



"مقاله پژوهشی"

بررسی برخی صفات بیوشیمیایی ارقام متحمل و حساس گندم تریتیکوم بیوتیکوم تحت تنش شوری

فاطمه بیضاوی^۱، امین باقی‌زاده^۲، سعید میرزایی^۳، محمود ملکی^۴ و حسین مظفری^۵

۱- دانشجوی کارشناسی ارشد، دانشگاه تحصیلات تکمیلی صنعتی و فناوری پیشرفته، کرمان (نویسنده مسوول: fbezyavi8@gmail.com)

۲- دانشیار، پژوهشگاه علوم و تکنولوژی پیشرفته و علوم محیطی، دانشگاه تحصیلات تکمیلی صنعتی و فناوری پیشرفته کرمان

۳- استادیار، پژوهشگاه علوم و تکنولوژی پیشرفته و علوم محیطی، دانشگاه تحصیلات تکمیلی صنعتی و فناوری پیشرفته کرمان

۴- استادیار، پژوهشگاه علوم و تکنولوژی پیشرفته و علوم محیطی، دانشگاه تحصیلات تکمیلی صنعتی و فناوری پیشرفته کرمان

۵. استادیار، پژوهشگاه علوم و تکنولوژی پیشرفته و علوم محیطی، دانشگاه تحصیلات تکمیلی صنعتی و فناوری پیشرفته کرمان

تاریخ دریافت: ۹۹/۵/۲۲ تاریخ پذیرش: ۹۹/۱۰/۱۶

صفحه: ۲۱۶ تا ۲۳۴

چکیده

شوری، یکی از مهم‌ترین تنش‌های غیر زنده محیطی است و یکی از مهم‌ترین عوامل کاهش رشد و عملکرد گیاهان زراعی از جمله گندم می‌باشد. گندم یکی از پر اهمیت‌ترین محصولات زراعی در ایران می‌باشد و سطوح پلوییدی گندم به‌عنوان یک منبع مهم از ژن‌های ممتاز بوده و مطالعه روی این گونه‌ها به‌منظور استفاده در فعالیت‌های اصلاحی بسیار مطلوب است. گندم دیپلوئید دارای ۲۷ گونه‌ی متفاوت است. در این میان *T.boeiticum* گسترده‌ترین نوع گندم وحشی که در مناطق سرد نیمه غربی کشور انتشار دارد. این پژوهش در سال ۱۳۹۸ در دانشگاه تحصیلات تکمیلی صنعتی و فناوری پیشرفته کرمان بر روی دو ژنوتیپ مختلف از گندم *T.boeiticum* که متعلق به کردستان و لرستان ایران است مورد بررسی و اجرا قرار گرفت. بذور این گندم‌ها در زمستان سال ۹۸ به‌صورت آزمایش فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار کشت شدند و در دو سطح تنش شوری صفر و ۱۲۵ میلی‌مولار مورد تجزیه آماری قرار گرفتند. نتایج حاصل از تجزیه واریانس صفات شامل رنگی‌زه‌های فتوسنتزی، قندهای محلول، پروتیین‌ها، فنل‌ها، پرولین، نشت یونی، رطوبت نسبی، پراکسید هیدروژن، طول ریشه، برخی آنزیم آنتی‌اکسیدانی و سنجش سدیم و پتاسیم نشان داد، بین سطوح ژنوتیپ و سطوح تنش شوری و همچنین اثرات متقابل این دو تیمار از نظر صفات مورد بررسی اختلاف معنی‌داری وجود دارد.

واژه‌های کلیدی: تنش شوری، گندم تریتیکوم بیوتیکوم، صفات بیوشیمیایی

مقدمه

می‌باشد، از خاک‌های شور و سدیمی تشکیل شده است (۶۲). حداقل ۲۰ درصد زمین‌های تحت آبیاری دنیا تحت تأثیر شوری هستند (۶۴). تنش شوری اثرات مخرب جهانی دارد و پیش‌بینی شده است که افزایش شوری زمین‌های مزروعی تا سال ۲۰۵۰، باعث می‌شود تا ۵۰ درصد از زمین‌های کشاورزی بدون استفاده گردند (۷۴). کاهش عملکرد گندم تحت تأثیر تنش‌های محیطی بسیار معنی‌دار می‌باشد. پاسخ گیاه به تنش‌ها بستگی به عوامل مختلفی مثل نوع، مدت و شدت تنش، مرحله رشد و زمان وقوع تنش دارد (۳). تنش شوری از جنبه‌های مختلف بر رشد و متابولیسم گیاه اثر می‌گذارد. بین تنش شوری و کمبود آب رابطه مثبت و معنی‌داری وجود دارد. گیاهانی که در معرض شوری قرار دارند علاوه بر تأثیر اسمزی تنش شوری که باعث اختلال در روابط آبی گیاه می‌شود، تحت تأثیر اثر اختصاصی تنش شوری که به‌صورت تأثیر یون‌ها روی متابولیسم سلولی و در بعضی از موارد سمیت ناشی از تجمع یون‌ها نیز قرار می‌گیرند (۷۰). در هنگام تنش شوری، گیاه با دو تنش اسمزی و یونی روبه‌رو می‌شود (۲). ایجاد تعادل اسمزی و یونی در گیاه، از مهم‌ترین عوامل ایجاد کننده تحمل می‌باشند (۵۶). پاسخ گیاهان به تنش شوری پیچیده است و بستگی به عوامل گوناگونی مانند نوع و غلظت املاح، مرحله رشد گیاه، پتانسیل ژنتیکی گیاه و عوامل محیطی دارد. تنش شوری به روش‌های گوناگونی سبب کاهش رشد گیاهان می‌شود، هر چند سهم هر کدام از این

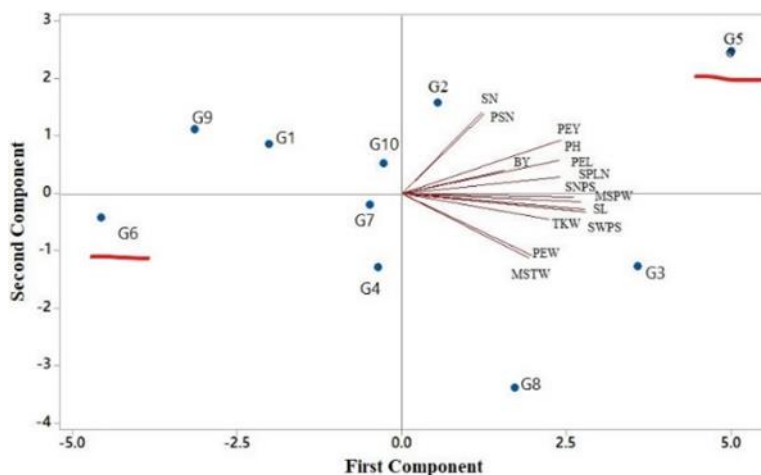
گندم یکی از محصولات مهم و استراتژیک در ایران و جهان می‌باشد و یکی از گیاهان مهم زراعی دنیا از حیث سطح زیر کشت، تولید و تغذیه می‌باشد، به‌طوری‌که ۱۹ درصد کالری و ۲۱ درصد پروتیین جمعیت جهان را تأمین می‌نماید (۲۳). گندم غذای اصلی حدود ۳۵ درصد جمعیت دنیاست و تقاضا برای گسترش آن بیشتر از هر محصول زراعی دیگر است (۶۱). گندم گیاهی است که به‌دلیل سازگاری ژنوتیپ‌های آن به شرایط متفاوت محیطی، در مناطق وسیعی از جهان با شرایط آب و هوایی متنوع کشت می‌شود (۴۴). سطوح پلوییدی گندم به‌عنوان یک منبع مهم از ژن‌های ممتاز بوده و مطالعه روی این گونه‌ها به‌منظور استفاده در فعالیت‌های اصلاحی بسیار مطلوب است (۴۶). تنش به مفهوم تغییر شرایط طبیعی و بهینه فیزیولوژی گیاه است که باعث کاهش رشد و نمو می‌گردد. گیاهان همانند سایر موجودات زنده تحت تأثیر تنش‌های مختلف از جمله تنش‌های ناشی از شوری، خشکی، سرما، یخ‌زدگی یا دمای بالا، فلزات سنگین، شرایط غرقابی، تابش پرتوهای فرابنفش و آسیب‌های ناشی از کمبود یا بیش بود برخی از عناصر خاک قرار می‌گیرند. تنش شوری یکی از مهم‌ترین تنش‌های غیرزیستی است که می‌تواند عملکرد گیاهان زراعی را به‌میزان زیادی کاهش دهد (۶۸). ایران با دارا بودن اقلیم گرم و خشک، بیش از نیمی از زمین‌های قابل کشت آن که در حدود ۲۷ میلیون هکتار

سلولی یکی از معیارهای بررسی واکنش گیاهان به تنش‌های محیطی از جمله شوری است. با توجه به اهمیت موارد ذکر شده، این مطالعه با هدف بررسی اثر تنش شوری بر برخی پارامترهای بیوشیمیایی و مورفولوژیکی در دو جمعیت حساس و مقاوم گیاه دیپلوئید تریتی‌کوم بوتیکوم انجام گرفت.

مواد و روش‌ها

این پژوهش در سال ۱۳۹۷ در آزمایشگاه بیوتکنولوژی دانشگاه تحصیلات تکمیلی صنعتی و فناوری پیشرفته در کرمان انجام گرفت. در این تحقیق براساس داده‌های منتشر نشده در سال‌های قبل و بر اساس تجزیه بای‌پلات داده‌ها (شکل ۱)، ارقام مریوان و زاغه، به‌عنوان حساس‌ترین و مقاوم‌ترین ژنوتیپ‌های تریتی‌کوم بوتیکوم تحت تنش شوری انتخاب شدند که در آزمایش فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی و تحت تنش شوری با دو سطح ۰ و ۱۲۵ میلی‌مولار کلرید سدیم کشت شدند. بذور به‌مدت ۲۴ ساعت در آب خیس‌اند و در آبان ماه سال ۹۷ کشت شدند. از گلدان‌هایی با ارتفاع ۲۰ سانتی‌متر و با قطر دهنه ۲۵ سانتی‌متر استفاده شد. کف گلدان‌ها با مقداری سنگ‌ریزه پوشیده شد و گلدان‌ها با مخلوط یک سوم ماسه و یک سوم خاک و یک سوم کود کمپوست پر شدند. در حدود ۱۵ بذر در هر گلدان کاشته شد و سطح خاک به ارتفاع ۱۰ سانتی‌متر با پرلیت پوشانده شد. به‌دلیل نیاز به سرمای زمستانی برای رسیدن به عملکرد، گلدان‌ها در فضای آزاد بیرون از گلخانه قرار داده شدند و تقریباً بعد از ۱۰ روز جوانه‌زنی آغاز شد. پس از رشد کافی گیاهان و قبل از خوشه‌دهی آن‌ها تیماردهی آغاز شد. تیمار شوری در دو سطح ۰ و ۱۲۵ میلی‌مولار به‌تدریج و طی بازه یک ماهه و به‌صورت یک روز در میان به گیاهان داده شد. پس از اتمام دوره تیماردهی و کامل شدن خوشه گندم‌ها برداشت از برگ گیاهان پس از تقریباً هشت ماه در خرداد انجام شد. برگ گندم‌های هر گلدان جمع‌آوری و در ازت مایع تثبیت و سپس به فریز با دمای ۸۰- درجه سانتی‌گراد منتقل گردید.

عوامل به‌درستی مشخص نیست (۲۰). کاهش پایداری غشای سلولی، کاهش فعالیت آنزیم‌های فتوسنتزی، کاهش فتوسنتز، کاهش آماس سلول‌ها و در نتیجه کاهش توسعه برگ‌ها، اختلال در جذب یون‌ها و به‌ویژه تجمع یون‌های سدیم و کلر در برگ و در نهایت کاهش رشد رویشی و عملکرد اقتصادی از اثرات تنش شوری بر گیاهان زراعی می‌باشد. در واقع شوری بالا باعث کمبود آب، سمیت یونی و کمبود مواد غذایی در گیاه می‌شود که می‌تواند منجر به تخریب مولکولی، توقف رشد و حتی مرگ گیاه گردد. دشتی و همکاران (۱۷) گزارش کردند با وجود این که بین گونه‌های هگزاپلوئید، تتراپلوئید و دیپلوئید وحشی از نظر تحمل به شوری تفاوت معنی‌داری وجود ندارد، ولی گونه‌های دیپلوئید از نظر غلظت سدیم بافت، حساسیت کمتری را نسبت به شرایط تنش داشته‌اند. به عقیده‌ی سینه‌ها و همکاران (۶۷) با افزایش سطح پلوئیدی در گندم و تغییر از فرم وحشی به فرم زراعی، اندازه بذر، برگ و دوره پُرشده‌گی دانه افزایش یافته و منجر به افزایش عملکرد دانه شده است لیکن توانایی گندم برای رقابت در زنده ماندن در شرایط طبیعی محیط کاهش یافته است. مزینانی و همکاران (۴۷) با بررسی جمعیت‌هایی از گونه *T.boeoticum* جمع‌آوری شده از مناطق مختلف ایران تنوع ژنتیکی قابل توجهی از نظر صفات مورفوفیزیولوژیک در شرایط تنش کم آبی مشاهده کردند و اظهار داشتند این جمعیت‌ها دارای قابلیت تحمل به تنش بالایی می‌باشند. درباره مقاومت خویشاوندان وحشی به‌ویژه گونه‌های دیپلوئید در برابر تنش خشکی و قابلیت ویژه این گونه‌ها از نظر صفات فیزیولوژیک مانند توانایی فتوسنتزی، محتوای کلروفیل و هدایت روزنه‌ای مطالعات متعددی انجام شده است. تحقیقات شیرازی و همکاران (۶۶) روی گندم نیز نشان داد که تنش شوری سبب افزایش تجمع سدیم، کاهش کلروفیل و کاهش فتوسنتز در برگ ارقام حساس به شوری گندم شد. ایشان گزارش نمودند نسبت پتاسیم به سدیم برگ در رقم متحمل به شوری گندم بیش از رقم حساس به شوری بود. بررسی تخریب غشاهای سلولی و تولید مالون دی‌آلدهید ناشی از تخریب غشاهای



شکل ۱- انتخاب دو ژنوتیپ G5 و G6 توسط بای‌پلات ده ژنوتیپ تریتی‌کوم بوتیکوم

Figure 1. Selection of two genotypes G5 and G6 by BayPlat ten genotype *Triticum Boeoticum*

اندازه گیری صفات بیوشیمیایی کلروفیل‌ها و کارتنوئید

برای سنجش رنگیزه‌های فتوسنتزی مانند کلروفیل‌های a و b و کل و کارتنوئید از روش Lichtenthaler (۴۲) استفاده شد. ابتدا ۰/۲ گرم بافت تازه برگ با ترازوی آزمایشگاهی با دقت ۰/۰۰۱ گرم وزن شد و در هاون چینی که حاوی ۱۰ میلی‌لیتر استون ۸۰ درصد بود به‌خوبی سائیده شد و پس از ۱۵ دقیقه سانتریفیوژ (NAPCO) جذب آن‌ها در طول موج‌های ۶۶۴/۸، ۶۶۳/۲ و ۴۷۰ نانومتر توسط دستگاه اسپکتوفتومتر (Varian Cary50UV-Visible) خوانده شد. غلظت رنگیزه‌ها با استفاده از رابطه‌های ۱، ۲، ۳ و ۴ و برحسب میکروگرم بر گرم وزن‌تر محاسبه گردید.

$$\text{Chl a} = 12/25 A_{663/2} - 2/79 A_{646/8} \quad (\text{معادله ۱})$$

$$\text{Chl b} = 21/21 A_{646/8} - 5/1 A_{663/2} \quad (\text{معادله ۲})$$

$$\text{Chl t} = (\text{Chl a} + \text{Chl b}) \quad (\text{معادله ۳})$$

$$\text{Car} = \text{Chl b} (85/0.2 \text{ Chl a} - 1/8 - 47.0 A_{1000}) / 19.8 \quad (\text{معادله ۴})$$

قند محلول

برای سنجش قند محلول با استفاده از معرف آنترون و از روش Fales (۲۲) استفاده گردید. ابتدا مقدار ۰/۱ گرم بافت تازه برگ را در ۲/۵ میلی‌لیتر اتانول ۸۰ درصد سائیده شد و سپس به‌منظور تبخیر الکل، به‌مدت یک ساعت در بن‌ماری (Memmert) با دمای ۹۵ درجه سانتی‌گراد قرار داده شد. رسوب حاصل با ۲/۵ میلی‌لیتر آب مقطر حل گردید و سانتریفیوژ شد و عصاره حاصل به‌وسیله کاغذ فیلتر صاف گردید. سپس از هر نمونه مقدار ۲۰۰ میکرولیتر در یک لوله آزمایش ریخته شد و به هر نمونه مقدار پنج میلی‌لیتر معرف آنترون اضافه گردید. پس از مخلوط‌شدن، به‌مدت ۱۷ دقیقه در بن‌ماری با دمای ۹۰ درجه سانتی‌گراد قرار گرفت و بعد از سرد شدن محلول، جذب نمونه‌ها را در طول موج ۶۲۵ نانومتر توسط دستگاه اسپکتوفتومتر خوانده شد. غلظت قند از طریق معادله خط و منحنی استاندارد به‌دست آمد.

پروتیین

برای سنجش مقدار کل پروتیین با استفاده از معرف بیوره و از روش Bradford (۱۱) استفاده گردید. برای سنجش پروتیین کل برگ، مقدار ۱۰۰ میکرولیتر از عصاره پروتیینی را درون فالکون ریخته و سپس پنج میلی‌لیتر معرف بیوره به آن افزود شد و بلافاصله ورتکس (Heidolph) گردید. بعد از گذشت پنج دقیقه جذب آن در طول موج ۵۹۵ نانومتر توسط دستگاه اسپکتوفتومتر خوانده شد. غلظت پروتیین توسط منحنی استاندارد آلبومین محاسبه گردید.

فنل

برای سنجش ترکیبات فنلی از روش Gao و همکاران (۲۶) استفاده شد. ابتدا مقدار ۰/۱ گرم از بافت تازه گیاه با پنج میلی‌لیتر اتانول ۹۵ درصد سائیده و به‌مدت دو الی سه روز در تاریکی نگهداری شد. سپس عصاره حاصل به‌مدت ۱۰ دقیقه در ۴۰۰۰g دور سانتریفیوژ شد. ۱۰۰ میکرولیتر از محلول رویی با ۲۰۰ میکرولیتر معرف فولین و دو میلی‌لیتر آب مقطر مخلوط گردید و بعد از گذشت سه دقیقه یک میلی‌لیتر کربنات سدیم ۱۵ درصد به مخلوط افزوده شد و سپس به‌مدت

دو ساعت در تاریکی قرار داده شد. کار جذب آن‌ها را در طول موج ۷۲۵ نانومتر توسط دستگاه اسپکتوفتومتر خوانده شد. برای محاسبه مقدار ترکیبات فنلی از منحنی استاندارد استفاده شد و نتایج برحسب میلی‌گرم بر گرم وزن‌تر محاسبه گردید.

پرولین

برای سنجش پرولین از روش Bates و همکاران (۸) استفاده شد. برای سنجش پرولین، ۰/۰۵ گرم از بافت تازه گیاه در ۱۰ میلی‌لیتر سولفوسالسیلیک اسید سه درصد سائیده و سپس به‌مدت پنج دقیقه در ۱۰۰۰۰g دور سانتریفیوژ شد. مقدار دو میلی‌لیتر از محلول رویی همراه با دو میلی‌لیتر معرف نین‌هیدرین و دو میلی‌لیتر استیک‌اسید گلاسیال مخلوط شد و به‌مدت یک ساعت در دمای ۱۰۰ درجه سانتی‌گراد در بن‌ماری قرار گرفت. بلافاصله پس از آن لوله‌های حاوی مخلوط در حمام یخ، سرد گردید. سپس چهار میلی‌لیتر تولوئن به آن اضافه و تکان داده شد و به‌مدت ۲۰ ثانیه ثابت نگه داشته شد تا دو فاز جدا گردند. از فاز فوقانی برای اندازه‌گیری غلظت پرولین استفاده و جذب آن‌ها در طول موج ۵۱۸ نانومتر توسط دستگاه اسپکتوفتومتر خوانده شد. برای محاسبه مقدار پرولین از منحنی استاندارد استفاده شد و نتایج برحسب میلی‌گرم بر گرم وزن‌تر محاسبه گردید.

نشت یونی

برای ارزیابی میزان آسیب غشاء بافت گیاهی تحت تیمار آزمایش، نشت یونی به‌روش Ben Hamed و همکاران (۳۳) سنجش شد. ابتدا ۰/۲ گرم از بافت تازه گیاه را پس از شست‌شو درون لوله آزمایش قرار داده و ۱۰ میلی‌لیتر آب بدون یون به آن اضافه گردید. سپس لوله‌های آزمایش به‌مدت دو ساعت درون حمام با دمای ۳۲ درجه سانتی‌گراد قرار داده شد و میزان هدایت الکتریکی محلول (EC) با استفاده از EC متر مدل فلان اندازه‌گیری شد. پس از آن لوله‌های آزمایش در دمای ۱۲۱ درجه سانتی‌گراد به‌مدت ۲۰ دقیقه اتوکلاو گردید و بعد از خنک‌شدن میزان هدایت الکتریکی نمونه‌ها اندازه‌گیری شد و با استفاده از معادله پنج میزان نشت یونی بافت برحسب درصد محاسبه گردید.

$$\text{مقدار نشت یونی} = (EC_1 / EC_2) \times 100 \quad (\text{معادله ۵})$$

رطوبت نسبی

برای سنجش رطوبت نسبی بافت برگ گیاه از روش Turkan و همکاران (۷۲) استفاده شد. نمونه‌های برگی درون فالکونی حاوی آب دیونایز به‌مدت پنج ساعت غوطه‌ور گردید و پس از آن وزن حالت تورگور آن‌ها توسط ترازوی دیجیتال (Mettler Toledo) اندازه‌گیری شد. سپس نمونه‌ها در فویل آلومینیومی پیچیده شده و در آون به‌مدت سه شبانه روز با دمای ۷۰ درجه سانتی‌گراد در آون (Binder) خشک شد و پس از آن وزن خشک آن‌ها اندازه‌گیری شد. درصد نسبی رطوبت بافت برگ توسط معادله ۶ محاسبه گردید.

$$\text{مقدار رطوبت نسبی} = \frac{\text{وزن خشک} - \text{وزن تر} / \text{وزن خشک} - \text{وزن تورگور}}{100} = \text{RWC} (\%) \quad (\text{معادله ۶})$$

پراکسید هیدروژن

برای سنجش آب اکسیژنه از روش Velikova و همکاران (۷۳) استفاده شد. ابتدا مقدار ۰/۵ گرم از بافت تازه برگ با پنج

خاموشی پیروگالول $6/2 \text{ Mm}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ و فرمول $A=\epsilon bc$ میزان پیروگالول برجای مانده به مدت ۵ دقیقه بعد از شروع واکنش محاسبه شد که A معادل جذب خوانده شده، b طول کووت (۱ سانتی‌متر)، c غلظت پیروگالول و ϵ ضریب خاموشی می‌باشد. یک واحد فعالیت آنزیمی پلی فنل اکسیداز، مقدار پیروگالولی است که در مدت ۱ دقیقه به پورپوروگالین تبدیل شود. عملکرد آنزیم به‌صورت واحد آنزیمی بر حسب مقدار پروتیین کل موجود در ۱۰۰ میکرولیتر عصاره در ۱ دقیقه محاسبه می‌شود.

آنزیم کاتالاز

سنجش فعالیت آنزیم کاتالاز با استفاده از محاسبه سرعت تجزیه و کاهش جذب آب‌اکسیژنه در طول موج ۲۴۰ نانومتر، با روش Dhindsa و همکاران (۱۹) انجام شد. بر اساس این روش مخلوط کل واکنش با حجم سه میلی‌لیتر شامل $2/870$ میلی‌لیتر بافر پتاسیم فسفات ۵۰ میلی‌مولار (pH=7) و ۳۰ میکرولیتر آب اکسیژنه ۱/۵ مولار و ۱۰۰ میکرولیتر عصاره آنزیمی می‌باشد (برای ممانعت از تجزیه آب‌اکسیژنه توسط نور می‌بایست ظرف آن را با ورقه آلومینیومی پوشاند). با اضافه شدن عصاره آنزیمی به مخلوط واکنش، واکنش آنزیمی تجزیه آب‌اکسیژنه شروع شد و کاهش در جذب پراکسید هیدروژن در بازه زمانی ۳۰ ثانیه‌ای از زمان شروع واکنش تا یک دقیقه پس از شروع واکنش در طول موج ۲۴۰ نانومتر با استفاده از دستگاه اسپکتوفتومتر اندازه‌گیری شد. میزان فعالیت آنزیم کاتالاز بر اساس غلظت آب‌اکسیژنه مصرف شده محاسبه می‌گردد که میزان آن با استفاده از ضریب خاموشی معادل $40 \text{ Mm}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ و فرمول $A=\epsilon bc$ محاسبه می‌گردد که A معادل جذب خوانده شده، b طول کووت (یک سانتی‌متر)، c غلظت پراکسید هیدروژن و ϵ ضریب خاموشی می‌باشد. یک واحد فعالیت آنزیمی مقدار است که یک میلی‌مول پراکسید هیدروژن را در مدت زمان یک دقیقه تجزیه کند و عملکرد آنزیم به‌صورت واحد آنزیمی بر حسب مقدار پروتیین کل موجود در ۱۰۰ میکرولیتر عصاره در یک دقیقه محاسبه می‌شود.

آسکوربات پراکسیداز

سنجش فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز با استفاده از محاسبه سرعت اکسید شدن آسکوربات و کاهش جذب آن در طول موج ۲۹۰ نانومتر، با روش Nakano and Asada (۵۰) انجام شد. بر اساس این روش مخلوط کل واکنش با حجم سه میلی‌لیتر شامل $2/490$ میلی‌لیتر بافر پتاسیم فسفات ۵۰ میلی‌مولار (pH=7) و ۳۰ میکرولیتر آب‌اکسیژنه ۱۵ میلی‌مولار، ۳۰۰ میکرولیتر آسکوربات ۰/۵ میلی‌مولار، ۳۰ میکرولیتر EDTA ۱۰ میلی‌مولار و ۱۵۰ میکرولیتر عصاره آنزیمی می‌باشد (برای ممانعت از تجزیه آب اکسیژنه توسط نور می‌بایست ظرف آن را با ورقه آلومینیومی پوشاند). با شروع واکنش آنزیمی و به دنبال اکسید شدن آسکوربات، کاهش جذب در دو دقیقه پس از شروع واکنش محاسبه گردید. با استفاده از ضریب خاموشی آسکوربات $2/8 \text{ Mm}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ و فرمول $A=\epsilon bc$ میزان آسکوربات برجای مانده به مدت دو دقیقه بعد از شروع واکنش محاسبه شد که A معادل جذب

میلی‌لیتر تری کلرواستیک اسید (TCA) ۰/۱ درصد بر روی یخ سائیده شد. سپس عصاره حاصل به مدت ۱۵ دقیقه در 1000 g دور و در دمای چهار درجه سانتی‌گراد سانتریفیوژ شد. ۰/۵ میلی‌لیتر از محلول رویی با ۰/۵ میلی‌لیتر بافر پتاسیم فسفات ۱۰ میلی‌مولار (pH=7) و یک میلی‌لیتر یدید پتاسیم یک مولار مخلوط گردید و جذب آن‌ها را در طول موج ۳۹۰ نانومتر توسط دستگاه اسپکتوفتومتر خوانده شد. نهایتاً مقدار پراکسید هیدروژن هر نمونه با استفاده از ضریب خاموشی $0/28 \text{ M}^{-1} \text{ CM}^{-1}$ محاسبه و نتایج بر حسب میکرو-مول بر گرم وزن تر گزارش گردید.

طول ریشه

برای سنجش طول ریشه می‌بایست پس از برداشت نمونه‌های گیاهی، خاک گلدان را خالی و ریشه را شست و سپس طول بلندترین ریشه را از ناحیه یقه تا نوک آن با استفاده از خط‌کش بر حسب سانتی‌متر اندازه‌گیری کرد.

آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان

آنزیم گایاکول پراکسیداز

سنجش فعالیت آنزیم گایاکول پراکسیداز با استفاده از میزان جذب تتراگایاکل تشکیل از گایاکل در نتیجه فعالیت پراکسیداز، در طول موج ۴۷۰ نانومتر، با روش Plewa و همکاران (۵۸) انجام شد. بر اساس این روش مخلوط کل واکنش با حجم سه میلی‌لیتر شامل $2/650$ میلی‌لیتر بافر پتاسیم فسفات ۵۰ میلی‌مولار (pH=7) و ۳۰۰ میکرولیتر آب اکسیژنه سه درصد و ۳۰ میکرولیتر گایاکول ۹۹ درصد و ۲۰ میکرولیتر عصاره آنزیمی می‌باشد (برای ممانعت از تجزیه آب اکسیژنه توسط نور می‌بایست ظرف آن را با ورقه آلومینیومی پوشاند). میزان جذب تتراگایاکول در لحظه شروع واکنش پس از اضافه شدن عصاره آنزیمی و در بازه زمانی ۳۰ ثانیه‌ای و پس از یک دقیقه خوانده شد. میزان فعالیت آنزیم گایاکول پراکسیداز بر اساس غلظت جذب تتراگایاکل محاسبه شد که میزان آن با استفاده از ضریب خاموشی معادل $\text{Mm}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ و فرمول $A=\epsilon bc$ محاسبه می‌گردد که A معادل جذب خوانده شده، b طول کووت (یک سانتی‌متر)، c غلظت پراکسید هیدروژن و ϵ ضریب خاموشی می‌باشد. یک واحد فعالیت آنزیمی مقداری است که یک میلی‌مول تتراگایاکل را در مدت زمان یک دقیقه جذب کند و عملکرد آنزیم به‌صورت واحد آنزیمی بر حسب مقدار پروتیین کل موجود در ۲۰ میکرولیتر عصاره در یک دقیقه محاسبه می‌شود.

پلی فنل اکسیداز

سنجش فعالیت آنزیم پلی فنل اکسیداز با استفاده از محاسبه سرعت پیروگالولی است که در مدت ۱ دقیقه به پورپوروگالین تبدیل می‌شود و کاهش جذب آن در طول موج ۴۲۰ نانومتر، با روش Kar and Mishra (۳۹) انجام شد. بر اساس این روش مخلوط واکنش حاوی بافر پتاسیم فسفات ۲۰۰ میلی‌مولار (pH=7.6) و پیروگالول ۲۰ میلی‌مولار می‌باشد. واکنش با افزودن ۱۰۰ میکرولیتر عصاره آنزیمی آغاز شد. کاهش در جذب پیروگالول در طول موج ۴۲۰ نانومتر در بازه زمانی ۵ دقیقه از زمان شروع واکنش و در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد محاسبه شد. با استفاده از ضریب

مقایسه با ژنوتیپ زاغه از میزان کلروفیل a و b بیشتری برخوردار بود.

کلروفیل‌ها مولکول‌های ضروری هستند که مسئول دریافت انرژی خورشیدی در سیستم‌های فتوسنتزی می‌باشند و غلظت آن به‌عنوان یک شاخص برای ارزیابی قدرت منبع شناخته شده است، لذا کاهش آن در شرایط تنش‌های غیرزیستی می‌تواند به‌عنوان یک عامل محدودکننده غیر روزنه‌ای به‌حساب آید. بررسی روند تیمارها نشان داد که با افزایش تنش شوری میزان کلروفیل کل ژنوتیپ مقاوم زاغه افزایش می‌یابد در حالی‌که این روند برای ژنوتیپ حساس مریوان کاهش بود. کاهش غلظت کلروفیل از عوامل مهم تأثیرگذار در میزان ظرفیت فتوسنتزی گیاه به‌شمار می‌رود (۵۹). گزارش‌هایی از تأثیر افزایش شوری بر محتوای کلروفیل‌ها در غلات در دست است (۴۳). در این تحقیق نیز اعمال شوری موجب افزایش محتوای کلروفیل کل در ژنوتیپ مریوان شد. این افزایش ممکن است نتیجه افزایش تعداد کلروپلاست در برگ‌های تحت تنش باشد. تفاوت‌های مشاهده شده در میزان سنتز کلروفیل دو ژنوتیپ مختلف تحت تنش شوری، نتیجه عملکرد مسیرهای مختلف سنتزی است که با آنزیم‌های متفاوت قابل پیگیری است و این آنزیم‌ها پاسخ‌های متفاوتی به شوری نشان می‌دهند. همچنین کاهش در سطح کلروفیل در ژنوتیپ مریوان تحت شرایط تنش احتمالاً ناشی از افزایش فعالیت آنزیم تخریب‌کننده کلروفیل (کلروفیل‌لاز) باشد (۱۲). گرچه اهمیت تخریب کلروفیل توسط گونه‌های فعال اکسیژن (ROS) نیز وجود دارد. در مطالعه قاسمی مصرمی و همکاران (۲۸) گزارش کردند که اثر شوری، ژنوتیپ و اثرمتقابل بین آن‌ها برای محتوای کلروفیل a و b در سه ژنوتیپ گندم نان معنی‌دار بود.

کلروفیل کل

نتایج حاصل از تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد که اثر برهم‌کنش ژنوتیپ × شوری برای محتوای کلروفیل کل معنی‌دار بود. بر این اساس واکنش ژنوتیپ‌ها به سطح تنش شوری بستگی داشت به‌طوری‌که بین دو ژنوتیپ در تیمار ۱۲۵ میلی‌مولار تنش شوری اختلاف معنی‌داری وجود نداشت، حال آن‌که در تیمار شاهد ژنوتیپ مریوان به‌صورت معنی‌داری کلروفیل کل بیشتری به‌خود اختصاص داد (شکل ۲).

خوانده شده، b طول کووت (یک سانتی‌متر)، c غلظت آسکوربات و E ضریب خاموشی می‌باشد. یک واحد فعالیت آنزیمی آسکوربات پراکسیداز مقدار آنزیمی است که یک میلی‌مولار آسکوربات را در مدت زمان یک دقیقه اکسید کند. عملکرد آنزیم به‌صورت واحد آنزیمی بر حسب مقدار پروتیین کل موجود در ۱۵۰ میکرولیتر عصاره در یک دقیقه محاسبه می‌شود.

سدیم و پتاسیم در ریشه و برگ

برای سنجش تجمع یون‌های سدیم و پتاسیم در بافت برگ و ریشه گیاه از روش شعله و جذب اتمی (Rothery ۳۶) استفاده شد. ابتدا نمونه‌های گیاهی در آون با دمای ۷۰ درجه سانتی‌گراد به‌مدت سه شبانه روز خشک شد. سپس مقدار ۰/۲۵ گرم از بافت گیاهی با پنج میلی‌لیتر اسیدنیتریک و اسید پرکلریک به نسبت (۱:۳) مخلوط و به‌مدت یک شبانه روز گذاشته شد تا هضم اسیدی به‌خوبی صورت پذیرد. پس از آن برای خروج بخارات زرد رنگ اسیدی لوله‌ها به‌مدت یک تا سه ساعت در بن‌ماری قرار داده شد و سپس مواد از کاغذ صافی عبور داده شد و با استفاده از آب مقطر حجم محلول به ۲۵ میلی‌لیتر رسانده شد. برای تعیین غلظت یون‌ها، محلول استاندارد هر یون قبل از اندازه‌گیری نمونه به دستگاه جذب اتمی مدل Varian Spectr AA 220 تزریق و نمودار استاندارد مربوطه، توسط نرم‌افزار دستگاه رسم و نهایتاً میزان سدیم و پتاسیم نمونه‌ها خوانده شد.

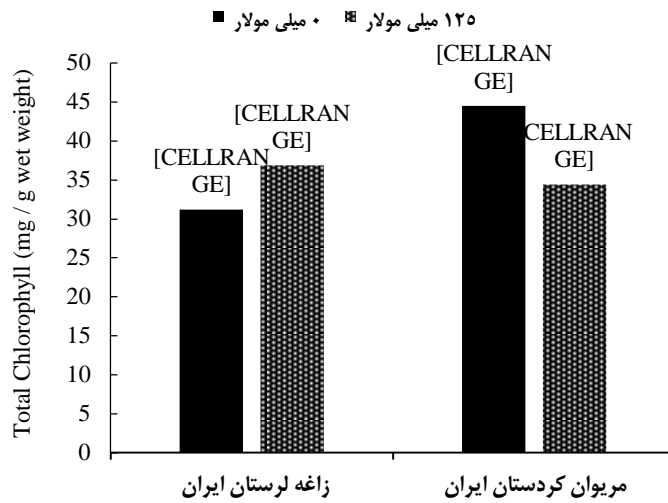
برای تجزیه و تحلیل آماری داده‌های به‌دست آمده از نرم‌افزار sas و برای مقایسه میانگین‌ها از آزمون دانکن و برای رسم نمودارها از نرم‌افزار Excel استفاده شد.

نتایج و بحث

آنالیز داده‌های حاصل از سنجش پارامترهای بیوشیمیایی و فیزیولوژی ژنوتیپ‌های مریوان و زاغه گیاه تریتیوکوم بوتیکوم، که به‌صورت آزمایش فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار انجام گرفت در جدول ۱ نمایش داده شده است.

کلروفیل a و b

نتایج حاصل از تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد که اثر ساده ژنوتیپ بر محتوای کلروفیل a و b در سطح احتمال پنج درصد معنی‌داری می‌باشد اما اثر شوری و اثر متقابل ژنوتیپ × شوری بر این صفات غیرمعنی‌دار بود (جدول ۱). با توجه به مقایسه میانگین تیمارها مشخص شد که ژنوتیپ مریوان در



شکل ۲- مقایسه میانگین اثر متقابل ژنوتیپ × شوری از نظر محتوای کلروفیل کل

Figure 2. Comparison of the mean interaction of genotype and salinity in terms of total chlorophyll content

کاروتنوئیدها (گزانتوفیل و کاروتن) به‌هنگام شوری متوسط و کاهش آن در شوری بالا در برخی از گیاهان زراعی دیگر گزارش شده است (۲۱).

قند محلول

محتوای قند در سطح احتمال یک درصد به‌طور معنی‌داری تحت تأثیر اثر ژنوتیپ قرار گرفت درحالی‌که اثر شوری و برهم‌کنش ژنوتیپ × شوری بر بروز این صفت غیر معنی‌دار بود (جدول ۱). نتایج مقایسه میانگین ژنوتیپ‌ها نشان داد که ژنوتیپ مقاوم به شوری زاغه لرستان (۷۴/۵ درصد) میزان قند محلول بیشتری نسبت به ژنوتیپ حساس مریوان کردستان (۵۳/۵ درصد) داشت. قندهای محلول نقش مهمی در تنظیم اسمزی سلول به‌عهده دارند. کاهش مقدار قند می‌تواند به‌علت کاهش فتوسنتز باشد، زیرا کاهش آب موجب کاهش آماس شده و از دست دادن فشار آماس به بسته شدن روزنه‌ها در نتیجه کاهش فتوسنتز منجر می‌شود (۱۴).

پروتئین

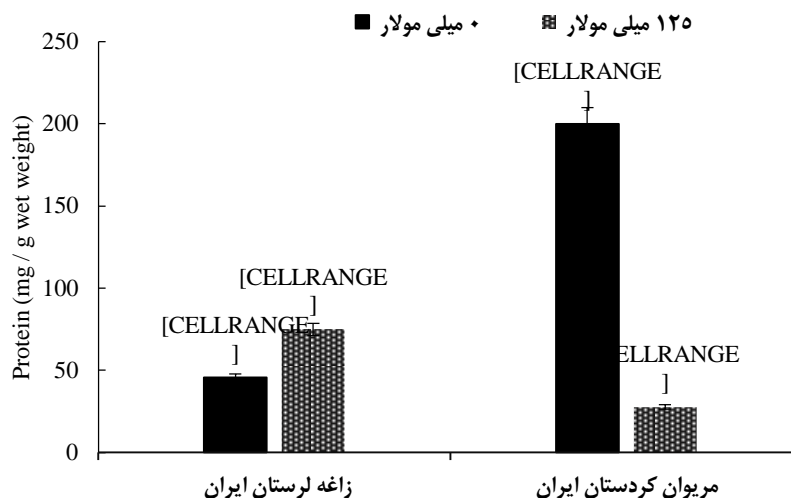
مندرجات جدول ۱ نشان داد که اثرات ساده ژنوتیپ، شوری و اثرمتقابل بین آن‌ها در سطح احتمال یک درصد بر محتوای پروتئین معنی‌داری بود. بیش‌ترین میزان (۲۰۰ میلی‌گرم) پروتئین به ژنوتیپ مریوان در شرایط نرمال و کم‌ترین مقدار (۲۷/۷ میلی‌گرم) آن به همین ژنوتیپ در شرایط تنش شوری اختصاص داشت. ژنوتیپ زاغه در شرایط نرمال پروتئینی برابر با ۴۵/۵ میلی‌گرم داشت و تحت شرایط تنش شوری افزایشی معنی‌دار از خود نشان داد و به ۷۵ میلی‌گرم بر گرم وزن تر رسید. گزارش شده است که تنش شوری موجب کاهش میزان پروتئین می‌گردد (۱۸). این مورد برای ژنوتیپ مریوان کردستان صدق می‌کرد (شکل ۳).

بسیاری از محققین معتقدند بین محتوای کلروفیل و تحمل به شوری رابطه معنی‌داری وجود دارد (۱۶). قلی‌زاده و همکاران (۳۰) در بررسی تنوع ژنتیکی ژرم‌پلاسم‌های گندم نان ایرانی از نظر تحمل به تنش شوری نتیجه گرفتند که صفت محتوای کلروفیل برگ به علت کم‌هزینه بودن و اندازه‌گیری آسان و غیر تخریبی نسبت به سایر صفات می‌تواند به‌عنوان شاخصی مناسب در برنامه‌های اصلاحی برای انتخاب ژنوتیپ‌ها با عملکرد بالا در شرایط تنش شوری در مزرعه مورد استفاده قرار گیرد. گزارشاتی مشابه از این دست توسط James و Munns (۴۹) بیان شده است.

کارتنوئید

مطابق با نتایج تجزیه واریانس اختلاف معنی‌داری بین ژنوتیپ‌ها از نظر محتوای کارتنوئید وجود داشت اما اثر شوری و اثرمتقابل ژنوتیپ × شوری غیرمعنی‌دار بود (جدول ۱). نتایج حاصل از مقایسه میانگین ژنوتیپ‌ها نشان داد ژنوتیپ زاغه (۸/۴۴ میلی‌گرم بر گرم وزن تر) در مقایسه با ژنوتیپ مریوان (۹/۹۸ میلی‌گرم بر گرم وزن تر) از میزان کارتنوئید کمتری برخوردار بود. در تضاد با این یافته‌ها نژاد علی‌مرادی و همکاران (۵۳) گزارش کردند که اثر تیمار شوری بر محتوای کلروفیل a، b، کل و کاروتنوئید در دو رقم گندم معنی‌دار بود. کاروتنوئیدها نقش‌های فیزیولوژیکی مهمی را در طیف گسترده‌ای از گیاهان دارند. این ترکیبات برای سیستم فتوسنتزی ضروری بوده و نقش اساسی در ممانعت از آسیب ناشی از اکسیداسیون نوری بازی می‌کند (۲۹).

افزایش کاروتنوئیدها توان مقابله با وضعیت تنشی در گیاه را افزایش می‌دهد، زیرا گیاه توانایی اتلاف انرژی نوری بالا و حذف اکسیژن‌های فعال را خواهد داشت. افزایش در محتوای



شکل ۳- مقایسه میانگین اثر متقابل ژنوتیپ × شوری از نظر محتوای پروتئین
Figure 3. Comparison of the mean interaction of genotype and salinity in terms of protein content

گزارش کردند که محتوای فنل گندم با اعمال تنش‌های غیرزیستی کاهش می‌یابد (شکل ۴).

پرویلین

میزان پرویلین در سطح احتمال یک درصد تحت تأثیر تنش شوری قرار گرفت (جدول ۱)، به طوری که شرایط نرمال با ۲۷/۶ میکرومول بر گرم وزن تر میزان پرویلین بیشتری نسبت به شرایط تنش شوری (۲۰/۶ میکرومول بر گرم وزن تر) داشت. پرویلین به عنوان یک ماده محافظت‌کننده غیرسمی، برای تنظیم اسمزی در شرایط شوری و دیگر تنش‌های محیطی مطرح است (۶۰). در راستای نتایج پژوهش حاضر که اختلاف معنی‌داری میان دو رقم مورد مطالعه به لحاظ محتوای پرویلین وجود نداشت، اکثر ارقام گندم مورد مطالعه توسط آزادی و همکاران (۷) نیز از نظر محتوای پرویلین یکسان بودند. هیچ مدرک مستندی وجود ندارد برای آن که نشان دهد پرویلین در گیاهان مقاوم بیشتر از گیاهان حساس به شوری، تجمع می‌یابد. در حقیقت بیشتر داده‌های موجود متناقض هستند و نقش پرویلین در مقاومت گیاهان به شوری تاکنون به خوبی شناخته نشده است (۳۴).

فنل

همان‌طور که در جدول ۱ مشاهده می‌شود اثر متقابل ژنوتیپ × شوری در سطح احتمال یک درصد بر محتوای فنل معنی‌دار بود. نتایج مقایسه میانگین‌ها نشان داد که با اعمال تنش شوری محتوای فنل در ژنوتیپ زاغه لرستان به طور معنی‌داری کاهش داشت در حالی که این روند برای ژنوتیپ مریوان کردستان متفاوت بود یعنی با اعمال تنش سطح فنل افزایشی کم و غیر معنی‌داری نشان داد میزان فعالیت آنتی‌اکسیدانی گیاهان ارتباط مستقیم با نوع و میزان ترکیبات آنتی‌اکسیدانی مانند فنل و فلاونوئید دارد (۴۰). به بیانی دیگر، یکی از سیستم‌های سم‌زدایی ROS اجزای آنتی‌اکسیدانی غیرآنزیمی هستند. آنتی‌اکسیدان‌های غیرآنزیمی شامل فلاونوئیدها، ترکیبات فنلی، آلکالوئیدها، توکوفرول و کاروتنوئیدها هستند. فعالیت آنتی‌اکسیدانی گیاهان به ویژگی‌های مختلفی از جمله ژنوتیپ، اقلیم، فصل رشد، موقعیت جغرافیایی، نوع خاک و شرایط نگهداری بستگی دارد (۵). مطابق با یافته‌های پژوهش، نیازخانی و همکاران (۵۴)

جدول ۱- نتایج تجزیه واریانس صفات مورد مطالعه در دو ژنوتیپ گندم تحت شرایط نرمال و تنش شوری

Table 1. Results of analysis of variance of studied traits in two wheat genotypes under normal conditions and salinity stress

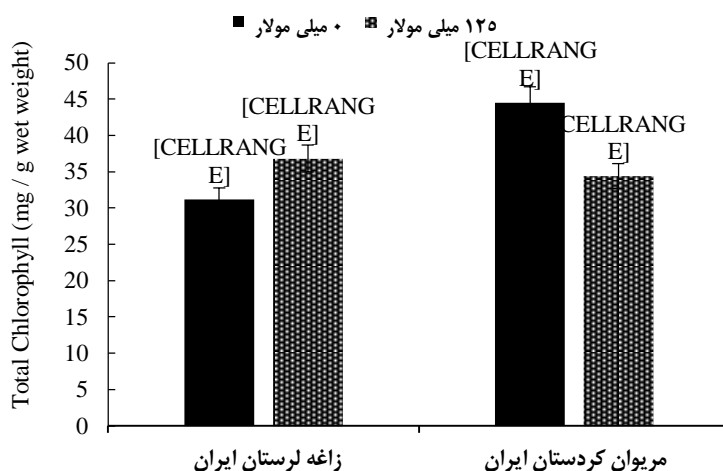
| منابع تغییرات | درجه آزادی | میانگین مربعات | | | | | | | | | | |
|------------------|------------|--------------------|--------------------|--------------------|--------------------|---------------------|-----------------------|---------------------|--------------------|---------------------|--------------------|----------|
| | | کلروفیل a | کلروفیل b | کلروفیل کل | کارتونوئید | قند | پروتئین | فنل | پرویلین | نشست یونی | رطوبت نسبی | طول ریشه |
| | | (mg/gr FW) | (mg/gr FW) | (mg/gr FW) | (mg/gr FW) | (Percent) | (mg/gr FD) | (μmol/gr FW) | (Percent) | (Percent) | (Percent) | (cm) |
| ژنوتیپ | ۱ | ۷۴/۵ | ۱۶/۷ | ۸۸/۵ ^{ns} | ۷/۱۴ | ۱۳۲۳/۷* | ۱۰۰/۸ | ۴۷/۹۵ ^{ns} | ۲/۲۶ ^{ns} | ۹۴/۹۰ ^{ns} | ۲/۰۸ ^{ns} | |
| شوری | ۱ | ۶/۱ ^{ns} | ۰/۰۱ ^{ns} | ۱۴/۷ ^{ns} | ۱/۰۲ ^{ns} | ۴۳۷/۱ ^{ns} | ۱۴۷/۸ [~] | ۱۴۷/۸ [~] | ۱۲/۳۹ [~] | ۲۰۲/۶ [~] | ۴۴/۰۸ [~] | |
| ژنوتیپ × شوری | ۱ | ۴۸/۳ ^{ns} | ۱۴/۲ ^{ns} | ۱۸۶/۱ [~] | ۴/۳۷ ^{ns} | ۳۴۳/۳ ^{ns} | ۳۰۵۵۴/۱ ^{**} | ۴۴/۳۳ ^{ns} | ۵/۸۱ ^{ns} | ۸/۰۴ ^{ns} | ۲/۰۸ ^{ns} | |
| خطا | ۸ | ۱۳/۶۲ | ۳/۴۳ | ۳۸/۵۶ | ۱/۴۷ | ۱۷۸/۱ | ۱۹/۴۰ | ۳۰/۴۱ | ۱/۹۷ | ۳۳/۹۷ | ۹/۰۸ | |
| ضریب تغییرات (%) | | ۱۲/۴۱ | ۱۸/۹۱ | ۱۶/۹۰ | ۱۳/۱۸ | ۲۰/۸۵ | ۱۱/۹۰ | ۲۲/۸۶ | ۱/۵۱ | ۷/۴۳ | ۹/۸۵ | |

ns: * و **: به ترتیب غیرمعنی داری و معنی داری در سطح احتمال پنج و یک درصد می باشد.

| منابع تغییرات | درجه آزادی | میانگین مربعات | | | | | | | | | |
|------------------|------------|--------------------|--------------------|---------------------|--------------------|-----------------------|---------------------|--------------------|----------------------|---------------------|---------------------|
| | | GPX | PPO | CAT | APX | آب اکسیژنه | سدیم ریشه | پتاسیم ریشه | سدیم/پتاسیم ریشه | سدیم برگ | پتاسیم برگ |
| | | (μmol/gr FW) | (μmol/gr FW) | (μmol/gr FW) | (μmol/gr FW) | (mmol) | (mg/g FD) | (mg/g FD) | (mg/g FD) | (mg/g FD) | (mg/g FD) |
| ژنوتیپ | ۱ | ۰/۷۳ ^{ns} | ۰/۲۳ ^{ns} | ۰/۰۰۳ ^{ns} | ۱/۳۷ [~] | ۱۴۹۱۶/۱ ^{ns} | ۳۰۸/۱ ^{ns} | ۰/۵۶ ^{ns} | ۴۱/۲۸ ^{ns} | ۲۲/۵ ^{ns} | ۰/۰۶۸ ^{ns} |
| شوری | ۱ | ۰/۰۳ ^{ns} | ۰/۲۹ [~] | ۰/۰۷۶ [~] | ۰/۰۷ ^{ns} | ۱۷۰۵۹۱/۷ [~] | ۱۱۷۹/۴ [~] | ۰/۰۱ ^{ns} | ۴۷۱۶ [~] | ۰/۰۱ ^{ns} | ۳۱/۷۹ [~] |
| ژنوتیپ × شوری | ۱ | ۱۸/۱ ^{**} | ۰/۷۲ ^{**} | ۰/۱۹۲ ^{**} | ۰/۹۰ ^{**} | ۱۶۵/۸۷ ^{ns} | ۱۲۷۶/۶* | ۱۳/۱ ^{**} | ۳۲۴۳/۳ ^{**} | ۲۰/۶۹ ^{ns} | ۰/۱۰۱ ^{ns} |
| خطا | ۸ | ۰/۷۱ | ۰/۰۴ | ۰/۰۰۶ | ۰/۰۸۸ | ۳۳۷۸/۲۵ | ۲۳۲/۸۸ | ۰/۲۰۸ | ۴۱/۳۳ | ۷/۵۱ | ۰/۹۸۹ |
| ضریب تغییرات (%) | | ۳۳/۲۸ | ۲۹/۷۰ | ۲۴/۰۸ | ۳۲/۸۳ | ۱۰/۴۳ | ۲۹/۹۷ | ۱۸/۴۴ | ۵۵/۶۴ | ۲۷/۳۷ | ۵۰/۲۶ |

ns: * و **: به ترتیب غیرمعنی داری و معنی داری در سطح احتمال پنج و یک درصد می باشد.

GPX: گایاکول پراکسیداز، PPO: پلی فنول اکسیداز، CAT: کاتالاز و APX: آسکوربات پراکسیداز



شکل ۴- مقایسه میانگین اثر متقابل ژنوتیپ × شوری از نظر محتوای فنل
Figure 4. Comparison of the mean interaction of genotype and salinity in terms of phenol content

پراکسید هیدروژن

میزان پراکسید هیدروژن در سطح احتمال یک درصد تحت تأثیر شوری قرار گرفت (جدول ۱). مقایسه میانگین‌ها نشان داد که میزان این صفت تحت شرایط نرمال (۶۷۶/۲ میلی‌مولار) بیشتر از شرایط تنش شوری (۴۳۷/۷ میلی‌مولار) بود. برخلاف نتایج پژوهش حاضر، نصیبی و همکاران (۵۱) اظهار داشته‌اند که تنش شوری باعث افزایش مقدار هیدروژن پراکسید در ریشه و برگ گندم شد.

طول ریشه

بررسی نتایج اندازه‌گیری طول ریشه نشان داد که تنش شوری در سطح احتمال پنج درصد تأثیر معنی‌داری بر رشد طولی ریشه‌ها داشت (جدول ۱). تحت شرایط تنش شوری میزان طول ریشه نسبت به شرایط عادی افزایش معنی‌داری داشت. عموماً در ارقام متحمل و نیمه‌متحمل، عمق ریشه در شرایط تنش محیطی نسبت به حالت عادی افزایش می‌یابد به طوری که یک سیستم ریشه‌ای گسترده و عمیق با تحمل به این تنش‌ها، جذب بهتر آب و مواد مغذی و حفظ وضعیت آب گیاه همراه است. در این نوع از سیستم ریشه‌ای به دلیل انشعابات مختلف ریشه تماس گیاه با خاک افزایش می‌یابد (۵۲). تحت مواجهه گیاه با تنش، برای انتخاب ارقام پرملمکرد می‌توان انتخاب را بر اساس قابلیت افزایش عمق ریشه به اعماق خاک و جذب آب انجام داد. این انتخاب، به‌ویژه برای ژنوتیپ‌هایی که تنظیم اسمزی محدودی دارند مناسب‌تر است (۷۱).

موارد فوق منجر شده است تا امروزه به‌نژادگران علاقه ویژه‌ای به اصلاح ارقام گندم با سیستم ریشه‌ای مناسب داشته باشند (۱۳). با این حال، استفاده گسترده از اطلاعات ژنتیکی ریشه در برنامه‌های اصلاحی و گزینشی همچنان یک چالش است. این امر در درجه اول به ارزیابی دشوار و وقت‌گیر صفات ریشه در شرایط مزرعه برمی‌گردد (۶۳). صفات مرتبط با ریشه به دلیل سختی ارزیابی و انتخاب عموماً مورد غفلت قرار گرفته است (۹). Gewin (۲۷) در بررسی اهمیت صفات ریشه در

نشت یونی

نتایج تجزیه واریانس نشان داد که اثر رقم و اثر متقابل رقم × شوری برای نشت یونی غیرمعنی‌دار بود اما اثر شوری در سطح احتمال پنج درصد معنی‌دار گردید (جدول ۱). تحت شرایط نرمال میزان نشت یونی اندکی بیشتر از شرایط تنش شوری بود. شعبانی‌نژاد و همکاران (۶۵) در گروه‌بندی ارقام گندم بر اساس خصوصیات مورفوفیزیولوژیک تحت شرایط تنش شوری گزارش کردند که اثر متقابل رقم × شوری برای نشت یونی معنی‌دار نمی‌باشد. در تضاد با یافته‌های این پژوهش، Jaleel و همکاران (۳۷) نتیجه گرفتند که با اعمال تنش شوری، نشت یونی به‌طور معنی‌داری افزایش می‌یابد. گلکار و همکاران (۳۲) گزارش کردند که تراوش یونی غشاء در گندم دوروم و نان تحت تأثیر ژنوتیپ و ژنوتیپ × شوری نمی‌باشد که با نتایج ما مطابقت دارد.

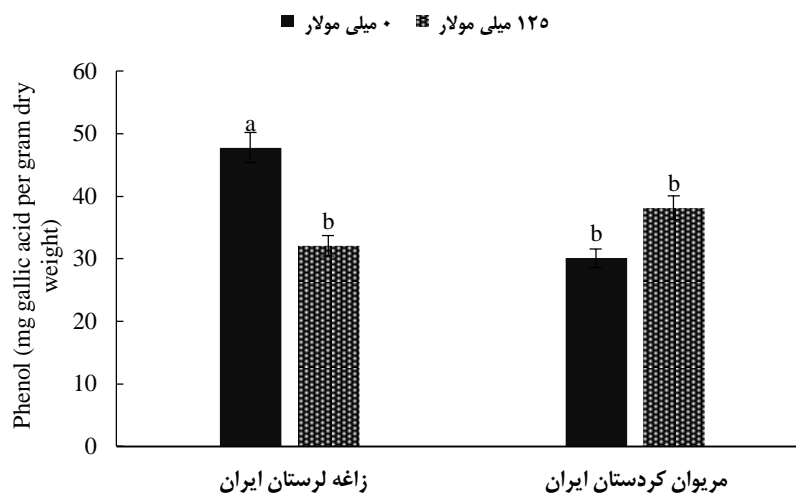
رطوبت نسبی

تحلیل نتایج این تحقیق نشان داد که با افزایش غلظت نمک، رطوبت نسبی کاهش یافته است. بیش‌ترین رطوبت نسبی مربوط به تیمار شاهد (۸۲/۵ درصد) و کم‌ترین آن مربوط به تیمار ۱۲۵ میلی‌مولار (۷۴/۳ درصد) تنش شوری بود. کاهش هشت درصدی رطوبت نسبی تحت شرایط تنش شوری نتیجه‌ای قابل انتظار بود، زیرا این کاهش یک پاسخ عمومی به شرایط تنش اسمزی می‌باشد. رطوبت نسبی به‌عنوان فاکتوری برای تعیین سطح آب گیاه شناخته شده است که منعکس‌کننده فعالیت‌های متابولیکی در بافت‌ها است. کاهش در رطوبت نسبی نشان‌گر یک کاهش تورگر می‌باشد که سبب کاهش آب مورد نیاز برای فرایندهای مورفولوژیکی و فیزیولوژیکی مانند طویل شدن سلولی، باز شدن روزنه‌ها و فرایندهای وابسته به فتوسنتز است (۱۵). کاهش در رطوبت نسبی می‌تواند به‌علت کاهش دسترسی به آب در شرایط تنش باشد، یا اینکه سیستم‌های ریشه‌ای به‌دلیل کاهش سطح جذب، قادر به جبران آب از دست‌رفته توسط تعرق نباشند.

آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان گایاکول پراکسیداز

اثر متقابل ژنوتیپ × شوری بر فعالیت آنزیم گایاکول پراکسیداز در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار بود (جدول ۱). تحت شرایط نرمال میزان آنزیم GPX در ژنوتیپ زاغه لرستان (۳/۵ میکرومول) بیشتر و در ژنوتیپ مریوان کردستان (۱/۵۳ میکرومول) کم بود در حالی که با اعمال تنش شوری میزان این آنزیم در ژنوتیپ زاغه کاهش (۱/۱۲ میکرومول) و در ژنوتیپ مریوان (۴/۱ میکرومول) به شکل قابل توجه‌ای افزایش داشت (شکل ۵).

بهبود محصولات زراعی اظهار داشته است که ریشه‌ها مهم‌ترین نقش را در انقلاب سبز دوم خواهند داشت. Lynch (۴۵) گزارش نمود که فنوتیپ ریشه با جذب بهتر آب و مواد مغذی در ارتباط است. مورفولوژی و فیزیولوژی ریشه به نوع ژنوتیپ و محیط رشدی بستگی دارد (۷۵). سادات جمالی و همکاران (۱۰) در مطالعه خصوصیات ریشه هفت ژنوتیپ گندم در شرایط تنش شوری گزارش کردند که طول ریشه در سطوح مختلف تنش شوری یکسان بود.



شکل ۵- مقایسه میانگین اثر متقابل ژنوتیپ × شوری از نظر فعالیت آنزیم گایاکول پراکسیداز

Figure 5. Comparison of the mean interaction of genotype and salinity in terms of activity of gyaacol peroxidase enzyme

ارقام گندم تحت شرایط نرمال نسبت به تنش شوری هماهنگ با گزارشات قبلی است (۴).

آنزیم پلی فنول اکسیداز

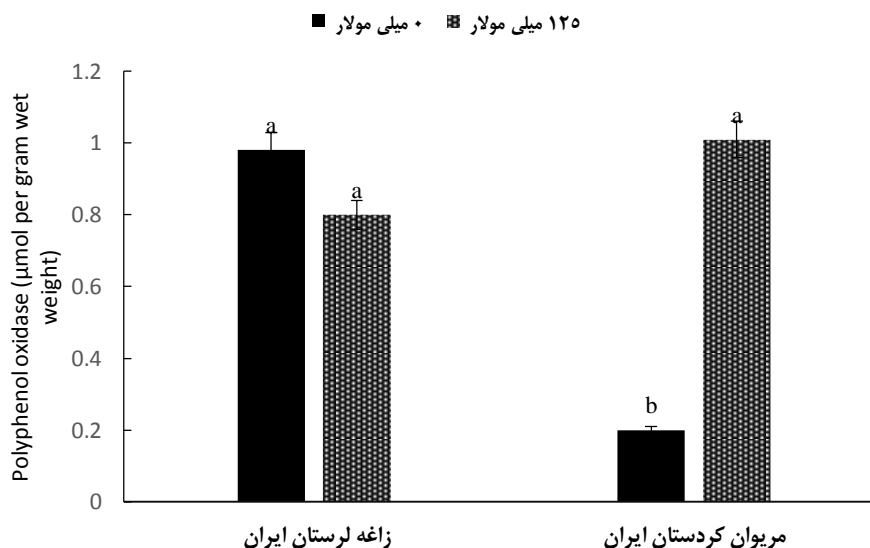
فعالیت آنزیم پلی فنول اکسیداز در سطح احتمال پنج درصد تحت تأثیر شوری و در سطح احتمال یک درصد تحت تأثیر اثر متقابل ژنوتیپ × شوری قرار گرفتند (جدول ۱). نتایج مقایسه میانگین فعالیت آنزیم PPO در سطوح مختلف تیمارها در شکل ۶ ارائه شده است. میزان فعالیت آنزیم مذکور در ژنوتیپ زاغه لرستان اختلاف معنی‌داری در هر دو شرایط نداشت گرچه تحت تنش شوری مقدار اندکی کاهش در فعالیت آن شاهد بودیم. ژنوتیپ مریوان کردستان در شرایط نرمال کم‌ترین فعالیت (۰/۲۰ میکرومول) و در شرایط تنش شوری با اختلافی معنی‌داری بیش‌ترین فعالیت (۰/۰۱ میکرومول) را داشت و تقریباً به سطح ژنوتیپ زاغه رسید.

پلی فنل اکسیداز از اکسیژن مولکولی برای کاتالیز کردن اکسیداسیون ترکیبات فنولی استفاده می‌کند که در آن یک یا دو واکنش اتفاق می‌افتد. PPO هیدروکسیلینگ مونوفنول را انجام می‌دهد که شامل فعالیت‌های هیدروکسیلاز و

تنش‌های محیطی از جمله شوری می‌توانند منجر به تولید رادیکال‌های آزاد و نهایتاً تنش اکسیداتیو در گیاه شوند. تنش اکسیداتیو، فرآیندی است که در طی آن، گونه‌های فعال اکسیژن (ROS) با لیپید، پروتئین، اسید نوکلئیک و آنزیم‌های سلول واکنش داده، مسیر مرگ برنامه‌ریزی شده سلولی را به راه انداخته و در نهایت باعث مرگ سلول می‌شوند. آنزیم‌های حذف‌کننده ROS نظیر سوپراکسید دیسموتاز، کاتالاز، پراکسیداز، آسکورت پراکسیداز و گلوتاتیون پراکسیداز و شبکه‌ای از آنتی‌اکسیدان‌ها مختلف می‌باشد که به ترتیب سیستم‌های دفاعی آنتی‌اکسیدانی آنزیمی و غیرآنزیمی گیاه را تشکیل می‌دهند (۴۱). پراکسیداز از جمله آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانت هستند که در متابولیسم کردن ترکیبات اکسیژن فعال و جلوگیری از خسارت ناشی از تنش‌های اکسیداتیو نقش اساسی بر عهده دارند (۵۵). در میان چهار آنزیم مورد مطالعه، گایاکول پراکسیداز بیش‌ترین فعالیت و به عبارتی دقیق‌تر بیش‌ترین نقش را داشت. معنی‌داری اثر متقابل ژنوتیپ در محیط برای سیستم‌های آنزیمی گندم قبلاً گزارش شده است (۲۸). بالا بودن فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان در برخی از

این آنزیم، تأثیرات آن بر تشکیل ریشه‌های نابجا و سازماندهی و نمو ریشه است. در گیاهان عالی، PPO نقش مهمی در دفاع از بیماری‌ها و حشرات بازی می‌کند. این مکانیسم دفاع گیاه توسط واکنشی توسط اکسیداسیون O-quinones ها فراهم می‌شود (۶۹).

کراتسولاز و اکسیداسیون O-دی‌هیدروکسی فنل‌ها به O-quinones است (۲۵). پلی‌فنل‌اکسیداز در بیشتر گیاهان عالی یافت می‌گردد و وظیفه اصلی آن کاتالیز نوعی کوئینون از فنل‌ها و در مجاورت مولکول اکسیژن است. البته، هم شرایط رشد (مانند بروز شرایط تنش) و هم نوع ژنوتیپ بر فعالیت پلی‌فنل‌اکسیداز اثر می‌گذارد. از جمله نقش‌های اصلی



شکل ۶- مقایسه میانگین اثر متقابل ژنوتیپ × شوری از نظر فعالیت آنزیم پلی فنل اکسیداز

Figure 6. Comparison of the mean interaction of genotype and salinity in terms of activity of polyphenol oxidase enzyme

آمونیاک‌افزایش و فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز به‌طور معنی‌داری کاهش یافت. نصیبی و همکاران (۲۱) نیز گزارش کردند که تنش شوری تقریباً فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی نظیر کاتالاز و گایاکول پراکسیداز را در ریشه و اندام هوایی افزایش و فعالیت آسکوروبات پراکسیداز را کاهش داد.

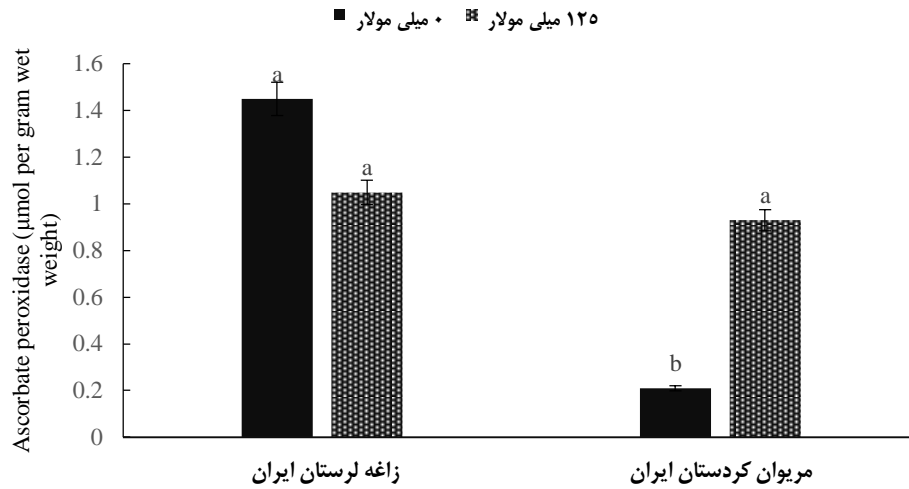
آنزیم آسکوروبات پراکسیداز

نتایج جدول تجزیه واریانس نشان داد که فعالیت آنزیم آسکوروبات پراکسیداز به‌طور معنی‌داری در سطح احتمال یک درصد تحت تأثیر ژنوتیپ و برهم‌کنش ژنوتیپ × شوری قرار گرفت (جدول ۱). مقایسه میانگین‌ها در شکل ۷ نیز بیان می‌دارد که ژنوتیپ زاغه لرستان هم در شرایط نرمال (۱/۴۵ میکرومول) و هم در شرایط تنش شوری (۱/۰۵ میکرومول) فعالیت بالاتری از نظر آنزیم APX داشت. اگر چه ژنوتیپ مریوان کردستان تحت تنش شوری (۰/۹۳ میکرومول) فعالیت آنزیم APX تقریباً برابر با ژنوتیپ زاغه نشان داد اما در شرایط نرمال از کم‌ترین (۰/۲۱ میکرومول) فعالیت این آنزیم برخوردار بود. APX متعلق به خانواده پراکسیدهای دارای هم است که اکسیداسیون H_2O_2 را به‌طور وسیعی انجام می‌دهد. آسکوروبات پراکسیداز یک آنزیم کلیدی است که سطوح ROS را در بخش‌های مختلف سلول تنظیم می‌کند.

آنزیم کاتالاز

فعالیت آنزیم کاتالاز همانند آنزیم PPO تحت تأثیر اثر شوری و اثر متقابل ژنوتیپ × شوری قرار گرفت (جدول ۱). کم‌ترین و بیش‌ترین میزان فعالیت آنزیم CAT به ترتیب با ۰/۱۵ و ۰/۵۵ میکرومول بر گرم وزن تر مربوط به ژنوتیپ مریوان کردستان در شرایط نرمال و تنش شوری بود. فعالیت این آنزیم در ژنوتیپ زاغه لرستان در وضعیتی حدواسط قرار داشت و اختلاف میزان فعالیت آن در شرایط نرمال (۰/۳۸ میکرومول) و تنش شوری (۰/۲۸ میکرومول) از نظر آماری غیرمعنی‌دار بود.

آنزیم کاتالاز دو مولکول H_2O_2 به آب و O_2 تبدیل می‌کند و تمام اشکال یوکاریوتی آن شناخته شده مبتنی بر hem هستند (۷۶). آنزیم کاتالاز با فعالیت کاتالیتیکی خود هیدروژن پراکسید را به آب و اکسیژن تبدیل می‌کند. این واکنش در دو مرحله اتفاق می‌افتد: ابتدا یک مولکول هیدروژن پراکسید، مولکول hem را به انواع اکسی‌فریل‌اکسید کرده و یک رادیکال پورفیرین تولید می‌شود. سپس دومین مولکول هیدروژن پراکسید به‌عنوان احیاء‌کننده عمل کرده و یک مولکول اکسیژن و آب تولید می‌کند (۵۴،۱) در گندم گزارش کردند که تحت شرایط تنش محیطی میزان فعالیت آنزیم‌های آسکوروبات پراکسیداز، پراکسیداز و فنیل آلانین

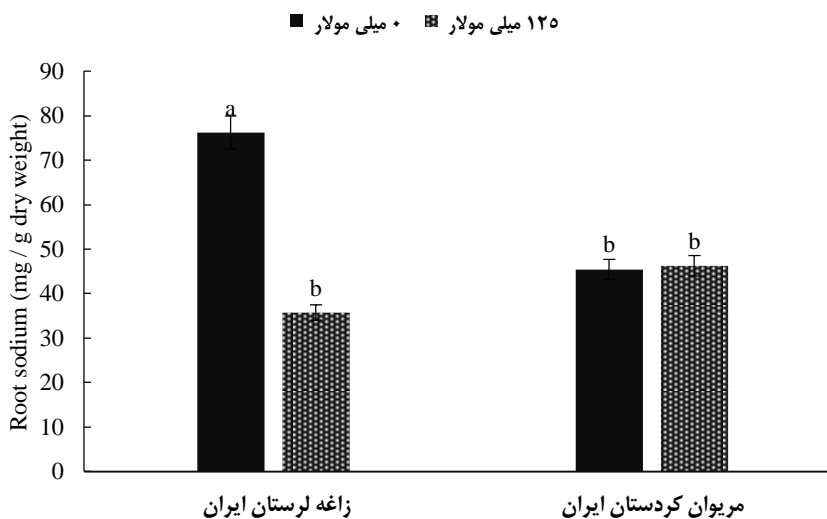


شکل ۷- مقایسه میانگین اثر متقابل ژنوتیپ × شوری از نظر فعالیت آنزیم آسکروبات پراکسیداز
Figure 7. Comparison of the mean interaction of genotype and salinity in terms of activity of the enzyme ascorbate peroxidase

اندازه‌گیری یون‌های سدیم و پتاسیم و نسبت بین آن‌ها می‌تواند به‌عنوان شاخصی از تحمل به تنش شوری مورد استفاده قرار گیرد (۶۸). نتایج نشان داد که اثر متقابل ژنوتیپ × محیط معنی‌داری در سطح احتمال پنج درصد برای محتوای سدیم ریشه و در سطح احتمال یک درصد برای محتوای پتاسیم ریشه و نسبت سدیم به پتاسیم ریشه وجود داشت (جدول ۱). در میان صفات مورد مطالعه، نسبت سدیم به پتاسیم ریشه دارای بالاترین ضریب تغییرات بود. این ضریب یک معیار استاندارد شده بوده و میزان تکرارپذیری ارزش صفات را نشان می‌دهد. میزان قابل قبول ضریب تغییرات بسته به درجه کنترل آزمایش، میزان وراثت‌پذیری صفت مورد بررسی و سایر عوامل متفاوت می‌باشد (۳۵). با وجود بالا بودن ضریب تغییرات برای نسبت سدیم به پتاسیم ریشه، برهم‌کنش ژنوتیپ در شوری برای این صفت معنی‌دار بود. همان‌طور که از شکل ۹ ملاحظه می‌گردد، ژنوتیپ مقاوم زاغه لرستان تحت شرایط تنش شوری میزان یون سدیم کمتری را نسبت به رقم حساس مریوان کردستان جذب کرده است. میزان پایین تجمع سدیم در بافت‌ها نخستین راهکار تحمل به شوری گیاهان است. در سویی دیگر با اعمال تنش شوری، محتوای پتاسیم در رقم زاغه به شکل معنی‌دار و قابل توجهی افزایش داشت، در حالی که این روند برای ژنوتیپ مریوان کاهش بود یعنی با اعمال تنش میزان پتاسیم ریشه کاهش شدیدی پیدا کرد (شکل ۸). علاوه بر موارد فوق شکل ۱۰ بیان می‌دارد که با اعمال تنش شوری، نسبت سدیم به پتاسیم بافت ریشه در رقم زاغه لرستان روندی کاهشی و در رقم مریوان کردستان روندی افزایشی داشت.

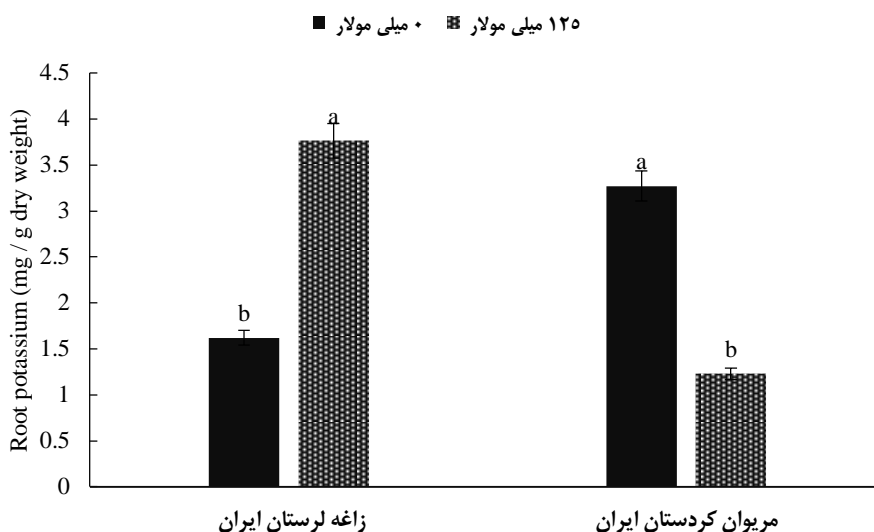
بیان ژن‌های کدگذاری APX به‌واسطه چندین تنش زیستی در گونه‌های گیاهی متفاوت به‌وجود می‌آید. تمام داده‌های جمع‌آوری شده تا کنون به‌طور کامل نشان می‌دهد که ایزوفرم‌های APX نقش مهمی و مستقیم را به‌عنوان عناصر حفاظتی در برابر شرایط محیطی نامناسب بازی می‌کنند. اثرات گوناگون نابودی ژن‌های مختلف APX بر رشد گیاه، فیزیولوژی و متابولیسم آنتی‌اکسیدان نشان می‌دهد که APX همچنین می‌تواند مسیرهای سیگنالینگ بازسازی را درگیر در توسعه گیاهان تنظیم کند. این نتایج بر اهمیت و پیچیدگی تعاملات APX با دیگر آنتی‌اکسیدان‌ها در تنظیم دقیق متابولیسم آنتی‌اکسیدان‌های گیاهی تأکید می‌کند. گزارش شده که آنزیم‌های آسکروبات پراکسیداز و کاتالاز با فعالیت بیشتر، دارای قابلیت بیشتری در حذف انواع گونه‌های فعال اکسیژن می‌باشند (۵۷). فعالیت بالای آسکروبات پراکسیداز نسبت به کاتالاز می‌تواند ناشی از نقش کلیدی این آنزیم در حذف پراکسید هیدروژن باشد که نسبت به کاتالاز میل ترکیبی و حساسیت بیشتری به پراکسید هیدروژن داشته و نقش مهمی در مدیریت گونه‌های فعال اکسیژن در شرایط تنش ایفاء می‌کند (۳۱). در راستای نتایج تحقیق ما، ارزانی و صالحی (۴) گزارش کردند که اثر متقابل ژنوتیپ × شوری بر فعالیت آنزیم‌های آسکروبات پراکسیداز، گلوکاتایون ردوکتاز و سوپراکسیددیسموتاز گندم و تریتیکاله معنی‌دار بود به‌طوری که تنش شوری منجر به افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان شد.

سدیم، پتاسیم و نسبت سدیم/پتاسیم ریشه



شکل ۸- مقایسه میانگین اثر متقابل ژنوتیپ × شوری از نظر میزان پتاسیم ریشه

Figure 8. Comparison of the mean interaction of genotype and salinity in terms of root potassium content

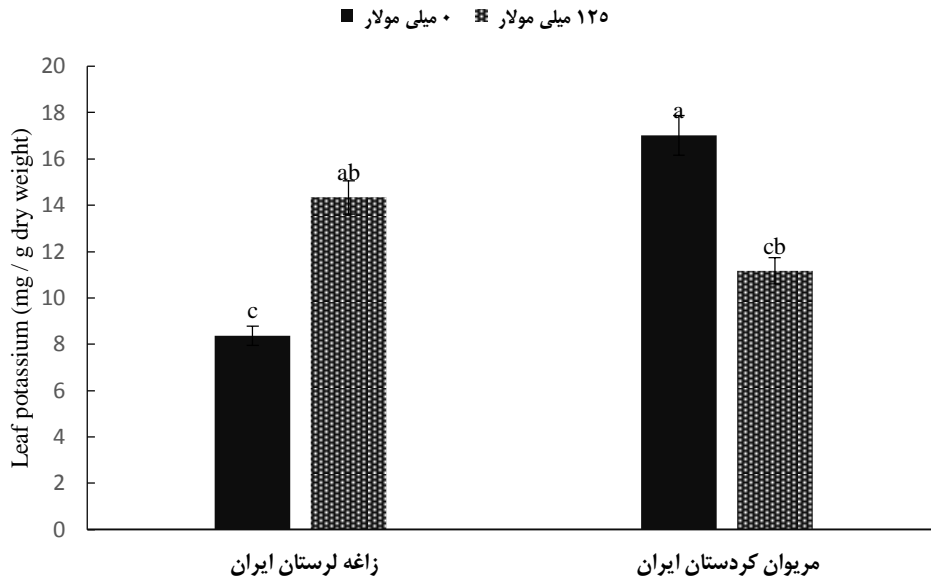


شکل ۹- مقایسه میانگین اثر متقابل ژنوتیپ × شوری از نظر میزان سدیم ریشه

Figure 9. Comparison of the mean interaction of genotype and salinity in terms of root sodium content

ژنوتیپ‌های حساس، میزان سدیم کمتری را جذب و منتقل نموده‌اند و دارای غلظت پتاسیم بالاتری بودند. اطلسی پاک (۶) گزارش نمود که غلظت سدیم ریشه در همه ارقام حساس و مقاوم به شوری گندم یکسان می‌باشد اما ارقام متحمل دارای مقدار بیشتری از نسبت پتاسیم به سدیم اندام هوایی برخوردار بودند. ارزیابی محتوای سدیم و پتاسیم در ارقام مختلف گندم تحت شرایط تنش شوری موضوع چندین تحقیق بوده است (۳۲،۷). در پژوهشی، Long و همکاران (۴۳) با ارزیابی سدیم، پتاسیم و نسبت بین آن‌ها در ریشه و ساقه نشان دادند که این صفات توسط مکان‌های ژنی مختلفی کنترل می‌شوند.

نتایج فوق مورد انتظار بود زیرا وجود سیستم کارآمدتر برای جذب انتخابی پتاسیم در مقابل سدیم با افزایش تحمل به شوری در گیاهان پیوسته است. نتایج تحقیقات مختلف ثابت کرده‌اند که دفع سدیم و تفاوت در جذب عناصر غذایی سدیم و پتاسیم از ریشه‌ها و حبس سدیم در واکوئل از جمله سازوکارهای مهمی است که در بررسی تحمل به شوری محصولات زراعی، از جمله گندم، مطالعه شده است (۱۰). گرچه در شرایط تنش شوری، غلظت یون سدیم افزایش می‌یابد ولی سرعت تجمع آن در ارقام متفاوت می‌باشد. در همین رابطه، Munns و Gilliam (۴۸) گزارش کردند که ژنوتیپ‌های گندم متحمل به تنش شوری نسبت به



شکل ۱۰- مقایسه میانگین اثر متقابل ژنوتیپ × شوری از نظر نسبت سدیم به پتاسیم ریشه

Figure 10. Comparison of the mean effect of genotype and salinity in terms of sodium to potassium ratio

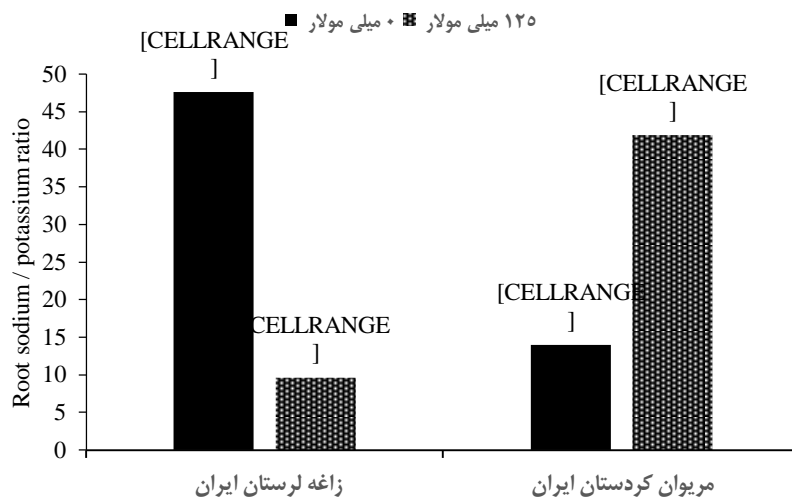
اطلسی پاک (۶) در بررسی تجمع سدیم در برگ‌های ارقام حساس و متحمل به شوری گندم گزارش نمودند که در واکنش به افزایش شوری، سدیم برگ‌ها پس از ۱۴ روز در همه ارقام افزایش یافت اما غلظت آن در رقم حساس بیش از ارقام متحمل بود. برزویی و همکاران (۱۰) افزایش محتوای سدیم در برگ‌ها و کاهش میزان پتاسیم را با افزایش تنش شوری در گندم گزارش کردند که با نتایج ما هماهنگ می‌باشد. در توافق با این نتایج شعبانی‌نژاد و همکاران (۶۵) گزارش کردند که اثر متقابل ژنوتیپ × شوری برای نسبت پتاسیم به سدیم غیرمعنی‌دار می‌باشد. فراهودی (۲۴) در بررسی اثر تنش شوری بر رشد و ویژگی‌های فیزیولوژیک نه رقم گندم در مرحله رشد رویشی نتیجه گرفتند که تنش شوری باعث کاهش غلظت پتاسیم برگ و نسبت پتاسیم به سدیم برگ شد.

اثرات ویژه شوری باعث افزایش جذب یون سدیم و در مقابل کاهش جذب کاتیون‌های ضروری گیاه نظیر پتاسیم و کلسیم در گندم شد. قدرت تجمع یون‌های سدیم و کلر می‌تواند به‌عنوان موفقیت‌آمیزترین صفات برای اصلاح ارقام مقاوم به شوری مورد استفاده قرار گیرند. همچنین از نسبت سدیم به پتاسیم به‌عنوان شاخصی اصلاحی برای بررسی میزان تحمل به شوری استفاده شده است. کاهش میزان جذب یون پتاسیم و افزایش نسبت سدیم به پتاسیم با توجه به نقش اساسی پتاسیم در فعالیت‌های مختلف فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی گیاه مانند باز و بسته شدن روزنه‌ها، فعال کردن آنزیم‌های مختلف، مانع از رشد و نمو طبیعی گیاه می‌شود (۳۸).

سدیم، پتاسیم و نسبت سدیم/پتاسیم برگ

نتایج به‌دست آمده در جدول تجزیه واریانس نشان می‌دهد که بین شرایط نرمال و تنش شوری از نظر میزان سدیم برگ اختلاف آماری معنی‌داری وجود داشت. (جدول ۱) به‌طوری‌که سدیم برگ تحت شرایط تنش شوری بیش از ۱۱ برابر شرایط نرمال بود. از سویی دیگر اثر متقابل ژنوتیپ × شوری در سطح احتمال یک درصد بر محتوای پتاسیم برگ معنی‌دار است. (جدول ۱) معنی‌دار شدن اثر متقابل حاکی از روند متفاوت تغییرات در ژنوتیپ‌های مختلف گندم نسبت به سطح شوری بود. مقایسه میانگین تیمارها نشان می‌دهد که تحت شرایط نرمال ژنوتیپ زاغه لرستان کم‌ترین (۸/۴ میلی‌گرم) میزان پتاسیم برگ را داشت که با اعمال تنش افزایش معنی‌داری در پیش گرفت و به ۱۴/۳ میلی‌گرم رسید. ژنوتیپ مربوان کردستان تحت شرایط نرمال بیش‌ترین (۱۷ میلی‌گرم) پتاسیم برگ را داشت اما بر خلاف رقم زاغه با اعمال تنش میزان پتاسیم کاهش شدیدی نشان داد و به ۱۱/۲ میلی‌گرم رسید. در نهایت نسبت سدیم به پتاسیم برگ به‌طور معنی‌داری در سطح احتمال یک درصد تحت تأثیر تنش شوری قرار گرفت (جدول ۱) جایی‌که این نسبت افزایشی ۱۰ برابری نسبت به شرایط تنش شوری داشت (شکل ۱۱).

میزان سدیم برگ از پارامترهای مهم در ارزیابی تحمل به شوری است، به‌طوری‌که انتقال مقادیر اندک سدیم به اندام هوایی و تحمل غلظت‌های بالای املاح در برگ از طریق محفظه‌بندی سدیم در واکوئل دو مکانیسم مهم تحمل به شوری در گیاهان است. عدم وجود اختلاف معنی‌دار بین دو رقم از نظر میزان سدیم اندام هوایی حکایت از آن داد که هر دو رقم به میزان تقریباً یکسانی سدیم را از ریشه به برگ‌ها انتقال داده‌اند.



شکل ۱۱- مقایسه میانگین اثر متقابل ژنوتیپ × شوری از نظر میزان پتاسیم برگ

Figure 11. Comparison of the average interaction of genotype and salinity in terms of leaf potassium content

نمی‌باشند. این مورد لزوم توجه بیشتر به شاخص سدیم به پتاسیم را در تحقیقات آبی روشن می‌سازد. فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان یعنی گایاکول پراکسیداز، پلی فنول اکسیداز، کاتالاز و آسکوربات پراکسیداز به شدت تحت تأثیر اثر متقابل ژنوتیپ × محیط قرار داشت و نظر به اینکه تحت شرایط تنش شوری میزان فعالیت برخی از آن‌ها در رقم حساس بیشتر از رقم مقاوم بود می‌توان نتیجه گرفت که رقم مقاوم زاغه لرستان از سیستم آنتی‌اکسیدانی غیر آنزیمی و یا سیستم‌های مبتنی بر سایر آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان که در تحقیق حاضر بررسی نشده‌اند، برخوردار بوده است که منجر به مقاومت بیشتر برای این رقم شده است.

به‌طور کلی بر اساس یافته‌های حاصل از پژوهش حاضر می‌توان نتیجه‌گیری کرد که پاسخ‌های فیزیولوژیک و بیوشیمیایی گندم متأثر از شرایط محیطی و ژنوتیپی می‌باشد. بر پایه نتایج تجزیه واریانس، تمام صفات مورد بررسی از لحاظ آماری حداقل در سطح احتمال پنج درصد تحت تأثیر یکی از منابع تغییر قرار گرفتند. رقم مقاوم زاغه از کلروفیل و محتوای پتاسیم برگ و ریشه بیشتری برخوردار بود. در حالی که رقم حساس مربوان کلروفیل و محتوای سدیم و نسبت سدیم به پتاسیم بالایی برای برگ و ریشه داشت. همچنین می‌توان نتیجه گرفت که محتوای پرولین، قندهای محلول و میزان نشت یونی نسبت به محتوای پتاسیم و سدیم و نسبت بین آن‌ها شاخص مناسبی برای ارزیابی تحمل به تنش شوری

منابع

- Alfonso-Prieto, M., X. Biarnes, P. Vidossich and C. Rovira. 2009. The molecular mechanism of the catalase reaction. *Journal of the American Chemical Society*, 131: 11751-11761.
- Alvarez, I., M. Tomaro and M. Benavides. 2003. Changes in polyamines, proline and ethylene in sunflower calluses treated with NaCl. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, 74: 51-59.
- Angelov, G.B. 2003. Isoenzyme variation of esterase and acid phosphatase and genetic affinities among *Dasypyrum villosum* (L.) p. *candargy*, *Elytrigia repens* (L.) *nevski* and *Elymus caninus* (L.) L. *Turkish Journal of Botany*, 27(4): 249-254.
- Arzani, A. and M. Salehi. 2013. Antioxidant activity and oxidative stress due to salinity in triticale and wheat lines in field condition. *Journal of Plant Process and Function*, 1(2): 38-49 (In Persian).
- Asekun, O.T., D.S. Grieron and A.S. Afolayan. 2006. Influence of drying methods on the chemical composition and yield of the essential oil of *Leonotis leonurus*. *Journal of Science Research*, 10, 61-64.
- Atlassi Pak, V. 2018. Evaluation of sodium accumulation in leaves of wheat (*Triticum aestivum* L.) cultivars differing in salt tolerance. *Journal of Plant Productions (Agronomy, Breeding and Horticulture)*, 41(1): 43-56.
- Azadi, A., A. Pazoki, H. Hosseini Siyanaki, M. Zandipour, N. Mirzaabdollah and E. Abbaszade. 2013. Screening the salinity tolerance of the wheat cultivars at germination and seedling stages. *Plant and Ecosystem*, 9(34-1 (supplement)).
- Bates, L.S., R.P. Waldren and I.D. Teare. 1973. Rapid determination of free proline for water stress studies. *Plant and Soil*, 39(1): 205-207.
- Bektas, H., C.E. Hohn and J.G. Waines. 2016. Root and shoot traits of bread wheat (*Triticum aestivum* L.) landraces and cultivars. *Euphytica*, 212(2): 297-311.

10. Borzouei, A., S.S. Jamali and F. Paknejad. 2015. Root characteristics, Na⁺/K⁺ ratio and grain yield of seven wheat genotypes under salinity stress Print. Journal of Greenhouse Culture Science and Technology, 5(20): 165-175.
11. Bradford, M.M. 1976. A rapid and sensitive method for the quantification of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. Analytical Biochemistry, 72: 248-254.
12. Chaparzadeh, N. and L. Zarandi Miandoab. 2011. The effects of salinity on pigments content and growth of two canola (*Brassica napus* L.) cultivars. Plant Biology, 9: 13-26.
13. Chen, Y., J. Palta, P.V. Prasad and K.H. Siddique. 2020. Phenotypic variability in bread wheat root systems at the early vegetative stage. BMC Plant Biology, 20(1): 1-16
14. Chinnusamy, V., A. Jagendorf and J.K. Zhu. 2005. Understanding and improving salt tolerance in plants. Crop Science, 45: 437-448.
15. Cicek, N. and H. Cakirlar. 2002. The effect of salinity on some physiological parameters in two maize cultivars. Bulgarian Journal Plant Physiology, 28(1-2): 66-74
16. Dashti, H., M.R. Naghavi and A. Tajabadipour. 2010. Genetic analysis of salinity tolerance in a bread wheat cross. Journal of Agricultural and Science Technology, 12: 347-356 (In Persian).
17. Dashti, H., A.T.A. Pour, H. Shirani and M. Naghavi. 2011. Evaluation of wheat germplasm in response to salinity stress. Iranian Journal of Field Crop Science, 41(4): 655-664 (In Persian).
18. Demiral, T. and L. Turkan. 2005. Comparative lipid per oxidation antioxidant defense system and proline content in roots of two rice cultivars differing in salt tolerance. Environmental and Experimental Botany, 53: 247-257.
19. Dhindsa, R.S., P. Plumb-Dhindsa and T.A. Thorpe. 1981. Leaf senescence: correlated with increased levels of membrane permeability and lipid peroxidation, and decreased levels of superoxide dismutase and catalase. Journal of Experimental Botany, 32(1): 93-101.
20. Dierig, D.A., C.M. Grieve and M.C. Shannon, 2003. Selection for salt tolerance in lesquerella fendleri (gray) s. wats. Industrial Crops and Products, 17(1): 15-22.
21. Doganlar, Z.B., K. Demir, H. Basak and I. Gul. 2010. Effects of salt stress on pigment and total soluble protein contents of three different tomato cultivars. African Journal of Agricultural Research, 5(15): 2056-2065.
22. Fales, F.W. 1951. The assimilation and degradation of carbohydrates by yeast cells. Journal Biological Chemistry, 193: 113-124.
23. FAO, A. 2000. Extent and causes of salt affected soils in participating countries. Global Network on integrated soil management for sustainable use of saltaffected soils Available at <http://www.fao.org/ag/agl/agll/spush/intro.htm>.
24. Farhoudi, R. 2014. Investigation the salinity tension effect on growth and physiological characteristics of nine wheat cultivars at vegetative growth stage. Crop Physiology Journal, 5(20): 71-86 (In Persian).
25. Flurkey, W.H. and J.K. Inlow. 2008. Proteolytic processing of polyphenol oxidase from plants and fungi. Journal of Inorganic Biochemistry, 102(12): 2160-2170.
26. Gao, X., M. Ohlander, N. Jeppsson, L. Bjork and V. Trajkovski. 2000. Changes in antioxidant effects and their relationship to phytonutrients in fruits of sea buckthorn (*Hippophae rhamnoides* l.) during maturation. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 48(5): 1485-1490.
27. Gewin, V. 2010. An underground revolution: plant breeders are turning their attention to roots to increase yields without causing environmental damage. Virginia gewin unearths some promising subterranean strategies. Nature, 466(7306): 552-554.
28. Ghasemi, A., S. Navabpour, A. Yamchi and S. Hoshmand. 2016. Effect of salinity stress on some morphological and biochemical characteristics of three bread wheat (*Triticum aestivum* L.) genotypes. Journal of Environmental Stresses in Crop Sciences, 8(2): 273-283.
29. Gholami, A.A. 2018. Manipulating the pathway for the synthesis of carotenoids to improve the quality of food products through biotechnology. Journal of Biosafety, 10(4): 1-15 (In Persian).
30. Gholizadeh, A., H. Dehghani, A. Amini and O. Akbarpour. 2018. Investigation of the genetic diversity of Iranian bread wheat germplasm for tolerance to saline stress. Journal of Crop Breeding, 10(26): 173-184 (In Persian).
31. Gill, S.S. and N. Tuteja. 2010. Reactive oxygen species and antioxidant machinery in abiotic stress tolerance in crop plants. Plant Physiology and Biochemistry, 48(12): 909-930.
32. Golkar, P., L. Keshavarz and M. Saffari. 2016. Evaluation of salt stress effect on the agro-physiological traits of bread wheat (*triticum aestivum* l.) and durum wheat (*Triticum turgidum* L.) at the seedling stage. Journal of Crop Production and Processing, 6(20): 41-53 (In Persian).
33. Hamed, K.B., A. Castagna, E. Salem, A. Ranieri and C. Abdelly. 2007. Sea fennel (*Crithmum maritimum* l.) under salinity conditions: a comparison of leaf and root antioxidant responses. Plant Growth Regulation, 53(3): 185-194.
34. Hassibi, P., L. Zandieh, N. Ghaemmaghani, N. Rashidi Rezvan, H. Najafi and F. Ghaemmaghani. 2010. Study of some physiological characteristics of two wheat (*Triticum aestivum* L.) cultivars under NaCl and CaCl₂ salinity stress. Crop Physiology, 2(2): 3-24.

35. Hazegh Jafari, P., S. Aharizad, S.A. Mohammadi, F. Noormand Moayyed and P. Behrooz. 2014. Grouping of alfalfa genotypes based on different characteristics using multivariate statistical analysis. *Journal of Crop Breeding*, 6(14): 107-121 (In Persian).
36. William, H.R., E.S. Raymond and W.H. Colin. 1988. *The structure of metals and alloys*. The Institute of Metals, 1 Carlton House Terrace, London SW 1 Y 5 DB, UK.
37. Jaleel, C.A., B. Sankar, R. Sridharan and R. Panneerselvam. 2013. Soil salinity alters growth, chlorophyll content and secondary metabolite accumulation in *catharanthus roseus*. *Turkish Journal of Biology*, 32: 79-83.
38. Jones, R.A. and C.O. Qualset. 1984. Breeding crops for environmental stress tolerance. In G. B. Collins and J.G. Petolino (Eds.), *Applications of Genetic Engineering to Crop Improvement* (pp: 305-340). Dordrecht: Springer Netherlands.
39. Kar, M. and D. Mishra. 1976. Catalase, peroxidase, polyphenol oxidase activities during rice senescence. *Plant Physiology*, 57: 315-319.
40. Kucuk, M., S. Kolaylı, S. Karaoglu, E. Ulusoy, C. Baltacı and F. Candan. 2007. Biological activities and chemical composition of three honeys of different types from Anatolia. *Food Chemistry*, 100(2): 526-534.
41. Kuk, Y.I., J.S. Shin, N.R. Burgos, T.E. Hwang, O. Han, B.H. Cho and J.O. Guh. 2003. Antioxidative enzymes offer protection from chilling damage in rice plants. *Crop Science*, 43(6): 2109-2117.
42. Lichtenthaler, H. 1987. Chlorophylls and carotenoids: pigments of photosynthetic biomembranes. *Methods Enzymol*, 148: 350-382.
43. Long, N.V., O. Dolstra, M. Malosetti, B. Kilian, A. Graner, R.G. Visser and C.G. Van der Linden. 2013. Association mapping of salt tolerance in barley (*Hordeum vulgare* L.). *Theoretical and Applied Genetics*, 126(9): 2335-2351.
44. Loss, SP. and K. Siddique. 1994. Morphological and physiological traits associated with wheat yield increases in mediterranean environments. in: *Advances in Agronomy*, vol 52. Elsevier, pp: 229-276.
45. Lynch, J.P. 2019. Root phenotypes for improved nutrient capture: an underexploited opportunity for global agriculture. *New Phytologist*, 223(2): 548-564.
46. Maosong, L., W. Chunyan and S. Jiqing. 2008. Evolutional trends of leaf stomatal and photosynthetic characteristics in wheat evolutions. *Acta Ecologica Sinica*, 28: 5385-5391.
47. Mazinani, M.A., M. Moghaddam, S.S. Alavikia, M.R. Shakiba, A.A. Mehrabi and A.R. Pour Aboughadareh. 2012. Study of genetic diversity in *t. boeoticum* populations under normal and water deficit stress conditions. *Cereal Research*, 2-1, 17-30 (In Persian).
48. Munns, R. and M. Gilliam. 2015. Salinity tolerance of crops. *What Is The Cost?* *New Phytologist*, 208(3): 668-673.
49. Munns, R. and R.A. James. 2003. Screening methods for salinity tolerance: a case study with tetraploid wheat. *Plant and Soil*, 253(1): 201-218.
50. Nakano, Y. and A. Kozi. 1981. Hydrogen peroxide is scavenged by ascorbate-specific peroxidase in spinach chloroplasts. *Plant and Cell Physiology* 22-5: 867-880.
51. Nasibi, F., K. Manochehri, G. Mohamadinejad and R. Zangane. 2016. Effects of amino acid arginine on some oxidative parameters and increase of salinity tolerance in wheat plant. *Journal of Plant Research*, 28(5): 11-19.
52. Naz, A.A., M. Arifuzzaman, S. Muzammil, K. Pillen and J. Leon. 2014. Wild barley introgression lines revealed novel qtl alleles for root and related shoot traits in the cultivated barley (*Hordeum vulgare* L.). *BMC Genetics*, 15(1): 107.
53. Nezhad Alimoradi, H., K. Manouchehr Kalantari and S.M.J. Arvin. 2009. Study of effect of ultraviolet radiation on some biochemical parameters in two varieties of wheat (*Triticum aestivum* L.) under salinity stress. *Iranian Journal of Biology*, 21(5): 796-805 (In Persian).
54. Niazkhani, S.M., B. Abdollahi Mandoulakani, M. Jafari and M. Rasouli-Sadaghiani. 2019. Effect of soil zn deficiency on antioxidant enzymes activity and biochemical parameters in bread wheat. *Crop Physiology Journal*, 11(41): 5-27 (In Persian).
55. Nikitaki, Z., C.E. Hellweg, A.G. Georgakilas and J.L. Ravanat. 2015. Stress induced DNA damage biomarkers: applications and limitations. *Frontiers in Chemistry*, 3: 1-15.
56. Niu, X, M.L. Narasimhan, R.A. Salzman, R.A. Bressan and P.M. Hasegawa. 1993. NaCl regulation of plasma membrane H⁺-Atpase gene expression in a glycophyte and a halophyte. *Plant Physiology*, 103 (3): 713-718.
57. Pandey, N., B. Gupta and G.C. Pathak. 2012. Antioxidant responses of pea genotypes to zinc deficiency. *Russian Journal of Plant Physiology*, 59(2): 198-205.
58. Plewa, M.J. and D.W. Elizabeth. 1993. Activation of promutagens by green plants. *Annual Review of Genetics*, 27(1): 93-113.
59. Qasim, M., M. Ashraf, M.Y. Ashraf, S.U. Rehman and E.S. Rha. 2003. Salt induced changes in two canola cultivars differing in salt tolerance. *Biologia Plantarum*, 46(4): 629-632.
60. Rahimi Tashi, T. and V. Niknam. 2015. Evaluation of salicylic acid pretreatment and salinity effect on some physiological and biochemical parameters in (*Triticum aestivum* L.) *Journal of Plant Research*. *Iranian Journal of Biology*, 28(2): 297-306 (In Persian).

61. Shiferaw, B., M. Smale, H.J. Braun, E. Duveiller, M. Reynolds and G. Muricho. 2013. Crops that feed the world 10. Past successes and future challenges to the role played by wheat in global food security. *Food Security*, 5(3): 291-317.
62. Rezvani Moghaddam, P. and A. Koocheki. 2001. Research history on salt affected lands of Iran: present and future prospects Halophytic ecosystem International symposium on prospects of saline agriculture in the GCC Countries. Paper Presented at the Dubai, UAE.
63. Rosello, M., C. Royo, M. Sanchez-Garcia and J.M. Soriano. 2019. Genetic dissection of the seminal root system architecture in mediterranean durum wheat landraces by genome wide association study. *Agronomy*, 9(7): 364.
64. Sahi, C., A. Singh, E. Blumwald and A. Grover. 2006. Beyond osmolytes and transporters: novel plant salt-stress tolerance-related genes from transcriptional profiling data. *Physiologia Plantarum*, 127(1): 1-9.
65. Shabani Nezhad, S., Z. Khodarahmpour and M. Soltani Howyzeh. 2018. Grouping of wheat (*Triticum aestivum* L.) varieties on the morpho-physiologic characteristics under salinity stress condition. *Iranian Journal of Seed Sciences and Research*, 4(4): 59-71.
66. Shirazi, M.U., M.Y. Ashraf, M.A. Khan and M.H. Nagvi. 2005. Potassium induced salinity tolerance in wheat. *International Journal of Environment Science Technology*, 2(3): 233-236.
67. Sinhaa, P.G., R. Kapoora, D.C. Upretyb and A.K. Bhatnagara. 2009. Impact of elevated co2 concentration on ultrastructure of pericarp and composition of grain in three triticum species of different ploidy levels. *Environmental and Experimental Botany*, 66(3): 451-456.
68. Tester, M. and R. Davenport. 2003. Na⁺ tolerance and Na⁺ transport in higher plants. *Annals of Botany*, 91(5): 503-527.
69. Thipyapong, P., M.J. Stout and J. Attajarusit. 2007. Functional analysis of polyphenol oxidases by antisense/sense technology. *Molecules*, 12(8): 1569-1595.
70. Trull, M, M. Guiltinan, J. Lynch and J. Deikman. 1997. The responses of wild-type and ABA mutant arabidopsis thaliana plants to phosphorus starvation. *Plant, Cell and Environment*, 20(1): 85-92.
71. Tuberosa, R. 2011. Phenotyping for drought tolerance of crop in the genomics era: key concepts, issues and approaches. University of bolongna, Italy. *Frontiers in Physiology Journal*, 3: 1-26.
72. Turkan, I., M. Bor, F. Ozdemir and H. Koca, 2005. Differential responses of lipid peroxidation and antioxidants in the leaves of drought-tolerant p. acutifolia gray and drought-sensitive p. *vulgaris* l. subjected to polyethylene glycol mediated water stress. *Plant Science*, 168: 223-231.
73. Velikova, V., I. Yordanov and A. Edreva. 2000. Oxidative stress and some antioxidant systems in acid rain-treated bean plants: protective role of exogenous polyamines. *Plant Science*, 151(1): 59-66.
74. Wang, W., B. Vinocur and A. Altman. 2003. Plant responses to drought, salinity and extreme temperatures: towards genetic engineering for stress tolerance. *Planta*, 218(1): 1-14.
75. Wasaya, A., X. Zhang, Q. Fang and Z. Yan. 2018. Root phenotyping for drought tolerance: a review. *Agronomy*, 8(11): 241.
76. Zamocky, M., P.G. Furtmuller and C. Obinger. 2008. Evolution of catalases from bacteria to humans. *Antioxidants and Redox Signaling*, 10: 1527-1547.

Investigation of some Biochemical Traits of Tolerant and Sensitive Wheat Cultivars (*Triticum Bioticum*) under Salinity Stress

Fatemeh Beyzavi¹, Amin Baghzadeh², Saeid Mirzaei³, Mhmoud Maleki⁴ and Hossein Mozafari⁵

1- M.Sc. Student, Kerman Graduate University of Technology, (Corresponding author: fbeyzavi8@gmail.com)

2- Assistant Professor, Kerman Graduate University of Technology

3- Assistant Professor, Kerman Graduate University of Technology

4- Assistant Professor, Kerman Graduate University of Technology

5- Assistant Professor, Kerman Graduate University of Technology

Received: 12 August 2020

Accepted: 16 January 2021

Abstract

Salinity is one of the most important abiotic environmental stresses and is one of the most important factors in reducing the growth and yield of crops including wheat. Wheat is one of the most important crops in Iran and Wheat peloid levels are an important source of excellent genes, and it is highly desirable to study these species for use in breeding activities. Diploid wheat has 27 different species, among them *T. boeoticum* is the most widespread type of wild wheat being distributed in the cold semi-western regions of the country. This study was conducted in 2009 at Graduate University of Advanced Technology on two different genotypes of *T. boeoticum* wheat, which belongs to Kurdistan and Lorestan of Iran. The seeds of these wheat were cultured in the winter of 2018 as a factorial experiment in a completely randomized design with 3 replications and statistically analyzed at two levels of salinity stress of 0 and 125 mM. The results of analysis of variance of traits including photosynthetic pigments, soluble sugars, proteins, phenols, proline, ionic leakage, relative humidity, hydrogen peroxide, root length, some antioxidant enzymes and measurement of sodium and potassium showed that There is a significant difference between the genotype levels and salinity stress levels as well as the interactions between the two treatments in terms of the studied traits.

Keywords: Biochemical traits, Salinity stress, *Triticum boeoticum*