



"مقاله پژوهشی"

ارزیابی پاسخ بیوشیمیایی و مکانیسم دفاعی آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان گندم زراعی به تنش شوری

رسول خداوردی‌وند کشتیبان^۱، حسن سلطانی^۲، سیده ساناز رمضانپور^۳ و وحید شریعتی^۴

۱- دانشجوی دکتری اصلاح نباتات، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان (نویسنده مسؤل: Rasulkhshetiban@gmail.com)

۲ و ۳- دانشیار، گروه اصلاح نباتات و بیوتکنولوژی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان

۴- استادیار، گروه زیست فناوری مولکولی گیاهی، پژوهشگاه ملی مهندسی ژنتیک و زیست فناوری

تاریخ دریافت: ۱۳۹۹/۰۴/۱۵

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۹/۰۶/۳۰

صفحه: ۹۰ تا ۱۰۰

چکیده

درک نحوه واکنش و پاسخ بیوشیمیایی ارقام گندم زراعی، در ارتباط با تنش شوری، می‌تواند به شناخت بیشتر سازوکارهای دفاعی و شناسایی شاخص‌ها و بیومارکرهای غربالگری تحمل به تنش شوری، در این گیاه استراتژیک و سایر گیاهان زراعی کمک نماید. به همین منظور، صفات بیوشیمیایی مرتبط با تحمل به شوری ارقام گندم زراعی، به صورت آزمایش فاکتوریل در قالب طرح پایه کاملاً تصادفی با سه تکرار، ارزیابی گردیدند. فاکتورهای آزمایش شامل ارقام گندم زراعی (رقم متحمل سارک ۶ و رقم حساس چاینیز اسپرینگ) و سری‌های زمانی نمونه‌برداری (شاهد یا کنترل، ۶، ۱۲، ۲۴، ۴۸، ۷۲ و ۹۶ ساعت) پس از اعمال تنش شوری بودند. تنش شوری با غلظت ۲۵۰ میلی‌مولار کلرید سدیم بر روی گیاهچه‌های ۱۰ روزه یکنواخت در مرحله دو برگی اعمال شده و نمونه‌برداری از بافت اندام هوایی و ریشه گیاهان صورت گرفت. صفات مورد بررسی شامل نسبت پتاسیم به سدیم (K^+/Na^+)، مالون‌دی‌آلدهید (MDA)، سوپر اکسید دیسموتاز (SOD)، کاتالاز (CAT)، پراکسیداز (POX) و پلی فنل اکسیداز (PPO) بودند. نتایج تجزیه واریانس نشان‌دهنده معنی‌دار بودن اثرات رقم (به استثناء پراکسیداز)، اثرات زمان و برهم‌کنش رقم و زمان در همه صفات مورد بررسی بود. نتایج اثرات متقابل رقم و زمان نشان داد اگرچه روند تغییرات صفات مورد بررسی، بسته به نوع رقم، بخش گیاهی مورد بررسی و زمان نمونه‌برداری متفاوت بود، اما در حالت کلی تنش شوری موجب کاهش K^+/Na^+ ، افزایش MDA و همچنین افزایش فعالیت آنزیم‌های دفاعی آنتی‌اکسیدانی در اندام هوایی و ریشه ارقام مورد بررسی نسبت به شرایط کنترل (زمان صفر) گردید. نتایج مقایسات گروهی ضمن تأیید کارآرایی و استیلای سیستم دفاعی آنتی‌اکسیدانی رقم متحمل سارک ۶ در مقایسه با رقم حساس چاینیز اسپرینگ، بر بهره‌مندی از بیومارکرهای K^+/Na^+ ، SOD و CAT جهت غربالگری گندم زراعی تأکید کرد.

واژه‌های کلیدی: پتاسیم، پراکسیداز، پلی فنل اکسیداز، سدیم، سوپر اکسید دیسموتاز، کاتالاز

مقدمه

گندم نان از مهم‌ترین غلات در سطح جهان و نیز در ایران به‌شمار می‌رود (۴). از مجموع اراضی زیرکشت ایران، ۶/۷۰ میلیون هکتار به کشت گیاه استراتژیک گندم اختصاص یافته است (۲۶). این در حالی است که نیمی از زمین‌های قابل کشت ایران که حدود ۲۷ میلیون هکتار برآورد می‌شود، جزو خاک‌های شور و سدیمی محسوب می‌گردند (۴۶).

پاسخ گیاهان به تنش شوری در برگیرنده پاسخ‌های متنوع بیوشیمیایی و فیزیولوژیکی بوده (۱۸) در عین حال این پاسخ‌ها پیچیده بوده و به عوامل متفاوتی همچون مرحله رشد گیاه، نوع و غلظت املاح، پتانسیل ژنتیکی گیاه و به عوامل محیطی، بستگی دارد (۲۷). از تغییرات بیوشیمیایی مهم حاصل از تنش شوری و همچنین سایر تنش‌های غیر زنده، تولید گونه‌های مختلف رادیکال‌های آزاد اکسیژن است که منجر به تنش اکسیداتیو می‌شوند (۹). از انواع رادیکال‌های آزاد اکسیژن می‌توان به سوپراکسید (O_2^-)، رادیکال هیدروکسیل (OH) و پراکسید هیدروژن (H_2O_2) اشاره نمود (۴۹). این رادیکال‌ها با آسیب به ساختار بیومولکولها، منجر به اکسیداسیون لیپیدهای غشاء، تغییر ساختمان پروتئین‌ها، تخریب اسیدهای نوکلئیک و همچنین غیرفعال شدن آنزیم‌ها و بی‌رنگ شدن کلروفیل گردیده و در نهایت، موجب مرگ

سلولی می‌گردند (۲۸،۴۴). در این بین، پراکسیداسیون لیپیدهای غشاء گیاهان تحت تنش شوری، بوسیله رادیکال‌های آزاد اکسیژن، منجر به افزایش نفوذپذیری و کاهش پایداری غشاء سلول‌ها می‌گردد (۱۹)، که به‌عنوان شاخصی از تنش اکسیداتیو (۴۲) و همچنین به‌عنوان معیاری از برآورد خسارت تنش (۵۷) محسوب می‌گردد. از مالون‌دی‌آلدهید (MDA) به‌عنوان محصول پراکسیداسیون لیپید (۵۳) جهت سنجش این شاخص و تغییرات آن استفاده می‌گردد. گزارش شده است با اعمال تنش شوری و افزایش شدت آن، مقدار مالون‌دی‌آلدهید افزایش می‌یابد (۴۱).

گیاهان برای مقابله، کاهش و یا ممانعت از تولید اثرات مخرب و مضر انواع رادیکال‌های آزاد اکسیژن دارای مکانیسم‌های دفاعی نظیر تنفس نوری (۲۳)، چرخه گزانتوفیل (۳۸)، چرخه گلوکوتایون-آسکوربات (۲۳) و چرخه مهلر (۸) می‌باشند. مکانیسم دفاعی چرخه‌های ذکر شده از همکاری سازوکار آنتی‌اکسیدانی حاصل شده است. این سازوکار در گیاهان به دو گروه آنزیمی و غیرآنزیمی تقسیم می‌شوند. آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان، مهم‌ترین ترکیبات در سیستم‌های آنتی‌اکسیدان، مهم‌ترین ترکیبات در سیستم‌های جاروب کردن و اولین راهکار دفاعی در برابر صدمات رادیکال‌های آزاد اکسیژن هستند (۲۲). از انواع

اعمال تنش شوری بودند. جهت کاشت و اعمال تنش شوری در مرحله گیاهچه‌ای، ابتدا بذور با استفاده از محلول هیپوکلریت سدیم و اتانول ۷۰ درصد ضدعفونی شدند. سپس بذور جوانه‌زده یکنواخت به شرایط رشد هیدروپونیک با استفاده از محلول غذایی هوگلند و آرنون (۳۱) منتقل شدند. تشت‌های کشت در محیط کنترل شده با شرایط ۱۶ ساعت روشنایی همراه با دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد و ۸ ساعت تاریکی همراه با دمای ۲۰ درجه سانتی‌گراد قرار گرفتند. محلول غذایی هر سه روز یک بار تعویض و PH آن با استفاده از هیدروکسید سدیم (NaOH) بین ۵/۵ تا ۶/۵ تنظیم شد. تنش شوری با غلظت ۲۵۰ میلی‌مولار کلرید سدیم بر روی گیاهچه‌های ۱۰ روزه یکنواخت در مرحله دوبرگی اعمال شد. کلرید کلسیم (CaCl₂) برای حفظ نسبت ۱۰:۱ سدیم به کلسیم به محلول کلرید سدیم اضافه گردید. نمونه‌های ریشه و اندام هوایی هر رقم در زمان صفر، قبل اعمال تنش شوری و زمان‌های ۶، ۱۲، ۲۴، ۴۸، ۷۲ و ۹۶ ساعت بعد از اعمال تنش شوری، در سه تکرار برداشت شدند و جهت اندازه‌گیری صفات مورد استفاده قرار گرفتند.

روش اندازه‌گیری سدیم و پتاسیم

برای تهیه عصاره یون‌های سدیم و پتاسیم، از روش رایان استفاده شد (۴۷). همچنین برای سنجش کمی سدیم و پتاسیم از فلیم فومتر (Model PEP7, UK) استفاده گردید. میزان یون‌های مربوطه بر حسب واحد میلی‌گرم بر گرم وزن خشک محاسبه و نسبت K^+/Na^+ تعیین گردید.

روش اندازه‌گیری پراکسیداسیون لیپید

اندازه‌گیری پراکسیداسیون لیپید بر مبنای سنجش بیومارکر مالون‌دی‌آلدهید (MDA) به روش هیث و پاکر (۳۰) انجام شد. بر مبنای این روش، لایه شناور روئی جمع‌آوری گردیده، میزان جذب نور محلول نمونه‌ها در طول موج ۵۳۲ نانومتر قرائت شد و در نهایت، پس از کسر میزان جذب در طول موج $\epsilon = 155 \text{ mM}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ ، میزان مالون‌دی‌آلدهید، براساس میکرومول در هر گرم بافت تازه (تر) بیان گردید.

استخراج عصاره آنزیمی دفاعی

جهت استخراج عصاره آنزیم‌های دفاعی از روش اسی (۲) استفاده شد. در پایان، لایه شناور روئی برداشته شده و به‌عنوان عصاره آنزیمی جهت اندازه‌گیری میزان فعالیت آنزیم‌های دفاعی استفاده گردید.

اندازه‌گیری میزان فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز

میزان فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز (SOD) با استفاده از روش بیچمپ و فرایدوویچ (۱۲) اندازه‌گیری شد. بدین منظور، میزان جذب مخلوط واکنش در طول موج ۵۶۰ نانومتر قرائت گردید.

بر این اساس، یک واحد استاندارد فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز، مقدار آنزیمی در نظر گرفته می‌شود که می‌تواند به میزان ۵۰ درصد مانع از احیای نوری نیتروبلوترازولیوم کلراید (NBT) گردد. در نهایت میزان فعالیت آنزیم برحسب واحد استاندارد در گرم وزن تازه (تر) محاسبه شد.

آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان می‌توان به آنزیم‌هایی نظیر سوپراکسید دیسموتاز (SOD)، کاتالاز (CAT)، پراکسیداز (POX)، پلی فنل اکسیداز (PPO)، گلوکاتایون ردوکتاز (GR) و همچنین از آنتی‌اکسیدان‌های غیر آنزیمی به آنتی‌اکسیدان‌هایی همانند آسکوربات، گلوکاتایون، ترکیبات فنولیک و توکوفرول‌ها اشاره کرد (۱۳،۳۲). سوپراکسید دیسموتاز به‌عنوان اولین خط دفاعی آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان در برابر رادیکال‌های آزاد اکسیژن محسوب می‌گردد (۵). این آنزیم رادیکال سوپراکسید را تبدیل به پراکسید هیدروژن کرده، ضمن حذف این آنیون، با القای آنزیم‌هایی نظیر پراکسیداز و کاتالاز، سمیت پراکسید هیدروژن را کاهش می‌دهد (۲۵). در این شرایط، جهت حذف پراکسید هیدروژن، فعالیت ترکیبی هر دو آنزیم پراکسیداز و کاتالاز به‌منظور حفاظت از سلول‌های گیاهی ضروری خواهد بود (۱۰). این آنزیم‌ها، پراکسید هیدروژن تولید شده توسط سوپراکسید دیسموتاز را به آب و اکسیژن تبدیل می‌نمایند (۳۶). گزارش شده است که عدم تعادل در بین فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان، موجب تشدید تنش اکسیداتیو در سلول‌های گیاهی می‌گردند (۲۴). پلی فنل اکسیداز، بیومارکر آنتی‌اکسیدان دیگری است که در بسیاری از مکانیسم‌های مقاومت گیاهان حضور داشته (۲۵) دارای قابلیت زیادی در از بین بردن گونه‌های فعال اکسیژن و ترکیبات فنولی است، به‌طوری‌که موجب اکسیداسیون فنل‌ها به کوئینون‌ها گردیده (۵۸) و همچنین در فعالیت‌های دفاعی و تشکیل سدهای دفاعی در برابر عوامل بیماری‌زا نقش دارد (۳۹). از شاخص‌های مهم دیگر غربالگری تحمل به شوری در گیاهان، اندازه‌گیری یون‌های سدیم و پتاسیم و تعیین نسبت بین آن‌ها می‌باشد (۵۵). این نسبت نیز، در گیاهان به‌عنوان یکی از شاخص‌های مهم جهت تعیین گونه‌های متحمل از حساس می‌باشد به‌طوری‌که نسبت سدیم به پتاسیم، در ارقام متحمل به شوری در مقایسه با ارقام حساس، پایین‌تر می‌باشد (۳۴). در این میان، واکنش ارقام گندم به تنش شوری بسیار متفاوت بوده و بدیهی است که بررسی سازوکارهای تحمل به شوری دارای اهمیت بالایی باشند. لذا این تحقیق به‌منظور ارزیابی بیومارکرهای تحمل به شوری و پاسخ دفاعی آنتی‌اکسیدان در ارقام حساس و مقاوم گندم زراعی و همچنین مقایسه نقش این سازوکارها در بافت‌های مختلف ارقام مورد مطالعه، صورت گرفت.

مواد و روش‌ها

این تحقیق در سال ۱۳۹۸ در آزمایشگاه دانشکده تولید گیاهی دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گران به‌صورت آزمایش فاکتوریل در قالب طرح پایه کاملاً تصادفی با سه تکرار انجام شد. فاکتورهای آزمایش شامل ارقام گندم زراعی به‌عنوان فاکتور اول با دو سطح که دربرگیرنده رقم چاپینیز اسپرینگ (حساس به شوری) و رقم سارک ۶ (متحمل به شوری) و سری‌های زمانی نمونه‌برداری به‌عنوان فاکتور دوم با هفت سطح که دربرگیرنده نمونه‌برداری در زمان‌های شاهد یا کنترل، ۶، ۱۲، ۲۴، ۴۸، ۷۲ و ۹۶ (ساعت) پس از

اندازه‌گیری فعالیت آنزیم کاتالاز

برای سنجش فعالیت آنزیم کاتالاز (CAT) از روش چانس و ماهله (۱۶) استفاده شد. بر این اساس، توسط اسپکتروفتومتر، میزان جذب مخلوط واکنش در طول موج ۲۴۰ نانومتر قرائت گردید. معیار فعالیت آنزیم عبارت است از مقدار H_2O_2 تجزیه شده در هر دقیقه که حسب واحد استاندارد در گرم وزن تازه (تر) بیان گردید.

اندازه‌گیری فعالیت آنزیم پراکسیداز

برای سنجش فعالیت آنزیم پراکسیداز (POX) از روش وان آسچه و همکاران (۵۶) استفاده شد. بر اساس این روش، تغییرات جذب در طول موج ۵۱۰ نانومتر توسط اسپکتروفتومتر اندازه‌گیری شد. تفاوت جذب، معیار فعالیت آنزیم است که بر اساس واحد استاندارد در گرم وزن تازه بیان گردید.

اندازه‌گیری آنزیم پلی‌فنل‌اکسیداز

برای سنجش فعالیت آنزیم پلی‌فنل‌اکسیداز (PPO) از روش گونزالس و همکاران (۲۹) استفاده شد. بدین منظور، معیار فعالیت آنزیم، تغییرات جذب در ۰/۰۰۱ دقیقه در هر میلی‌لیتر آنزیم می‌باشد که برحسب واحد استاندارد در گرم وزن تازه (تر) بیان گردید. تجزیه آماری شامل تجزیه واریانس، مقایسه میانگین و مقایسه گروهی صفات مورد بررسی با استفاده از نرم‌افزار SAS صورت پذیرفت. مقایسه میانگین بر اساس روش LSD و اختلافات معنی‌دار در سطح احتمال ۵٪ و ۱٪ بررسی شدند. همچنین نمودارها با استفاده از نرم‌افزار Excel ترسیم شدند.

نتایج و بحث

تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد (جدول ۱) که تحت تنش شوری، اثر رقم بر روی تمامی صفات مورد بررسی، به‌جز صفت پراکسیداز، در سطح احتمال ۱٪ معنی‌دار بود. همچنین اثر زمان و اثرات متقابل رقم × زمان، در همه صفات مورد بررسی کاملاً معنی‌دار بود.

جدول ۱- تجزیه واریانس صفات مورد ارزیابی تحت تنش شوری

Table 1. Analysis of variance on studied traits under salinity stresses

منابع تغییر آزادی	درجه آزادی	پتاسیم / سدیم (K^+/Na^+)		مالون‌دی‌آلدهید (MDA)		سوپر اکسید دیستوماز (SOD)		کاتالاز (CAT)		پراکسیداز (POX)		پلی‌فنل‌اکسیداز (PPO)	
		ریشه	اندام هوایی	ریشه	اندام هوایی	ریشه	اندام هوایی	ریشه	اندام هوایی	ریشه	اندام هوایی	ریشه	اندام هوایی
رقم	۱	۰/۱۷**	۰/۰۵**	۳۱۳/۹۵**	۱۸۴/۹۲**	۲۸/۲۷**	۷/۳۵**	۷/۲۰**	۱۰/۷۱**	۰/۰۶**	۰/۰۴**	۰/۰۶**	۰/۱۰**
زمان	۶	۰/۲۵**	۰/۱۵**	۲۰۱/۳۷**	۸۹/۸۷**	۲/۶۳**	۶/۷۳**	۳/۶۹**	۷/۰۵**	۲/۵۲**	۲/۴۲**	۱/۰۷**	۰/۵۰**
رقم×زمان	۶	۰/۰۰۹**	۰/۰۰۳**	۱۱/۶۰**	۵/۴۲**	۰/۰۵**	۰/۷۳**	۰/۱۹**	۱/۲۳**	۰/۰۷**	۰/۲۴**	۰/۲۱**	۰/۱۷**
خطای آزمایش	۲۸	۰/۰۰۰۵	۰/۰۰۰۶	۱/۱۴	۰/۲۶	۰/۰۱	۰/۰۱	۰/۰۲۴	۰/۰۴	۰/۰۱	۰/۰۲	۰/۰۰۶	۰/۰۰۷
ضرب تغییرات		۵/۳۷	۸/۵۳	۶/۸۱	۵/۱۹	۴/۴۲	۵/۹۴	۴/۴۲	۶/۹۷	۶/۱۷	۸/۲۶	۵/۸۹	۸/۷۴

ns * و **: به ترتیب عدم معنی‌دار و معنی‌دار در سطح احتمال ۵٪ و ۱٪

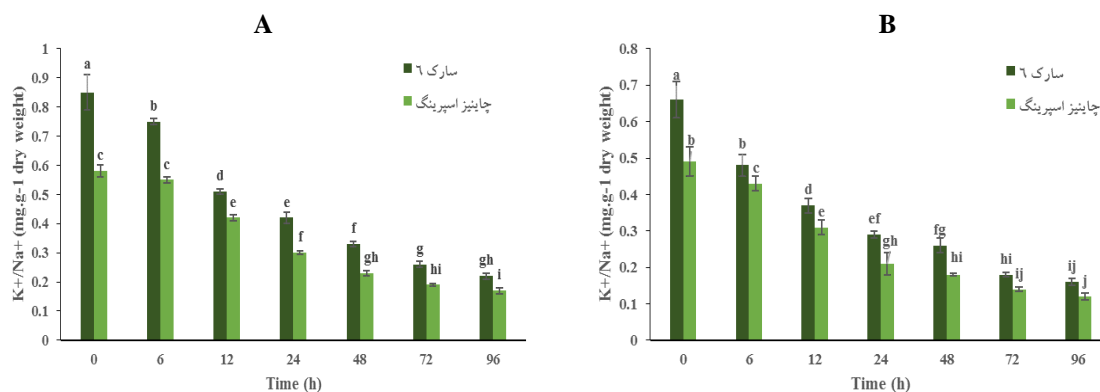
نسبت پتاسیم بر سدیم (نسبت K^+/Na^+)

نتایج مقایسه میانگین (اثرات متقابل) تأثیر زمان‌های مختلف نمونه‌برداری و رقم بر روی نسبت پتاسیم بر سدیم در شکل ۱ نشان داده شده است. بیشترین مقدار K^+/Na^+ در اندام هوایی متعلق به رقم سارک ۶ در زمان صفر بود، در حالی که کمترین مقدار متعلق به رقم چاینیز اسپرینگ در زمان ۹۶ بود. همچنین در ریشه، بیشترین مقدار K^+/Na^+ متعلق به رقم سارک ۶ در زمان صفر بود، در حالیکه کمترین مقدار متعلق به رقم چاینیز اسپرینگ در زمان‌های ۷۲ و ۹۶ بودند که با زمان ۹۶ رقم سارک ۶ اختلاف معنی‌دار نداشتند. نتایج حاکی از این بود که پس از اعمال تنش شوری، با افزایش زمان نمونه‌برداری، میزان K^+/Na^+ در اندام هوایی و ریشه هر دو رقم روند کاهشی داشته است، اما مقدار آن در رقم متحمل سارک ۶ نسبت به رقم حساس چاینیز اسپرینگ بیشتر بوده است. در پژوهش مشابهی، اسفندیاری و همکاران (۲۴) در ارزیابی برخی صفات بیوشیمیایی ارقام گندم تحت تنش شوری، گزارش نمودند هم‌زمان با افزایش میزان سدیم در محیط ریشه، جذب پتاسیم در تمامی ارقام از طریق ریشه کاهش یافته و در نتیجه، برآیند کاهش جذب پتاسیم و افزایش جذب سدیم موجب می‌شود، نسبت پتاسیم به سدیم در اندام‌های مختلف گیاهچه، بر اثر شوری کاهش یابد. گزارش‌ها حاکی از آن است که ژنوتیپ‌های متحمل در مقایسه با ژنوتیپ‌های حساس به شوری، مقدار سدیم کمتری را جذب و منتقل کرده و دارای غلظت بالاتری از پتاسیم هستند (۴۳)، به گونه‌ای که ارقام متحمل در مقایسه با ارقام حساس به شوری، نسبت K^+/Na^+ بالاتری را در اندام‌های مختلف دارند (۵۴). همچنین، کاهش در نسبت K^+/Na^+ در ارقام حساس و متحمل مشاهده گردیده است اما میزان آن در رقم متحمل کمتر بوده است (۱) که با نتایج این پژوهش مطابقت داشت.

پراکسیداسیون لیپید

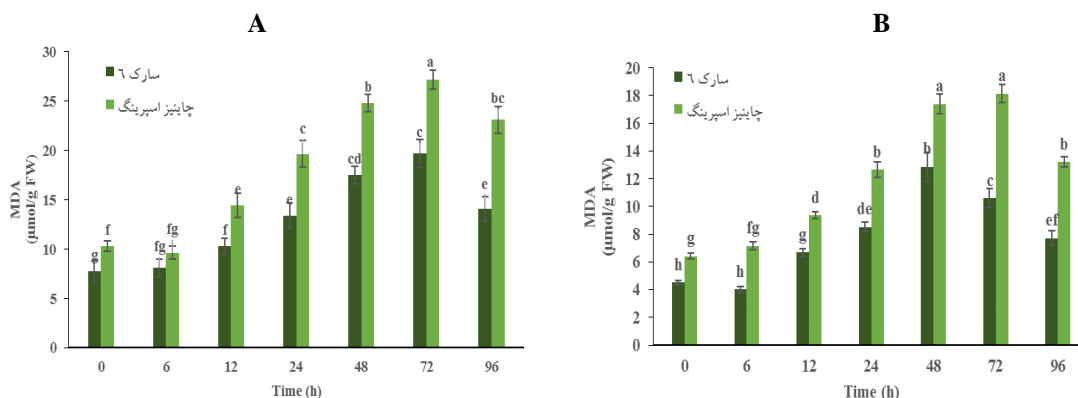
۲۴، ۷۲، ۱۲۰ و ۱۶۸ (ساعت) نمونه برداری پس از اعمال تنش شوری، گزارش نمودند بیشترین مقدار میانگین MDA در ارقام مورد بررسی در زمان های بالاتر (انتهایی) نمونه برداری بوده و به طور کلی در هر سه رقم متحمل، نیمه متحمل و حساس مورد بررسی میزان MDA افزایش یافته است. محققین معتقدند هرچه میزان تولید MDA تحت تنش شوری در یک ژنوتیپ کمتر باشد، تحمل آن ژنوتیپ به شرایط تنش شوری بیشتر است (۱۸). به عبارت دیگر، پائین بودن میزان تولید MDA، بیانگر مقاومت بهتر یک ژنوتیپ در برابر گونه های فعال اکسیژن می باشد. ارزانی و صالحی (۷) در مطالعه بر روی گندم و تریتیکاله، گزارش نمودند تنش شوری منجر به افزایش میزان پراکسیداسیون لیپید گردید که میزان آن در تریتیکاله به دلیل تحمل به شوری بالاتر، کمتر بود. گزارش شده است میزان تولید MDA تحت تاثیر کارایی سیستم آنتی اکسیدانی گیاه قرار دارد، به طوری که بالاتر بودن توانایی این سیستم باعث کاهش تولید MDA می گردد (۴۵). بنابراین، کاهش میزان MDA در زمان های پایانی نمونه برداری را می توان به این مسئله ارتباط داد.

نتایج مقایسه میانگین (اثرات متقابل) تاثیر زمان های مختلف نمونه برداری و رقم بر روی میزان مالون دی آلدئید در شکل ۲ نشان داده شده است. بیشترین مقدار MDA در اندام هوایی متعلق به رقم چاینیز اسپرینگ در زمان ۷۲ ساعت پس از تنش بود، در حالی که کمترین مقدار MDA در اندام هوایی متعلق به رقم سارک ۶ در زمان های صفر و ۶ ساعت بود که با زمان ۶ ساعت رقم چاینیز اسپرینگ اختلاف معنی دار نداشت. همچنین در ریشه، بیشترین مقدار MDA متعلق به رقم چاینیز اسپرینگ در زمان های ۴۸ و ۷۲ ساعت بود، در حالی که کمترین مقدار MDA متعلق به رقم سارک ۶ در زمان های صفر و ۶ ساعت بود. نتایج برهم کنش رقم و زمان نمونه برداری نشان داد که پس از اعمال تنش شوری، مقدار MDA در اندام هوایی و ریشه هر دو رقم دارای روند افزایشی بود، اگرچه مقدار MDA در اندام هوایی و ریشه رقم چاینیز اسپرینگ، نسبت به رقم مقاوم سارک ۶ بالاتر بود. البته بعد از زمان ۷۲ ساعت پس از تنش، مقدار آن در هر دو رقم دارای روند نزولی گردید. سادات موسوی زاده و همکاران (۴۸) در ارزیابی میزان MDA گیاه برنج در زمان های صفر، ۶، ۲۴



شکل ۱- مقایسه میانگین K^+/Na^+ در اندام هوایی (A) و ریشه (B) ارقام گندم تحت تنش شوری (میانگین های دارای حروف مشترک، اختلاف معنی دار در سطح احتمال پنج درصد ندارند)

Figure 1. Mean comparison of K^+/Na^+ in shoot (A) and root (B) wheat cultivars under salinity stress (Means with the same letters in each figure have not significant difference at 5% probability level)

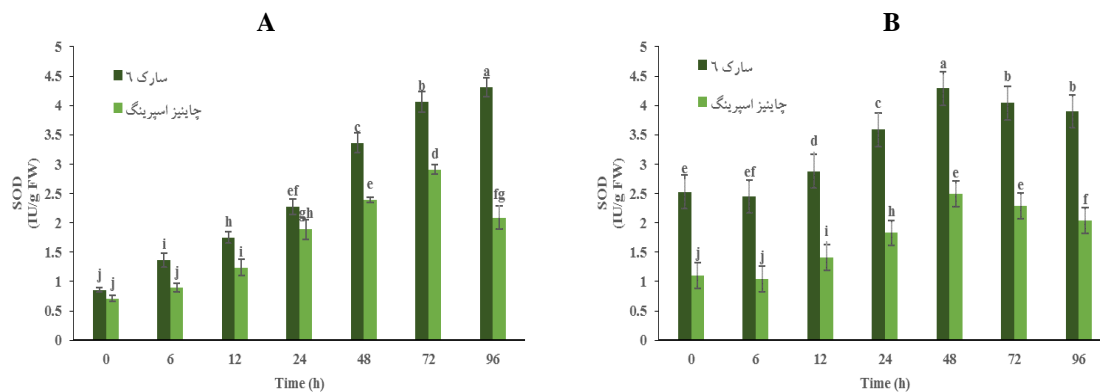


شکل ۲- مقایسه میانگین مالون دی آلدئید در اندام هوایی (A) و ریشه (B) ارقام گندم تحت تنش شوری (میانگین های دارای حروف مشترک، اختلاف معنی دار در سطح احتمال پنج درصد ندارند)

Figure 2. Mean comparison of MDA in shoot (A) and root (B) wheat cultivars under salinity stress (Means with the same letters in each figure have not significant difference at 5% probability level)

یونسی و مرادی (۶۰) ضمن گزارش افزایش میانگین آنزیم‌های SOD و CAT در گندم بیان نمودند بالا بودن فعالیت کاتالاز در اندام هوایی نسبت به ریشه بر اثر کاهش فتوسنتز گیاه و تجمع میزان بیشتر پراکسید هیدروژن در مقایسه با ریشه بود. همچنین، چمنی و همکاران (۱۵) در گندم و دره‌کی و همکاران (۲۲) در لوبیا، نتایج مشابهی در ارتباط با افزایش فعالیت آنزیم‌های SOD و CAT گزارش نموده‌اند. در گیاه یونجه گزارش شده است افزایش سریع و پیوسته آنزیم CAT در گیاهان تحت تنش شوری، نشانگر جایگاه مهم آن در مقابله با پراکسید هیدروژن است (۵۰). برزویی و همکاران (۱۴) در برنج مشاهده نمودند رقم مقاوم بم در هر سه زمان نمونه‌برداری رشدی، میزان SOD بالاتری را نسبت به رقم حساس تجن داشت. همچنین مشاهدات حاکی از آن است که در یک ژنوتیپ، فعالیت بیشتر آنزیم CAT نشان‌دهنده تحمل بیشتر آن است (۶). در نهایت، روند کاهش تدریجی SOD و CAT در ارقام مورد بررسی (شکل ۳ و ۴) را می‌توان به کارایی بالای سیستم دفاعی آنتی‌اکسیدانی این ارقام در غلبه بر تنش اکسیداتیو و کاهش مقدار پراکسید هیدروژن نسبت داد که مویده آن نیز کاهش میزان MDA در انتهای زمان تنش می‌باشد. البته در ریشه رقم مقاوم سارک ۶ به‌دلیل حساسیت و کارآمدی بهتر سیستم دفاعی، حضور فعالانه و بیشتر آنزیم SOD ادامه یافته است (شکل ۳). بی‌تردید، ارقام متحمل نسبت به ارقام حساس، از طریق افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی، دارای مکانیسم دفاعی بهتری در مقابله با تنش اکسیداتیو بوده (۵۹) و فعال بودن سازوکار دفاعی در ریشه، غشای ریشه را از تنش اکسیداتیو محافظت می‌کند (۱۷).

آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی SOD, POX, CAT و PPO
 نتایج مقایسه میانگین (اثرات متقابل) تأثیر زمان‌های مختلف نمونه‌برداری و رقم بر روی میزان بیومارکرهای سوپر اکسید دیسموتاز، کاتالاز، پراکسیداز و پلی‌فنل اکسیداز به ترتیب در اشکال ۳، ۴، ۵ و ۶ آورده شده است. در ارتباط با اثرات متقابل بیومارکرهای سوپر اکسید دیسموتاز و کاتالاز، بیشترین مقدار SOD و CAT در اندام هوایی، به ترتیب، در زمان‌های ۹۶ و ۴۸ ساعت پس از تنش، متعلق به رقم سارک ۶ بود. همچنین بیشترین مقدار SOD و CAT در ریشه، متعلق به رقم سارک ۶ بود که در زمان ۴۸ SOD و زمان‌های ۴۸ و ۷۲ (بدون اختلاف معنی‌دار) CAT مشاهده گردید. در حالت کلی نتایج برهم‌کنش رقم و زمان نمونه‌برداری در این بیومارکرها نشان داد که پس از اعمال تنش شوری، مقدار SOD و CAT در اندام هوایی و ریشه نسبت به زمان کنترل، با گذشت زمان دارای روند افزایشی بود، با این تفاوت که مقادیر این بیومارکرها در اندام هوایی و ریشه رقم سارک ۶ نسبت به رقم حساس چاینیز اسپرینگ، بالاتر بود. البته روند کاهش تدریجی هر دو بیومارکر در اندام هوایی و ریشه ارقام، پس از زمان ۴۸ ساعت (به استثناء SOD اندام هوایی سارک ۶) مشاهده شد. در ارتباط با نحوه عمل آنزیم‌های SOD و CAT در این آزمایش، نتایج مشابهی در گندم و سایر گیاهان زراعی گزارش شده است. بر این اساس، عطارزاده و همکاران (۱۱) بیان داشتند در گندم تحت تنش شوری، میانگین آنزیم‌های SOD و CAT نسبت به شاهد دارای افزایش معنی‌داری بود. دولت‌آبادیان و همکاران (۲۱) گزارش نمودند تحت تنش شوری میانگین آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان SOD و CAT در اندام برگ و ریشه گیاه کلزا افزایش یافت.



شکل ۳- مقایسه میانگین سوپر اکسید دیسموتاز در اندام هوایی (A) و ریشه (B) ارقام گندم تحت تنش شوری (میانگین‌های دارای حروف مشترک، اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال پنج‌درصد ندارند)

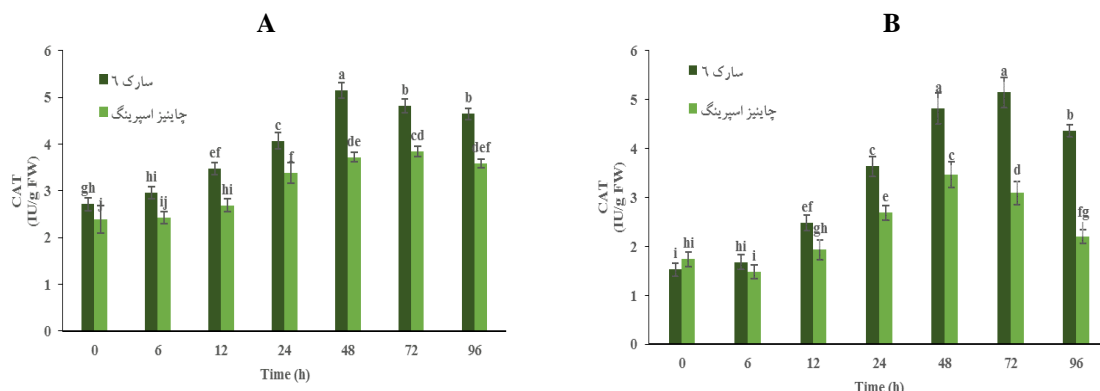
Figure 3. Mean comparison of SOD in shoot (A) and root (B) wheat cultivars under salinity stress (Means with the same letters in each figure have not significant difference at 5 % probability level)

POX در ریشه متعلق به رقم چاینیز اسپرینگ در زمان ۲۴ ساعت پس از تنش بود که با رقم سارک ۶ در زمان‌های ۲۴ و ۴۸ ساعت و خود رقم چاینیز اسپرینگ در زمان ۴۸ ساعت اختلاف معنی‌دار نداشت. در حالت کلی نتایج برهم‌کنش رقم و زمان نمونه‌برداری در این بیومارکر نشان داد که پس از اعمال

مقایسه میانگین اثرات متقابل بیومارکر پراکسیداز نیز نشان داد بیشترین مقدار POX در اندام هوایی متعلق به رقم سارک ۶ در زمان ۷۲ ساعت پس از تنش بود که با رقم چاینیز اسپرینگ در همان زمان و همچنین زمان ۴۸ ساعت خود رقم سارک ۶ اختلاف معنی‌دار نداشت، در حالی که بیشترین مقدار

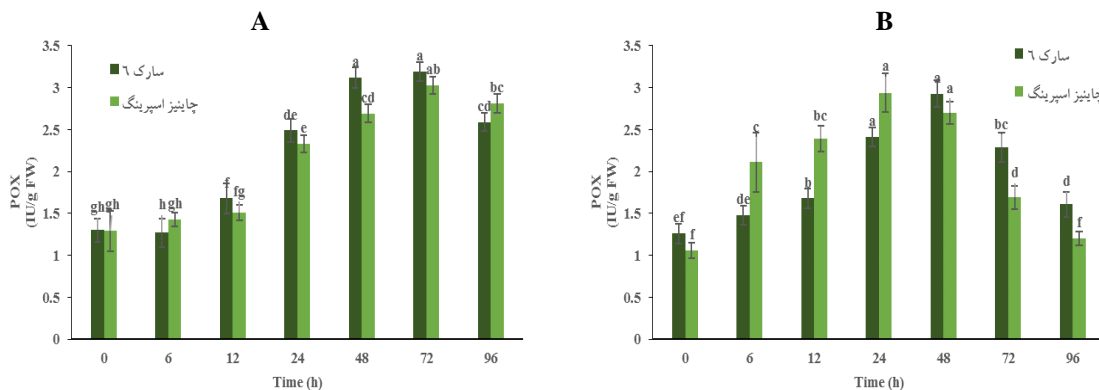
در ریشه پس از زمان ۴۸ ساعت در هر دو رقم مورد بررسی دارای روند کاهشی بود.

تنش شوری، مقدار POX اندام هوایی و ریشه (هر دو رقم) نسبت به زمان کنترل، با گذشت زمان اعمال تنش دارای روند افزایشی بود، که این روند در اندام هوایی محسوس تر بوده اما



شکل ۴- مقایسه میانگین کاتالاز در اندام هوایی (A) و ریشه (B) ارقام گندم تحت تنش شوری (میانگین‌های دارای حروف مشترک، اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال پنج‌درصد ندارند)

Figure 4. Mean comparison of CAT in shoot (A) and root (B) wheat cultivars under salinity stress (Means with the same letters in each figure have not significant difference at 5% probability level)



شکل ۵- مقایسه میانگین پراکسیداز در اندام هوایی (A) و ریشه (B) ارقام گندم تحت تنش شوری (میانگین‌های دارای حروف مشترک، اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال پنج‌درصد ندارند)

Figure 5. Mean comparison of POX in shoot (A) and root (B) wheat cultivars under salinity stress (Means with the same letters in each figure have not significant difference at 5% probability level)

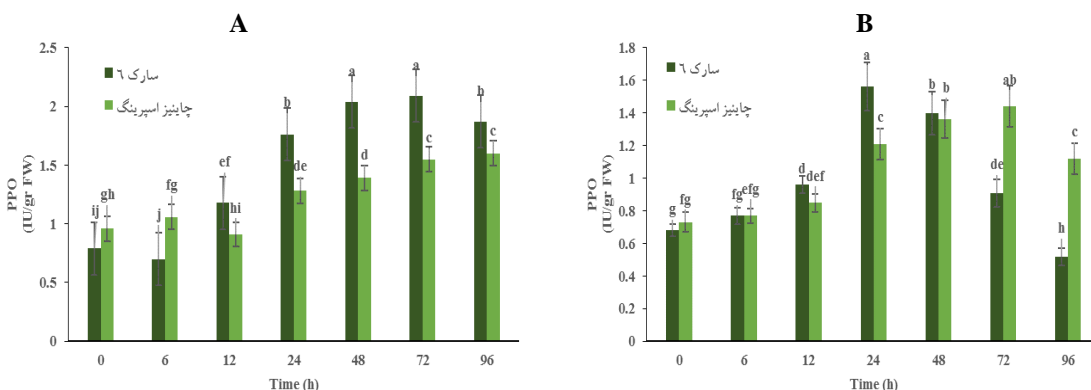
مورد بررسی) قابل تحلیل است، اما با توجه به روند متفاوت نمودار POX، این نتایج را می‌توان به حضور مکانیسم‌های دفاعی دیگری چون تنظیم اسمزی (۵۲) و یا اختلال در سنتز پروتئین‌ها (۵) نیز، ارتباط داد. در ارتباط با مقایسه میانگین اثرات متقابل بیومارکر آنتی‌اکسیدانی پلی‌فنل اکسیداز، بیشترین مقدار PPO در اندام هوایی متعلق به رقم سارک ۶ در زمان ۷۲ ساعت پس از تنش بود که با زمان ۴۸ ساعت خود رقم سارک ۶، اختلاف معنی‌دار نداشت. همچنین در ریشه، بیشترین مقدار PPO متعلق به رقم سارک ۶ در زمان ۲۴ ساعت و کمترین مقدار متعلق به رقم چاینیز اسپرینگ در زمان ۹۶ ساعت پس از تنش بود. در حالت کلی نتایج برهم کنش رقم و زمان نمونه‌برداری در این بیومارکر نشان داد که پس از اعمال تنش شوری، مقدار PPO در اندام هوایی و ریشه نسبت به زمان کنترل، با گذشت زمان اعمال تنش دارای روند افزایشی بود، که این روند در اندام هوایی واضح تر بوده اما در ریشه پس از یک روند افزایشی، بسته به نوع رقم،

بر این اساس در نتایج مشابهی با این تحقیق، گزارش شده است تحت تنش شوری فعالیت آنزیم پراکسیداز در گیاه گلرنگ، در ارقام متحمل و حساس به شوری افزایش یافت (۵۱). عطارزاده و همکاران (۱۱) گزارش نمودند در گندم زراعی، تنش شوری منجر به افزایش معنی‌دار POX نسبت به تیمار شاهد شد. جهانی و همکاران (۳۳) بیان داشتند بیشترین میزان فعالیت POX در گیاه جو تحت تنش شوری با ۱۵۰ میلی‌مولار کلرید سدیم بود که نسبت به شاهد ۶/۸۱ برابر افزایش نشان داد. در عین حال نتایج این تحقیق در ارتباط با اثرات متقابل نشان دادند روند تفوق خاص و منظمی بین دو رقم حساس و متحمل گندم از نظر مقدار POX در اندام هوایی و ریشه وجود نداشت که با توجه به معنی‌دار نبودن فاکتور رقم (جدول ۱) قابل انتظار بود. اگرچه روند کاهشی این آنزیم، همانند آنزیم‌های SOD و CAT در قالب کاهش مقدار پراکسید هیدروژن و منطبق بر روند کلی کاهش آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی طی تنش شوری (در ژنوتیپ‌های

مقایسه گروهی مستقل بین ارقام گندم مورد بررسی
 به‌منظور ارزیابی بیشتر اثرات تنش شوری، مقایسه گروهی مستقل بین رقم متحمل سارک ۶ و رقم حساس چاینیز اسپرینگ در ارتباط با صفات مورد مطالعه انجام شد (جدول ۲). نتایج مقایسات گروهی نشان داد که تنش شوری منجر به بروز اختلاف معنی‌دار در صفات K^+/Na^+ ، MDA، SOD و CAT بین ارقام گردید، به‌طوری‌که رقم سارک ۶ دارای مقادیر میانگین بالاتری از K^+/Na^+ ، SOD و CAT و همچنین مقدار میانگین کمتری از MDA نسبت به رقم چاینیز اسپرینگ بود. البته با وجود بالا بودن مقادیر میانگین POX و PPO در رقم سارک ۶، اختلاف بین دو رقم معنی‌دار نبود. این نتایج کارایی بالاتر سازوکار دفاعی و به‌ویژه سیستم دفاعی آنتی‌اکسیدان رقم متحمل سارک ۶ در غلبه بر تنش اکسیداتیو را اثبات نمود. محققین معتقدند ژنوتیپی که در بیشتر صفات مرتبط با تحمل شوری دارای برتری باشد، می‌تواند در شرایط تنش نیز مناسب‌تر باشد (۳).

دارای روند کاهشی بود. بر این اساس، در نتایجی مشابهی با این تحقیق، گزارش شده است تنش شوری موجب افزایش فعالیت PPO در گندم (۳۷)، جو (۳۳) و سویا (۵۸) شده است. همچنین مشاهدات حاکی از این بود که PPO تحت تنش شوری در اندام هوایی (برگ) و ریشه گیاهان ذرت و کلزا افزایش یافت (۲۰). دست نشان و سیکدست (۱۸) در ارزیابی تحمل ژنوتیپ‌های لوبیا به شوری، گزارش نمودند در تمامی ژنوتیپ‌های مورد بررسی مقدار آنزیم PPO نسبت به شاهد افزایش یافت.

نتایج حاصل از روند نموداری اثرات متقابل حاکی از توانایی بالای هر دو رقم در بهره‌مندی از نقش سمیت‌زدایی آنزیم PPO، تحت تنش شوری، جهت غلبه بر تنش اکسیداتیو و کاهش مقدار پراکسید هیدروژن داشت. بنابراین به‌نظر می‌رسد ژنوتیپ‌های مختلف گیاهان، ظرفیت‌های آنتی‌اکسیدانی متفاوتی را برای مقابله با خسارت ناشی از تنش اکسیداتیو، استفاده می‌نمایند (۴۰).



شکل ۶- مقایسه میانگین پلی فنل اکسیداز در اندام هوایی (A) و ریشه (B) ارقام گندم تحت تنش شوری (میانگین‌های دارای حروف مشترک، اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال پنج‌درصد ندارند)

Figure 6. Mean comparison of PPO in shoot (A) and root (B) wheat cultivars under salinity stress (Means with the same letters in each figure have not significant difference at 5 % probability level)

نمونه‌برداری و ارتباط با روند کاهشی MDA، به‌ترتیب نشانگر، روند منظم‌تر و همخوانی بهتر آنزیم‌های SOD و CAT بودند. این نتایج با تأکید بر توانایی بالاتر مکانیسم دفاعی آنتی‌اکسیدانی رقم متحمل در مقایسه با رقم حساس، بر اهمیت صفات K^+/Na^+ ، SOD و CAT در ریشه و اندام هوایی گندم تحت تنش شوری تکیه داشت.

نتیجه‌گیری

نتایج حاصل نشان‌داد در حالت کلی، تنش شوری موجب افزایش فعالیت آنزیم‌های دفاعی آنتی‌اکسیدانی، کاهش نسبت K^+/Na^+ و همچنین افزایش مقدار MDA در اندام هوایی و ریشه ارقام مورد بررسی نسبت به شرایط کنترل گردید. از سوی دیگر مقایسه روند تغییرات بیومارکرهای SOD و CAT با بیومارکرهای POX و PPO، از بعد فاکتور زمان

جدول ۲- مقایسه گروهی بین ارقام سارک ۶ و چاینیز اسپرینگ از نظر صفات مورد مطالعه
 Table 2. Group comparison between Sarc 6 and Chinese spring cultivars in terms of studied traits

میانگین صفات							ضرایب مقایسه	منابع تغییرات
PPO (IU/gr FW)	POX (IU/g FW)	CAT (IU/g FW)	SOD (IU/g FW)	MDA (μmol/g FW)	K^+/Na^+			
۱/۲۳	۲/۱۲	۳/۶۸	۲/۹۷	۱۰/۴۱	۰/۴۱۳	+۱	سارک ۶	
۱/۱۵	۲/۰۵	۲/۷۶	۱/۷۳	۱۵/۲۴	۰/۳۱۱	-۱	چاینیز اسپرینگ	
۰/۴۵	۰/۶۳	۰/۰۰۰۱	۰/۰۰۰۱	۰/۰۰۰۲	۰/۰۱۴		سطح معنی‌داری بین دو گروه	

منابع

1. Adams, P., J.C. Thomas, D.M. VERNAN, H.J. Bohnert and R.G. Jensen. 1992. Distinct cellular and organism responses to salt stress. *Plant and Cell Physiology*, 33(8): 1215-1223.
2. Aebi, H. 1984. Catalase in vitro. *Methods in Enzymology*, 105: 121-126.
3. Akbari Ghogdi, E., A. Izadi-Darbandi, A. Borzouei and A. Majdabadi. 2011. Evaluation of morphological changes in some wheat genotypes under salt stress. *Journal of Water and Soil Science*, 1(4): 71-83 (In Persian).
4. Alipour, H., H. Abdi, Y. Rahimi and M. R. Bihamta. 2019. Investigating grain yield and yield stability of wheat cultivars introduced in Iran over the last half century. *Cereal Research*, 9(2): 157-167 (In Persian).
5. Alscher, R.G., N. Erturk and L.S. Heath. 2002. Role of superoxide dismutases (SOD) in controlling oxidative stress in plant. *Journal of Experimental Botany*, 153: 1331-1341.
6. Amjad, H., B. Noreen, A. Javed and I. Nayyer. 2011. Differential changes in antioxidants, proteases, and lipid peroxidation in flag leaves of wheat genotypes under different levels of water deficit conditions. *Plant Physiology and Biochemistry*, 49: 178-185.
7. 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): 39-50 (In Persian).
8. Asada, K. 2000. The water-water cycle as alternative photon and electron sinks. *Hilo sophical Transactions of the Royal Society*, 355: 1419-1431.
9. Ashraf, M. and P.J.C. Harris. 2004. Potential biochemical indicators of salinity tolerance in plants. *Plant Science*, 166: 3-16.
10. Ashrafi, E., J. Razmjoo and M. Zahedi. 2016. The effect of salt stress on biochemical traits and relation with salt tolerant of alfalfa cultivars in field. *Agronomy Journal (Pajouhesh and Sazandegi)*, 108: 43-56 (In Persian).
11. Attarzadeh, A., M. Movahhedi Dehnavi and M. Ghaffarian Hedesh. 2017. Comparison of the effect of water deficit and salt stresses on the growth, sodium and potassium content of wheat (*Triticum aestivum* L.). *Cereal Research*, 6(4): 465-476 (In Persian).
12. Beauchamp, C. and I. Fridovich. 1971. Superoxide dismutase: improved assays and an assay applicable to acrylamide gels. *Analytical Biochemistry*, 44: 276-287.
13. Blokhin, O., E. Virolainen and K. Fagerstedt. 2003. Antioxidant oxidative damage and oxygen deprivation stress. *Annals of Botany*, 91: 179-194.
14. Borzouei, A., M. Kafi, H. Khazaei, A. Khorasani and A. Majdabad. 2011. The Study of Physiological Characteristics and Enzyme Superoxide Dismutase Activity in Two Wheat (*Triticum aestivum* L.) Cultivars at Different Growth Stages under Irrigation Water Salinity. *Iranian Journal of Field Crops Research*, 9(2): 190-201 (In Persian).
15. Chamaani, F., D. Habibi, N. Khodabandeh, M. Davoodifard and A. Asgharzadeh. 2012. Effects of salinity stress on growth and antioxidant enzyme activity of wheat inoculated with plant growth promoting bacteria and humic acid. *Journal of Agronomy and Plant Breeding*, 8(2): 39-55 (In Persian).
16. Chance, B. and A.C. Maehly. 1955. Assay of catalases and peroxidase. *Methods in Enzymology*, 2: 764-775.
17. Daneshbakhsh, B., A.H. Khoshghoftarmanesh, H. Shariatmadari and I. Cakmak. 2012. Effect of Zinc nutrition on salinity-induced oxidative damages in wheat genotypes differing in zinc deficiency tolerance. *Acta Physiologiae Plantarum*, 5(1): 1131-7.
18. Dastneshan, S. and M. Sabokdast. 2020. Evaluation of Tolerance Rate of Some Genotypes of Beans (*Phaseolus Vulgaris* L.) To Salinity Stress. *Journal of Crop Breeding*, 11(32):184-194 (In Persian).
19. Dhindsa, R.S. 1991. Drought stress, Enzymes of Glutathione Metabolism, Oxidation Injury, and Protein Synthesis in *Turtula ruralis*. *Plant Physiology*, 95: 648-651.
20. Dionisio-Sese, M.L. and S. Tobita. 1998. Antioxidant response of rice seedling to salinity stress. *Plant Science*, 135(1): 1-9.
21. Dolatabadian, A., M. Modares Sanavi and E. SHarifi. 2009. Effect of Ascorbic Acid Leaf Feeding on Antioxidant Enzymes Activity, Proline Accumulation and Lipid Peroxidation of Canola (*Brassica napus* L.) under Salt Stress Condition. *Journal of Water and Soil Science*, 13(47): 611-620 (In Persian).
22. Doraki, G., G. Zamani and M.H. Sayyari. 2016. Effect of Salt Stress on Physiological Traits and Antioxidant Enzymes Activity of Chickpea (*Cicer arietinum* L. cv. Azad). *Iranian Journal of Field Crops Research*, 14(3): 470-483 (In Persian).
23. Edreva, A. 2005. Generation and scavenging of reactive oxygen species in chloroplasts: A Sub molecular approach. *Agriculture, Ecosystems and Environment*, 106: 119-133.
24. Esfandiari, E., A. Javadi and M. Shokrpour. 2013. Evaluation of some of biochemical and physiological traits in wheat cultivars in response to salinity stress at seedling stage. *Journal of Crops Improvement*, 15(1): 27-38 (In Persian).

25. Faize, M., L. Faize, N. Koike, M. Ishizka and H. Ishii. 2004. Acibenzolar-S-methyl-induced resistance to Japanese pear scab is associated with potentiation of multiple defense responses. *Phytopathology*, 94: 604-612.
26. FAO. 2019. Statistical data. Food and Agriculture Organization. From www.faostat.org.
27. 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).
28. Gholamia, M., M. Rahemi, B. Kholdebarinc and S. Rastegar. 2012. Biochemical responses in leaves of four fig cultivars subjected to water stress and recovery. *Scientia Horticulturae*, 148: 109-117.
29. Gonzalez, E.M., B. de Ancos and M.P. Cano. 1999. Partial characterization of polyphenol oxidase activity in raspberry fruits. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 47: 4068-4072.
30. Heath, R.L. and I. Packer. 1968. Photoperoxidation in isolated chloroplast. I. Kinetics and stoichiometry of fatty acid peroxidation. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 125: 189-198.
31. Hoagland, D.R. and D.I. Arnon. 1950. The water culture method for growing plants without soil. *Circular. California Agricultural Experiment Station*, 347(2): 32.
32. Honty, K., M. Hevesi, M. Toth and E. Stefanovits Banyai. 2005. Some biochemical changes in pear fruit tissue induced by *Erwinia amylovora*. *Acta Biologica Szegediensi*, 49(1-2): 127-129.
33. Jahani, S., M. Lahouti and M. Jahani. 2014. Investigation Na^+ - Ca^{2+} interaction on biomass and enzymes activity of peroxidase and polyphenol oxidase in leaf of barley (*Hordeum vulgare* L.). *Crop Physiology Journal*, 5(20): 15-24 (In Persian).
34. Khan, M.Y., A. Rauf, I. Makhdoom, A. Ahmad and S.M. Shah. 1992. Effect of saline sodic soils on mineral composition of eight wheats under field conditions. *Sarhad Journal of Agriculture*, 8: 477-486.
35. Kopyra, M. and E.A. Gwozdz. 2003. Nitric oxide stimulates seed germination and counteracts the inhibitory effect of heavy metals and salinity on root growth of *Lupinus luteus*. *Plant Physiology and Biochemistry*, 41: 1011-1017.
36. Liu, J., L.P. Tong, T.W. Shen, J. Li, L. Wu and Z.L. Yu. 2007. Impact of ion implantation on licorice growth and antioxidant activity under drought stress. *Plasma Science and Technology*, 9(3): 301-306.
37. Menogeuzzo, S., and F. Navari-Izzo. 1999. Anti-oxidative responses of shoot and roots of wheat to increasing NaCl concentrations. *Journal Plant Physiology*, 155: 274-280.
38. Mittler, R., S. Vanderauwera, M. Gollery and F.V. Breusegem. 2004. Reactive oxygen gene network of plants. *Trends Plant Science*, 9: 490-498.
39. Mohammadi, M. and H. Kazemi. 2002. Changes in peroxidase and polyphenol oxidase activities insusceptible and resistance wheat heads inoculated with *fusarium graminearum* and induced resistance. *Plant Science*, 162: 491-498.
40. Moharramejad, S. and M. Valizadeh. 2015. Variation of Pigment Content and Antioxidant Enzyme Activites in PintoBean (*Phaseolus vulgaris* L.) Seedlings under Salt Stress. *Journal of Crop Ecophysiology*, 9(1): 153-166 (In Persian).
41. Mojarad, M.A., M.R. Hassandokht, V. Abdossi, S.A. Tabatabaei and K. Larijani. 2018. Evaluation of some morphological and biochemical traits and antioxidant enzymes activity in Iranian native turnips under salinity stress caused by sodium chloride. *Environmental Stresses in Crop Sciences*, 11(24): 149-157 (In Persian).
42. Mudgal, V., N. Madaan and A. Mudgal. 2010. Biochemical Mechanisms of salt Tolerance in Plants: A Review. *International Journal of Botany*, 6: 136-143.
43. Munns, R., R.A. Hare, R.A. James and G.J. Rebetzke. 2000. Genetic variation for improving the salt tolerance of durum wheat. *Australian Journal of Agricultural Research*, 51: 69-74.
44. Nayyar, H. and D. Gupta. 2006. Differential sensitivity of C3 and C4 plants to water deficit stress: Association with oxidative stress and antioxidants. *Environmental and Experimental Botany*, 58: 106-113.
45. Rahnama, A., K. Poustini, R. Tavakkol Afshari and A. Rasoulnia. 2011. Study of Antioxidant Enzymes and Lipids Peroxidation in Flag Leaf of Sensitive and Tolerant Wheat (*Triticum aestivum* L.) Cultivars to Salt Stress. *Iranian Journal of Field Crop Sciences*, 42(2): 359-371 (In Persian).
46. 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, Dubai, UAE*, 83-95.
47. Ryan, J., G. Estefan and A. Rashid. 2001. Soil and plant analysis laboratory manual (2th ed.). ICARDA, Syria, Scientific publishers.
48. Sadat Musavizadeh, Z., H. Najafi Zarini, S.H. Hashemi Petroudi and S.K. Kazemitabar. 2018. Assessment of Proline, Chlorophyll and Malondialdehyde in Sensitive and Tolerant Rice (*Oryza sativa* L.) Cultivars under Salt Stress. *Journal of Crop Breeding*, 10(25): 28-35 (In Persian).
49. Sairam, R.K. and A. Tyagi. 2004. Physiology and molecular biology of salinity stress tolerance in plants. *Current Science*, 86(3): 407-421.

51. Siddiqi, E.H., M. Ashraf, F. Al-Qurainy and N.A. Akram. 2011. Salt-induced modulation in inorganic nutrients, antioxidant enzymes, proline content and seed oil composition in safflower (*Carthamus tinctorius* L.). *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 91: 2785-2793.
52. Sirousmehr, A., J. Bardel and S. Mohammadi. 2015. Changes of Germination Properties, Photosynthetic Pigments and Antioxidant Enzymes Activity of Safflower as Affected by Drought and Salinity Stresses. *Journal of Crop Ecophysiology*, 8(4): 517-534 (In Persian).
53. Stewart, R.C.R. and D. Bewley. 1980. Lipid peroxidation associated with accelerated aging of soybean Axes. *Plant physiology*, 62: 245-248.
54. Stuciffe, J. and D.A. Baker. 1981. *Plants and mineral salts*. Edward Arnold publisher, Southampton, 16-18.
55. Tester, M. and R. Davenport. 2003. Na⁺ tolerance and Na⁺ transport in high plants. *Annals of Botany*, 91: 503-527.
56. Van Assche, F., C. Cardinaels and H. Clijsters. 1988. Induction of enzyme capacity in plants as a result of heavy metal toxicity: dose-response relations in *Phaseolus vulgaris* L., treated with zinc and cadmium. *Environmental Pollution*, 52(2): 103-115.
57. Wang, W.B., Y.H. Kim, H.S. Lee, K.Y. Kim, X.P. Deng and S.S. Kwak. 2009. Analysis of antioxidant enzyme activity during germination of alfalfa under salt and drought stresses. *Plant Physiology and Biochemistry*, 47: 570-577.
58. Weisany, W., Y. Sohrabi, G. Heidari, A. Siosemardeh and G.K. Ghassem. 2012. Changes in antioxidant enzymes activity and plant performance by salinity stress and zinc application in soybean (*Glycine max* L.). *Plant Omics Journal*, 5(2): 60-67.
59. Yildiz, M. and H. Terzi. 2013. Effect of NaCl stress on chlorophyll biosynthesis, proline, lipid peroxidation and antioxidative enzymes in leaves of salt-tolerant and salt-sensitive barley cultivars. *Journal of Agricultural Sciences*, 19: 79-88.
60. Younesi, O. and A. Moradi. 2016. Effects of Arbuscular Mycorrhizal Fungus (AMF) on antioxidant enzyme activities in salt-stressed wheat. *Journal of Crops Improvement*, 18(1): 21-30 (In Persian).

Evaluation of Biochemical Response and Defense Mechanism of Wheat Antioxidant Enzymes to Salinity Stress

Rasoul Khodavirdvand Keshtiban¹, Hassan Soltanloo², Seyedeh Sanaz Ramazanpour³ and Vahid Shariati⁴

1- PhD Student of Breeding Plant, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources
(Corresponding author: Rasulkheshtiban@gmail.com)

2 and 3- Associate Professor, Department of Plant Breeding and Biotechnology, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources

4- Assistant Professor, Department of Plant Molecular Biotechnology, National Research Institute of Genetic Engineering and Biotechnology

Received: July 5, 2020 Accepted: September 20, 2020

Abstract

Understanding the reaction form and biochemical response of wheat cultivars about the salinity stress can help to better understand the defense mechanisms and identify the indicators and biomarkers of tolerance screening for salinity stress in this strategic plant and other field crop. For this purpose, biochemical traits related to salinity tolerance of wheat cultivars were evaluated as a factorial experiment based on a completely randomized design with three replications. Experimental factors included wheat cultivars (Sarc 6 as tolerant cultivar and Chinese spring as susceptible cultivar) and sampling time series (control, 6, 12, 24, 48, 72 and 96 hours) after salinity stress. Salinity stress with a concentration of 250 mM of sodium chloride was applied to uniform 10-day seedlings in the two-leaf stage and sampling of shoot and root was performed. The studied traits included the ratio of potassium to sodium (K^+/Na^+), malondialdehyde (MDA), superoxide dismutase (SOD), catalase (CAT), peroxidase (POX), and polyphenol oxidase (PPO). The results of analysis of variance showed that the effects of the cultivar (excluding peroxidase), the effects of time and the interaction of cultivar and time in all the studied traits, were significant. In one hand, the interaction results of cultivar and time indicated that the trend of changes in the studied traits were different, depending on the type of cultivar, the studied plant part and the sampling time. On the other hand, they also specified that the salinity stress was generally reduced the K^+/Na^+ , increased the MDA and surged the activity of antioxidant defense enzymes in shoot and root of the studied cultivars as compared to control conditions (zero time). The results of group comparisons not only confirmed the efficiency and dominance of the Sarc 6 tolerant cultivar antioxidant defense system against the sensitive cultivar of Chinese springs, but it also emphasized the benefits of K^+/Na^+ , SOD, and CAT biomarkers for wheat screening.

Keywords: Catalase, Peroxidase, Polyphenol oxidase, Potassium, Sodium, Superoxide dismutase