



## گروه‌بندی ارقام مختلف گندم از نظر تحمل شوری بر اساس برخی شاخص‌های بیوشیمیایی و فیزیولوژیک

مجید شکرپور<sup>۱</sup> و عزت‌اله اسفندیاری<sup>۲</sup>

۱- استادیار، دانشگاه تهران، (نویسنده مسئول: Shokrpour@ut.ac.ir)

۲- استادیار، دانشگاه مراغه

تاریخ دریافت: ۹۱/۸/۶ تاریخ پذیرش: ۹۲/۲/۱۷

### چکیده

این مطالعه به منظور مقایسه و گروه‌بندی ۵۲ رقم گندم از نظر فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان طراحی و اجرا شد. بررسی ارقام در شرایط آزمایشگاهی در آزمایشگاه فیزیولوژی گیاهی دانشگاه مراغه در سال ۱۳۹۱ انجام شد. گیاهچه‌های پرورش یافته به روش هواکشت، پس از رسیدن به مرحله ۴ تا ۵ برگ، به مدت ۱۰ روز در تنش شوری ۲۰۰ میلی‌مولار قرار گرفتند. بعد از سپری شدن زمان مذکور میزان فعالیت آنزیم‌های کاتالاز، گلوکاتایون پراکسیداز، آسکوربات پراکسیداز، انواع سوپراکسید دیسموتاز، میزان مالون دی‌آلدئید، پراکسید هیدروژن، سدیم، پتاسیم و کلر اندازه‌گیری شد. ژنوتیپ‌ها با استفاده از تجزیه خوشه‌ای در سه گروه مجزا گروه‌بندی شدند. ارقامی مانند کرخه، آرتا و البرز در یک گروه متمایز دسته‌بندی شدند که دارای کمترین میزان پارامترهای کاتالاز، پراکسید هیدروژن و مالون دی‌آلدئید و مقادیر قابل توجه آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان بودند. به طور کلی اگرچه تجمع عناصر سدیم و کلر در شرایط تنش شوری در این ارقام بالاست اما به دلیل افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان شدت آسیب به بیومولکول‌ها کاهش یافته و از بروز تنش اکسیداتیو ممانعت شده است. همچنین به نظر می‌رسد توانایی سمیت‌زدایی عناصر سدیم و کلر در سلول‌های برگ از ویژگی‌های مهم آنها باشد. به طور کلی، با توجه به ویژگی‌های مختلف تحمل شوری در ارقام مورد مطالعه، می‌توان آنها را در برنامه‌های اصلاحی مورد استفاده قرار داد.

واژه‌های کلیدی: آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان، تجزیه خوشه‌ای، شوری، مکانیسم‌های تحمل و گندم

### مقدمه

بدست می‌آید (۸). از طرفی جمعیت کره زمین پیوسته در حال افزایش است. پیش‌بینی می‌شود جمعیت جهان تا سال ۲۰۲۵ میلادی به ۸/۵ میلیارد نفر برسد که ضرورت توجه به افزایش تولید محصولات کشاورزی بویژه گندم را نشان می‌دهد. در راستای رسیدن به این

گندم یکی از مهمترین محصولات کشاورزی است که نقش بسیار مهمی در تغذیه جامعه بشری دارد. بطوریکه در کشورهای در حال توسعه نظیر ایران نزدیک به نیمی از انرژی روزانه مردم از مصرف مستقیم گندم

نوکلیک می‌گردد (۲۴،۱۹،۲). آسیب به بیومولکول‌های یاد شده منجر به بروز اختلالات متابولیسمی شده که می‌تواند مرگ سلول را در پی داشته باشد (۱۷). در همین رابطه محققان بسیاری گزارش کرده‌اند که گیاهان با افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان در شرایط شوری میزان انواع اکسیژن فعال را کنترل نموده و تحمل به شوری را افزایش می‌دهند (۳۰،۲۲،۱۸،۱۷،۱۵،۱۲،۴). آنها معتقدند که فعالیت بالای آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان سبب کاهش شاخص‌های تنش اکسیداتیو، میزان پراکسیداسیون لیپیدی و پراکسید هیدروژن، در سلول‌های برگ در شرایط شوری می‌شوند.

سلول‌های گیاهی جهت مقابله با اثرات مخرب انواع اکسیژن فعال از یکسری مکانیسم‌های تحمل نظیر چرخه مهلر (۳)، چرخه گلوتاتیون-آسکوربات (۱۳) و چرخه گزانتوفیل بهره می‌برند. اجرای چرخه‌های یاد شده با جذب انواع اکسیژن فعال و یا ممانعت از تولید آنها به پایداری سلول و پیشگیری از بروز تنش اکسیداتیو کمک بسیاری می‌نمایند. چرخه‌های یاد شده از همکاری آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان و آنتی‌اکسیدان‌ها تشکیل شده‌اند. سوپراکسید دیسموتازها، کاتالاز، آسکوربات پراکسیداز، گلوتاتیون پراکسیداز، دهیدروآسکوربات پراکسیداز، ونودهیدروآسکوربات پراکسیداز و گلوتاتیون ردوکتاز از جمله مهمترین آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان (۱۹،۱۸،۲) و آسکوربات، گلوتاتیون، توکوفرول، کاروتنوئیدها، فلاونوئیدها و آنتوسیانین‌ها مهم‌ترین

هدف مهم تنش‌های محیطی از جمله شوری عامل محدودکننده افزایش تولید محسوب شده و تهدیدی برای امنیت غذایی انسان به‌شمار می‌آید. شوری از مهمترین تنش‌های محیطی است که در بیش از ۸۰۰ میلیون هکتار از اراضی موجود در دنیا پراکنش یافته‌است. این میزان ۶٪ کل اراضی جهان را دربر می‌گیرد (۲۸). تولید محصولات کشاورزی در ایران عمدتاً در اراضی فاریاب صورت می‌گیرد که میزان آن در حدود ۸/۵ میلیون هکتار است که بیش از ۵۰٪ این اراضی تحت تاثیر انواع اثرات تنش شوری قرار دارند. بعلاوه میزان اراضی شور در اثر فعالیت‌های انسانی و استفاده از آب‌های شور همواره در حال افزایش است (۲۱).

مقادیر بالای کلرید سدیم عامل اصلی شوری خاک در اکثر مناطق می‌باشد (۳۸،۳۶). وجود بیش از حد این ترکیب در خاک سبب بروز تنش‌های یونی و اسمزی در گیاهان می‌گردد (۲۸). تنش یونی حاصل از شوری جذب عناصر ضروری مورد نیاز گیاه نظیر پتاسیم، کلسیم و منیزیم را کاهش می‌دهد (۲۹،۲۳). تنش اسمزی دیگر تنش حاصل از شوری است که سبب کاهش جذب آب و تبادلات گازی در گیاهان می‌شود (۲۸). تنش اسمزی و یونی حاصل از شوری سبب وقوع تنش اکسیداتیو در سلول‌های گیاهی خواهد شد که ناشی از افزایش تولید انواع اکسیژن فعال در طی اجرای فرآیندهای حیاتی سلول است. انواع اکسیژن فعال از میل ترکیبی بسیار بالایی برخوردار بوده و سبب آسیب به ساختار پروتئین‌ها، لیپیدها و اسیدهای

پژوهش به منظور بررسی واکنش ارقام گندم، عمدتاً ارقام ایرانی، به تنش شوری طراحی و برخی از معیارهای بیوشیمیایی دخیل در تنش شوری نظیر فعالیت برخی از آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان و معیارهای فیزیولوژیک نظیر میزان عناصر سدیم، کلر و پتاسیم مورد سنجش قرار گرفت و ارقام مورد بررسی با استفاده از تجزیه خوشه‌ای و تجزیه به عامل‌ها طبقه‌بندی شدند.

### مواد و روش‌ها

در این پژوهش بذور یکنواخت ۵۲ رقم گندم، شامل ۸ رقم خارجی و ۴۴ رقم ایرانی، که به صورت تصادفی از میان ارقام موجود در دانشکده کشاورزی دانشگاه مراغه انتخاب شده بودند به مدت ۲۰ دقیقه با محلول ۰/۱ درصد سدیم دودسیل سولفات (SDS) ضدعفونی شد. پس از سپری شدن مدت زمان مذکور، بذور چندین مرتبه با آب مقطر شستشو گردیدند. بذور ضدعفونی شده در دمای  $1 \pm 25$  درجه سانتی‌گراد و رطوبت نسبی  $2 \pm 60\%$  در ژرminatور جوانه‌دار شده و سپس به محیط کشت آبروپونیک منتقل شدند. برای تغذیه گیاهچه‌های گندم از محلول غذایی متشکل از عناصر پرمصرف و کم مصرف (۱۸،۱۵) استفاده شد. در طول دوره رشد گیاهچه‌ها دمای محیط  $2 \pm 25$  درجه سانتی‌گراد، طول دوره روشنایی ۱۶ ساعت و شدت نور ۲۵۰۰ لوکس بود. بعد از رسیدن گیاهچه‌ها به مرحله ۵-۴ برگی، تیمار شوری با اضافه نمودن کلرید سدیم ۲۰۰ میلی‌مولار (معادل ۱۸ دسی زیمنس بر سانتیمتر) به محلول غذایی اعمال

آنتی‌اکسیدان‌ها در سلول‌های گیاهی به‌شمار می‌آیند (۲،۲۴،۲۵). افزایش تحمل تنش شوری در پی افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان نظیر سوپراکسید دیسموتاز، کاتالاز و پراکسیدازها در گیاهان مختلف گزارش شده‌است (۴،۱۲،۲۲،۳۰). آنزیم آسکوربات پراکسیداز در هر چرخه‌های مه‌لر (۳) و گلوکاتایون-آسکوربات (۱۳) نقش کلیدی داشته و پراکسید هیدروژن را به آب تبدیل می‌نماید (۲۶،۲۷). با فعالیت این آنزیم به همراه گلوکاتایون پراکسیداز و کاتالاز، پراکسید هیدروژن جذب و از تجمع آن پیشگیری می‌شود. پراکسید هیدروژن ماده‌ای سمی بوده و در پی تجمع آن، کاهش فعالیت آنزیم‌های بی‌فسفاتاز و ریبولوز مونوفسفات کیناز درگیر در چرخه کالوین اتفاق می‌افتد (۳). کاهش یا توقف فعالیت انواع آنزیم‌های سوپراکسید دیسموتاز تعادل بین فعالیت آنزیم تولیدکننده پراکسید هیدروژن، سوپراکسید دیسموتاز، و آنزیم جمع‌آوری‌کننده پراکسید هیدروژن را برهم می‌زند. عدم وجود ویژگی‌های فوق در ارقام گندم سبب کاهش توان تحمل سلول و حساسیت آنها به تنش شوری می‌گردد (۴،۱۲،۱۷،۲۲،۳۰). اعتقاد عمومی براین است که افزایش فعالیت آنزیم‌های جذب‌کننده انواع اکسیژن فعال مورد اشاره از متداول‌ترین راه‌های تحمل شوری است.

اگرچه مطالعات زیادی در خصوص الگوی رفتاری ارقام گندم به تنش شوری صورت گرفته‌است، اما در زمینه تحمل شوری از بعد فیزیولوژیک و بیوشیمیایی مطالعه چندانی با تعداد ارقام زیاد انجام نشده‌است. از این‌رو این

گروه‌های حاصل از تجزیه خوشه‌ای صورت گرفت. تعیین خصوصیات هر گروه از نظر صفات مورد بررسی از طریق محاسبه انحراف از میانگین کل صفت برای هر یک از گروه‌ها صورت گرفت. همچنین برای بررسی روابط بین متغیرها و تعیین اثر هر یک از پارامترها در گروه‌بندی ژنوتیپ‌ها، تجزیه به عامل‌های اصلی به کار برده شد. به منظور تشکیل مناسبتر ساختار عامل‌ها، ضرایب عاملی به روش وریماکس چرخش یافتند. تجزیه‌های مذکور با استفاده از نرم‌افزار SPSS ویرایش ۱۹ صورت گرفت.

### نتایج و بحث

نتایج تجزیه خوشه‌ای نمایانگر تنوع زیاد بین گروه‌ها بود. در دندروگرام حاصل، ارقام زاگرس، مرودشت، کرج ۳، سوریه ۳۷۱ و هیرمند در گروه اول قرار گرفتند (شکل ۱). ارقام این گروه دارای بیشترین فاصله از میانگین کل از نظر پارامترهای آسکورات پراکسیداز، گلوکاتایون پراکسیداز، سوپراکسید دیسموتاز کل و انواع Cu/Zn، Fe و Mn سوپراکسید دیسموتاز بودند. در گروه دوم ارقام شعله، چمران، گلستان، آرتا، مصر ۴۴۹، سرخ تخم، کرخه، مصر ۵۵۷، بیات، البرز، نیک‌نژاد و کرج ۱ قرار گرفتند، این ارقام، برترین گروه از نظر میزان سدیم و کلر بودند و دارای کمترین میزان پراکسید هیدروژن و مالون دی‌آلدئید بودند. ۳۵ رقم باقیمانده نیز در یک گروه متمایز طبقه‌بندی شدند، ارقام این گروه دارای بیشترین میزان پراکسید هیدروژن و مالون

شد و گیاهچه‌های گندم به مدت ۱۰ روز در شرایط یاد شده رشد یافتند. بعد از سپری شدن این زمان از برگ‌های جوان و کاملاً بالغ نمونه برگ‌های تهیه گردید و بلافاصله در نیتروژن مایع غوطه‌ور شدند. نمونه‌ها تا زمان اندازه‌گیری پارامترهای مورد ارزیابی در دمای ۲۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند.

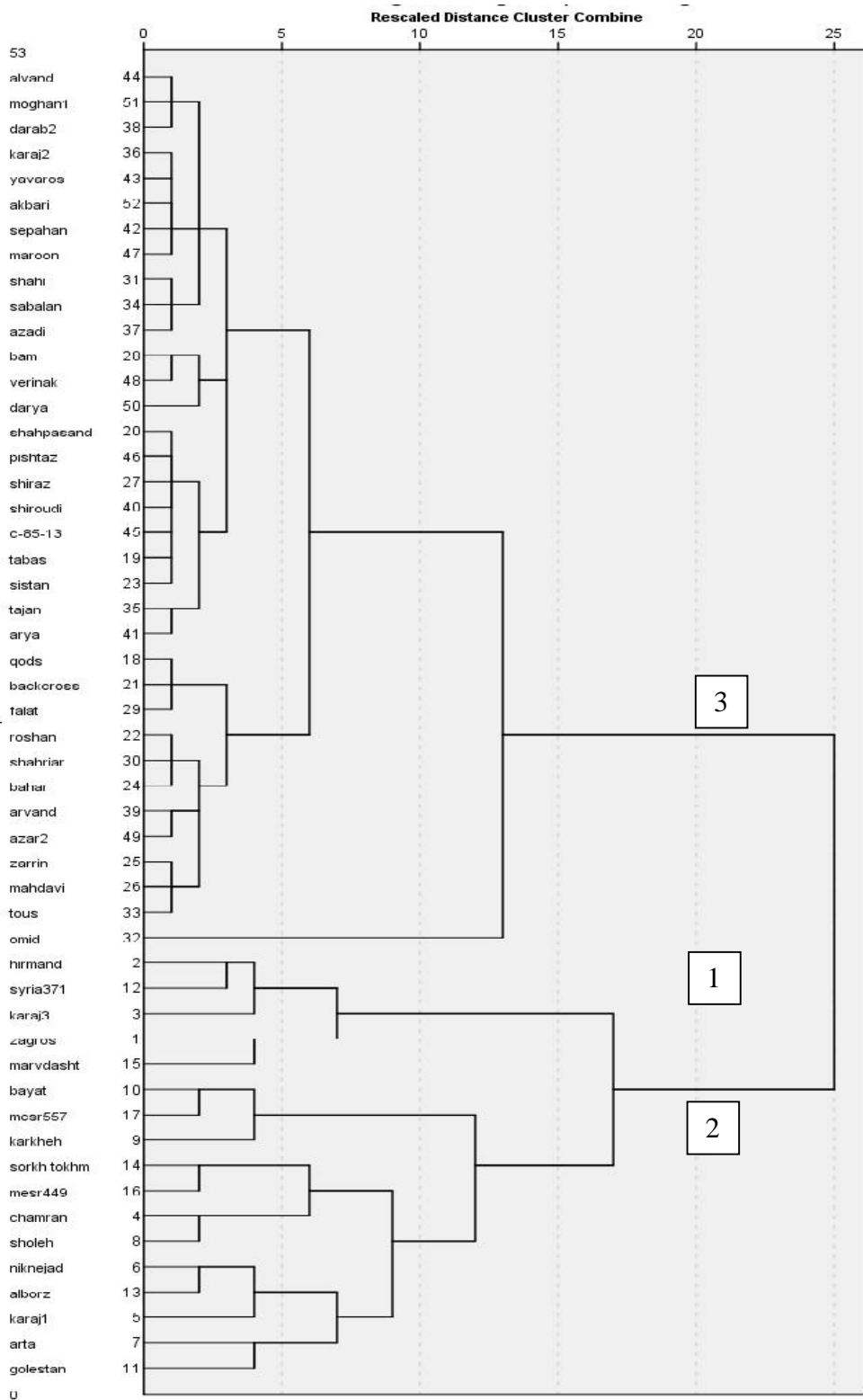
استخراج آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان براساس روش ارایه شده در منبع (۱۹) صورت گرفت. فعالیت آنزیم‌های Cu/Zn سوپراکسید دیسموتاز، Fe سوپراکسید دیسموتاز، سوپراکسید دیسموتاز، کاتالاز (CAT)، گلوکاتایون پراکسیداز (GPX) و آسکورات پراکسیداز (APX) به ترتیب بر اساس روش‌های ارائه شده در منابع (۳۷، ۳۲، ۵) اندازه‌گیری شد. اندازه‌گیری میزان مالون دی‌آلدئید (MDA) و پراکسید هیدروژن ( $H_2O_2$ ) به ترتیب بر اساس روش مورد اشاره در منابع (۳۴، ۳۳، ۷) ارزیابی شد. میزان عناصر سدیم، پتاسیم و کلر بر اساس روش مورد اشاره در منبع ۹ سنجش و اندازه‌گیری شد.

به منظور گروه‌بندی ژنوتیپ‌های گندم مورد مطالعه از نظر پارامترهای اندازه‌گیری شده، از تجزیه خوشه‌ای به روش دورترین همسایه‌ها با استفاده از معیار فاصله توان دوم اقلیدسی و بر اساس میانگین استاندارد شده ارقام برای کلیه صفات استفاده شد. برای تعیین تعداد مطلوب گروه‌ها و به منظور مقایسه میانگین گروه‌ها از نظر صفات اندازه‌گیری شده، تجزیه واریانس چند متغیره بر پایه تجزیه واریانس یکطرفه نامتعادل برای

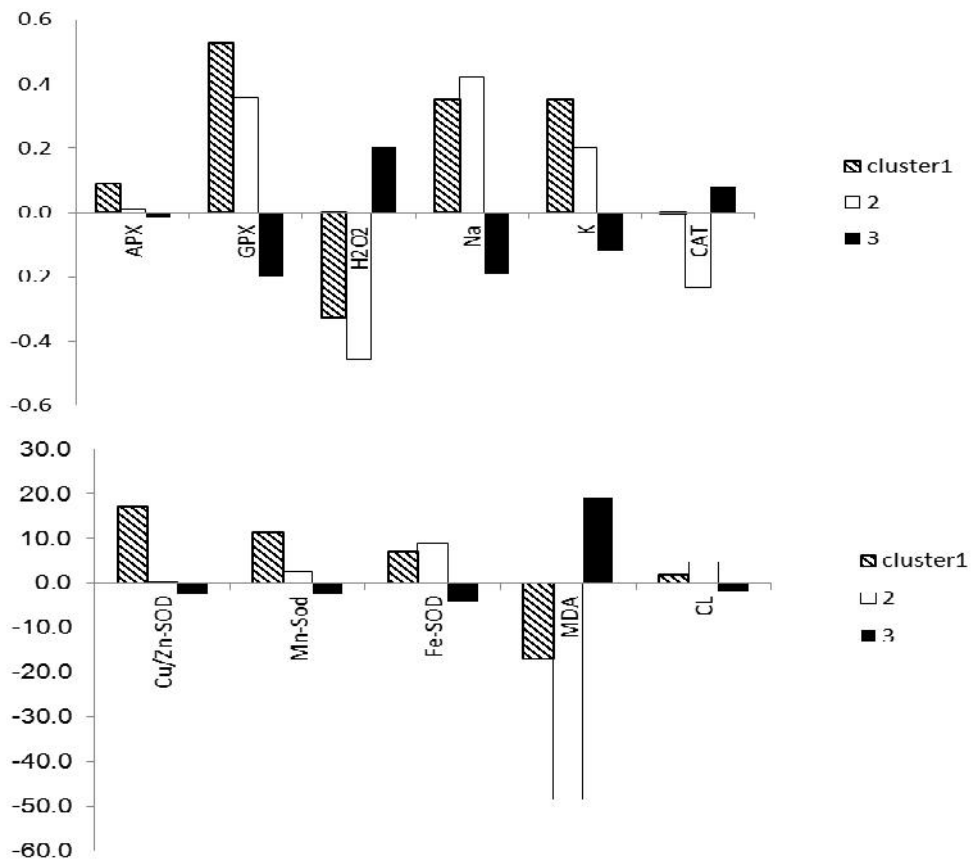
دی‌آلدئید و کمترین میانگین از نظر سایر پارامترهای مورد مطالعه بودند.

در تجزیه به عامل‌ها بر اساس میانگین ده پارامتر اندازه‌گیری شده در ۵۲ ژنوتیپ گندم، دو عامل اول با مقادیر ویژه بزرگتر از یک حدود ۶۳ درصد تغییرات کل را توجیه کردند (جدول ۱)، عامل‌های اول و دوم به ترتیب ۴۸/۷ و ۱۳/۷ درصد از تنوع کل را تبیین کردند. با توجه به این عامل‌ها ساختار خاصی در صفات مورد مطالعه مشاهده شد. عامل اول با بزرگترین ضرایب عاملی مثبت برای گلوکاتینون پراکسیداز، آسکوربات پراکسیداز، Mn سوپراکسید دیسموتاز و Cu/Zn سوپر اکسیددیسموتاز و عنصر پتاسیم، ژنوتیپ‌های با مقادیر بالا برای این پارامترها را متمایز کرد. در عامل دوم، مالون دی‌آلدئید و پراکسید هیدروژن دارای ضرایب عاملی منفی و عناصر سدیم و کلر به همراه Fe سوپراکسیددیسموتاز از ضرایب مثبت قابل توجهی برخوردار بودند. لازم به ذکر است که کاتالاز تنها در عامل دوم با ضریب نسبتاً بزرگ و منفی وارد شده بود. با توجه به ساختار ضرایب در هر دو عامل، ژنوتیپ‌های با مقادیر بالای آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان و مقادیر کم پراکسید هیدروژن و مالون دی‌آلدئید در شرایط تنش شوری در سطوح بالای این عامل‌ها قابل شناسایی هستند. ژنوتیپ‌های

مورد مطالعه بر اساس نمودار حاصل از این دو عامل اول به سه گروه تقسیم شدند (شکل ۳). این گروه‌بندی مطابقت زیادی با گروه‌بندی حاصل از تجزیه خوشه‌ای داشت. در یک گروه، ژنوتیپ‌های با مقادیر بالا برای عامل دوم مشخص شدند. این گروه تطابق کاملی با گروه دوم موجود در تجزیه خوشه‌ای (شکل ۱) داشت. مشابه نتایج تجزیه خوشه‌ای، ارقام این گروه شامل آرتا، مصر ۴۴۹، سرخ تخم و البرز دارای مقادیر قابل توجهی آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان بودند. ارقام زاگرس، مرودشت، هیرمند، کرج ۳، سوریه ۳۷۱، هیرمند، شعله و چمران در گروه متمایزی مشابه گروه اول در تجزیه خوشه‌ای قرار گرفتند. این ژنوتیپ‌ها دارای مقادیر متوسط عامل دوم و مقادیر بالای عامل اول بودند. با توجه به ضرایب عاملی، ژنوتیپ‌های مورد نظر دارای مقادیر متوسط پراکسید هیدروژن و مقادیر بالایی از آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان بودند. به عبارتی از نظر تحمل شوری و بهره‌گیری از مکانیسم‌های تحمل حدواسط به شمار می‌روند. سایر ژنوتیپ‌ها مشابه گروه سوم حاصل از تجزیه خوشه‌ای به صورت مجزا گروه‌بندی گردیدند. این ارقام دارای مقادیر کم عامل اول و دوم بودند. به عبارت دیگر کمترین میزان فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان در ژنوتیپ‌های این گروه مانند الوند، مغان ۱، نیشابور و فلات مشاهده شد.



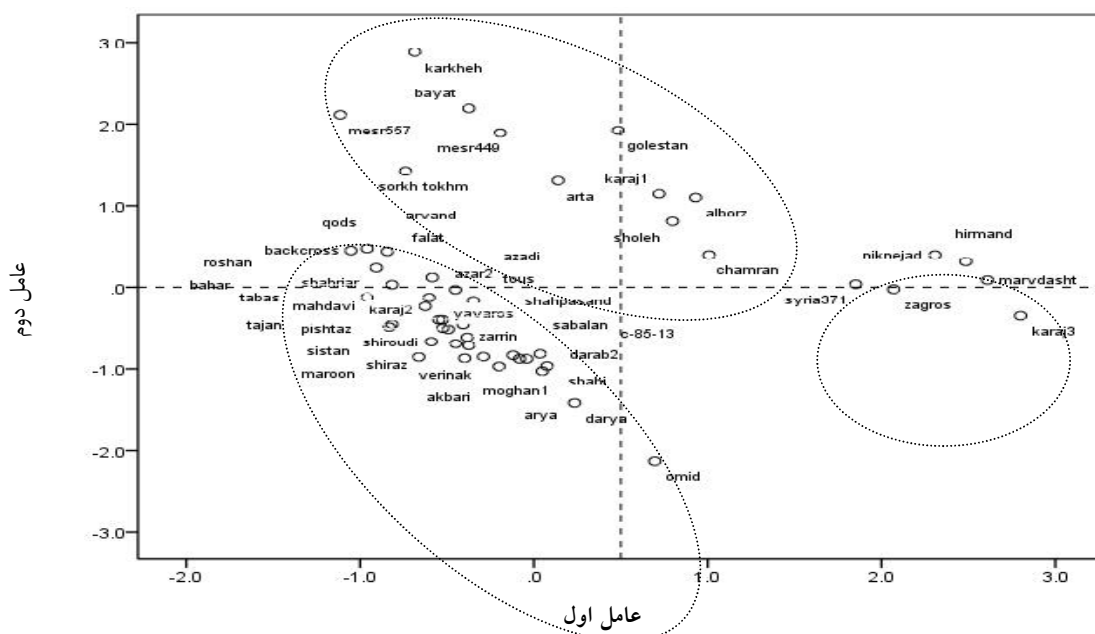
شکل ۱- تجزیه خوشه‌ای ارقام مورد مطالعه گندم بر اساس پارامترهای فیزیولوژیک و بیوشیمیایی به روش دورترین همسایه‌ها (complete linkage)



شکل ۲ - انحراف از میانگین کل برای میانگین پارامترهای مورد استفاده در گروه‌های حاصل از تجزیه خوشه‌ای به روش دورترین همسایه‌ها

جدول ۱- ضرایب عامل‌ها، مقادیر ویژه و سهم واریانس توجیه شده توسط عامل‌ها در تجزیه به عامل‌های اصلی برای خصوصیات فیزیولوژیک و بیوشیمیایی ارقام مختلف گندم

عامل اول	عامل دوم	پارامتر
۰/۷۲	-۰/۰۵	آسکوربات پراکسیداز (APX)
۰/۷۷	۰/۴۳	گلوتاتیون پراکسیداز (GPX)
-۰/۰۷	-۰/۱۶۵	مالون دی آلدئید (MDA)
۰/۸۸	۰/۰۹	CuZn سوپراکسید دیسموتاز
۰/۸۶	۰/۲۲	Mn سوپراکسید دیسموتاز
۰/۵۸	۰/۶۵	Fe سوپراکسید دیسموتاز
-۰/۳۶	-۰/۷۷	پراکسید هیدروژن (H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> )
۰/۲۶	۰/۷۰	سدیم (Na)
۰/۶۳	۰/۴۷	پتاسیم (K)
۰/۳۱	۰/۷۴	کلر (Cl)
۰/۱۹	-۰/۴۶	کاتالاز (CAT)
۵/۳۶	۱/۵۱	مقدار ویژه
۴۸/۷۰	۱۳/۶۸	سهم واریانس توجیه شده
۴۸/۷۰	۶۲/۳۸	سهم تجمعی واریانس



شکل ۳- نمودار دوعبدهی بر اساس دو عامل اول حاصل از تجزیه به عامل‌های اصلی برای صفات فیزیولوژیک و بیوشیمیایی ارقام مختلف گندم

ارقام متعلق به گروه‌های یاد شده از مکانیسم‌های سمیت‌زدایی عناصر سدیم و کلر نیز برخوردار باشند. در همین راستا، گزارش شده است که گیاهانی که در مقادیر بالای تنش شوری علیرغم تجمع عناصر سدیم و کلر در برگ‌های خود، رشد و نمو طبیعی خود را حفظ می‌نمایند از توانایی انباشته‌سازی و ذخیره سدیم و کلر در واکوئل خود برخوردارند (۲۷). همچنین گزارش شده است که ارقام مقاوم به تنش شوری می‌توانند با استفاده از مکانیسم ذخیره و جداسازی سدیم در آپوپلاست از سمیت این عنصر بکاهند (۲۶). استفاده از مکانیسم‌های یاد شده میزان سدیم و کلر موجود در سیتوسول را کنترل کرده و از سمیت آنها در برگ می‌کاهد. لازم به ذکر است اجرای این مکانیسم‌ها سبب می‌گردد تا

در ارقام موجود در گروه‌های ۱ و ۲ میزان سدیم و کلر بیشتری در برگ‌ها تجمع یافته است که با توجه به سمیت عناصر یاد شده انتظار می‌رود شدت آسیب به بیومولکول‌ها و وقوع تنش اکسیداتیو در ارقام متعلق به این کلاسترها بالا باشد. اما نتایج حاصل نشان داد که در ارقام متعلق به این گروه‌ها، بویژه گروه ۱، میزان فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان مورد مطالعه بالا بوده است. فعالیت بالای آنزیم‌های مورد مطالعه در این ارقام سبب تعادل بین تولید و جمع‌آوری انواع اکسیژن فعال شده و از وقوع تنش اکسیداتیو جلوگیری می‌کند که میزان کم پراکسید هیدروژن و پراکسیداسیون لیپیدی موید آن است. همچنین علاوه بر عملکرد خوب مکانیسم‌های تحمل در ارقام متعلق به گروه‌های ۱ و ۲، احتمال می‌رود که

پتاسیم موجود در انجام کارهای فیزیولوژیک بکار گرفته شود. در ارقام گروه‌های ۱ و ۲ نیز میزان پتاسیم موجود در مقایسه با گروه سوم بالا بود (شکل ۲). در همین راستا، تجمع مقادیر بالای سدیم در ارقام گندم دوروم متحمل به شوری به علت برخورداری این ارقام از مکانیسم تحمل بافتی بالا گزارش شده است (۱۰).

در این پژوهش بسیاری از ارقام گندم مورد مطالعه در گروه سوم قرار گرفتند (شکل ۱). از ویژگی‌های بارز ارقام این گروه می‌توان به تجمع کم عناصر سدیم و کلر در برگ‌ها اشاره کرد. بسیاری از محققین گزارش کرده‌اند که ارقام مقاوم به شوری دارای مکانیسم‌های ویژه‌ای هستند که مانع جذب و یا انتقال این عناصر به برگ‌ها می‌گردند (۶، ۱۱، ۲۱، ۳۵). اما نتایج حاصل نشان داد که میزان شاخص‌های تنش اکسیداتیو نظیر پراکسید هیدروژن و پراکسیداسیون لیپیدی در ارقام متعلق به این گروه‌ها بیش از گروه‌های دیگر است (شکل ۲). بالا بودن شاخص‌های یاد شده در شرایط تنش شوری حاکی از وقوع تنش اکسیداتیو در ارقام گندم متعلق به گروه سوم می‌باشد. بروز این نتیجه را می‌توان ناشی از فعالیت پائین آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان مورد مطالعه در ارقام این گروه دانست (شکل ۲). انواع سوپراکسید دیسموتاز در اندامک‌های مختلفی نظیر میتوکندری، کلروپلاست و سیتوسول فعالیت می‌نمایند (۱۳). از میان آنها آنزیم‌های Cu/Zn-SOD و Fe-SOD به ترتیب در غشای تیلاکوئیدی و استرومای کلروپلاست فعال بوده و رادیکال سوپراکسید را در این اندامک به

پراکسید هیدروژن تبدیل می‌کنند (۲۴). کاهش فعالیت آنزیم Cu/Zn-SOD در اثر شوری باعث افت فعالیت چرخه مهلر به‌عنوان یکی از مهمترین مکانیسم‌های تحمل فعال در کلروپلاست می‌شود. افت چرخه یاد شده به همراه افت فعالیت Fe-SOD تجمع رادیکال سوپراکسید را در پی خواهد داشت. در خصوص اهمیت چرخه مهلر گزارش شده است که بدون فعالیت چرخه مهلر گیاهان قادر به ادامه حیات خود نیستند (۱۴). در آرکیدوبسیس تراریخته مشاهده شده است که کاهش فعالیت Cu/Zn-SOD تیلاکوئیدی، تولید انواع اکسیژن فعال را افزایش می‌دهد (۳۱). همچنین در یک مطالعه، افزایش فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز منجر به کاهش میزان انواع اکسیژن فعال شد (۲۳). نتایج مطالعه دیگری در گیاه خلر (*Lathyrus sp.*) نشان داده است که علت افزایش آسیب به غشاها در اثر شوری، عدم افزایش معنی‌دار آنزیم آسکوربات پراکسیداز و آنزیم Cu/Zn-SOD است به نحوی که فعالیت کم این آنزیم‌ها سبب اجرای ناکارآمد چرخه مهلر و در پی آن کاهش کارایی چرخه گزانتوفیل و تغییر حالت تیلاکوئید می‌گردد (۱۶).

در ارقام گروه ۳ فعالیت آنزیم‌های جمع‌آوری‌کننده پراکسید هیدروژن نیز در مقایسه با دو گروه دیگر پائین بود که می‌تواند ناشی از تجمع رادیکال سوپراکسید باشد. زیرا آنزیم‌های کاتالاز و آسکوربات پراکسیداز به مقادیر بالای رادیکال یاد شده حساس بوده و فعالیت آنها کاهش می‌یابد (۳). آنزیم آسکوربات پراکسیداز در چرخه‌های مهلر و

مهم آنها می‌باشد. در مقابل در ارقام گروه ۳، علیرغم داشتن میزان سدیم و کلر کمتر در برگ، شدت وقوع تنش اکسیداتیو در آنها بالا بود. احتمال می‌رود که این ارقام از مکانیسم‌های ممانعت از جذب و یا انتقال عناصر سدیم و کلر به پهنک برگ برخوردار باشند. اما قادر به سم‌زدایی و کاهش اثرات منفی این عناصر در برگ‌ها نباشند. بر این اساس هر یک از ارقام متعلق به گروه‌ها دارای ویژگی‌های تحمل مثبتی جهت مقابله با شوری برخوردار بودند. با توجه به اینکه بروز این ویژگی‌ها مستلزم بیان ژن‌های متعددی در مسیرهای متابولیکی مختلف می‌باشد، از اینرو به نظر می‌رسد ژنوتیپ‌های مورد مطالعه پتانسیل ژنتیکی مناسبی جهت کاربرد در برنامه‌های اصلاح برای تحمل شوری داشته باشند.

گلوکاتینون-آسکوربات نقش کلیدی ایفا می‌نمایند (۱۳). در همین راستا گزارش شده است که فعالیت کم آنزیم‌های پراکسیداز سبب تجمع پراکسید هیدروژن و حساسیت به شوری می‌گردد (۹). در عوض، افزایش فعالیت آسکوربات پراکسیداز از افزایش میزان پراکسید هیدروژن در سلول‌های گیاهی پیشگیری می‌کند (۲۰). به همین دلیل شاخص تحمل ارقام گندم با وجود مقادیر یکسان سدیم در بافت‌های گیاه یکسان نیست (۱۰).

به‌طور کلی اگرچه در ارقام متعلق به کلاسترهای ۱ و ۲ تجمع عناصر سدیم و کلر در شرایط تنش شوری بالاست اما به دلیل افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان شدت آسیب به بیومولکول‌ها کاهش یافته و از بروز تنش اکسیداتیو ممانعت شده‌است. همچنین به احتمال قوی توانایی سمیت‌زدایی عناصر سدیم و کلر در سلول‌های برگ از ویژگی‌های

## منابع

1. Aebi, H. 1984. Catalase in vitro. *Method of Enzymology*, 105(1): 121-126.
2. Ahmed, P., C. Jaleel, M. Azooz and N. Gowher. 2010. Generation of ROS and non-enzymatic antioxidants during abiotic stress in plants. *Botany Research International*, 2(3): 11-20.
3. Asada, K. 2000. The water-water cycle as alternative photon and electron sinks. *Philosophical Transactions of the Royal Society London B Biological Sciences*. 355(1402): 1419-1431.
4. Azevedo, N., J. Prisco, J.L. Enéas-Filho, C. Lacerda, J. Silva, P. Costa and E. Gomes-Filho. 2004. Effects of salt stress on plant growth, stomatal response and solute accumulation of different maize genotypes. *Brazilian Journal of Plant Physiology*, 16(1): 31-38.
5. Azizpour, K., M. Shakiba, N. Khosh Kholgh Sima, H. Alyari, M. Moghaddam, E. Esfandiari and M. Pessarakli. 2010. Physiological response of spring durum wheat genotypes to salinity. *Journal of Plant Nutrition*, 33(6): 859-873.
6. Benderradji, L., F. Brini, S. Amar, K. Kellou, J. Azaza, K. Masmoudi, H. Bouzerzour and M. Hanin. 2011. Sodium transport in the seedling of two bread wheat (*Triticum aestivum*) genotypes showing contrasting salt stress tolerance. *Australian Journal of Crop Science*, 5(3): 233-241.

7. Bradford, 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(1-2): 248-254.
8. Cakmak, I. 2008. Enrichment of cereal grains with zinc: Agronomic or genetic biofortification. *Plant Soil*, 302(1-2): 1-17.
9. Costa, P., A. Neto, M. Bezerra, J. Prisco and F. Filho. 2005. Antioxidant enzymatic system of two sorghum genotypes differing in salt tolerance. *Brazilian Journal of Plant Physiology*, 17(4): 353-361.
10. Dashti, H., A. Taj Abadipour, H. Shirani and M. Naghavi. 2010. Evaluation of wheat germplasm against salt stress. *Iranian Journal of Field Crop Science*, 41(4): 655-664. (In Persian)
11. Davenport, R., R. James, A. Plogander, M. Tester and R. Munns. 2005. Control of sodium transport in durum wheat. *Plant Physiology*, 137(3): 807-818.
12. Demiral, T. and I. Türkan. 2005. Comparative lipid peroxidation, antioxidant defense systems and proline content in roots of two rice cultivars differing in salt tolerance. *Environment Experiment Botany*, 53(3): 247-257.
13. Edreva, A. 2005. Generation and scavenging of reactive oxygen species in chloroplasts: A submolecular approach. *Agriculture, Ecosystems and Environment*, 106(2-3): 119-133.
14. Enayati, V. 2010. Evaluation of salt tolerance variation in wheat cultivars using physiological and biochemical indices. University of Maragheh, MSc. Thesis, 112 pp. (In Persian)
15. Esfandiari, E., A. Javadi, M. Shokrpour and F. Shekari. 2011. The effect of salt stress on the antioxidant defense mechanisms on wheat seedling. *Fresenius Environmental Bulletin*, 20(8): 2021-2036.
16. Esfandiari, E., A. Abbasi, V. Enayati and B. Mousavi. 2010. Different response of root and leaves of a grass pea landrace in response to oxidative stress resulted from salinity. *Agricultural science and sustainable production*, 20(4): 65-75. (In Persian)
17. Esfandiari, E., F. Shekari, F. Shekari and M. Esfandiari. 2007. The effect of salt stress on antioxidant enzymes activity and lipid peroxidation on the wheat seedling. *Notulae Botanicae Horti Agrobotanici Cluj-Napoca*, 35(1): 48-56.
18. Esfandiari, E., V. Enayati and A. Abbasi. 2011. Biochemical and physiological changes in response to salinity in two durum wheat (*Triticum turgidum* L.) Genotypes. *Notulae Botanicae Horti Agrobotanici*, 39(1): 165-170.
19. Gao, S., C. Ouyang, S. Wang, Y. Xu, L. Tang and F. Chen. 2008. Effects of salt stress on growth, antioxidant enzyme and phenylalanine ammonia-lyase activities in *Jatropha curcas* L. seedlings. *Plant Soil Environment*, 54(9): 374-381.
20. Heidari, M. 2009. Antioxidant activity and osmolyte concentration of sorghum (*Sorghum bicolor*) and wheat (*Triticum aestivum*) genotypes under Salinity Stress. *Asian Journal of Plant Sciences*, 8(8): 240-244.
21. Kafi, M. 2008. Bio-saline agriculture and conducting necessary in Iran, Key papers of tenth Iranian congress of agronomy and plant breeding, 137 pp. (In Persian)
22. Koca, H., F. Ozdemir and I. Turkan. 2006. Effect of salt stress on lipid peroxidation and superoxide dismutase and peroxidase activities of *Lycopersicon esculentum* and *L. pennellii*. *Biologia Plantarum*, 50(4): 745-748.
23. Mansour, M.M.F., K.H.A. Salama, F.Z.M. Ali and A.F.A. Hadid. 2005. Cell and plant responses to NaCl in *Zea mays* L. cultivars differing in salt tolerance. *General and Applied Plant Physiology*, 31(1-2): 29-41.

24. Mittler, R., S. Vanderauwera, M. Gollery and F.V. Breusegem. 2004. Reactive oxygen gene network of plants. *Trend Plant Science*, 9(10): 490-498.
25. Mittler, R. 2002. Oxidative stress, antioxidants and stress tolerance. *Trends in Plant Science*, 7(9): 405-410.
26. Mudgal, V., N. Madaan and A. Mudgal. 2010. Biochemical mechanisms of salt tolerance in plants: A Review. *International Journal of Botany*, 6(2): 136-143.
27. Munns, R. and M. Tester. 2008. Mechanism of salinity tolerance. *The Annual Review of Plant Biology*, 59(5): 651-681.
28. Munns, R. 2002. Comparative physiology of salt and water stress. *Plant, Cell and Environment*, 25(3): 239-250.
29. Murillo-Amador, B., H.J. Jones, C. Kaya, R.L. Aguilar, J.L. García-Hernandez, E. Troyo-Díéguez, N.Y. Avila-Serrano and E. Rueda-Puente. 2006. Effects of foliar application of calcium nitrate on growth and physiological attributes of cowpea (*Vigna unguiculata* L. Walp.) grown under salt stress. *Environmental and Experimental Botany*, 58(1-3): 188-196.
30. Rahnema, H. and H. Ebrahimzadeh. 2005. The effect of NaCl on antioxidant enzyme activities in potato seedlings. *Biologia Plantarum*, 49(1): 93-97.
31. Rizhsky, L., H. Liang and R. Mittler. 2003. The water-water cycle is essential for chloroplast protection in the absence of stress. *The Journal of Biological Chemistry*, 278(3): 38921-38925.
32. Sairam, R.K., K.V. Rao and G.C. Srivastava. 2002. Differential response of wheat genotypes to long term salinity stress in relation to oxidative stress, antioxidant activity and osmolyte concentration. *Plant Science*, 163(5): 1037-1046.
33. Sergiv, I, V. Alexieva and E. Karanov. 1997. Effect of spermine, atrazine and combination between them on some endogenous protective systems and stress markers in plants. *Comptes Rendus De l' Academie Bulgare des Sciences*, 51(4): 121-124.
34. Stewart, R.R.C. and J.D. Bewley. 1980. Lipid peroxidation associated aging of soybean axes. *Plant Physiology*, 65(2): 245-248.
35. Tammam, A., M. Alhamd and M. Hemeda. 2008. Study of salt tolerance in wheat (*Triticum aestivum* L.) cultivar Banysoif 1. *Australian Journal of Crop Science*, 1 (3): 115-125.
36. Tejera, N.A., M. Soussi and C. Luch. 2006. Physiological and nutritional indicators of tolerance to salinity in chickpea plants growing under symbiotic conditions. *Environmental and Experimental Botany*, 58(1-3): 17-24.
37. Yoshimura, K., Y. Yabute, T. Ishikawa and S. Shigeoka. 2000. Expression of spinach ascorbate peroxidase isoenzymes in response to oxidative stresses. *Plant Physiology*, 123(1): 223-233.
38. Zörb, C., S. Schmitt, A. Neeb, S. Karl, M. Linder and S. Schubert. 2004. The biochemical reaction of maize (*Zea mays* L.) to salt stress is characterized by a mitigation of symptoms and not by a specific adaptation. *Plant Science*, 167(1): 91-100.

## Grouping Different Wheat Varieties for Salt Tolerance using Some Biochemical and Physiological Indices

Majid Shokrpour<sup>1</sup> and Ezatoallah Esfandiari<sup>2</sup>

1- Assistant Professor, University of Tehran, (Corresponding author: Shokrpour@ut.ac.ir)

2- Assistant Professor, University of Maragheh

Received: October 27, 2012

Accepted: May 7, 2013

### Abstract

In attention to wheat importance in human nutrition and its production limitations due to salt stress, this study was conducted to evaluate and grouping 52 different wheat varieties for activities of antioxidant enzymes. Seedlings in 4-5 leaf stage, which were grown in aeroponic way, were exposed to salt stress using 200 mM NaCl for 10 days. After that, activities of enzymes of catalase, glutathione peroxidase, ascorbat dehydrogenase, superoxide dismutase isozymes along to amounts of malon dialdehyde and hydrogen peroxide, Na, K and Cl were measured. Cluster analysis categorized the varieties into three distinct groups. The varieties such as Karkheh, Arta and Alborz as a distinct group had the lowest values of catalase, hydrogen peroxide and malon dialdehyde, in addition to high values of antioxidant enzymes. However, accumulation of Na and Cl under salt stress was high in the varieties but damage severity decreased because of increase in antioxidant enzymes activity that led to stop oxidative stress. Also, it is very probable that they have a special ability in leaves to detoxification Na and Cl. These genotypes were known as tolerant varieties which those may be applied in wheat breeding programs for salt tolerance. Totally, each of the varieties had some appropriate tolerance mechanisms to defense with salinity and the results clarified genetic variation in this regard.

**Keywords:** Antioxidant enzymes, Cluster analysis, Tolerance mechanisms, Salt and Wheat