فرآیند و کارکرد گیاهی، جلد ۱۳، شماره ۶۳، آذر و دی‌ماه ۱۴۰۳ صفحه: ۲۴۹-۲۶۴
https://doi.org/10.22034/13.63.249

مقاله پژوهشی

ارزیابی بیان برخی از ژن‌ها و صفات بیوشیمیایی تحت تنش خشکی در ارقام مختلف گندم

زینب وسو عبدالله، سعید نواب‌پور*، حوریه نجفی و سید مجتبی ملائی

گروه اصلاح نباتات و بیوتکنولوژی، دانشکده تولید گیاهی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، گرگان، ایران

(تاریخ دریافت: ۱۴۰۲/۱۱/۲۰، تاریخ پذیرش نهایی: ۱۴۰۳/۰۵/۰۶)

چکیده

خشکی یکی از مهم‌ترین تنش‌های غیرزنده در تولید محصولات کشاورزی است که هر ساله خسارت‌های زیادی به گیاهان زراعی مخصوصاً گندم وارد می‌نماید. مقاومت به خشکی صفتی پیچیده است که به صورت چندژنی کنترل می‌شود و گواهی بر پیچیدگی اصلاح این صفت زراعی مهم می‌باشد. این مطالعه به منظور بررسی تأثیر سطوح مختلف تنش خشکی بر برخی صفات بیوشیمیایی و تغییرات آنزیمی و میزان بیان برخی از ژن‌های دخیل در پاسخ به تنش خشکی در ارقام گندم در ایستگاه تحقیقات، شهرستان کردکوی صورت گرفت. بذر ارقام گندم مورد مطالعه پس از ضدعفونی در شرایط مزرعه کشت شدند. آزمایش به صورت کرت خردشده در قالب طرح بلوک‌های کاملاً تصادفی با سه تکرار انجام شد. فاکتور اصلی تیمار خشکی شامل ۰/۳- بار (ظرفیت زراعی به‌عنوان تیمار شاهد)، ۲- بار و ۴- بار و فاکتور فرعی شامل ارقام گندم کلاته، بهاران و گنبد بود. جهت ارزیابی الگوی تظاهر ژن‌های مورد مطالعه شامل ***P5CS*** ،***CAT*** ،***SOD*** ،***TaNAC2a*** ، ***BADH*** ازدستگاه **iQ5** شرکت **Bio Rad** استفاده شد. نتایج تجزیه **Real time PCR** کمی، مبین آن بود که میزان بیان ژن‌های ***SOD, P5CS*** ، ***BADH, CAT*** و ***TaNAC*** در پاسخ به تنش خشکی تغییر معنی‌داری نمودند. همچنین میزان کلروفیل **a** و **b** به طور معنی‌داری تحت تنش خشکی کاهش و میزان آنزیم آسکوربیک پراکسیداز نیز به طور معنی‌داری افزایش یافت. که تنش خشکی منجر به افزایش بیان ژن‌های دخیل در این تنش شده که شامل ***SOD*** ،***P5CS*** ،***BADH*** ،***CAT*** و ***TaNAC2A*** بود. با توجه به نتایج تجزیه و تحلیل این مطالعه می توان نتیجه گرفت، رقم کلاته در فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان بیشترین میزان را داشت که نمایانگر برتری این رقم بر ارقام دیگر بود.

کلمات کلیدی: آنزیم، بیان ژن، تنش خشکی، کلروفیل، گندم

مقدمه

گندم (*Triticum aestivum* L.) محصول غذایی مهم است که در سراسر جهان رشد می‌کند. بهره‌وری گندم به دلیل انواع تنش‌های غیرزنده مانند خشکی، شوری و گرما مختل شده است (Costa *et al.*, 2011). در شرایط اقلیمی نیمه‌خشک، در طول فصل رشد گندم معمولاً در معرض دوره‌های تنش خشکی قرار می‌گیرد (Dhanda *et al.*, 2004). بنابراین، تحقیق برای توسعه ارقام گندم مقاوم به خشکی به منظور گسترش سطح رشد گندم در مناطق خشک یا نیمه‌خشک است (Lobato *et al.*, 2009). در دسترس‌بودن آب یکی از مهمترین پارامترها در تعیین بهره‌وری محصولات کشاورزی در سطح جهانی است (Fatemi *et al.*, 2022). در میان تنش‌های غیرزنده، خشکسالی به‌عنوان یکی از تنش‌ها شناخته شده به شمار می‌رود که مهمترین اثرات کاهش بهره‌وری محصولات

*نویسنده مسؤل، نشانی پست الکترونیکی: s.navabpour@yahoo.com

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2025-01-02]

[DOI: DOI: 10.22034/13.63.249]

در سراسر جهان را به دنبال دارد. گزارش شده است که عدم دسترسی به آب مسئول بیش از ۵۰ درصد در عملکرد نهایی گیاهان می‌باشد. از این رو، عدم دسترسی به آب رایج‌ترین منبع کاهش عملکرد در سراسر جهان و توسعه گونه‌های مقاوم به خشکی یکی از استراتژی‌های کلیدی برای امنیت غذایی به حساب می‌آید (Magalhaes, 2011). گیاهان حداقل برای مدتی در چرخه زندگی خود با کمبود آب مواجه خواهند شد. از این رو، آنها از چندین مکانیسم دفاعی برای بقا و سازگاری با شرایط کمبود آب استفاده می‌کنند (De Carvalho, 2008). هنگامی که تنش خشکی طولانی شود منجر به تولید بیش از حد گونه‌های فعال اکسیژن می‌شود (ROS) که این به نوبه خود باعث تنش اکسیداتیو می‌شود (Smirnoff, 1993). ROSها نتیجه کاهش جزئی اکسیژن اتمسفر (O_2) هستند. گیاهان دارای چندین مکانیسم دفاعی هستند که آنها را قادر می‌سازد تا ROS بیش از حد انباشته‌شده را سم‌زدایی کنند. یکی از این مکانیسم‌ها سیستم جمع‌کردن یا تمیزکردن است. این سیستم از دو نوع گروه‌های آنزیمی و غیرآنزیمی آنتی‌اکسیدان‌ها تشکیل شده است. گروه اول شامل محصول سم‌زدایی مالون دی‌آلدئید (MDA)، مونودیدروآسکوربات ردوکتاز (MDHAR)، کاتالاز (CAT)، پراکسیداز (POD)، سوپراکسید دیسموتاز (SOD)، آسکوربات پراکسیداز (APX) و گلوتاتیون ردوکتاز (GR). گروه دوم شامل گلوتاتیون (GSH)، کاروتنوئیدها، اسید آسکوربات (ASA) و توکوفرول‌ها است (Ashraf, 2009). از میان این آنزیم‌ها، آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی نقش کلیدی در افزایش تحمل به تنش‌های غیرزیستی مختلف دارند و در چندین نوع از مطالعات، آنها به عنوان نشانگرهای زیستی برای شناسایی نمونه‌های متحمل در هر دو مراحل نهال و گیاه کامل در نظر گرفته می‌شوند (Abedi and Pakniyat, 2010). در گیاهان دو مسیر برای بیوسنتز پرولین وجود دارد و مسیر ترجیحی شامل تبدیل گلوتامات به پرولین توسط دو واکنش متوالی کاتالیز شده ۱-پرولین-۵-کربوکسیلات سنتتاز (P5CS) و پیرولین-۵-کربوکسیلات ردوکتاز (Hu *et al*., 1992). بیان ژن *P5CS* کدکننده آنزیم P5CS در گندم تحت تنش اسمزی نشان داد که باعث تنظیم مثبت گیاه می‌شود و این موضوع با تجمع پرولین مرتبط است (Maghsoudi *et al*., 2018). علاوه بر این، بیان بیش از حد ژن P5CS در گندم تراریخته منجر به افزایش تحمل تنش به شرایط کم آبی به دلیل افزایش محتوای پرولین می‌شود (Vendruscolo *et al*., 2007). مطالعات مختلف تأیید کرده‌اند که تولید H_2O_2 تحت اثر SOD عامل محرک در مکانیسم‌های دفاعی آنتی‌اکسیدانی طبیعی است. بنابراین به نظر می‌رسد SOD به عنوان یکی از کارآمدترین آنزیم‌ها در مقابل رادیکال‌های آزاد به حساب می‌آید (Joanny, 2005). کاتالازها و سوپراکسید دیسموتازها از مؤثرترین آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی به شمار می‌روند. بیان ایزوآنزیم‌های کاتالاز خاص در برابر اکسیداتیو استرس القاءشده ناشی از یک تنش محیطی معین مهم و حیاتی هستند (Bakalova *et al*., 2004). ثابت شده است که خانواده ژن‌های بتائین آلدهید دهیدروژناز (*BADH*) گروه متنوعی از پروتئین‌های چند عملکردی که توسط مکانیسم‌های مختلف کاتالیز می‌شوند را کد می‌کنند (متین و همکاران، ۱۳۹۳). تحقیق در مورد کلونینگ و فعالیت آنزیم BADH در گیاهان ابتدا در اسفناج انجام شد (Pan *et al*., 1981). سپس ژن‌های اصلی کدکننده *BADH* بدون فعالیت آنزیمی و داده‌های اختصاصی سوبسترا با توجه به همسانی با اسفناج دسته‌بندی شدند (Fitzgerald *et al*., 2008). گونه‌های مختلف گیاهی بیشتر از یک ژن پارالوگ‌های شماره‌گذاری شده دارند مانند برنج، اسفناج، سویا و جو (Bradbury *et al*., 2005). برخلاف شناسایی ۷۵ درصدی چنین هموالگ‌هایی در سطح اسیدآمینه، ۹۲درصد حوزه‌های کاتالیزوری در برنج مشابه هستند (Fitzgerald *et al*., 2008). با این حال، بر اساس گونه‌های گیاهی، ایزوآنزیم‌های BADH در زیر سلول‌های مختلف قرار می‌گیرند که شامل مناطقی از جمله کلروپلاست‌ها، پراکسی‌زوم‌ها یا سیتوزول است (Shrestha, 2011). در کنار این نقش‌های مهم، *BADH* به عنوان یک ژن مرتبط با تحمل تنش غیرزنده در نظر گرفته می‌شود (Yang *et al*., 2015). تنش‌های غیرزنده (مانند خشکسالی، اسمولاریته، غرق‌شدن، دما، سرما، فلزات سنگین، ازون، زخم، تابش اشعه

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2025-01-02]

[DOI: DOI: 10.22034/13.63.249]

ماوراءبنفش و غیره) منجر به تغییر در متابولیسم گیاه می‌شود. از جمله مهار فتوسنتز، نسل گونه‌های فعال اکسیژن (ROS)، از هم گسیختگی غشاء و کمبود مواد مغذی پروتئین‌های TaNAC2A ازفاکتورهای رونویسی در گندم هستند که بازده‌شان در ارتباط با رشد گندم و همچنین در پاسخ به تنش‌های زنده و غیرزنده است. تراکم کلروفیل به عنوان یک معیار برای بررسی منبع در نظر گرفته می‌شود (Zobayed *et al.*, 2005). به علاوه، پایین‌آمدن غلظت کلروفیل نیز، به عنوان یک فاکتور محدودکننده غیرروزنه‌ای در وضعیت تنش خشکی تلقی می‌شود. گزارش‌هایی مبنی بر کاهش کلروفیل در خشکسالی شرایط تنش وجود دارد (Kuroda *et al.*, 1990). همچنین گزارش شده است میزان کلروفیل در ارقام مقاوم و حساس خشکی و تنش حرارتی کاهش یافته است. بر اساس آنچه ذکر شد، این پژوهش به منظور ارزیابی بیان ژن‌های *P5CS* (Δ1 - Pyrrolin-5 carboxylate synthetase)، *CAT* (catalase)، *SOD* (superoxide dismutase)، Betaine aldehyde dehydrogenase) *BADH* و *TaNAC2A* (Triticum aestivum N-Acetylcysteine) در مسیر القای تحمل به خشکی و برخی صفات مهم بیوشیمیایی شامل کلروفیل و پرولین و همچنین آنزیم‌های کاتالاز، سوپراکسید دیسموتاز و آسکوربیک پراکسیداز در ارقام جدید گندم انجام شد تا نقش و سازوکار آن‌ها در ایجاد تحمل به تنش خشکی مشخص شود تا بتوان رقم متحمل‌تر معرفی کرد و در برنامه‌های آتی به‌نژادی از آن بهره برد و همچنین به عنوان رقم متحمل به کشاورزان مناطق خشک معرفی کرد.

مواد و روش‌ها

در این مطالعه از سه رقم گندم به نام‌های کلاته، بهاران و گنبد استفاده شد که به‌دلیل رواج کاشت در منطقه و تنوع در عملکرد و اجزای عملکرد مورد استفاده قرار گرفتند. رقم بهاران جز ارقامی می‌باشد که به تازگی معرفی شده و ارقام کلاته و گنبد جز ارقامی هستند که به صورت رایج در منطقه کشت می‌شوند. از نظر تحمل به خشکی رقم کلاته متحمل‌تر و ارقام بهاران و گنبد حساس‌تر هستند.

بذور ارقام گندم مورد مطالعه پس از ضدعفونی با قارچ‌کش کاربندازیم ۶۰ درصد در شرایط مزرعه در پایان آذر ماه کشت شدند. آزمایش به صورت کرت خردشده در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی با سه تکرار انجام شد. فاکتور اصلی تیمار خشکی شامل ۰/۳ – بار (ظرفیت زراعی به‌عنوان تیمار شاهد)، ۲– بار و ۴– بار (که در شرایط مزرعه با کمک تانسیومتر که به‌طور مستمر از ابتدای کشت تا پایان فصل مستقر بود) اعمال شد. کنترل سطح تیمار خشکی به‌طور دقیق انجام شد. بدین منظور با نصب پناهگاه (سقف متحرک) از آبیاری ناخواسته در صورت بارندگی جلوگیری شد. در این آزمایش، فاکتور فرعی همان ارقام گندم مورد مطالعه بودند. همچنین هر کرت شامل پنج ردیف کاشت به طول ۴ متر کشت شد. تراکم کشت حدود ۳۵۰ دانه در هر مترمربع بود.

نمونه‌برداری و ارزیابی بیوشیمیایی و مولکولی: نمونه‌برداری تصادفی از برگ برای اندازه‌گیری صفات بیوشیمیایی و آنزیمی شامل کلروفیل، محتوای پرولین و آنزیم‌های کاتالاز، سوپراکسید دیسموتاز و آسکوربیک پراکسیداز وهمچنین بیان نسبی ژن‌ها در زمان خمیری سخت (زادوکس ۸۷) صورت گرفت. به این منظور نمونه برگ از تیمارهای مختلف برداشت شد و درون فویل آلومینیومی قرار گرفت و سپس نمونه‌ها در تانک نیتروژن مایع منجمد شد. بخشی از هر نمونه برای اندازه‌گیری صفات بیوشیمیایی و آنزیمی استفاده شد و بقیه تا مرحله استخراج RNA در فریزر منفی ۸۰ درجه سلسیوس نگهداری شدند.

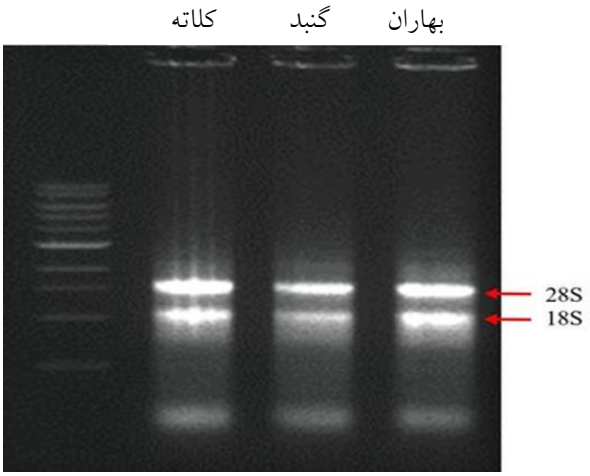
میزان فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز بر اساس روش Beyer و Fridovich (۱۹۸۷) و فعالیت آنزیم کاتالاز بر اساس Aebi (۱۹۸۴) آنزیم آسکوربیک پراکسیداز بر اساس روش Nakano و Asada (۱۹۸۱) انجام شد. برای اندازه‌گیری

جدول ۱- آغازگرهای طراحی‌شده

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2025-01-02]

[DOI: DOI: 10.22034/13.63.249]

نام ژن	آغازگر
P5CS	F- CCAGGAAAGATAGCAAGSS R- AAACCATCAGCAACCTCTG-
TaNAC2A	F-ATCGGCAGCGGAGCGATT R-AGGGGTCGAAGCGGTAGAGG-
BADH	F- TAGCGAATGCTAAAAGTGAAGGTGTG- R-TTCGGTAGAAAATTCCTTCACACA
CAT	F-CCATCTGGCTCTCCTACTGG- R-AGAACTTGGACGACGGCCCTGA
SOD	F-CCGGACTACCTGACCAACAT- R-AAGGTCCCGACAGTGGAATA-
ACTIN	F- GTTCCAATCTATGAGGGATACACGC- RGAACCTCCACTGAGAACAACATTACC-



شکل ۱- تعیین کیفیت RNA استخراج‌شده بر روی ژل آگارز

کلروفیل از روش Porra و همکاران (۱۹۸۹) و میزان پرولین به روش Bates و همکارانش (۱۹۷۳) انجام شد.

فرآیند استخراج RNA: استخراج RNA با استفاده از بافر استخراج پی بایوزول شرکت بیوفلکس (توکیو، ژاپن) صورت گرفت. کیفیت RNA استخراج‌شده، توسط الکتروفورز روی ژل آگارز ۱/۵ درصد تعیین شد. سپس سنتز cDNA با روش پیشنهادی شرکت فرمنتاز صورت گرفت و به‌وسیله آغازگرهای ژن خانه‌دار *ACTIN* با استفاده از PCR، cDNA سنتزشده آزمون شد (کاظمی و همکاران، ۱۳۹۱). جهت ارزیابی الگوی تظاهر ژن‌های مورد مطالعه از دستگاه iQ5 شرکت Bio Rad و کیت سایبر بیوپارس (دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان) که قادر است ارزیابی را در زمان واقعی انجام دهد، استفاده شد. به‌منظور نرمال‌سازی داده‌ها از ژن خانه‌دار *ACTIN* که دارای بیان یکسانی در تمام تیمارها است استفاده شد. آغازگرهای موردنیاز براساس اطلاعات موجود در سایت NCBI و با استفاده از نرم‌افزار پرایمر ۳ و در نظر گرفتن خصوصیات مطلوب برای استفاده در روش QRT-PCR طراحی شدند (جدول ۱). در پایان واکنش اطلاعات به نرم‌افزار REST منتقل‌شده و تجزیه داده‌ها انجام گرفت (Moloudi *et al.*, 2013).

بررسی کیفیت و کمیت RNA: کیفیت RNA استخراج شده، توسط الکتروفورز روی ژل آگارز یک درصد در دستگاه الکتروفورز افقی تعیین شد. تشکیل دو باند RNA ریبوزومی ۲۸S و ۱۸S در روی ژل نشان‌دهنده کیفیت بالای RNA خالص شده بود (شکل ۱).

نتایج و بحث

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2025-01-02]

[DOI: DOI: 10.22034/13.63.249]

نتایج تجزیه واریانس صفات مورد بررسی: تجزیه واریانس داده‌ها برای متغیرهای مورد بررسی حاکی از آن است که صفات میزان پرولین،کلروفیل a، کلروفیل b، فعالیت آنزیم‌های سوپراکسید دیسموتاز و آسکوربیک پراکسیداز و کاتالاز اختلاف معنی‌دار آماری در سطح یک درصد هم برای تیمارهای آبیاری و هم ارقام مختلف گندم داشت به عبارتی اختلاف معنی‌دار یک درصد از نظر محتوای کلروفیل a و b در ارقام گندم می‌تواند نشانگر اختلاف ژنتیکی و یا بهبود ژنتیکی در اثر تکامل بین گونه‌ها باشد (جدول ۳). شایان ذکر است که اثر متقابل عامل اصلی (تنش خشکی) با عامل فرعی (ارقام گندم) در مورد همه متغیرهای مورد بررسی در سطح یک درصد معنی‌دار بود (جدول ۳)، که به معنی عدم استقلال تأثیر آن دو است. در مطالعه حاضر ضریب تغییرات مربوط به هر کدام از متغیرهای اندازه‌گیری شده در محدوده مناسبی قرار داشتند؛ و کم‌ترین ضریب تغییرات متعلق به آنزیم سوپراکسید دیسموتاز و بیش‌ترین ضریب تغییرات مربوط به میزان پرولین بود (جدول ۳).

میزان پرولین: در ارقام گندم این مطالعه، میزان پرولین در شرایط آبیاری ۰/۳ – بار (ظرفیت زراعی به‌عنوان تیمار شاهد)، کمتر از دو تیمار دیگر بود. اما با وقوع تنش خشکی و افزایش شدت آن تا ۴- بار، روند افزایش پرولین نیز سرعت بیش‌تری به خود گرفت (شکل ۲). از بین ارقام به‌کار برده شده در مطالعه، رقم کلاته بیش‌ترین میزان پرولین را تحت هر سه تیمار خشکی دارا بود. محتوای پرولین به طور قابل‌توجهی تحت تنش افزایش یافت، اما همبستگی ضعیفی با صفات زراعی در هر دو شرایط بهینه و محدود آب داشت. همبستگی مثبت مشاهده شده بین عملکرد دانه و محتوای پرولین در شرایط تنش خشکی شواهدی را ارائه می‌دهد که تجمع پرولین در نهایت می‌تواند به عنوان ابزاری برای انتخاب مؤثر ژنوتیپ‌های متحمل به خشکی در نظر گرفته شود (Mwadzingeni *et al*., 2016).

میزان کلروفیل a: نتایج بررسی تغییرات محتوای کلروفیل a در ارقام مورد بررسی تحت تنش خشکی نشان داد که محتوای کلروفیل a با افزایش شدت تنش در ژنوتیپ‌های مختلف کاهش می‌یابد. میزان کاهش کلروفیل a در ژنوتیپ گنبد با مقدار (۱/۷ میلی‌گرم بر گرم وزن تر) در تنش شدید بیشتر از ژنوتیپ‌های دیگر بود. بررسی تغییرات محتوای کلروفیل تحت تنش خشکی نشان داد محتوای کلروفیل a با افزایش شدت تنش در ژنوتیپ‌های مختلف کاهش می‌یابد. فتوسنتز در گندم یکی از مهمترین ویژگی‌ها برای تحمل به تنش‌های غیرزیستی مانند خشکی است. افزایش فتوسنتز در شرایط ایده‌ال آبیاری، باعث بهبود عملکرد می‌شود و کمبود آب طی تنش خشکی و در نهایت عدم فتوسنتز کافی عملکرد گندم را مختل کرده و پیرشدن بخش‌های مختلف گیاه را تسریع می‌کند (نواب‌پور و نجفی، ۱۴۰۱).

میزان کلروفیل b: نتایج بررسی تغییرات محتوای کلروفیل b در ارقام مورد بررسی تحت تنش خشکی نشان داد که محتوای کلروفیل b با افزایش شدت تنش در ژنوتیپ‌های مختلف کاهش می‌یابد (شکل ۴). میزان کاهش کلروفیل b در ژنوتیپ بهاران با مقدار(۱/۱ میلی‌گرم بر گرم وزن تر) در تنش شدید بیشتر از ژنوتیپ‌های دیگر بود. تأثیر تنش خشکی بر روی کلروفیل به ژنوتیپ گیاه و شرایط محیط بستگی دارد. کاهش مقدار کلروفیل بر اثر تنش خشکی می‌تواند به دلیل تولید رادیکال‌های آزاد و در نتیجه پراکسیداسیون لیپیدی غشاء و تجزیه رنگدانه‌های کلیروفیل باشد. همچنین تنش خشکی می‌تواند باعث افزایش فعالیت آنزیم‌های کلروفیلاز و در نتیجه تجزیه کلروفیل شود، همچنین تنش خشکی منجر به بسته‌شدن روزنه‌ها در گیاهان می‌شود که این امر با تداخل در تبادل Co_2 باعث کاهش فتوسنتز و محتوای کلروفیل می‌شود. از آنجایی که تجزیه کلروفیل پاسخ عمومی است، می‌توان نتیجه گرفت که تغییرات در میزان کلروفیل یکی از شاخص‌های مهم تنش محیطی است و تحمل گونه‌ها به تنش را توصیف می‌کند (نواب‌پور و نجفی، ۱۴۰۱).

فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی ارقام گندم تحت تیمارهای خشکی: با توجه به نتایج تجزیه واریانس داده‌ها، اثر

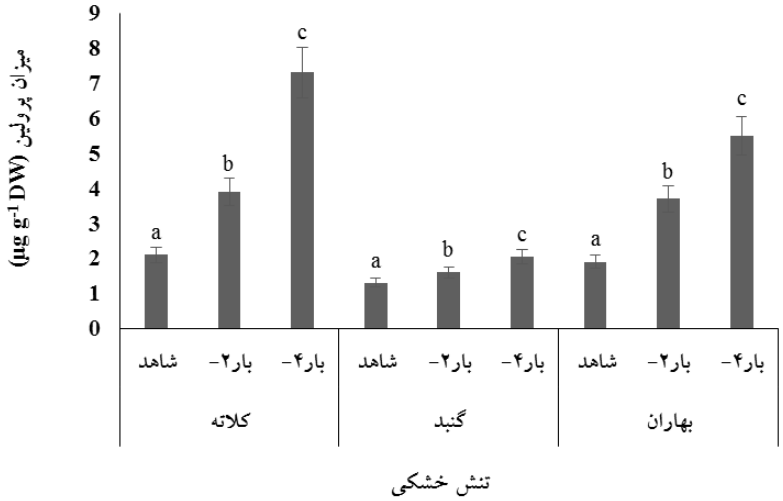
[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2025-01-02]

[DOI: DOI: 10.22034/13.63.249]

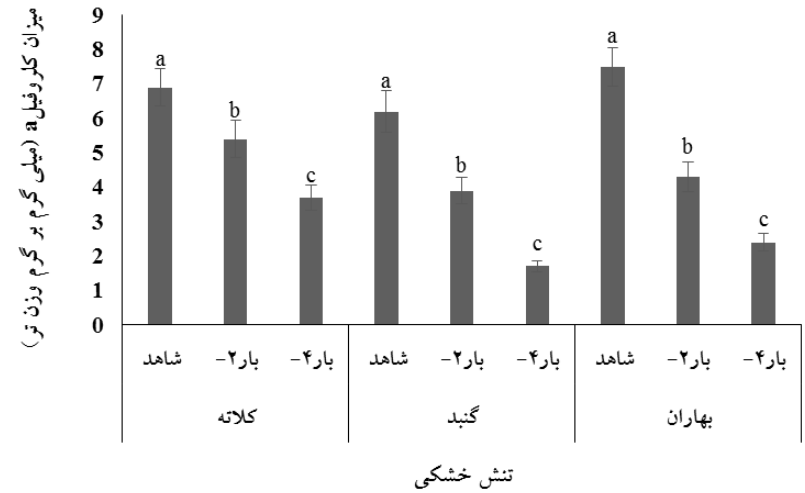
جدول ۳- نتایج تجزیه واریانس صفات اندازه‌گیری‌شده در گندم تحت شرایط تنش خشکی

منابع تغییرات	درجه آزادی	پرولین	کلروفیل a	کلروفیل b	سوپراکسید دیسموتاز	آسکوربیک پراکسیداز	کاتالاز
بلوک	۲	۵۱^{ns}	۳۶/۱۹^{ns}	۱۰/۳^{ns}	۱۱/۳^{ns}	۱۲^{ns}	۲۱/۰۹^{ns}
تنش	۲	۶۲۴**	۱۳۸/۵**	۸۴/۰**	۵۳/۱**	۷۳**	۱۲۱/۵**
خطای اصلی	۴	۲۲	۷/۶	۶/۱	۲/۱۳	۲/۳	۵/۱
رقم	۲	۳۱۰**	۴۶/۵**	۶۶/۷**	۲۹/۳**	۲۲**	۶۳/۵**
تنش × رقم	۴	۱۰۷**	۳۱/۱**	۲۹/۳**	۲۴/۳**	۱۶**	۳۱/۱**
خطای فرعی	۱۲	۲۱/۴۳	۵/۵	۴/۶	۱/۶۳	۲/۲	۵/۳
ضریب تغییرات	-	۶/۹	۴/۳	۴/۱	۱/۲	۳/۱	۲/۳

ns و ** به ترتیب غیر معنی‌داری و معنی‌داری در سطح احتمال یک درصد



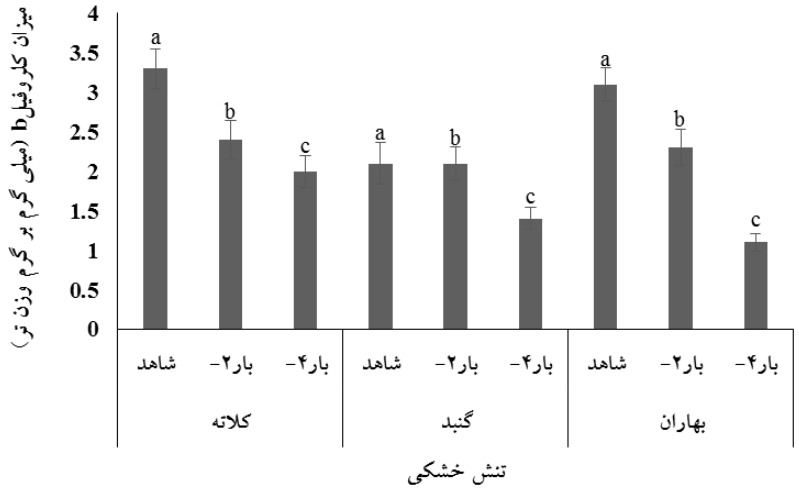
شکل ۲- مقایسه میانگین تیمارهای خشکی و ارقام گندم برای میزان پرولین



شکل ۳- مقایسه میانگین تیمارهای خشکی و ارقام گندم برای متغیر میزان کلروفیل a

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2025-01-02]

[DOI: DOI: 10.22034/13.63.249]



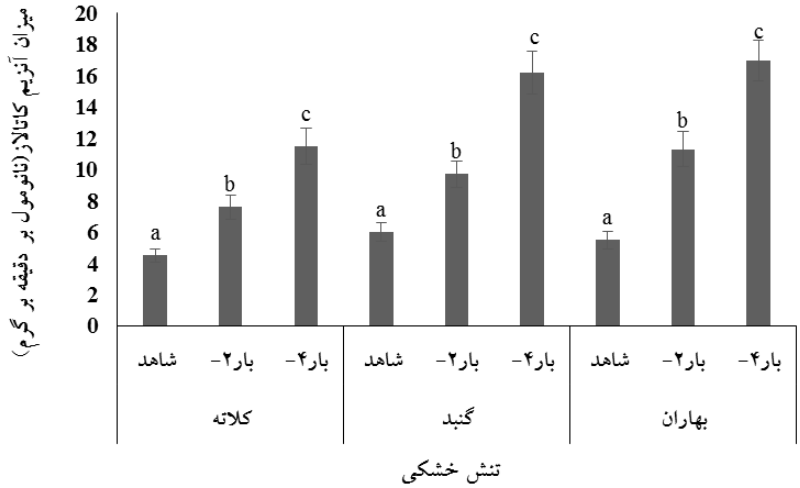
شکل ۴- مقایسه میانگین تیمارهای خشکی و ارقام گندم برای متغیر میزان کلروفیل b

ساده رقم وتنش و اثر متقابل رقم × تنش خشکی بر میزان آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی (کاتالاز، سوپراکسید دیسموتاز و آسکوربات پراکسیداز) ارقام مختلف گندم در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار بود (جدول ۳). سوپراکسید دیسموتاز به عنوان اولین آنزیم برای از بین بردن ROSها وارد عمل می‌شود. تحقیقات پیشین تأکید بر این موضوع دارد که کاتالاز و آسکوربات پراکسیداز نقش مکمل در مقابله با H_2O_2 تولید شده بر اثر فعالیت SOD دارند. نکته‌ای که در تمام مطالعات و پژوهش‌ها به دست آمده است مؤید این است که تمام آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی در طی روند اعمال تنش خشکی افزایش پیدا نمی‌کنند بلکه بسته به نوع و غلظت تنش، گونه گیاهی، مرحله رشد ونمو گیاهی دسته منحصراً خاصی از آنتی‌اکسیدان‌ها افزایش می‌یابند در واقع تنش‌های محیطی باعث بروز دامنه وسیعی از واکنش‌ها در گیاهان، از تغییر بیان ژن و متابولیسم سلول تا تغییر در سرعت رشد و عملکرد گیاهان می‌شود (Du *et al.*, 2011).

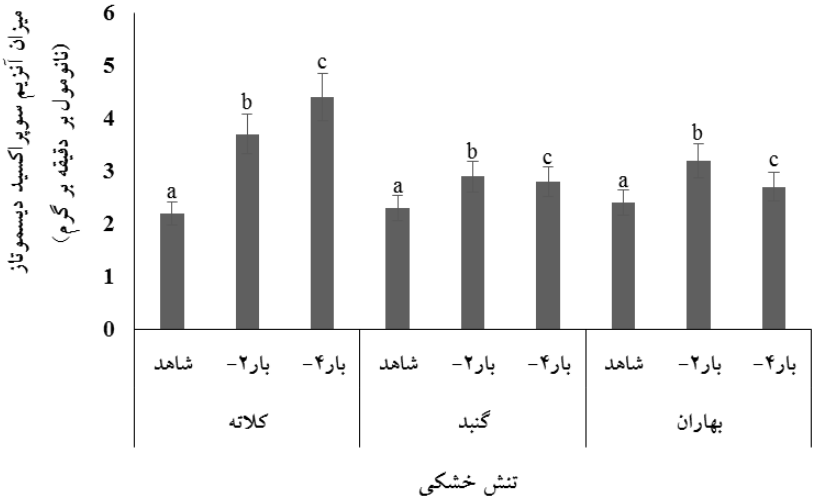
میزان آنزیم کاتالاز: طبق نتایج به‌دست آمده در این مطالعه با افزایش خشکی، میزان فعالیت آنزیم CAT بیش‌تر شده و در تیمار ۴- بار به بالاترین میزان خود رسیده‌اند (شکل ۵). مقایسه میانگین ارقام گندم نیز نشان می‌دهد فعالیت آنزیمی آنزیم یاد شده در ارقام بهاران و گنبد نسبت به رقم کلاته بیش‌تر است و خشکی باعث افزایش فعالیت آنزیمی در این رقم‌ها نسبت به شرایط آبیاری شاهد شده است (شکل ۵). آنزیم کاتالاز فقط در پراکسیزوم حضور دارد ولی برای زدودن اثرات سمی ROS ها در زمان تنش ضروری است (Sharma *et al.*, 2012). به نظر افزایش فعالیت آنزیمی در ارقام مورد مطالعه، به معنی کنترل بهتر ROS توسط سیستم آنتی‌اکسیدانی است. به عبارتی می‌توان گفت از دلایل افزایش آنزیم کاتالاز در این مطالعه تجزیه هیدروژن پراکسید به آب و اکسیژن است تا اثر سمیت آن را کاهش دهد. وقوع تنش خشکی بعد از مرحله گرده افشانی باعث افزایش فعالیت آنزیم کاتالاز می‌شود. این آنزیم یکی از مهمترین آنزیم‌های جمع‌آوری کننده پراکسید هیدروژن است که افزایش فعالیت این آنزیم باعث مقاومت گیاه به شرایط تنش شده و در نهایت موجب افزایش عملکرد می‌گردد افزایش سرعت فعالیت آنزیم کاتالاز تحت تنش خشکی به علت کاهش اثرات پراکسیداسیون در مقاومت گیاه به تنش نقش عمده‌ای ایفا می‌کند که در بسیاری از مطالعات گزارش شده است (شریفی و محمدخانی، ۱۳۹۵).

میزان آنزیم سوپراکسید دیسموتاز: در این مطالعه آنزیم SOD با اعمال تنش خشکی (به‌خصوص در تیمار ۴- بار) برای رقم کلاته افزایش یافته است و برای ارقام گنبد و بهاران افزایش کمتری داشته است (شکل ۶). به‌طور علمی مشخص شده است که گیاهان سیستم دفاعی سازمان یافته خوبی دارند در مقابل گونه‌های اکسیژن فعال (ROS) در شرایط تنش

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2025-01-02]
[DOI: DOI: 10.22034/13.63.249]



شکل ۵- مقایسه میانگین تیمارهای خشکی و ارقام گندم برای میزان آنزیم CAT



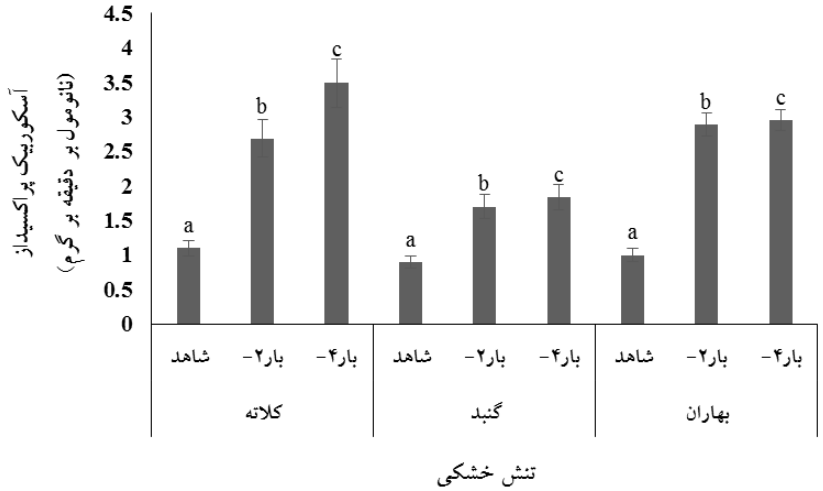
شکل ۶- مقایسه میانگین تیمارهای خشکی و ارقام گندم برای میزان آنزیم سوپراکسید دیسموتاز

خشکی و اولین خط دفاعی آنها را سوپراکسید دیسموتاز (SOD) تشکیل می‌دهد و از طریق سم‌زدایی رادیکال‌های سوپراکسید. افزایش بیشتر در فعالیت SOD ممکن است غلظت سمی احتمالی رادیکال‌های O2 را کاهش دهد. به علاوه کاهش فعالیت سوپراکسید دیسموتاز تحت تنش خشکی ممکن است به دلیل کاهش سنتز یا افزایش تخریب آنزیم باشد (Zaefyzadeh *et al*., 2009) یکی از مهمترین آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان، آنزیم سوپراکسید دیسموتاز است که بسیاری از دانشمندان و پژوهشگران آن را قوی‌ترین آنزیم آنتی‌اکسیدانی معرفی کردند که توانایی بالایی در جهت حفظ گیاهان در مقابل حمله ROSها دارند و سبب پایداری گیاهان در مقابل تنش‌ها می‌شود (Gill and Tuteja, 2010). در گزارش‌هایی در آرابیدوپسیس (Shafi *et al*., 2015) و گندم (Wang *et al*., 2016) نشان داده شده است که افزایش بیان سوپراکسید دسموتاز باعث افزایش تحمل به تنش شوری شده است.

میزان آنزیم آسکوربیک پراکسیداز: تغییرات میزان آنزیم آسکوربیک پراکسیداز در شکل ۷ به تصویر کشیده شده است. همان طور که مشاهده می‌شود مقدار این آنزیم در شرایط عدم تنش خشکی در پایین‌ترین مقدار بوده است اما با ایجاد شرایط تنش خشکی این مقدار افزایش می‌یابد. در ارقام گندم نوع

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2025-01-02]

[DOI: DOI: 10.22034/13.63.249]



شکل ۷- مقایسه میانگین تیمارهای خشکی و ارقام گندم برای میزان آنزیم آسکوربیک پراکسیداز

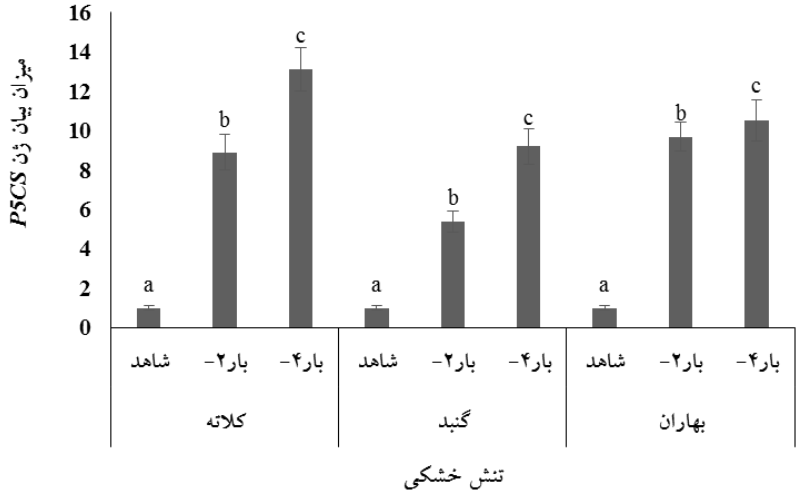
گنبد و بهاران این مقدار در شرایط عدم تنش خشکی پایین بوده و با ایجاد شرایط تنش خشکی ۲- و ۴- بار افزایش ناچیز و تقریباً یکسانی داشته است. در نوع کلاته نیز این مقدار در شرایط عدم تنش خشکی پایین بوده و با ایجاد شرایط تنش خشکی ۲- و ۴- بار این مقدار به میزان قابل توجهی افزایش یافته است. بنابراین رقم کلاته بیشترین میزان تغییرات را از نظر بیان آنزیم مورد نظر در بین ارقام دیگر داشته است. این افزایش بیان می‌تواند ناشی از نقش کلیدی این آنزیم در حذف H_2O_2 و نقش مهم آن در مدیریت گونه‌های فعال اکسیژن در شرایط تنش باشد (Gupta *et al.*, 2011).

میزان بیان ژن کاتالاز: نتایج ارزیابی بیان ژن caT نسبت به شاهد (شکل ۸) نشان داد که رقم کلاته بالاترین مقدار بیان (۳) را نسبت به شاهد در شرایط تنش شدید داشت. رقم کلاته طی تنش متوسط نیز بیشترین بیان ژن (۱/۲) را دارا بود. کمترین میزان بیان نسبی ژن در شرایط شاهد برای همه رقم‌های گندم با مقدار (۱) به دست آمد. کاتالازها تقریباً در تمام موجودات زنده وجود دارند و نقش مهمی در رشد گیاه و پاسخ به تنش‌های مختلف دارند. با این حال، اطلاعات نسبتاً کمی در مورد ژن‌های CAT در گندم و گونه‌های مربوط به Triticeae وجود دارد (Zhang *et al.*, 2022). برای کم‌کردن و از بین‌بردن انواع اکسیژن‌های فعال و اجتناب از آسیب‌های اکسیداتیو در گیاهان فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان نظیر کاتالاز و سوپراکسید دیسموتاز و پراکسیداز افزایش می‌یابد (Smeets *et al.*, 2008). از آنجایی که کاتالاز به حفظ هموستازی اکسیژن فعال در زمان تنش‌های زنده و غیرزنده کمک می‌کند، بنابراین فعالیت آن نیز در گیاه به هنگام تنش بیشتر می‌شود (Magbanua *et al.*, 2007). افزایش فعالیت کاتالاز در گندم تحت تنش خشکی گزارش شده است و این افزایش خصوصاً در واریته‌های مقاوم بالاتر بوده است (Simonovicova *et al.*, 2010).

میزان بیان ژن *P5CS*: نتایج ارزیابی بیان ژن *P5CS* نسبت به شاهد (شکل ۹) نشان داد که رقم کلاته بالاترین مقدار بیان (۱۳/۱) را نسبت به شاهد در شرایط تنش شدید داشت. رقم بهاران طی تنش متوسط نیز بیشترین بیان ژن را با مقدار (۹/۷) را دارا بود.کمترین میزان بیان نسبی ژن در شرایط شاهد برای همه رقم‌های گندم کلاته و گنبد و بهاران با مقدار (۱) به دست آمد. در آزمایش دیگری محتوای پرولین در برگ هر دو رقم در گیاهان گندم سیروان و شیراز تحت تنش خشکی به طور معنی‌داری بیشتر از گیاهان شاهد بود. بین دو رقم گندم از نظر میزان پرولین تفاوت معنی‌داری وجود داشت، به طوریکه رقم سیروان در شرایط تنش خشکی به‌طور معنی‌داری محتوای پرولین بیشتری نسبت به شیراز نشان داد در مقاطع زمانی نمونه برداری، حداکثر محتوای پرولین در ۷۲ ساعت پس از قرار گرفتن در معرض تنش ثبت شد. به علاوه استفاده از سیلیکون

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2025-01-02]
[DOI: DOI: 10.22034/13.63.249]

شکل ۸- مقایسه میانگین تیمارهای خشکی و ارقام گندم برای بیان نسبی ژن کاتالاز

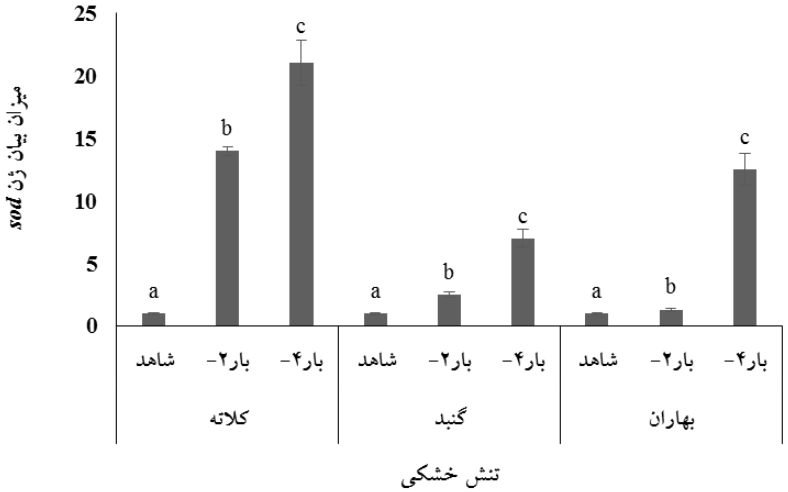


شکل ۹- مقایسه میانگین تیمارهای خشکی شامل و ارقام گندم برای بیان ژن *P5CS*

(Si) و اسید سالیسیلیک (SA) محتوای پرولین گیاهان تحت تنش آبی را افزایش داد. علاوه بر این، اثر Si + SA بر محتوای پرولین در مقایسه با کاربرد Si یا SA به طور جداگانه بیشتر بود (Maghsoudi *et al*., 2018). ژن *P5CS* به عنوان یکی از ژن‌های درگیر در مسیر متابولیسمی پاسخ به تنش خشکی مطرح است که بیوسنتز پرولین را کنترل می‌نماید. به عبارتی یکی از ژن‌های کلیدی درگیر در بیوسنتز پرولین، ژن *P5CS* است که در لوبیا شناسایی شده است (Chen *et al*., 2010). همان‌طور که ملاحظه می‌گردد افزایش بیان ژن *P5CS* در رقم مقاوم به خشکی (بهاران) نسبت به رقم حساس (پیشتاز) مشاهده می‌شود و این افزایش احتمالاً منجر به افزایش سطح فرآورده نهایی از این ژن (پرولین) می‌شود (KaviKishor *et al*., 2005). افزایش بیان ژن *P5CS* در بخش‌های رویشی بسیاری از گیاهان عالی از جمله برنج زراعی (Hur *et al*., 2004) و آرابیدوپسیس (Seki *et al*., 2005) گزارش شده است.

میزان بیان ژن SOD: نتایج ارزیابی بیان ژن SOD نسبت به شاهد (شکل ۱۰) نشان داد که رقم کلاته بالاترین مقدار بیان (۲۱) را نسبت به شاهد در شرایط تنش شدید داشت. همچنین رقم کلاته طی تنش متوسط نیز بیشترین بیان ژن را با مقدار

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2025-01-02]
[DOI: DOI: 10.22034/13.63.249]



شکل ۱۰- مقایسه میانگین تیمارهای خشکی و ارقام گندم برای بیان ژن *sod*

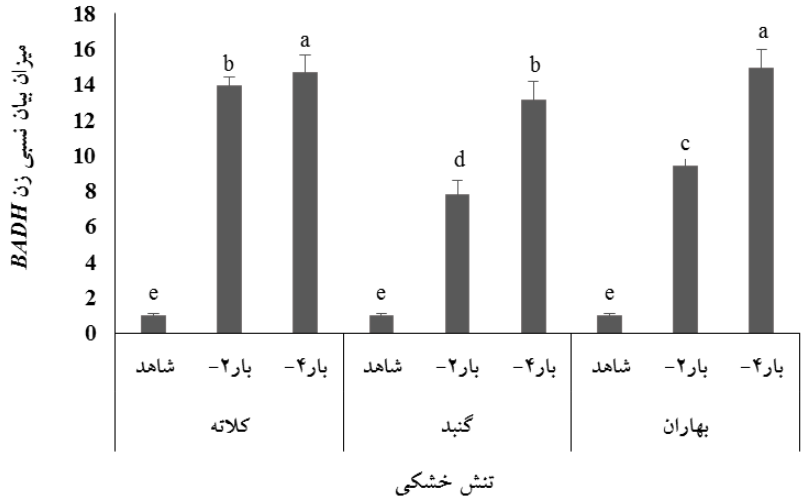
شکل ۱۱- مقایسه میانگین تیمارهای خشکی و ارقام گندم برای بیان ژن *TaNAC*

(۱۴) دارا بود. کمترین میزان بیان نسبی ژن در شرایط شاهد برای همه رقم‌های گندم کلاته و گنبد و بهاران به دست آمد. آزمایشات صحرایی و نتایج بیوانفورماتیک نشان داد که سوپراکسید دیسموتاز (SOD) مؤثرترین آنتی‌اکسیدان در مقاومت تریتیکاله به تنش خشکی بود. بنابراین می‌توان از آن به عنوان یک شاخص انتخاب غیرمستقیم در مراحل اولیه برای تشخیص ژنوتیپ‌های مقاوم به تنش خشکی استفاده کرد (Saed-Moucheshi *et al*., 2021).

میزان بیان ژن *TaNAC*: تغییرات میزان بیان ژن *TaNAC* در ارقام مختلف گندم تحت شرایط تنش خشکی در شکل ۱۱ نشان داده شده است. همانطور که مشاهده می‌شود بیان ژن *TaNAC* در شرایط عدم تنش خشکی در پایین‌ترین مقدار (۱) بود، اما با ایجاد شرایط تنش خشکی این مقدار در هر سه نوع مخصوصاً گندم کلاته به طور چشمگیری افزایش یافت. به عبارتی رقم کلاته تحت شرایط شدید تنش بالاترین مقدار (۷/۳) را نسبت به رقم‌های گنبد و بهاران داشت. در شرایط تنش متوسط نیز رقم کلاته با مقدار بیان (۳/۸) بیشتر از رقم بهاران با مقدار (۳/۱) و همچنین رقم گنبد با مقدار (۱/۷) بود.

میزان بیان ژن *BADH*: نتایج ارزیابی بیان *BADH* نسبت به شاهد (شکل ۱۲) نشان داد که رقم بهاران بالاترین مقدار

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2025-01-02]
[DOI: DOI: 10.22034/13.63.249]



شکل ۱۲- مقایسه میانگین تیمارهای خشکی و ارقام گندم برای بیان ژن *BADH*

بیان (۱۴/۹) را نسبت به شاهد در شرایط تنش شدید داشت. رقم کلاته طی تنش متوسط نیز بیشترین بیان ژن را با مقدار (۱۳/۹) را دارا بود.کمترین میزان بیان نسبی ژن در شرایط شاهد برای همه رقم‌های گندم کلاته و گنبد و بهاران با مقدار (۱) به دست آمد. بسیاری از گیاهان در پاسخ به تنش آبی بتائین را جمع می‌کنند. بتائین آلدهید دهیدروژناز (*BADH*) آنزیم کلیدی در بیوسنتز بتائین در گیاهان است و می‌تواند توسط ژن *BADH* تنظیم شود. ما یک ارتباط آشکار بین تنظیم رونوشت بالا و تجمع بتائین تحت تنش آب مشاهده کردیم. نتایج نشان داد که محتوای بتائین و بیان ژن *BADH* در رقم متحمل به خشکی تحت تنش خشکی به طور معنی‌داری افزایش یافت. تجمع بتائین و بیان ژن *BADH* ممکن است به عنوان یک پاسخ برای از بین بردن اثرات منفی خشکسالی عمل کند و ممکن است نقش مهمی در حفظ فعالیت فتوسنتزی در گیاهان تحت تنش آبی داشته باشد (Li *et al.*, 2016).

نتیجه‌گیری

به عنوان نتیجه‌گیری کلی این پژوهش می‌توان دریافت که ایجاد تنش خشکی صفات بیوشیمیایی را تحت تأثیر قرار داده و منجر به شروع فرآیند پاسخ گیاه به تنش شده و بیان ژن‌های دخیل در این پاسخ که شامل *SOD*، *P5CS*، BADH، *CAT*، *TaNAC2A* در هر سه رقم گندم یعنی کلاته، بهاران و گنبد را افزایش داد. میزان بیان ژن *BADH* با ایجاد شرایط تنش خشکی ۲- و ۴- بار در هر سه رقم گندم یعنی کلاته، گنبد و بهاران به طور قابل توجهی افزایش یافت. بیان ژن کاتالاز، *TaNA* و *SOD* در شرایط تنش خشکی در گندم کلاته نسبت به ارقام بهاران و گنبد افزایش بیشتری داشت. مقدار بیان ژن *P5CS* در شرایط تنش خشکی ۲- و ۴- بار در هر سه رقم کلاته، گنبد و بهاران افزایش قابل توجهی داشت. به علاوه میزان فعالیت آنزیم آسکوربیک پراکسیداز، سوپراکسید دیسموتاز و کاتالاز در هر سه رقم افزایش یافت. بین آنزیم‌های مورد مطالعه، آنزیم سوپراکسید دیسموتاز فعالیت کمی نسبت به دو آنزیم دیگر داشت که می‌تواند بیانگر این موضوع باشد که آنزیم مورد نظر احتمالاً نقش ضعیفی در محافظت گیاه از تنش خشکی ایفا می‌نماید، به عبارتی افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان تحت تنش کمبود آب به طور احتمال مانع از تجزیه پروتئین‌های گیاهی در تنش خشکی شده است. گیاهان غالباً در معرض شرایط تنش هستند و بنابراین از طریق فرآیندهای فیزیولوژیکی، بیوشیمیایی و همچنین سلولی و مولکولی به این تنش‌ها پاسخ داده و خود را با شرایط محیطی منطبق و یا نسبت به آن متحمل می‌سازند به محض درک و تشخیص تغییرات درون سلولی، مسیرهای پیام‌رسانی مختلفی به منظور تبدیل تنش فیزیکی به یک پاسخ بیوشیمیایی مناسب شروع شده و هر یک از آنها بیان یک دسته خاص از ژن‌های پاسخ

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2025-01-02]
[DOI: DOI: 10.22034/13.63.249]

دهنده به تنش را سبب می‌شوند. شناسایی این گونه ژن‌ها و تعیین الگوی بیان آنها در پاسخ به انواع تنش‌ها موجب خواهد شد تا درک بهتری از عملکرد آنها در سازگار نمودن گیاهان به انواع تنش‌ها حاصل شود و راهکارهای مؤثری در اصلاح گیاهان جهت بهبود تحمل به تنش ایجاد شود. با توجه به نتایج تجزیه و تحلیل این مطالعه می‌توان نتیجه گرفت، رقم کلاته در فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان بیشترین میزان را داشت که نمایانگر برتری این رقم بر ارقام دیگر بود که می‌توان پس از انجام سایر آزمایش‌های تکمیلی از آن‌ها در پروژه‌های اصلاحی بعدی به‌عنوان ارقام مطلوب در تحمل به تنش خشکی بهره برد.

تشکر و قدردانی

سپاسگزار کسانی هستم که سرآغاز تولد من هستند. از یکی زاده می‌شوم و از دیگری جاودانه. استادی که سپیدی را بر تخته سیاه زندگیم نگاشت و مادری که تار مویی از او به پای من سیاه نماند.

منابع

شریفی، پریسا، و محمدخانی، نیر (۱۳۹۵). پاسخ‌های فیزیولوژیک و فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی ژنوتیپ‌های مختلف گندم تحت شرایط تنش خشکی. *تحقیقات کاربردی اکوفیزیولوژیکی گیاهی*، ۳(۲)، ۱۰۳-۱۲۶.

متین، رضا، ابراهیمی، محمدعلی و نیازی، علی (۱۳۹۳). بررسی بیان ژن‌های *P5CS* و *BADH* در سطوح مختلف تنش شوری و ABA در دو رقم گندم زراعی با استفاده از qRT–PCR. *مجله ژنتیک و اصلاح نباتات ایران*، ۳(۱)، ۳-۴۸.

کاظمی، گزل، نواب‌پور، سعید، و رمضانپور، سید ساناز (۱۳۹۱). ارزیابی بیان ژن کاتالاز و صفات مورفولوژیکی در دو رقم گندم تحت تنش شوری. مجله ژنتیک نوین، ۷(۱)، ۷۹-۸۷.

نواب‌پور، سعید، و نجفی، حوریه (۱۴۰۱). ارزیابی برخی صفات بیوشمیمیایی و بیان دو ژن از خانواده MYB . *پژوهش‌های ژنتیک گیاهی*، ۱۰(۹)، ۳۴-۱۲۳.

Aebi, H. (1984). Catalase in vitro. Methods in Enzymology. *Orlando*, 105, 121-126.

Abedi, T. & Pakniyat, H. (2010). Antioxidant enzyme changes in response to drought stress in ten cultivars of oilseed rape (*Brassica napus* L.). *Czech Journal of Genetics and Plant Breeding*. 46, 27-34. https://doi.org/10.17221/67/2009-CJGPB.

Ashraf, M. (2009). Biotechnological approach of improving plant salt tolerance using antioxidants as markers. *Biotechnology Advances*, *27*, 84-93. https://doi. 10.1016/j.biotechadv.2008.09.003.

Bates, L. S., Waldren, R. P. & Teare, I. D. (1973). Rapid determination of free proline for water-stress studies. *Plant and Soil*, *39*(1), 205-207.

Bakalova, S., Nikolova, A., & Nedeva, D. (2004). Isoenzyme profiles of peroxidase, catalase and superoxide dismutase as affected by dehydration stress and ABA during germination of wheat seeds. Bulg. *Journal of Plant Physiology*, *30*(1-2), 64-77. https://doi. 10.1556/ABiol.61.2010.1.8

Beyer, Jr, W. F. & Fridovich, I. (1987). Assaying for superoxide dismutase activity: Some large consequences of minor changes in conditions. *Analytical Biochemistry*, *161*(2), 559-566. https://doi. org/10.1016/0003-2697(87)90489-1

Bradbury, L. M., Fitzgerald, T. L., & Henry, R. J. (2005). The gene for fragrance in rice. *Plant Biotechnol*, *3*, 363-370. https://doi. 10.1111/j.1467-7652.2005.00131.x

Costa, R. C. L., Lobato, A. K. S., Silveira, J. A. G., & Laughinghouse, I. V. (2011). ABA-mediated proline synthesis in cowpea leaves exposed to water deficiency and rehydration. *Turkish Journal of Agriculture and Forestry*, *35*, 309-317. http://dx.doi.org/10.3906/tar-0911-409

Chen, J., Zhang, X., & Jing, R. (2010). Cloning and genetic diversity analysis of a new *P5CS* gene from common bean (*Phaseolus vulgaris* L.). *Theory Appl Gen*, *120*, 1393-1404.

De Carvalho, M. H. C. (2008). Drought stress and reactive oxygen species. *Plant Signaling Behavior*, *3*, 156-165. https://doi.org/10.4161/psb.3.3.5536

Du, J. B., Yuan, S., Chen, Y. E., Sun, X., Zhang, Z. W., Xu, F., & Lin, H. H. (2011). Comparative expression analysis of dehydrins between two barley varieties, wild barley and *Tibetan hulless* barley associated with different stress resistance. *Acta Physiologiae Plantarum*, *33*(2), 567-574. https://doi.10.1007/s11738-010-0580-0

Dhanda, S. S., Sethi, G. S., & Behl, R. K. (2004). Indices of drought tolerance in wheat genotypes at early stages of plant growth. *Journal Agron Crop Science*, 190, 6-12. http://dx.doi.org/10.1111/j.1439-037X.2004.00592.x.

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2025-01-02]

[DOI: DOI: 10.22034/13.63.249]

Fatemi, F., Kianersi, F., Pour Aboughadareh, A., Poczai, P., & Jadidi, O. (2022). Overview of identified genomic regions associated with various agronomic and physiological traits in barley under abiotic stresses. *Applied Scinces*, *12*, 5189. http://dx.doi.org/10.3390/app12105189

Fitzgerald, T. L., Waters, D. L., & Henry, R. J. (2008). Betaine aldehyde dehydrogenase in plants. *Plant Biology*, *11*, 119-130. https://doi.org/10.1111/j.1438-8677.2008.00161.x.

Gill, S. S. & Tuteja, N. (2010). Reactive oxygen species and antioxidant machinery in abiotic stress tolerance in crop plants. *Plant Physiology and Biochemistry*, *48*(12), 909-930. https://doi. 10.1016/j.plaphy.2010.08.016

Gupta, B., Pathak, G. C., & Pandey, N. (2011). Induction of oxidative stress and antioxidant responses in *Vigna mungo* by zinc stress. *Journal of Plant Physiology*, *58*(1), 85-91.

Hu, C. A., Delauney, A. J. & Verma, D. P. (1992). A bifunctional enzyme (delta 1-pyrroline-5-carboxylate synthetase) catalyzes the first two steps in proline biosynthesis in plants. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, *89*, 9354-9358. https://doi.org/10.1073/pnas.89.19.9354

Hur, J., Jung, K. H., Lee, C. H., & An, G. (2004). Stress- inducible *OsP5CS2* gene is essential for salt and cold tolerance in rice. *Plant Science*, *167*, 417-426.

KaviKishor, P. B., Sangam, S., & Amrutha, R. N. (2005). Regulation of proline biosynthesis, degradation, uptake and transport in higher plants: Its implications in plant growth and stress tolerance. *Current Science*, *88*, 424-438.

Kuroda, M., Qzawa, T., & Imagawa, H. (1990). Changes in chloroplast peroxidase activities in relation to chlorophyll loss in barley leaf segments. *Physiologia Plantarum*, *80*, 555-560. https://doi.org/10.1111/j.1399-3054.1990.tb05678.x

Li, G., Wu, H., Sun, Y., & Zhang, S. (2016). Betaine aldehyde dehydrogenase (BADH) expression and betaine production in Sugarbeet cultivars with different tolerances to drought stress. *An International Journal of Sugar Crops and Related Industries*, *18*, 420-3. https://doi.org/10.1007/s12355-015-0402-1

Lobato, A. K. S., Luz, L. M., Costa Santos, R. C. L., Filho, B. G., Meirelles, A. C. S., Oliveira, Neto, C. F., Laughinghouse, H. D., Neto, M. A. M., Alves, G. A. R., Lopes, M. J. S., & Neves, H. K. B. (2009). Si exercises influence on nitrogen components in pepper subjected to water deficit. *Research Journal of Biological Sciences*, *4*, 1048-1055.

Maghsoudi, K., Emam, Y., Niazi, A., Pessarakli, M., & Arvin, M. J. (2018). *P5CS* expression level and proline accumulation in the sensitive and tolerant wheat cultivars under control and drought stress conditions in the presence/absence of silicon and salicylic acid. *Journal of Plant Interactions*, *13*(1), 461-471. https://doi.org/10.1080/17429145.2018.1506516

Magalhaes, J. A. A. (2011). Influencia de caracteristicas fenologicas na avaliacao da tolerancia a seca em sorgo. In Circular Tecnica 165; Embrapa Milho e Sorgo: Sete Lagoas, Brazil.

Magbanua, Z. V., Moraes, C. M., Brooks, T. D., Williams, W. P., & Luthe, D. S. (2007). Is catalase activity one of the factors associated with maize resistance to *Aspergillus flavus*. *Molecular Plant-Microbe Interactions*, *20*, 697-706. https://doi. 10.1094/MPMI-20-6-0697

Mwadzingeni, L., Shimelis, H., Tesfay, S., & Tsilo, T. J. (2016). Screening of bread wheat genotypes for drought tolerance using phenotypic and proline analyses. *Frontiers in Plant Science*, *25* (7), 12-76. https://doi.org/10.3389/fpls.2016.01276

Moloudi, F., Navabpour, S., Soltanloo, H., Ramezanpour, S. S., & Sadeghipour, H. (2013). Catalase and metallothionein genes expression analysis in wheat cultivars under drought stress condition. *Journal of Plant Molecular Breeding*, *1*(2), 58-64. Https://doi. 10.22058/JPMB.2013.3262

Nakano, Y. & Asada, K. (1981). Hydrogen peroxide is scavenged by ascorbate-specific peroxidase in spinach chloroplasts. *Plant and Cell Physiology*, *22*(5), 867-880. doi.org/10.1093/oxfordjournals.pcp.a076232

Porra, R. J., Thompson, W. A., & Kriedemann, P. E. (1989). Determination of accurate extinction coefficients and simultaneous equations for assaying chlorophylls a and b extracted with four different solvents: Verification of the concentration of chlorophyll standards by atomic absorption spectroscopy. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Bioenergetics*, *975*, 384-394. https://doi .doi:org/10.1016/S0005-2728(89)80347-0

Vendruscolo, E. C. G., Schuster, I., Pileggi, M., Scapim, C. A., Molinari, H. B. C., Marur, C. J., & Vieira, L. G. E. (2007). Stress-induced synthesis of proline confers tolerance to water deficit in transgenic wheat. *Plant Physiology*, *164*, 1367-1376. https://doi.org/10.1016/j.jplph.2007.05.001

Joanny, F. (2005). Superoxide dismutase (SOD), a powerful antioxidant, is now available orally. *Phytotherapie*, *3*, 1-4. https://doi.org/ 10.1007/s10298-005

Pan, S. M., Moreau, R. A., & Yu, C. (1981). Betaine accumulation and betaine-aldehyde dehydrogenase in spinach leaves. *Plant Physiology*, *67*, 1105-1108. https://doi.org/10.1104/pp.67.6.1105

Shafi, A., Gill, T., Sreenivasulu, Y., Kumar, S., Ahuja, P. S., & Singh, A. K. (2015). Improved callus induction, shoot regeneration, and salt stress tolerance in Arabidopsis overexpressing superoxide dismutase from *Potentilla atrosanguinea*. *Protoplasma*, *252*(1), 41-51.

Sharma, P., Jha, A. B., Dubey, R. S., & Pessarakli, M. (2012). Reactive oxygen species, oxidative damage, and

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2025-01-02]

[DOI: DOI: 10.22034/13.63.249]

antioxidative defense mechanism in plants under stressful conditions. *Journal of Botany*, 1-26. https://doi.org/10.1155/2012/217037

Saed-Moucheshi, A., Sohrabi, F., Fasihfar, E., Baniasadi, F., Riasat, M., & Mozafari, A. A. (2021). Superoxide dismutase (SOD) as a selection criterion for triticale grain yield under drought stress: A comprehensive study on genomics and expression profiling, bioinformatics, heritability, and phenotypic variability. *BMC Plant Biology*, *21*(1),1-9. https://doi.org/10.1186/s12870-021-02919-5

Shrestha, K. (2011). Analysis of betaine aldehyde dehydrogenase encoding genes in wheat. MSc thesis. Lismore (NSW), Southern Cross University.

Smirnoff, N. (1993). The role of active oxygen in the response of plants to water deficit and desiccation. *New Phytologist*, *125*, 27-58. https://doi.org/10.1111/j.1469-8137.1993.tb03863.x

Simonovicova, A., Bartekova, J., Janovova, L., & Luptakova, A. (2010). Behaviour of Fe, Mg and Ca in acid mine drainage and experimental solutions in the presence of *Aspergillus niger* species isolated from various environment. *Nova Biotechnologica et Chimica*, *10*, 63-69. https://doi .10.36547/nbc.1116

Smeets, K., Ruytinx, J., Semane, B., Van Belleghem, F., Remans, T., Van Sanden, S., & Cuypers, A. (2008). Cadmium-induced transcriptional and enzymatic alterations related to oxidative stress. *Environmental and Experimental Botany*, *63*(1), 1-8.

Seki, M., Narusaka, M., & Ishida, J. (2005). Monitoring the expression proles of 7000 Arabidopsis genes under drought, cold and high-salinity stresses using a full-length cDNA microarray. *Plant Cell*, *31*, 279-292. https://doi .10.1046/j.1365-313x.2002.01359.x

Wang, M., Zhao, X., Xiao, Z., Yin, X., Xing, T., & Xia, G. (2016). A wheat superoxide dismutase gene *TaSOD2* enhances salt resistance through modulating redox homeostasis by promoting NADPH oxidase activity. *Plant Molecular Biology*, *91*(1-2), 115-130. https://doi. 10.1007/s11103-016-0446-y

Yang, C., Zhou, Y., & Fan, J. (2015). SpBADH of the halophyte *Sesuvium portulacastrum* strongly confers drought tolerance through ROS scavenging in transgenic Arabidopsis. *Plant Physiology and Biochemistry*, *96*, 377-387. https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2015.08.010

Zobayed, S., Afreen, F., & Kozai, T. (2005). Temperature stress can alter the photosynthetic efficiency and secondary metabolite concentrations in St. John's Wort. *Plant Physiology and Biochemistry*, *43*, 977-984. https://doi.org/10.1016/j.plaphy.2005.07.013

Zaefyzadeh, M., Quliyev, R. A., Babayeva, S., & Abbasov, M. A. (2009). The effect of the interaction between genotypes and drought stress on the superoxide dismutase and chlorophyll content in durum wheat landraces. *Turkish Journal of Biology*, *33*(1), 1-7. https://doi.org/10.3906/biy-0801-12

Zhang, Y., Zheng, L., Yun, L., Ji, L., Li, G., Ji, M., Shi, Y., & Zheng, X. (2022). Catalase (CAT) gene family in wheat (*Triticum-aestivum* L.): Evolution, expression pattern and function analysis. *International Journal of Molecular Sciences*, *4*(1), 542-549. https://doi.org/10.3390/ijms23010542

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2025-01-02]

[DOI: DOI: 10.22034/13.63.249]

Evaluation of the expression of some genes and biochemical traits under drought stress in different wheat cultivars

Zeynab Vosoo Abdollah, Saeid Navabpour*, Hourieh Najafi, Seyed Mojtaba Mollaei

Department of Plant Breeding and Biotechnology, Faculty of plant production, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources, Gorgan, Iran
(Received: 2024/02/09, Accepted: 2024/07/27)

Abstract

Drought is one of the most important non-living stresses in the production of agricultural products, which causes great damage to crops, especially wheat, every year. Drought resistance is a complex trait that is controlled by multiple genes and is a proof of the complexity of improving this important agricultural trait. This study was conducted in order to investigate the effect of different levels of drought stress on some biochemical traits and enzyme changes and the expression level of some genes involved in the response to drought stress in wheat cultivars at the research station in Korkuy city. The seeds of the studied wheat cultivars were cultivated under field conditions after disinfection. The experiment was conducted as a split plot in the form of a randomized complete block design with three replications. The main factor of drought treatment included -0.3 times (agronomical capacity as a control treatment), -2 times and -4 times and the secondary factor included wheat cultivars Kalateh, Baharan and Gonbad. In order to evaluate the expression pattern of studied genes including *P5CS*, *CAT*, *SOD*, *TaNAC2a*, *BADH*, iQ5 device of Bio Rad Company was used. The results of quantitative real time PCR analysis showed that the expression levels of SOD, P5CS, BADH, *CAT* and *TaNAC* genes changed significantly in response to drought stress. Also, the amount of chlorophyll a and b decreased significantly under drought stress and the amount of ascorbic peroxidase enzyme increased significantly. That drought stress led to an increase in the expression of genes involved in this stress, which included *SOD*, *P5CS*, *BADH*, *CAT*, and *TaNAC2A*. According to the analysis results of this study, it can be concluded that the kalateh cultivar had the highest antioxidant enzyme activity, which indicated the superiority of this cultivar over other cultivars.

Keywords: Enzyme, Gene expression, Drought stress, Chlorophyll, Wheat

Corresponding author, Email: s.navabpour@yahoo.com

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2025-01-02]

[DOI: DOI: 10.22034/13.63.249]