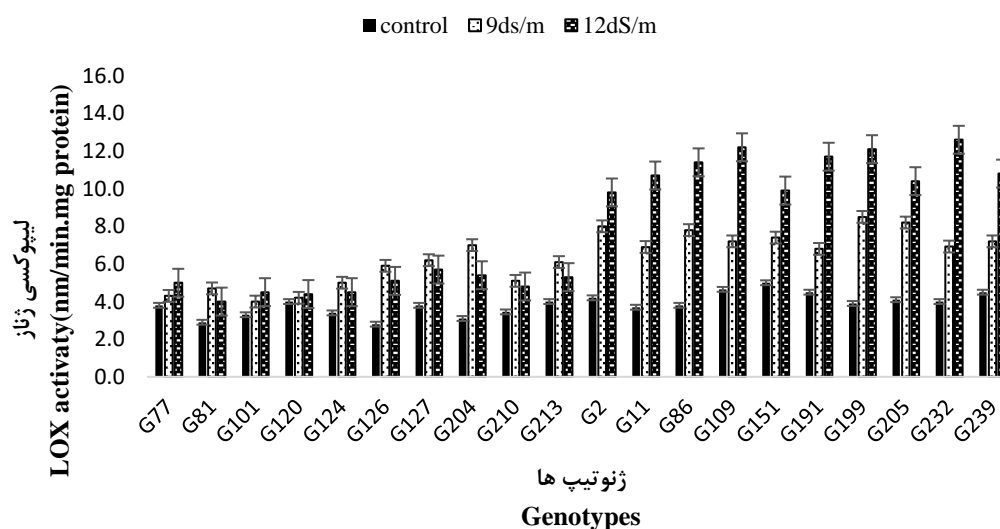
Figure 2- Comparison of mean proline after 21 days of salinity stress in the studied genotypes

### لیپوکسی ژناز (LOX)

رادیکال‌های آزاد اکسیژن مانند پروکسید هیدروژن در سلول‌های گیاهی می‌شود و به دنبال آن پروکسید هیدروژن تولید شده موجب افزایش آنزیم لیپوکسی‌ژناز در سلول گیاهی می‌شود (Ashraf *et al.*, 2012)

این آنزیم اسیدهای چرب غیراشباع و با زنجیره طولانی حاوی یک پیوند سیس را کاتالیز می‌نماید. اسید لینولنیک و اسید لینولنیک بیش‌ترین اسیدهای چرب غیراشباع در ساختمان سلول‌های گیاهی می‌باشند که ماده اولیه مناسبی برای فعالیت آنزیم لیپوکسی‌ژناز هستند ( Ghogdi *et al.*, 2013). رادیکال‌های آزاد با خارج کردن H+ از فسفولیپیدها می‌توانند موجب تشکیل رادیکال‌های فعال اسید چرب شوند و رادیکال اسید چرب در حضور اکسیژن با تولید پراکسید اسید چرب می‌تواند ضمن تخریب پروتئین‌ها و چربی‌ها رادیکال‌های بیش‌تری تولید کنند (Bailly, 2004). غلظت بالا و سمی رادیکال‌های فعال اکسیژن باعث آسیب شدید به ساختارهای پروتئینی، مهار فعالیت آنزیم‌های متعدد از مسیرهای متابولیک و در نتیجه اکسیداسیون ماکرو مولکول‌هایی از جمله DNA و چربی‌ها می‌باشد. تشدید و تداوم این رخدادهای نامطلوب احتمال دارد منجر به مرگ سلولی گردد ( Gill and Tuteja, 2010).

سیستم آنزیمی لیپوکسی‌ژناز یکی از سیستم‌های آنزیمی مهم در رابطه با تغییر چربی‌های غشاهای سلولی است. LOX واکنش ترکیب بین اسیدهای چرب غیراشباع و مولکول اکسیژن و تولید هیدرو پروکسیدهای اسید چرب اشباع نشده را کنترل می‌نماید. اکسیداسیون اسیدهای چرب ناشی از فعالیت آنزیم لیپوکسی‌ژناز موجب تولید رادیکال‌های آزاد اکسیژن می‌گردد (Feng *et al.*, 2012). با توجه به نتایج بدست آمده در این مطالعه اثر تنش شوری بر میزان تجمع لیپوکسی‌ژناز معنی‌دار بوده است (جدول ۴) این نشان می‌دهد که تنش شوری، صفت اکسیداتیوی لیپوکسی‌ژناز را به میزان زیادی تحت تأثیر قرار می‌دهد. با اعمال تنش شوری لیپوکسی‌ژناز در تمامی ژنوتیپ‌ها افزایش یافت. اما با افزایش سطح شوری از ۹ دسی‌زیمنس به ۱۲ دسی‌زیمنس لیپوکسی‌ژناز در ژنوتیپ‌های G81, G120, G124, G126, G204, G210, G213 (شکل ۳) با این تفاوت که در ژنوتیپ‌های G2, G11, G86, G109, G151, G191, G77, G199, G239, G205, G232, G101 هم‌چنان با افزایش شوری مقدار لیپوکسی‌ژناز افزایش یافت (شکل ۳). می‌توان چنین بیان نمود که بالا بودن شاخص لیپوکسی‌ژناز مبین فراوانی رادیکال‌های فعال اکسیژن و شدت واکنش اکسیداتیو است. به طور کلی تنش موجب افزایش



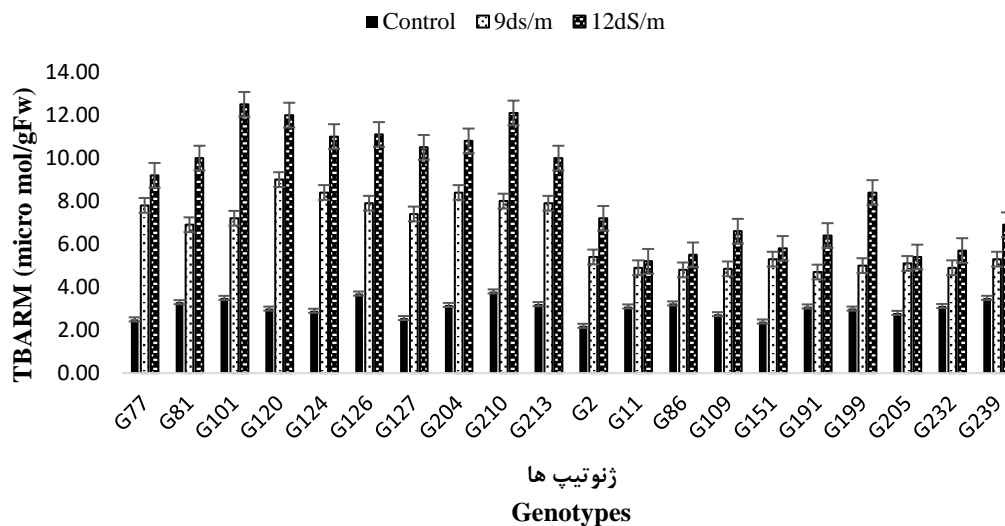
شکل ۳- مقایسه میانگین LOX بعد از ۲۱ روز تنش شوری در ژنوتیپ‌های مورد مطالعه

Figure 3- Comparison of mean LOX after 21 days of salinity stress in the studied genotypes

پراکسیداسیون لیپیدهای غشا به‌عنوان شاخص تنش اکسیداتیو می‌باشد در عین حال سنجش شاخص سطح اکسیداسیونی سلول (TBARM) که در آن مالون دی آلدئید اندازه‌گیری می‌گردد، به‌عنوان شاخصی از میزان اکسیداتیو در سطح سلولی و مولکولی قابل ارزیابی می‌باشد. به‌طور کلی میزان شاخص سطح اکسیداسیون سلول با افزایش تنش شوری در تمامی ژنوتیپ‌ها افزایش یافت. همانطور که در شکل ۴ مشاهده می‌شود در سطح شوری ۹ دسی‌زیمنس در تمامی ژنوتیپ‌های مقدار TBARM افزایش یافت. در شوری ۱۲ دسی‌زیمنس این شاخص در ژنوتیپ‌های G77, G81, G101, G120, G124, G126, G210, G213 و G2 نیز افزایش یافت. در شوری ۹ دسی‌زیمنس این شاخص در ژنوتیپ‌های G11, G86, G109, G151, G205, G232 و G239 با افزایش تنش شوری از سطح ۹ دسی‌زیمنس به سطح ۱۲ دسی‌زیمنس این شاخص اگرچه روند افزایشی داشت اما این افزایش معنی‌دار نبود (شکل ۴).

### شاخص سطح اکسیداسیونی سلول (TBARM<sup>1</sup>)

مهم‌ترین منبع ذخیره انرژی سلول لیپیدها می‌باشند. لیپیدها به‌عنوان یک عایق حساس بین هورمون‌ها و لندام‌ها عمل می‌کند و اصلی‌ترین بخش ساختار غشای سلولی می‌باشند (Ghogdi *et al.*, 2013; Sudhakar *et al.*, 2001). مقاومت در برابر تنش شوری و تنش آب، به دو لایه لیپیدی با اسیدهای چرب غیر اشباع مربوط می‌گردد که در طول تنش با قندی به نام تری هالوز پایداری غشا را حفظ می‌کند. پراکسیداسیون لیپیدهای غشا، ترکیباتی مثل مالون دی آلدئید، بوتانال، هگزانال، پروپانال، پروپانال دی‌متیل استالو هپتانال می‌باشند. این موارد به‌عنوان شاخص اندازه‌گیری مقدار پراکسیداسیون لیپیدهای غشا بوده، افزایش در مقدار پراکسیداسیون لیپیدها به‌عنوان شاخص افزایش تنش اکسیداتیو محسوب می‌گردد. اندازه‌گیری غلظت تیوباربتوریک اسید، مالون دی آلدئید و هیدروکسی نونال در تعیین پراکسیداسیون لیپیدها تحت شرایط تنش رایج می‌باشد (Chaitali and Sengupta, 2014; Ghogdi *et al.*, 2013; Moloudi *et al.*, 2013) مقدار مالون دی‌الدهید در طول



شکل ۴- مقایسه میانگین TBARM ژنوتیپ‌های مورد مطالعه

Figure 4- Comparison of mean TBARM in the studied genotypes

افزایش یافت. کلروفیل a در ژنوتیپ‌های G239, G232 افزایش یافت. کلروفیل b بین شاهد و شوری ۹ دسی‌زیمنس اختلاف معنی‌داری نداشت؛ هم‌چنین بین سطوح

### کلروفیل و کاروتنوئیدها

نتایج حاصل از این پژوهش نشان داد که با افزایش تنش شوری مقدار کلروفیل‌های a و b، کلروفیل کل و کاروتنوئیدها

<sup>1</sup> Thiobarbituric Acid Reactive Material

نشان می‌دهد که با افزایش شوری در سطح ۹ دسی‌زیمنس در تمامی ژنوتیپ‌ها بجز ژنوتیپ‌های ۲۰۴ و ۱۲۴ کلروفیل و کاروتنوئید یک روند افزایشی داشت. اما با افزایش تنش شوری یک روند کاهش‌ی در تمامی ژنوتیپ‌ها مشاهده گردید. این تغییرات کاهش‌ی صفات در ژنوتیپ‌های G77, G81, G101, G127, G120, G124, G126, G204, G210, G213, G2, G11, G86, G109, اما در ژنوتیپ‌های G239, G205, G232, G151, G191, G199, G232 اگرچه روند کاهش‌ی بود (جدول ۵) ولی با شاهد تفاوت چشم‌گیری نداشت. میزان کاروتنوئید نیز با اعمال تنش در تمامی ژنوتیپ‌ها افزایش یافت اما با افزایش سطح شوری از ۹ به ۱۲ دسی‌زیمنس یک روند کاهش‌ی به خود گرفت این روند فقط در ژنوتیپ‌های ۲۰۵، ۱۹۹، ۱۵۱، ۲ اختلاف معنی‌داری نداشت در سایر ژنوتیپ‌ها اختلاف معنی‌دار بود. هم‌چنین بین شاهد و شوری ۹ دسی‌زیمنس ۱۲۷، ۱۰۹ و ۲ اختلاف معنی‌دار نبود (جدول ۵)؛ بنابراین با توجه به این نتایج می‌توان چنین بیان نمود زمانی‌که گیاه در شرایط تنش شوری رشد می‌کند فعالیت فتوسنتزی آن کاهش می‌یابد و در نتیجه محتوای کلروفیل، سطح برگ و میزان رشد کاهش، اما فلورسانس کلروفیل افزایش می‌یابد. مهم‌ترین علت این اتفاق، به خصوص در شرایط نامساعد تنش، کاهش فعالیت آنزیم‌های مؤثر در سنتز کلروفیل و تولید آن می‌باشد (Ghogdi et al., 2013; Sudhakar et al., 2001)؛ بنابراین تنش شوری باعث افزایش تجمع NaCl در کلروپلاست گیاهان می‌گردد و سرعت رشد را تحت تأثیر قرار می‌دهد و اغلب موارد این موضوع با کاهش فعالیت انتقال الکترون فتوسنتزی همراه می‌گردد. هم‌چنین شوری باعث جلوگیری از فعالیت فتوسیستم II در گیاهان می‌گردد (Dąbrowski et al., 2019; Shah et al., 2020, 2017; al., 2019). با توجه به نتایج بدست آمده در جدول ۵ با اعمال تنش شوری میزان کلروفیل (a, b) در ژنوتیپ‌ها روند کاهش‌ی نشان داد. بیشترین تغییرات مربوط به ژنوتیپ‌های G204, G210, G213 و G127 بود. می‌توان چنین بیان نمود که در شرایط تنش به دلیل افزایش مقدار اتیلن، فعالیت آنزیم کلروفیل‌از افزایش می‌یابد که در نهایت موجب کاهش کلروفیل گیاه کاهش می‌گردد (Santos, 2004; Ghogdi et al., 2013; Kiani and Rasouli, 2014; Viera et al., 2004). هم‌چنین، تنش شوری باعث باز شدن

۱۲ و ۹ دسی‌زیمنس در ژنوتیپ‌های G239, G232, G191 اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد؛ اما در سایر ژنوتیپ‌ها اختلاف معنی‌دار بود. با افزایش تنش شوری از ۹ دسی‌زیمنس به ۱۲ دسی‌زیمنس مقدار کلروفیل در تمامی ژنوتیپ‌ها کاهش یافت؛ اما این روند کاهش‌ی در ژنوتیپ‌های G239, G232, G199 و G151 بین دو سطوح ۹ و ۱۲ دسی‌زیمنس اختلاف معنی‌دار نبود (جدول ۵). کلروفیل b نیز با افزایش شوری از سطح ۹ دسی‌زیمنس به ۱۲ دسی‌زیمنس روند کاهش‌ی داشت؛ اما این روند فقط در ژنوتیپ‌های G232, G77, G120 معنی‌دار بود. بنابراین علی‌رغم این‌که گیاهان از نظر میزان تحمل به تنش شوری متفاوت هستند، اما بطور کلی شوری باعث کاهش رشد گیاهان می‌گردد. می‌توان چنین بیان نمود که این کاهش به طور کلی در ارتباط با کاهش ظرفیت فتوسنتزی می‌باشد که خود می‌تواند معلول کاهش در محتوای کلروفیل باشد. به بیان دیگر کاهش محتوای کلروفیل بر اثر تنش شوری می‌تواند به واسطه تجزیه آن باشد، زیرا تنش شوری باعث تشدید فعالیت آنزیم‌های کاتالاز و پراکسیداز، کاهش غلظت کلروفیل و در نهایت کاهش فتوسنتز می‌شود؛ بنابراین کاهش میزان کلروفیل می‌تواند به دلیل تغییر متابولیسم‌هایی باشد که در رابطه با ساخت ترکیباتی نظیر پرولین می‌باشد که این ساختارها معمولاً در تنظیم اسمزی شرکت دارند. کاروتنوئیدها نیز به عنوان اجزای اصلی کلروپلاست شناخته می‌شوند که در غیر فعال نمودن انواع اکسیژن‌های منفرد نقش بسزایی دارند (Ghogdi et al., 2013; Moloudi et al., 2013; Mittler, 2002). افزایش میزان کاروتنوئیدها در شرایط تنش با توجه به نقش آن‌ها در سیستم دفاع پاد اکسیدانی برای محافظت از رنگدانه‌های فتوسنتزی (کلروفیل) قابل انتظار است. افزایش رادیکال‌های فعال اکسیژن تا حد زیادی می‌توانند به کاروتنوئیدها آسیب برسانند. نتیجه این امر صدمه به رنگدانه‌های فتوسنتزی و کاهش واکنش‌های فتوشیمیایی است (Zeiger and Taiz, 2006; Ghogdi et al., 2013; Moloudi et al., 2013). مقایسات میانگین کلروفیل‌ها و کاروتنوئید در شرایط تنش شوری در ژنوتیپ‌های مورد مطالعه نشان‌دهنده آن است که افزایش شوری بر میزان کلروفیل در ژنوتیپ‌های مختلف تفاوت چشم‌گیری دارد (جدول ۵). نتایج حاصل از مقایسات میانگین

به ژنوتیپ‌های G77, G81, G101, G120, G124, G126, G204, G210, G213 این ژنوتیپ‌ها در شرایط تنش شوری قادر به حفظ ساختار کلروفیل خود هستند. بنابراین با توجه به نتایج فوق می‌توان چنین بیان نمود که در بین ژنوتیپ‌های مورد بررسی ژنوتیپ‌های G2, G11, G86, G109, G151, G191, G199, G205, G232 از ظرفیت فتوسنتزی بالاتری در شرایط تنش شوری برخوردار بودند.

حلقه‌های پورفیرینی می‌گردد و مواد سمی حاصل از این تجزیه به واکوئل منتقل می‌شود و بنابراین باعث می‌شود که رنگ سبز برگ از بین برود (Dąbrowski *et al*, 2019; Parida and Das, 2005)؛ بنابراین تفاوت در واکنش به تنش شوری در ژنوتیپ‌های مختلف می‌توان به ژنتیک متفاوت این ژنوتیپ‌ها نسبت داد. می‌توان چنین بیان نمود که احتمالاً به علت دارا بودن مکانیسم‌های دفاعی مقاوم‌تر در ژنوتیپ‌های G2, G11, G86, G109, G151, G191, G199, G205, G232 نسبت

جدول ۵- مقایسه میانگین رنگدانه‌های فتوسنتزی ژنوتیپ‌های مورد مطالعه تحت سطوح مختلف تنش شوری

the studied genotypes at different levels of salt stress Table 5- Comparison of mean photosynthetic pigments of

ژنوتیپ	تیمار	کلروفیل a	کلروفیل b	کلروفیل کل	کاروتنوئید
Genotypes	Treatment	Chlorophyll(a) (mg.g <sup>-1</sup> FW)	Chlorophyll(b) (mg.g <sup>-1</sup> FW)	Chlorophyll(total) (mg.g <sup>-1</sup> FW)	Carotenoids (mg.g <sup>-1</sup> FW)
2	control	16gf	5.8ef	21.58f	67.40qr
	9dS	17f	5.6fg	22.36ef	72.43op
	12dS	14.8h	5.3fg	20.86fg	53.30x
11	control	20.3c	6.2ef	26.25c	89.05g
	9dS	21.8b	5.3fg	27.51b	93.79e
	12dS	16.68fg	5.6fg	22.328ef	86.68h
77	control	18.77e	6.68de	23.50e	103.05a
	9dS	21.81b	9.30b	27.17bc	98.47c
	12dS	12.98i	4.97fg	16.24i	57.84w
81	control	15.58gh	5.34fg	19.60g	61.74u
	9dS	11.78j	5.31fg	14.62j	57.76w
	12dS	17.01fe	5.57fg	21.43f	63.51t
86	control	17f	7.6cd	24.96cd	78.24l
	9dS	18.6e	6.3ef	24.86d	82.84ij
	12dS	15.2gh	6.15ef	21.535f	66.67r
101	control	19.92d	6.28ef	25.14cd	86.22h
	9dS	11.93j	6.31ef	14.68j	72.60op
	12dS	24.23a	8.35cb	30.47a	91.19f
109	control	18.37e	7.2de	25.657dc	68.58q
	9dS	21.2bc	6.15ef	27.435bc	73.50o
	12dS	18.5e	5.8ef	24.23de	65.05s
120	control	12.61ij	5.85ef	15.63ij	79.23jkl
	9dS	19.15de	11.15a	23.42e	95.676d
	12dS	14.27hi	7.50cd	17.56hi	76.278nm
124	control	19.27de	8.88bc	23.90de	101.74b
	9dS	16.67fg	6.08ef	20.92fg	89.29 g
	12dS	14.43h	4.80fg	18.18h	29.37y
126	control	14.43h	4.38g	17.06hi	56.34w
	9dS	15.9g	5.81ef	19.57g	69.27p
	12dS	19.77de	5.70f	25.03cd	90.79gf
127	control	17.54fe	3.11h	22.50ef	61.18u
	9dS	18.56e	5.56fg	23.48e	66.72r
	12dS	12.74ij	4.20g	16.06i	63.65st
151	control	17.3fe	7d	24.53de	78.58lk
	9dS	17.9fe	6.65de	24.55de	79.75jk
	12dS	16.89fg	5.83ef	22.72ef	75.096n

ادامه جدول ۵  
Table 5 continued

	control	17.2fe	8.21c	25.541cd	82.16ij
191	9dS	19de	7.2de	26.2c	96.573d
	12dS	16.8fg	6.5e	23.63de	77.35ml
	control	17.78fe	7.19de	24.97cd	76.54nm
199	9dS	17.99ef	6.86de	24.76de	81.467ji
	12dS	16.98f	6.21ef	23.19e	73.14o
	control	18.76e	6.85de	23.55e	98.23c
204	9dS	13.42i	7.48cd	16.46i	16.33A
	12dS	15.38gh	5.60fg	19.31gh	67.70qr
	control	17.38fe	7.31d	24.69de	71.493p
205	9dS	18.01e	6.3ef	24.31de	73.480o
	12dS	16.8fg	5.9ef	22.7ef	71.47p
	control	13 i	4.91g	16.35i	19.53z
210	9dS	19.3de	5.91ef	24.39de	79.84jk
	12dS	16.4fg	6.21ef	20.55fg	80.30jk
	control	16.49fg	6.97de	20.55fg	85.91h
213	9dS	11.09i	6.03ef	13.62j	12.98B
	12dS	18.56e	6.93de	23.26e	90.7gf
	control	13.8hi	9b	23.18e	79.448lkj
232	9dS	14.2hi	8.8bc	23.8de	86.16h
	12dS	12.6ij	6.71de	19.63g	76.1nm
	control	18.68e	8.6cb	27.728b	79.38ljk
239	9dS	19.1de	8.23c	27.633b	82.973i
	12dS	17.6fe	7.51cd	25.511cd	65.660r

اختلاف در حروف، معنی‌داری در سطح احتمال یک درصد نشان می‌دهد

Different letters indicate significant difference at  $P < 0.01$

## نتیجه‌گیری کلی

اختلاف بین ژنوتیپ‌های مورد مطالعه از نظر صفات مورد بررسی نشان‌دهنده تنوع بین آن‌ها می‌باشد. نتایج تحقیق نشان داد که ژنوتیپ‌های G151 و G2, G11, G86, G109, G209 مقاومت نسبی بیشتری از بقیه ژنوتیپ‌ها به تنش شوری داشتند و هم‌چنین نتایج این تحقیق بیانگر این بود که بیشترین عملکرد در شرایط نرمال و تنش شوری و نیز MP, GMP, HM و STI متعلق به این ژنوتیپ‌ها می‌باشد. بالا بودن میزان پرولین، پروتئین، ظرفیت فتوسنتزی و آنزیم LOX و پایین بودن پراکسیداسیون چربی نیز تأییدی بر این ادعاست. کاهش

بیومارکر تخریب مالون دی‌آدهید MDA باعث کاهش اثرات مخرب تنش اکسیداتیو ناشی از تنش شوری در این ژنوتیپ‌ها شد. هر چند میزان LOX در این ژنوتیپ‌ها زیاد بود اما هم‌چنان از ثبات و پایداری خوبی در شرایط شوری برخوردار بودند که نشان‌دهنده انعطاف‌پذیری این ژنوتیپ‌ها به سطوح مختلف شوری می‌باشد. بر اساس نتایج بدست آمده و نقش حفاظتی که ژنوتیپ‌های G151 و G2, G11, G86, G109, G209 در برابر تنش شوری داشتند چنین حدس زده می‌شود که این ژنوتیپ‌های ذاتا ظرفیت بالاتری برای پاک‌سازی و حذف گونه‌ها فعال اکسیژن در شرایط تنش‌های محیطی دارند.

## References

- Allahmoradi, P., Mansourifar, C., Saidi, M. and Jalali Honarmand, S. 2013. Water deficiency and its effects on grain yield and some physiological traits during different growth stages in lentil (*Lens culinaris* L.) cultivars. *Annals of Biological Research*, 4(5): 139-145.
- Amin, S., Abeshouse, A., Ahn, J., Akbani, R., Ally, A., Andry, C.D., Annala, M., Aprikian, A., Armenia, J., Arora, A. and Auman, J.T. 2015. The molecular taxonomy of primary prostate cancer. *Cell*, 163(4): 1011-

1025.

**Amini, S., Ghobadi, C. and Yamchi, A.** 2015. Proline accumulation and osmotic stress: an overview of P5CS gene in plants. *Journal of Plant Molecular Breeding*, 3(2): 44-55.

**Ashraf, M.** 1989. The effect of NaCl on water relations, chlorophyll, and protein and proline contents of two cultivars of blackgram (*Vigna mungo* L.). *Plant and Soil*, 119(2): 205-210.

**Ashraf, M.A., Ashraf, M. and Shahbaz, M.** 2012. Growth stage-based modulation in antioxidant defense system and proline accumulation in two hexaploid wheat (*Triticum aestivum* L.) cultivars differing in salinity tolerance. *Flora-Morphology, Distribution, Functional Ecology of Plants*, 207(5): 388-397.

**Ashraf, M. and McNeilly, T.** 2004. Salinity tolerance in Brassica oilseeds. *Critical Reviews in Plant Sciences*, 23(2): 157-174.

**Ashraf, M.H.P.J.C. and Harris, P.J.** 2013. Photosynthesis under stressful environments: an overview. *Photosynthetica*, 51(2): 163-190.

**Ashraf, M. and Orooj, A.** 2006. Salt stress effects on growth, ion accumulation and seed oil concentration in arid zone traditional medicinal plant ajwain (*Trachyspermum ammi* L.) Sprague). *Journal of Arid Environments*, 64(2): 209-220.

**Bailly, C.** 2004. Active oxygen species and antioxidants in seed biology. *Seed Science Research*, 14: 93-107.

**Bates, L.S., Waldren, R.P. and Teare, L.D.** 1973. Rapid determination of free proline for water stress studies. *Plant and Soil*, 39: 205-208.

**Blée, E.** 2002. Impact of phyto-oxylipins in plant defense. *Trends Plant Science*, 7: 315-322.

**Borzouei, A., Kafi, M., Akbari-Ghogdi, E. and Mousavi-Shalmani, A.M.** 2012. Long term salinity stress in relation to lipid peroxidation, super oxide dismutase activity and proline content of salt sensitive and salt-tolerant wheat cultivars. *Chilean Journal of Agricultural Research*, 72(4): 476-482.

**Bradford, M.M.** 1976. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Analytical Biochemistry*, 72(2): 248-254.

**Chaitali, R. and Sengupta, D.N.** 2014. Effect of short term NaCl stress on cultivars of s. lycopersicum: a comparative biochemical approach. *Journal of Stress Physiology & Biochemistry*, 1(10): 59-81.

**Chaves, M.M., Flexas, J. and Pinheiro, C.** 2009. Photosynthesis under drought and salt stress: regulation mechanisms from whole plant to cell. *Annals of Botany*, 103(4): 551-560.

**Chen, A.P., Wang, G.L., Qu, Z.L., Lu, C.X., Liu, N. and Wang, F.** 2007. Ectopic expression of ThCYP1, a stressresponsive cyclophilin gene from *Thellungiella halophila*, confers salt tolerance in fission yeast and tobacco cells. *Plant Cell Rep*, 26: 237-254.

**Dąbrowski, P., Baczevska-Dąbrowska, A.H. and Kalaji, H.M.** 2019. Exploration of chlorophyll a fluorescence and plant gas exchange parameters as indicators of drought tolerance in perennial Ryegrass. *Sensors*, 19: 27-36.

**Dadashi, M.R., Majidi, H.E., Soltani, A. and Nourinia, A.** 2007. Evaluation of different genotypes of barley to salinity stress. *Journal of Agricultural Sciences*, 13(1): 181-191.

- Feng, B., Dong, Z., Xu, Z., Wang, D. and Wang, T.** 2012. Molecular characterization of a novel type of lipoxygenase (LOX) gene from common wheat (*Triticum aestivum* L.). *Molecular Breeding*, 30(1): 113-124.
- Fernandez, G.C.** 1992. Effective selection criteria for assessing plant stress tolerance. *In Proceeding of the International Symposium on Adaptation of Vegetables and other Food Crops in Temperature and Water Stress*, 13(16): 257-270.
- Fischer, R.A. and Maurer, R.** 1987. Drought resistance in spring wheat cultivars. I Grain yield responses. *Australian Journal of Agricultural Research*, 29: 897-912.
- Flowers, T.J. and Flowers, S.A.** 2005. Why does salinity pose such difficult problem for plant breeders? *Agriculture Water Management*, 78: 15-24.
- Flowers, T.J. and Colmer, T.D.** 2008. Salinity tolerance in halophytes. *New Phytologist*, 179(4): 945-963.
- Ghorbanli, M., Gafarabad, M., Amirkian, T. and Allahverdi Mamaghani, B.** 2013. Investigation of proline, total protein, chlorophyll, ascorbate and dehydro ascorbate changes under drought stress in Akria and Mobil tomato cultivars. *Iranian Journal of Plant Physiology*, 3(2): 651-658.
- Gill, S.S. and Tuteja, N.** 2010. Reactive oxygen species and antioxidant machinery in abiotic stress tolerance in crop plants. *Plant Physiology and Biochemistry*, 48(12): 909-930.
- Hagege, D., Nouvelot, A., Boucaud, J. and Gaspar, T.** 1990. Malondialdehyde titration with thiobarbiturate in plant extracts: avoidance of pigment interference. *Phytochemical Analysis*, 1(2): 86-89.
- Hajheidari, M., Abdollahian-Noghabi, M., Askari, H., Heidari, M., Sadeghian, S.Y., Ober, E.S. and Hosseini Salekdeh, G.** 2005. Proteome analysis of sugar beet leaves under drought stress. *Proteomics*, 5(4): 950-960.
- Heidarvand, L. and Maali-Amiri, R.** 2013. Physio-biochemical and proteome analysis of chickpea in early phases of cold stress. *Journal of Plant Physiology*, 170(5): 459-469.
- Inamullah, H., Ahmad, F., Sirajuddin, M., Hassan G. and Gul, R.** 2006. Diallel analysis of the inheritance pattern of agronomic traits of bread wheat. *Pakistan Journal Botany*, 38(4): 1169-1175.
- Kang, G., Li, G., Xu, W., Peng, X., Han, Q., Zhu, Y. and Guo, T.** 2012. Proteomics reveals the effects of salicylic acid on growth and tolerance to subsequent drought stress in wheat. *Journal of Proteome Research*, 11(12): 6066-6079.
- Kazemi-Shahandashti, S.S., Maali-Amiri, R., Zeinali, H., Khazaei, M., Talei, A. and Ramezanpour, S.S.** 2014. Effect of short-term cold stress on oxidative damage and transcript accumulation of defense-related genes in chickpea seedlings. *Journal of Plant Physiology*, 171(13): 1106-1116.
- Kiani-Pouya, A. and Rasouli, F.** 2014. The potential of leaf chlorophyll content to screen bread-wheat genotypes in saline condition. *Photosynthetica*, 52(2): 288-300.
- Kishor, P.K., Sangam, S., Amrutha, R.N., Laxmi, P.S., Naidu, K.R., Rao, K.S., Rao, S., Reddy, K.J., Theriappan, P. and Sreenivasulu, N.** 2005. Regulation of proline biosynthesis, degradation, uptake and transport in higher plants: its implications in plant growth and abiotic stress tolerance. *Current science*, 1: 424-438.
- Liang, X., Zhang, L., Natarajan, S.K. and Becker, D.F.** 2013. Proline mechanisms of stress survival.



*Antioxid Redox Signal*, 19(9): 998-1011.

**Mahboob, W., Khan, M.A. and Shirazi, M.U.** 2016. Induction of salt tolerance in wheat (*Triticum aestivum* L.) seedlings through exogenous application of proline. *Pakistan Journal of Botany*, 48(3): 861-867.

**Mittler, R.** 2002. Oxidative stress, antioxidants, and stress tolerance. *Trends in Plant Science*, 7: 405-410.

**Moloudi, F., Navabpour, S., Soltanloo, H., Ramazanpour, S.S. and Sadeghipour, H.** 2013. Catalase and metallothionein genes expression analysis in wheat cultivars under drought stress condition. *Journal of Plant Molecular Breeding*, 1(2): 54-68

**Munns, R. and James, R.A.** 2003. Screening methods for salinity tolerance: a case study with tetraploid wheat. *Plant and Soil*, 253: 201-218

**Munns, R., James, R.A. and Läuchli, A.** 2006. Approaches to increasing the salt tolerance of wheat and other cereals. *Journal of Experimental Botany*, 57: 1025-1043.

**Nemchenko, A., Kunze, S., Feussner, I. and Kolomiets, M.** 2006. Duplicate maize 13-lipoxygenase genes are differentially regulated by circadian rhythm, cold stress, wounding, pathogen infection, and hormonal treatments. *Journal of Experimental Botany*, 57(14): 3767-3779.

**Parida, A.K. and Das, A.B.** 2005. Salt tolerance and salinity effects on plants: a review. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 60(3): 324-349.

**Passioura, J.B.** 2006. Increasing crop productivity when water is scarce-from breeding to field management. *Agricultural Water Management*, 80: 176-196.

**Popova, O.V., Yang, O., Dietz, K.J. and Golldack, D.** 2008. Differential transcript regulation in *Arabidopsis thaliana* and the halotolerant *Lobularia maritima* indicates genes with potential function in plant salt adaptation. *Gene*, 423(2): 142-148.

**Porra, R.J., Thompson, W.A. and Kriedmann P.E.** 1989. Determination of accurate extinction coefficients and simultaneous equations for assaying chlorophylls a and b extracted with four different solvents: verification of the concentration of chlorophyll standards by atomic absorption spectroscopy. *Biochemistry Biophysics Acta*, 975: 384-394.

**Rosielli, A. and Hamblin, J.** 1981. Theoretical aspects of selection for yield in stress and non-stress environment. *Crop Science*, 21: 943-946.

**Saqib, M., Zörb, C. and Schubert, S.** 2006. Salt-resistant and salt-sensitive wheat genotypes show similar biochemical reaction at protein level in the first phase of salt stress. *Journal of Plant Nutrition and Soil Science*, 169(4): 542-548.

**Shah, F.A., Wei, X., Wang, Q., Liu, W., Wang, D., Yao, Y. and Lu, R.** 2020. Karrikin improves osmotic and salt stress tolerance via the regulation of the redox homeostasis in the oil plant *sapium sebiferum*. *Frontiers in Plant*, 11: 216-236

**Shah, S.H., Houborg, R. and McCabe, M.F.** 2017. Response of chlorophyll, carotenoid and SPAD-502 measurement to salinity and nutrient stress in wheat (*Triticum aestivum* L.). *Agronomy*, 7(3): 61-82

**Sinha, S. and Saxena, R.** 2006. Effect of iron on lipid peroxidation, and enzymatic and non-enzymatic

antioxidants and bacoside-A content in medicinal plant *Bacopa monnieri* L. *Chemosphere*, 62(8): 1340-1350.

**Smirnoff, N.** 1993. Tansley Review No. 52. The role of active oxygen in the response of plants to water deficit and desiccation. *New Phytologist*, 1: 27-58.

**Sudhakar, C., Lukshmi, A. and Giridarakumar, C.** 2001. Changes in antioxidant enzymes efficacy in two high yielding genotypes of mulberry under NACL salinity. *Plant Science*, 161: 613-619.

**Szabados, L. and Saviouré, A.** 2010. Proline: a multifunctional amino acid. *Trends in Plant Science*, 15(2): 89-97.

**Valliyodan, B. and Nguyen, H.T.** 2006. Understanding regulatory networks and engineering for enhanced drought tolerance in plants. *Current Opinion in Plant Biology*, 9(2): 189-195.

**Viera Santos, C.** 2004. Regulation of chlorophyll biosynthesis and degradation by salt stress in sunflower leaves. *Scientia Horticulturae*, 103(1): 93-99.

## Identification of salinity stress tolerant wheat genotypes using evaluation of enzymatic defense system changes and stress tolerance indices

Amaneh Ghasemi<sup>1</sup>, Mahmod Solouki<sup>2\*</sup>, Saber Golkari<sup>3</sup>, Nafiseh Mahdinezhad<sup>2</sup>, Barat Ali Fakheri<sup>2</sup>, Mitra Jabbari<sup>4</sup>

<sup>1</sup>Ph.D student in Plant Breeding- genetic biometric, University of Zabol, Zabol, Iran

<sup>2</sup>Department of Breeding and Biotechnology, Faculty of Agriculture, Zabol University, Zabol, Iran

<sup>3</sup>Department of Dryland Agricultural Research, Maragheh, Iran

<sup>4</sup>Saravan Integrated Education, Saravan, Iran

\*Corresponding Author: [mahmood.solouki@uoz.ac.ir](mailto:mahmood.solouki@uoz.ac.ir)

Received: 21 August 2021

Accepted: 9 November 2021

DOI: 10.22034/CSRAR.2021.299379.1123

### Abstract

**Introduction:** Salinity is one of the major abiotic stresses that has been significantly affecting plant growth and yield. The continuous increase in salinity in arable land due to poor cultivation practices and climate change has devastating global effects, and it is estimated that about 50% of arable land will be lost by the middle of the 21st century. To date, about 1,125 million hectares of agricultural land have already been seriously affected by salinity; thus, it is considered a serious threat to agriculture. Salt stress also leads to an increase in the level of ROS, which results in oxidative stress, which in turn affects plants both at cellular and metabolic levels. The plants overcome the oxidative damage through the activation of antioxidants through enzymatic and non-enzymatic mechanisms. Moreover, the ROS, such as superoxide radicals (O<sub>2</sub>O<sub>2</sub>), hydrogen peroxide (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>), and small amounts of transition metals, also increase the concentration of OH<sup>•</sup>. Therefore, plants carry out detoxification to avoid oxidative damage, where these antioxidant enzymes play an important role. A study reported that the antioxidant enzymes positively correlate with plant tolerance to drought and salt stress. Moreover, the higher antioxidant activities can help improve plant death. Assessing the tolerance of crops to environmental stresses is an important factor in selecting them for cultivation in different conditions.

**Materials and Methods:** In this regard, evaluation and identification of wheat genotypes tolerant to salinity stress using stress tolerance indices and changes in some biochemical parameters, in a completely randomized block design, repeated three times. Factors included salinity at three levels (zero (control), 9 dS, and 12 dS) and 20 genotypes of native Iranian wheat. The traits measured in this design include stress tolerance indices, protein, proline, lipoxygenase (LOX), polyethylene (TBARM), chlorophyll, and carotenoids.

**Results and Discussion:** The results of this experiment showed that with increasing salinity stress, the amount of lipoxygenase, TBARM, and carotenoids increased in all genotypes, but increasing salinity levels from 9 to 12 ds had a decreasing trend in some genotypes; however, in some genotypes, the salinity level increased with increasing salinity. Also, with increasing salinity stress, the amount of protein and proline concentration in a number of genotypes to a salinity level of 9 dS increased, but some genotypes showed a significant decrease with increasing salinity from 9 to 12 dS. Correlation analysis between indices and mean yield under normal and salinity conditions showed that all four indices are suitable for screening genotypes. Due to these indices and high yield in both environments, as well as the results of biochemical property evaluation, the best salinity -tolerant genotypes were the G2, G11, G86, G109, G209, and G151 genotypes.

**Conclusion:** The differences between the studied genotypes in terms of the studied traits indicate the diversity between them. The results showed that genotypes had higher relative resistance to salinity stress than other genotypes, and the results of this study also showed that they had the highest yield under normal conditions and salinity stress and also belonged to these genotypes. High levels of proline and protein, photosynthetic capacity, LOX enzyme, and low fat peroxidation also confirm this

claim. Reduction of the malondialdehyde degradation biomarker reduced the damaging effects of oxidative stress due to salinity stress in these genotypes. Although LOX levels were high in these genotypes, they still had good stability in salinity conditions, indicating the flexibility of these genotypes to salinity stress.

Based on the obtained results and the protective role that genotypes had against salinity stress, it is speculated that these genotypes have an inherently high capacity to purify and eliminate reactive oxygen species under environmental stresses.

**Keywords:** Cell oxidation level index, Chlorophyll, Prolin, Protein