

تأثیر تنش شوری بر الگوی الکتروفورزی پروتئین کل و برخی صفات بیوشیمیایی گندم

علیرضا شهبازی^۱، سدابه جهانبخش گده کهریز*^۱ و سیده یلدا رئیسی ساداتی^۲^۱ گروه مهندسی تولید و ژنتیک گیاهی، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه محقق اردبیلی، اردبیل، ایران^۲ اصلاح نباتات-ژنتیک مولکولی، دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی، دانشگاه محقق اردبیلی، اردبیل، ایران

(تاریخ دریافت: ۱۴۰۳/۰۱/۲۴، تاریخ پذیرش نهایی: ۱۴۰۳/۰۵/۲۳)

چکیده

ارزیابی تحمل ارقام مختلف گندم به تنش‌های زیست محیطی، به‌ویژه تنش شوری و تأثیر آن در مراحل مختلف رشد بر روی گندم عامل مهمی در انتخاب آن‌ها برای کشت در این شرایط تنش است. لذا شناخت سازوکارهای تحمل تنش شوری در گندم به انتخاب ارقام مناسب برای کشت در مناطقی که در معرض این تنش هستند، کمک خواهد کرد. پژوهش حاضر با هدف بررسی تأثیر تنش شوری بر روی ارقام متفاوت گندم جهت شناسایی مکانیسم‌های دخیل در انتقال پیام دفاعی این گیاه از جنبه بیوشیمیایی و مولکولی مورد ارزیابی قرار گرفت. آزمایش به‌صورت فاکتوریل بر پایه طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار در گلخانه دانشکده کشاورزی دانشگاه محقق اردبیلی اجرا شد. فاکتورهای مورد بررسی شامل تنش شوری در سه سطح (صفر، ۱۰۰ و ۱۵۰ میلی‌مولار کلرید سدیم (NaCl))، شش رقم گندم (قدس، آزادی، ارگ، تجن، فلات و بم) و زمان نمونه‌برداری (قبل اعمال تنش، ۷، ۱۴ و ۲۱ روز بعد از اعمال تنش شوری) بود. از مرحله دو برگی به بعد، تنش شوری با نمک طعام اعمال شد و برای تیمار شاهد نیز از آب معمولی استفاده گردید. نتایج نشان داد که با افزایش شدت تنش شوری میزان پرولین، پروتئین کل، لیزین و متیونین افزایش یافت. همچنین تحت تنش شوری، تجمع پروتئین‌ها در ارقام بم، ارگ و فلات بیشتر از ارقام تجن، قدس و آزادی بود. در نتیجه رقم‌ها با استفاده از مکانیسم‌های دفاعی مختلفی با سمیت ناشی از تنش شوری مقابله می‌کنند. با توجه به نتایج این پژوهش چنین استنباط می‌شود که شوری صفات بیوشیمیایی مورد مطالعه را تغییر داده و از بین ارقام مورد مطالعه رقم ارگ تحمل بیشتری در مقابل تنش شوری نشان داد.

کلمات کلیدی: الکتروفورز تک بعدی، پروتئین کل محلول، تنش شوری، لیزین

مقدمه

بودن منابع آب و خاک برای فعالیت‌های کشاورزی، شوری و عوارض آن بیش از پیش مشکلات مربوط به مسائل آب را تحت تأثیر قرار داده است. شوری رشد گیاهان را به دو صورت می‌تواند تحت تأثیر قرار دهد. غلظت بالای نمک خاک از یک‌طرف باعث کاهش پتانسیل آب خاک شده (تنش اسمزی) و از طرف دیگر در گیاه ایجاد سمیت می‌کند (سمیت

شوری به‌عنوان یکی از مهم‌ترین تنش‌های زیستی تولید محصولات کشاورزی در مناطق خشک و نیمه‌خشک را به شدت کاهش می‌دهد (Dolatabadi *et al.*, 2018). فعالیت‌های زراعی و صنعتی بشر اغلب منجر به ورود و افزایش املاح و تشدید این پدیده در آب و خاک می‌گردد. با توجه به محدود

در برابر تنش شوری، تجمع اسمولیت‌های سازگار مانند قندهای محلول و پرولین است (Alavilli *et al.*, 2023). آمینواسیدها از اجزای اصلی تشکیل‌دهنده پروتئین‌ها هستند. گیاهان قادر به تولید آمینواسیدهای ضروری نیستند و باید در اختیار گیاه قرار بگیرند. اسیدهای آمینه ضروری، به‌ویژه لیزین و متیونین، نمی‌توانند توسط انسان یا حیوانات سنتز شوند، بنابراین باید از طریق منابع غذایی به‌دست آیند (Yang *et al.*, 2020). جهت تحمل تنش شوری، علاوه بر تعادل یونی باید تعادل اسمزی نیز برقرار باشد. با توجه به اینکه تنش شوری نتایجی از قبیل بسته‌شدن روزنه‌ها، افزایش تجمع اسید آسبزیک و پرولین، تشکیل رادیکال‌های آزاد و تنش اکسیداتیو را به همراه دارد، لذا افزایش سطح پرولین تحت شرایط تنش شوری به این دلیل است که پرولین اسمولیت‌سازگاری است که اکسیژن‌های آزاد تولیدشده در طول تنش‌های محیطی را حذف و از ماکرو مولکول‌ها حفاظت می‌نماید (Hosseini *et al.*, 2017). محققان گزارش کردند که افزایش شدت تنش شوری در بستر کشت بذره‌های گندم موجب افزایش پرولین آزاد گیاهیچه می‌گردد (Rostami *et al.*, 2020). در تنش شوری، ارقام مقاوم توانایی آن را دارند که یون‌های معدنی مثل پتاسیم را جمع کنند که باعث کاهش پتانسیل اسمزی سلول می‌شود، در نتیجه باعث جذب و حفظ آب بیشتر از سلول‌های ریشه و بافت‌های تحت تنش می‌شوند (Bouras *et al.*, 2021). ارزیابی و تعیین میزان رشد ارقام مختلف گندم در شرایط مختلف تنش شوری می‌تواند راهنمای کشت ارقام مقاوم در مناطق شور باشد. همچنین، با امکان بررسی دقیق مراحل رشد و نمو ارقام مختلف گندم در سطوح متفاوت تنش شوری می‌توان ارقام حساس و متحمل به شوری را شناسایی کرده و با مدیریت بهتر در انتخاب رقم در اراضی شور محصول قابل قبولی به‌دست آورد. شناخت سازوکارهای تحمل تنش شوری در گندم به انتخاب ارقام مناسب برای کشت در مناطقی که در معرض این تنش هستند، کمک خواهد کرد. با توجه به افزایش روزافزون زمین‌های شور به واسطه کم‌آبی و آبیاری با آب‌های شور به نظر می‌رسد، بررسی راهکارهای افزایش تحمل به تنش

یونی) که باعث تغییرات بیوشیمیایی و پاسخ‌های فیزیولوژیک در گیاه می‌شود (Souri, 2016; Pirasteh-Anosheh *et al.*, 2019). در ایران شوری منابع آب و خاک یکی از مشکلات کشاورزی و مسائل مهم است، به‌طوریکه مساحت اراضی شور ایران در حدود ۲۴ میلیون هکتار است که معادل ۱۵ درصد از اراضی کشور است (Niazian *et al.*, 2016). شوری و آهکی بودن خاک و آب آبیاری و پایین‌بودن مواد آلی در خاک‌های زراعی کشور موجب کمبود عناصر غذایی قابل جذب گیاه می‌گردد (Jafarnejadi *et al.*, 2022). از آنجایی که حدود ۱۵ درصد زمین‌های زراعی و ۵۰ درصد تولیدات در جهان تحت تنش شوری قرار می‌گیرند، در نتیجه اتمام مراحل زندگی گیاه از جوانه‌زنی تا تولید دانه را تحت تأثیر قرار می‌دهد (Jahanbakhsh Godehkahriz and Raisi Sadati, 2022). تحت تنش شوری، افزایش تولید گونه‌های فعال اکسیژن موجب تنش اکسیداتیو و آسیب غشای سلولی می‌شود. این گونه‌های فعال اکسیژن بسیار فعال و سمی هستند و در غیاب یک مکانیسم محافظتی قوی می‌توانند به ساختار غشا، لیپیدها، پروتئین‌ها و اسیدهای نوکلئیک صدمه بزنند، بنابراین رشد گیاه کاهش می‌یابد (Hasanuzzaman *et al.*, 2018). گیاهان تنش شوری را با فعال‌کردن پاسخ‌های مولکولی و بیوشیمیایی در سطح سلولی یا کل گیاه تحمل می‌کنند (Muchate *et al.*, 2019). به‌طوریکه، با سنتز برخی متابولیت‌های ضروری، پروتئین‌های خاص ساختاری یا آنزیم‌های مسیرهای متابولیکی با تنش وارد شده مقابله می‌کنند (Dolatabadi *et al.*, 2018). 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 (Dastneshan and Sabokdast, 2020). گیاهان برای به حداقل رساندن آسیب ترکیبات مضر گونه‌های فعال اکسیژن، مکانیسم‌های تنظیمی را برای سازگاری در برابر تنش‌های مختلف محیطی درگیر می‌کنند و نیز گیاهان متحمل در مقایسه با گیاهان حساس دارای سیستم دفاع آنتی‌اکسیدانی کارآمدتری هستند (Abedini and Hassani-Daei, 2015). از پاسخ‌های بیوشیمیایی گیاهان

مرحله دو برگگی همه گلدانها هر ۷۲ ساعت آبیاری شدند. از مرحله دو برگگی به بعد نمونه‌های سطح تنش شوری سه روز اول با محلول نمک، هر روز با غلظت ۵۰ میلی‌مولار تحت تنش قرار گرفتند تا گیاهان در اثر تنش شوری ناگهانی دچار شوک نشوند و بعد از سه روز گیاهان با غلظت‌های ۱۰۰ و ۱۵۰ میلی‌مولار با دور آبیاری ۷۲ ساعت تحت تنش قرار گرفتند. در نمونه‌های شاهد آبیاری هر ۷۲ ساعت انجام شد. نمونه‌برداری نیز به ترتیب در زمان‌های قبل از اعمال تنش ۵۰ میلی‌مولار، ۷، ۱۴ و ۲۱ روز بعد از اعمال تنش شوری (۱۰۰ و ۱۵۰ میلی‌مولار) صورت گرفت. سپس نمونه‌ها، در فویل آلومینیوم قرار داده شد و پس از انجماد سریع در نیتروژن مایع در آزمایشگاه برای اندازه‌گیری صفات بیوشیمیایی نمونه‌ها در یخچال ۷۰- درجه‌سنتی‌گراد نگهداری شدند. برای تعیین وزن تر و خشک به‌طور تصادفی در هر مرحله نمونه‌برداری از داخل هر گلدان یک بوته انتخاب و اندازه‌گیری شد.

سنجش قندهای محلول: غلظت قندهای کل برگ به روش Omokolo و همکاران (۱۹۹۶) تعیین شد. بدین منظور ابتدا ۰/۵ گرم از بافت برگ تر برداشته در ازت مایع پودر کرده و سپس ۵ میلی‌لیتر اتانول ۹۵ درصد به آن افزوده و به لوله آزمایش درب‌دار انتقال یافت و برای مدت ۳۰ ثانیه ورتکس شد. بخش مایع رویی به لوله آزمایش منتقل شده و به‌مدت ۱۵ دقیقه با سرعت ۱۲۰۰۰ دور بر دقیقه سانتریفیوژ (مدل HAEMATOKRIT 200، کمپانی Hettich) گردید. پس از جداسازی محلول رویی، ۰/۱ میلی‌لیتر از عصاره الکلی برداشته و داخل لوله‌های آزمایش ریخته شد. بعد از آن ۳ میلی‌لیتر آنترون (برای تهیه محلول آنترون ۱۵۰ میلی‌گرم در ۱۰۰ میلی‌لیتر اسید سولفوریک ۷۲ درصد حل شد). به آن اضافه و به‌مدت ۱۰ دقیقه در درون حمام آب جوش قرار گرفت. بعد نمونه‌ها در طول‌موج ۶۲۵ نانومتر در دستگاه اسپکتروفتومتر (مدل UV_160A_SHIMADZO، ساخت کشور ژاپن) خوانده شد.

سنجش غلظت پرولین: مقدار پرولین برگ با استفاده از روش Bates و همکاران (۱۹۷۳) اندازه‌گیری شد. بدین منظور

شوری ضروری است (Shahraki et al., 2021). امروزه بررسی الگوی پروتئینی به‌طور مستقیم برای بررسی اجزاء درگیر در یک پروسه بیولوژی و سطوح کمی آن‌ها می‌تواند بکار گرفته شود. در واقع پروتئین‌هایی که نقش آنزیمی، تنظیمی و ساختاری را دارا هستند و محصول نهایی رونویسی بخش‌هایی از ژنوم هستند در این روش قابل ارزیابی و شناسایی خواهند بود. پروتئین‌ها که ارتباط خود را با ژن‌ها حفظ کرده‌اند، بنابراین بهترین توصیف برای عمل تک تک ژن‌ها در سطح مولکولی باشند (Shafiei et al., 2023). لذا هدف از انجام این پژوهش، بررسی تأثیر تنش شوری بر روی شش رقم گندم جهت شناسایی مکانیسم‌های دفاعی این گیاه از جنبه بیوشیمیایی و ارزیابی الگوی الکتروفورزی پروتئین کل محلول است.

مواد و روش‌ها

به‌منظور بررسی تأثیر تنش شوری بر برخی صفات بیوشیمیایی مهم ارقام گندم نان، آزمایشی به‌صورت فاکتوریل بر پایه طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار در گلخانه دانشکده کشاورزی دانشگاه محقق اردبیلی در سال ۱۳۹۹-۱۳۹۸ اجرا گردید. فاکتورهای مورد بررسی شامل تنش شوری در سه سطح (صفر، ۱۰۰ و ۱۵۰ میلی‌مولار کلرید سدیم (NaCl))، شش رقم گندم (قدس، آزادی، ارگ، تجن، فلات و بم) و زمان نمونه‌برداری (قبل اعمال تنش، ۷، ۱۴ و ۲۱ روز بعد از اعمال تنش شوری) بود. بذور استفاده‌شده از مؤسسه تحقیقات کشاورزی کرج تهیه گردید و بعد از انجام ضدعفونی با هیپوکلریت سدیم یک درصد بر روی کاغذ صافی قرار گرفته و در ادامه به‌مدت دو روز برای جوانه‌زدن در داخل دستگاه ژرمیناتور در دمای ۲۵- ۲۰ درجه سانتی‌گراد و شرایط نوری ۱۶ ساعت روشنایی و ۸ ساعت تاریکی قرار داده شد. سپس بذور جوانه‌زده شده به داخل گلدان‌ها منتقل شد. کشت بذور با تراکم سه بوته در داخل گلدان‌های پلاستیکی حاوی خاک و ماسه الک شده به صورت ۵۰ درصد مخلوط و سطح گلدان‌ها با یک لایه پرلیت، پوشش داده شد. اعمال تنش بدین صورت انجام گرفت که تا

محلول شفاف رویی ۱۰۰ میکرولیتر برداشته و به لوله‌های آزمایشی که قبلاً به هر کدام مقدار ۵ میلی‌لیتر معرف برادفورد ریخته شده بود، اضافه شد. پس از گذشت پنج دقیقه از تثبیت رنگ محلول، قرائت در طول موج ۵۹۵ نانومتر توسط دستگاه اسپکتروفوتومتر انجام شد.

الکتروفورز پروتئین‌ها: در این تحقیق برای الکتروفورز پروتئین‌های محلول برگی از روش SDS-PAGE با تغییراتی، استفاده گردید (Laemmli, 1970). برای قسمت بالایی از ژل پنج درصد و برای قسمت پایین از ژل ۱۰ درصد استفاده شد. پروتئین‌های محلول برگی گیاهچه‌های تیمار شده هر یک از ارقام جهت مقایسه درون چاهک تزریق شدند. پلی‌پپتیدها در حالت تیمار با غلظت ۱۵۰ میلی‌مولار شوری در مقایسه با نشانگر (LMW) (۱۴ تا ۷۸ کیلودالتون) بررسی شدند. در نهایت رنگ‌آمیزی ژل‌ها با کوماسی بلو صورت گرفت. پس از مرحله رنگ‌بری ژل‌ها در وضوح تصویر ۳۰۰ نقطه در اینچ با استفاده از دستگاه اسکنر مدل GS-800 ساخت شرکت Bio-Rad اسکن شدند.

در پایان کلیه تجزیه و تحلیل‌های آماری داده‌های حاصل از این آزمایش، با استفاده از نرم‌افزار SAS 9.1 و رسم نمودارها با استفاده از نرم‌افزار Excel انجام گرفت. مقایسه میانگین‌ها با استفاده از آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح احتمال پنج درصد انجام شد.

نتایج و بحث

مطابق جدول تجزیه واریانس داده‌ها (جدول ۱) اثر سه جانبه ارقام گندم × تنش شوری × زمان نمونه‌برداری بجز میزان لیزین و وزن خشک زیشه برای بقیه صفات مورد ارزیابی معنی‌دار نشد. اثر متقابل تنش شوری × زمان نمونه‌برداری برای میزان پروتئین کل، پرولین، لیزین، وزن تر برگ و ریشه در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار شد. اثر متقابل ارقام گندم × زمان نمونه‌برداری بر میزان قند محلول، وزن خشک برگ، وزن خشک ساقه (سطح احتمال یک درصد) و اسیدآمین لیزین (سطح احتمال پنج درصد) معنی‌دار بود. همچنین اثر ساده ارقام

نمونه‌های بافت برگی با سولفوسالیسیلیک اسید ۳ درصد استخراج گردید. سپس در لوله جداگانه دیگری، به ۲ میلی‌لیتر از عصاره حاصل، ۲ میلی‌لیتر معرف نین‌هیدرین و ۲ میلی‌لیتر اسید استیک گلاسیال خالص اضافه شد. در ادامه لوله‌ها به مدت یک ساعت در بن‌ماری با دمای ۱۰۰ درجه سانتی‌گراد قرار گرفت و پس از خارج شدن از آب جوش، ۲ میلی‌لیتر تولوئن به محلول اضافه و در یخ قرار گرفت. بعد از تشکیل دو فاز جداگانه، فاز بالایی رنگی، با دقت جدا و در دستگاه اسپکتروفوتومتر با طول موج ۵۲۰ نانومتر خوانده شد.

سنجش غلظت لیزین و متیونین: ۰/۵ گرم از نمونه برگی به همراه ۵۰ میلی‌لیتر اسید هیدروکلریک ۰/۱ درصد در هاون چینی سائیده شد و با آب مقطر به حجم ۱۰۰ میلی‌لیتری رسانده شد. برای استخراج لیزین ۱ میلی‌لیتر از عصاره فوق با ۱۰ میلی‌لیتر گلیسرول (۵۰ درصد)، ۲ میلی‌لیتر بافر فسفات و یک میلی‌لیتر نین‌هیدرین ترکیب شد و بعد به مدت ۳۰ دقیقه در آب جوش ۱۰۰ درجه سانتی‌گراد قرار گرفت و سپس در دمای محیط خنک شد. محلول حاصل با آب به حجم ۲۵۰ میلی‌لیتر رسانده شد و بعد از ۱۵ دقیقه میزان جذب آن در ۵۷۰ نانومتر خوانده شد. یک میلی‌لیتر از محلول تهیه شده در بخش بالا با ۴ میلی‌لیتر از سدیم هیدروکسید (۵ نرمال)، ۲ میلی‌لیتر از محلول گلیسین آبدار (۵۰ درصد) و ۲ میلی‌لیتر از محلول سدیم نیترو فری‌سیانید آبدار (۰/۱ درصد) به خوبی ترکیب شد. محلول بدست آمده به مدت ۱۰ دقیقه در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد و سپس به مدت پنج دقیقه در حمام یخ قرار گرفت. ۵ میلی‌لیتر هیدروکلریک اسید (۱:۱) اضافه شد، بعد از خنک شدن به مدت ۳-۲ دقیقه از یک صافی عبور داده شد و جذب آن در ۵۱۰ نانومتر خوانده شد (Ferrel et al., 1969).

سنجش پروتئین کل محلول: جهت تعیین غلظت پروتئین از روش Bradford (۱۹۷۶) استفاده گردید. برای این منظور ۰/۱ گرم از نمونه بافت برگی را با یک میلی‌لیتر بافر پتاسیم فسفات با pH برابر ۷/۴ درون هاون چینی سائیده و پس از انتقال به میکرو تیوب با سرعت ۱۲۰۰۰ دور بر دقیقه به مدت ۱۵ دقیقه در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد سانتی‌فیوژ گردید. از

جدول ۱- تجزیه واریانس تأثیر تنش شوری بر برخی صفات بیوشیمیایی برگ ارقام گندم در مرحله سه برگگی

منابع تغییر	درجه آزادی	میانگین مربعات				
		پروتئین کل	قند محلول	پرولین	لیزین	متیونین
ارقام گندم (A)	۵	۰/۰۰۰۱**	۰/۰۷ ns	۰/۰۲ ns	۰/۰۰۱**	۰/۰۰۰۱**
تنش شوری (B)	۲	۰/۰۰۱**	۰/۸۸**	۱/۹۸**	۰/۰۰۸**	۰/۰۰۰۰۱*
زمان نمونه برداری (C)	۳	۰/۰۰۱**	۰/۰۳۴ ns	۳/۶۳**	۰/۰۰۸**	۰/۰۰۰۰۱**
A × B	۱۰	۰/۰۰۰۰۳ ns	۰/۰۱۸ ns	۰/۰۵ ns	۰/۰۰۵ ns	۰/۰۰۰۰۰۲ ns
A × C	۱۵	۰/۰۰۰۰۳ ns	۰/۰۳۳**	۰/۰۲۳ ns	۰/۰۰۰۶*	۰/۰۰۰۰۰۳ ns
B × C	۶	۰/۰۰۰۲**	۰/۲۲ ns	۰/۷۰**	۰/۰۰۲**	۰/۰۰۰۰۰۸ ns
A × B × C	۳۰	۰/۰۰۰۰۴ ns	۰/۰۳ ns	۰/۰۲۸ ns	۰/۰۰۰۶**	۰/۰۰۰۰۰۵ ns
خطا	۱۴۴	۰/۰۰۰۰۳	۰/۰۷	۰/۰۳۵	۰/۰۰۰۳	۰/۰۰۰۰۰۴
ضریب تغییرات (%)	-	۱۴/۲۰	۱۶/۳۱	۶/۷۴	۲۱/۶۸	۵/۱۸

ns، ** و *** به ترتیب نشان‌دهنده معنی‌دار بودن در سطح احتمال پنج، یک و عدم معنی‌داری است.

ادامه جدول ۱-

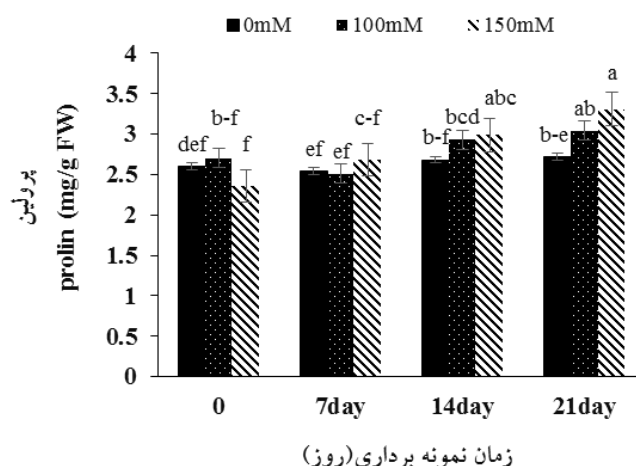
منابع تغییر	درجه آزادی	میانگین مربعات				
		وزن تر ساقه	وزن تر ریشه	وزن خشک برگ	وزن خشک ساقه	وزن خشک ریشه
ارقام گندم (A)	۵	۰/۰۲**	۰/۲۴**	۰/۰۲ ns	۰/۰۰۰۷**	۰/۰۰۲**
تنش شوری (B)	۲	۰/۰۱ ns	۰/۷۲**	۰/۰۰۵ ns	۰/۰۰۰۱ ns	۰/۰۰۰۴**
زمان نمونه برداری (C)	۳	۰/۴۹**	۲/۹۶**	۰/۱۴**	۰/۰۲**	۰/۰۷**
A × B	۱۰	۰/۰۱ ns	۰/۰۴ ns	۰/۰۰۲ ns	۰/۰۰۰۰۴ ns	۰/۰۰۰۰۶*
A × C	۱۵	۰/۰۰۷ ns	۰/۱۳ ns	۰/۰۰۵**	۰/۰۰۰۲**	۰/۰۰۰۱**
B × C	۶	۰/۰۰۹ ns	۰/۱۶**	۰/۰۰۵ ns	۰/۰۰۰۱ ns	۰/۰۰۰۱**
A × B × C	۳۰	۰/۰۰۰۶ ns	۰/۰۴ ns	۰/۰۰۳ ns	۰/۰۰۰۱*	۰/۰۰۰۰۷**
خطا	۱۴۴	۰/۰۰۰۷	۰/۰۳	۰/۰۰۲	۰/۰۰۰۰۵	۰/۰۰۰۰۲
ضریب تغییرات (%)	-	۱۵/۲۴	۱۵/۲۲	۱۳/۱۷	۱۷/۰۹	۱۸/۳۰

ns، ** و *** به ترتیب نشان‌دهنده معنی‌دار بودن در سطح احتمال پنج، یک و عدم معنی‌داری است.

شوری مشاهده شد و کمترین میزان این اسیدآمین در تیمار شاهد بدست آمد (شکل ۱). افزایش پرولین در گیاه هنگام تنش، نوعی مکانیسم دفاعی است (Gomes et al., 2010). افزایش سطح پرولین تحت شرایط تنش شوری به این دلیل است که پرولین اسمولیت سازگاری است که اکسیژن‌های آزاد تولید شده در طول تنش‌های محیطی را حذف و از مولکول‌های بزرگ حفاظت می‌نماید. تجزیه سریع این اسیدآمین به محض

گندم و زمان نمونه برداری برای میزان متیونین و وزن تر ساقه و نیز اثر ساده تنش شوری برای متیونین در سطح احتمال پنج درصد معنی‌دار بود (جدول ۱).

محتوای پرولین: تحت تنش شوری میزان پرولین افزایش یافت که این افزایش مکانیسمی برای حفاظت گیاه در شرایط تنش شوری است به‌طوری‌که بیشترین میزان پرولین در شرایط تنش شوری ۱۵۰ میلی‌مولار در ۲۱ روز بعد از اعمال تنش



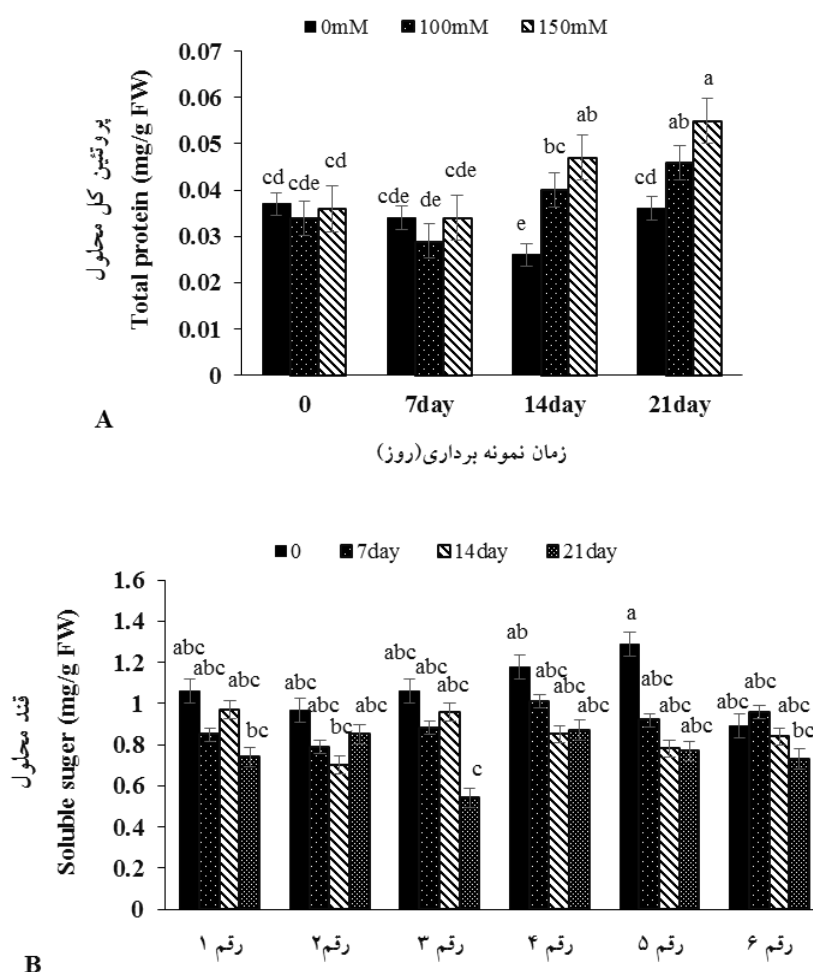
شکل ۱- مقایسه میانگین میزان پرولین گندم در زمان‌های نمونه‌برداری (میلی‌گرم بر گرم وزن تر برگ)

همچنین کمترین میزان قند محلول نیز در رقم ۳ و ۲۱ روز بعد از اعمال تنش شوری به دست آمد. نتایج این تحقیق نشان داد که در شوری ۱۵۰ میلی‌مولار میزان پروتئین برگ نسبت به شاهد ۴۶ درصد بیشتر است. گیاه با تجمع پرولین و پروتئین‌سازی می‌تواند در برابر تنش ایجاد شده مقاومت کند (Hong *et al.*, 2000). برخی از محققان گزارش کردند که تحت شرایط تنش شوری میزان پروتئین برگ افزایش می‌یابد (Amirkhiz *et al.*, 2011; Mekdad *et al.*, 2021). که با نتایج تحقیق حاضر مطابقت دارد. تنظیم اسمزی در گیاهانی که تحت تنش شوری قرار دارند به مقدار زیادی بستگی به فندهای محلول دارد و به عقیده برخی محققین در طول دوره تنش، قندها به‌عنوان یکی از مکانیسم‌های مقاومت عمل می‌کنند (Shi *et al.*, 2010; Bai *et al.*, 2013). محققان دریافتند که در شرایط تنش شوری فندهای نامحلول (نشاسته) تجزیه شده و فندهای محلول را ایجاد می‌کنند که سلول به این طریق قادر به حفظ پتانسیل اسمزی شده و موجب کاهش خطر دهیدراتاسیون سلول می‌شود (Tahjib-UI-Arif *et al.*, 2019). محققان گزارش کردند که تنش شوری در غلظت ۱۰۰ میلی‌مولار میزان پروتئین برگ (۱۰۷/۳۵ درصد) و قند محلول را نسبت به شاهد افزایش داد (Jahanbakhsh Godehkahriz and Raeisi Sadati, 2022). نتایج به دست آمده از این تحقیق مشابه نتایج فوق است، در شرایط وقوع تنش، یون‌هایی مثل

رهایی از تنش، می‌تواند احیاگرهای کافی را فراهم کند که از فسفریلاسیون اکسیداتیو در میتوکندری و تولید ATP برای بازسازی خسارت‌های القاشده از تنش، پشتیبانی کند (Ashraf and Foolad, 2007). محققین اظهار داشتند که افزایش فعالیت آنزیم سنتزکننده پرولین، آنزیم اورنیتین آمینوترانسفراز یا ممانعت از آنزیم‌های کاتالیزکننده پرولین از جمله پرولین هیدروژناز و پرولین اکسیداز می‌تواند از دلایل دیگر بهبود محتوای پرولین در شرایط تنش باشد (Mahadevaiah *et al.*, 2023). از سویی دیگر، تولید پرولین با تولید قندهای محلول ارتباط دارد؛ زیرا یکی از مسیرهای تولید پرولین، گلوتامات است و با افزایش تولید قندهای محلول، میزان تولید گلوتامات افزایش می‌یابد و سنتز پرولین تشدید می‌شود (Skorupa *et al.*, 2022). در سایر پژوهش‌ها نیز افزایش میزان پرولین تحت تنش شوری گزارش شده است که با نتایج تحقیقات حاضر مطابقت دارد (Jahanbakhsh Godehkahriz and Raeisi Sadati, 2022).

محتوای پروتئین کل محلول و قندهای محلول: بیشترین

و کمترین میزان پروتئین کل به ترتیب در شرایط تنش شوری ۲۱ روز بعد از اعمال تنش و شرایط بدون تنش شوری و ۱۴ روز بعد از اعمال تنش مشاهده شد که اختلاف معنی‌داری با سایر تیمارها داشت (شکل ۲A). مطابق شکل ۲B، بیشترین میزان قند محلول در رقم ۵ و عدم اعمال تنش مشاهده شد



شکل ۲- مقایسه میانگین پروتئین کل در اثر متقابل تنش شوری و زمان نمونه برداری (A) و قند محلول در ارقام گندم تحت تنش (B) (میلی گرم بر گرم وزن تر برگ)

نداشتند اما کمترین میزان میتونین در رقم ۲ مشاهده شد که اختلاف معنی داری با سایر تیمارها داشت. بیشترین و کمترین میزان میتونین در شرایط تنش شوری ۱۰۰ و ۱۵۰ میلی مولار و تیمار شاهد به دست آمد (شکل ۳). همانطور که در شکل ۳ مشاهده می کنید بین زمان های نمونه برداری اختلافی از نظر آماری وجود نداشت به طوری که کمترین میزان میتونین در تیمار شاهد به دست آمد. غلظت بالای کاتیون های مثل Na^+ که از عناصر اصلی شوری هستند در بافت های گیاهی فرآیندهای بیوشیمیایی را مختل کرده و یا حتی می توانند از انجام آنها ممانعت به عمل آورده و سنتز پروتئین های لازم را دستخوش تغییرات کمی و کیفی نمایند، که به نوبه خود باعث اختلال در

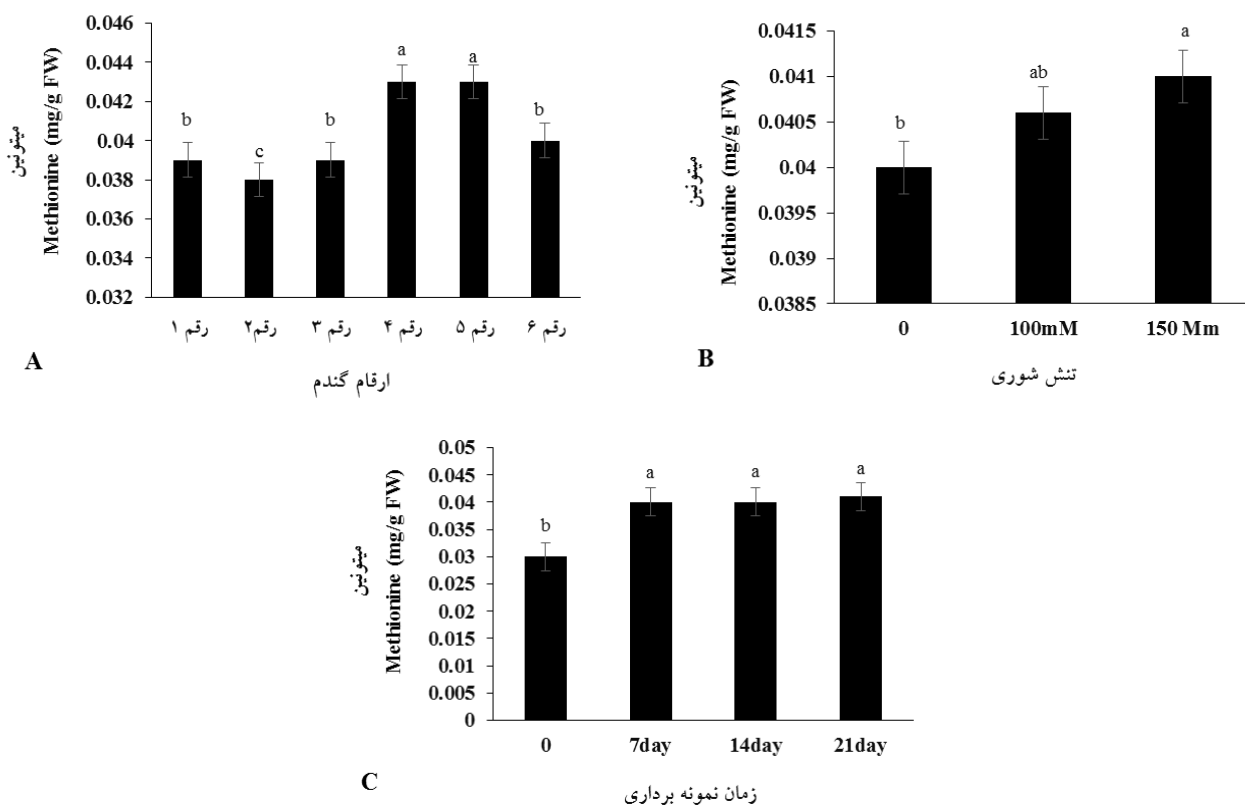
Na^+ و Cl^- به داخل لایه های هیدراسیونی پروتئین ها نفوذ کرده، سبب اختلال در کار این پروتئین ها می گردد. تجمع قندهای محلول در زمان تنش می تواند به علت تخریب قندهای غیرمحلول، توقف رشد یا سنتز این ترکیبات از مسیرهای غیرفتوسنتزی باشد (Abd El-Mageed *et al.*, 2021).

غلظت های لیزین و میتونین: مطابق جدول ۲ بیشترین میزان لیزین در رقم ۵، تنش شوری ۱۰۰ میلی مولار و ۲۱ روز بعد از اعمال تنش شوری به دست آمد. همچنین کمترین میزان لیزین در رقم ۳، تنش شوری و زمان نمونه برداری به تیمار شاهد تعلق داشت (جدول ۲). همچنین، بیشترین میزان میتونین در ارقام ۴ و ۵ مشاهده شد که اختلاف معنی داری با یکدیگر

جدول ۲- مقایسه میانگین اثرات سه جانبه ارقام گندم × تنش شوری × زمان نمونه برداری برای میزان لیزین

ارقام گندم						زمان نمونه برداری	تنش شوری
۶	۵	۴	۳	۲	۱	(روز)	
۰/۰۷۱ j-u	۰/۰۸۹ c-s	۰/۰۴۹ stu	۰/۰۴۷ u	۰/۰۵۴ q-u	۰/۰۷۶ h-u	۰ (قبل تنش)	۰
۰/۰۶۳ m-u	۰/۰۷۹ e-u	۰/۰۷۰ k-u	۰/۰۶۳ m-u	۰/۰۷۰ k-u	۰/۰۸۴ d-u	۷	۰ (عدم اعمال تنش)
۰/۰۶۶ l-u	۰/۰۷۶ g-u	۰/۰۷۸ f-u	۰/۰۸۵ d-u	۰/۰۹۹ a-o	۰/۰۸۸ c-t	۱۴	
۰/۱۰۱ a-n	۰/۱۰۲ a-m	۰/۱۱۵ a-h	۰/۱۰۶ a-l	۰/۰۹۷ a-o	۰/۰۹۳ a-p	۲۱	
۰/۰۶۲ n-u	۰/۰۶۰ o-u	۰/۰۹۰ c-r	۰/۰۵۳ q-u	۰/۰۵۲ r-u	۰/۰۶۴ u-m	۰	
۰/۰۸۶ d-u	۰/۰۹۲ b-r	۰/۰۸۰ e-u	۰/۰۸۱ e-u	۰/۰۸۳ d-u	۰/۰۷۴ i-u	۷	۱۰۰ میلی مولار (mM)
۰/۰۷۷ g-u	۰/۰۷۱ j-u	۰/۱۰۵ a-k	۰/۰۸۰ e-u	۰/۰۶۵ m-u	۰/۰۷۲ j-u	۱۴	
۰/۱۰۱ a-n	۰/۱۲۳ a	۰/۱۱۹ a-f	۰/۰۹۸ a-o	۰/۱۰۷ a-k	۰/۱۰۱ a-n	۲۱	
۰/۱۱۱ a-j	۰/۰۹۷ a-o	۰/۱۲۶ abc	۰/۰۴۸ tu	۰/۰۵۹ o-u	۰/۰۹۲ b-q	۰	
۰/۱۰۹ a-k	۰/۰۹۰ c-q	۰/۱۱۳ a-h	۰/۱۱۹ a-f	۰/۱۲۱ a-d	۰/۰۸۴ d-u	۷	۱۵۰ میلی مولار (mM)
۰/۱۱۶ a-g	۰/۱۱۸ a-f	۰/۱۲۷ ab	۰/۱۱۳ a-h	۰/۰۷۸ d-u	۰/۱۰۵ a-l	۱۴	
۰/۱۱۱ a-j	۰/۰۹۸ a-o	۰/۰۸۲ d-u	۰/۰۸۴ d-u	۰/۰۹۶ a-o	۰/۱۱۸ a-f	۲۱	

ستون‌هایی با حروف مشابه اختلاف آماری معنی داری با هم ندارند.



شکل ۳- مقایسه میانگین مقدار متیونین در ارقام گندم (A)، شرایط تنش شوری (B) و زمان نمونه برداری (C) (میلی گرم بر گرم وزن تر برگ)

نیست. همچنین به عنوان پروتئین‌های مقاومت به تنش شناخته می‌شوند (Abu Hena et al., 2010).

باند دوم پروتئینی با نام پلی‌پپتید فتوسیستم II با وزن مولکولی ۲۵ کیلودالتون است که جز پروتئین‌های متابولیسمی می‌باشد. این پروتئین یکی از پروتئین‌های مرتبط با عملکرد فتوسیستم II است که برای فعال شدن تکامل اکسیژن فتوستزی توسط Ca^{2+} و Cl^- نقش دارد (Loll et al., 2005).

باند سوم پروتئین *FtsH* می‌باشد که وزن مولکولی آن ۲۳/۵ کیلودالتون است (Rinalducci et al., 2011). این پروتئین جز پروتئین‌های متابولیسمی است که در گندم و جو توالی‌یابی شده است. میزان این پروتئین با افزایش تنش افزایش پیدا می‌کند و از سلول در برابر تنش حفاظت می‌کند (Cui et al., 2005).

باند شماره چهارم پروتئین گلوکاتایون-S-ترانسفراز است که وزن مولکولی آن ۲۴/۵ کیلودالتون است. این پروتئین یک خانواده چند ژنی را تشکیل می‌دهد که به طور معمول در تمام گیاهان حضور دارند، این پروتئین در گندم و جو توالی‌یابی شده است و طول توالی آن در جو ۲۲۲ و در گندم ۲۲۸ آمینواسید است (Yang et al., 2011). این پروتئین جز پروتئین‌های سم‌زدا و دفاعی است. گلوکاتایون-S-ترانسفراز آنزیم مهمی است که دارای ترکیبات سمی خالص برای تنظیم سطح ROS در سلول گیاهی است (Ndimba et al., 2005). این باند در ارقام ارگ، بم، قدس و فلات با وضوح بیشتری نسبت به دو رقم ازادی و تجن قابل مشاهده است (شکل ۴).

باند پنجم پروتئینی به نام گلوکاتایون-S-ترانسفراز II است که وزن مولکولی آن ۲۷ کیلودالتون است و از جمله پروتئین‌های سم‌زدا است. خانواده گلوکاتایون-S-ترانسفراز شامل سه خانواده بزرگ: سیتوزولی، میتوکندری و همچنین به عنوان میکروزومال-MAPEG-پروتئین شناخته شده است (Allocati et al., 2009).

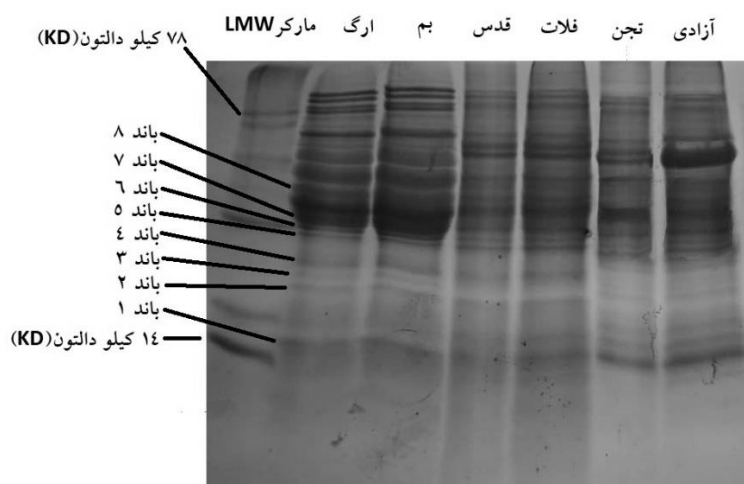
باند شماره شش آنزیم آسکوربات پراکسیداز می‌باشد که وزن مولکولی آن ۲۹ کیلودالتون است. آنزیم آسکوربات پراکسیداز جز جدایی‌ناپذیر از چرخه گلوکاتایون-آسکوربیت است. یک پراکسید سم‌زدا مانند پراکسید هیدروژن است، با

فرآیند رشد می‌گردد. همچنین بسیاری از ترکیبات حاوی نیتروژن مانند اسیدهای آمینه، آمیدها، پروتئین‌ها و ترکیبات آمونیوم می‌توانند در تنظیم اسمزی نقش مهمی را در تحمل تنش شوری بر عهده داشته باشند (Dolatabadi et al., 2018). اسیدآمینه لیزین طی تنش با تبدیل شدن به آرژنین موجب تولید پلی‌آمین‌ها شده و به عنوان تقویت‌کننده سیستم دفاعی عمل می‌کند و در شرایط تنش، مقاومت گیاه را افزایش می‌دهد (Pang et al., 2007). در تحقیقی محققان نشان دادند که تولید متیونین نیازمند افزایش بیان متیونین سنتاز و S-آدنوزیل متیونین سنتاز است که در گیاه سیب‌زمینی تحت تنش شوری افزایش می‌یابد (Sanchez-Aguayo et al., 2004)، که با نتایج حاصل از این تحقیق در رابطه با افزایش اسیدآمینه‌های لیزین و متیونین تحت تنش مطابقت دارد.

ارزیابی الگوهای الکتروفورزی (SDS-PAGE)

پروتئین‌های کل محلول برگی شش رقم گندم تحت تنش شوری ۱۵۰ میلی‌مولار: بر اساس شکل ۴ تراکم و میزان باندهای حاصل در ارقام، بسیار شبیه به همدیگر هستند؛ اما برخی از باندهای پروتئینی از نظر محل قرارگرفتن روی ژل، وزن مولکولی، تراکم و شدت با یکدیگر اختلاف نشان دادند. نتایج نشان داد که رقم فلات و ازادی به ترتیب دارای بیشترین باند نسبت به مارکر بود (شکل ۴). باندهای مشخص شده در چاهک اول مارکر پروتئینی است که شامل اوترانسفرین (۷۸ کیلودالتون)، آلبومین گاوی (۶۶ کیلودالتون)، اوآلبومین (۴۵ کیلودالتون)، اکتیدین (۲۹ کیلودالتون)، اسموتین (۲۵ کیلودالتون)، بتا-لاکتوگلوبولین (۱۸ کیلودالتون)، لیزوزیم (۱۴ کیلودالتون) است.

باند اول پروتئین آلفا-۲-پوروتیونین است و وزن مولکولی آن ۱۴/۵ کیلودالتون است. این پروتئین در گندم توالی‌یابی کامل شده است و طول توالی آن ۱۳۶ آمینواسید است، نام ژن این پروتئین *TH1.2* است. تیونین‌ها پروتئین‌های گیاهی کوچک هستند که برای سلول‌های حیوانات سمی و خطرناک می‌باشد و به نظر می‌رسد که اثر سمی خود را در سطح غشای سلول بکار می‌برند. اما کار دقیق آن‌ها هنوز شناخته شده



شکل ۴- الگوی الکتروفورزی پروتئین کل محلول در برگ‌های ارقام گندم تحت تنش شوری ۱۵۰ میلی‌مولار

مشاهده شد. کمترین میزان وزن تر برگ در تیمار شاهد به دست آمد، اما بین تیمارهای تنش شوری اختلاف معنی‌داری وجود نداشت. کمترین میزان وزن تر ریشه در تیمار شاهد و در شرایط تنش شوری ۱۰۰ میلی‌مولار ملاحظه شد (شکل ۵). همچنین بیشترین میزان وزن تر ساقه در ارقام آزادی و تجن (شماره ۲ و ۴) مشاهده شد که با ارقام فلات و بزم (شماره ۵ و ۶) اختلاف نداشت. کمترین میزان این صفت هم در ارقام قدس و ارگ (شماره ۱ و ۳) مشاهده شد. مطابق شکل ۵B، وزن تر ساقه در ۲۱ روز بعد از نمونه‌برداری به‌طور معنی‌داری بیشتر از سایر تیمارها بود. کمترین میزان وزن تر ساقه در تیمار شاهد مشاهده شد. جهانبخش گده‌کهریز و رئیسی‌ساداتی (۱۴۰۱) گزارش کردند که تحت تنش شوری ۱۰۰ میلی‌مولار وزن تر ساقه و وزن تر برگ در ارقام کاسگوژن و ساینونز سیر نزولی داشت. همچنین محققان دریافتند که وزن تر و وزن خشک ریشه و اندام هوایی در تیمارهای شوری کاهش معنی‌داری نسبت به شاهد نشان می‌دهند (کارگر خرمی و همکاران، ۱۳۹۸)، که با یافته‌های تحقیق حاضر در رابطه با کاهش وزن تر برگ و ریشه در شرایط شوری مطابقت داشت.

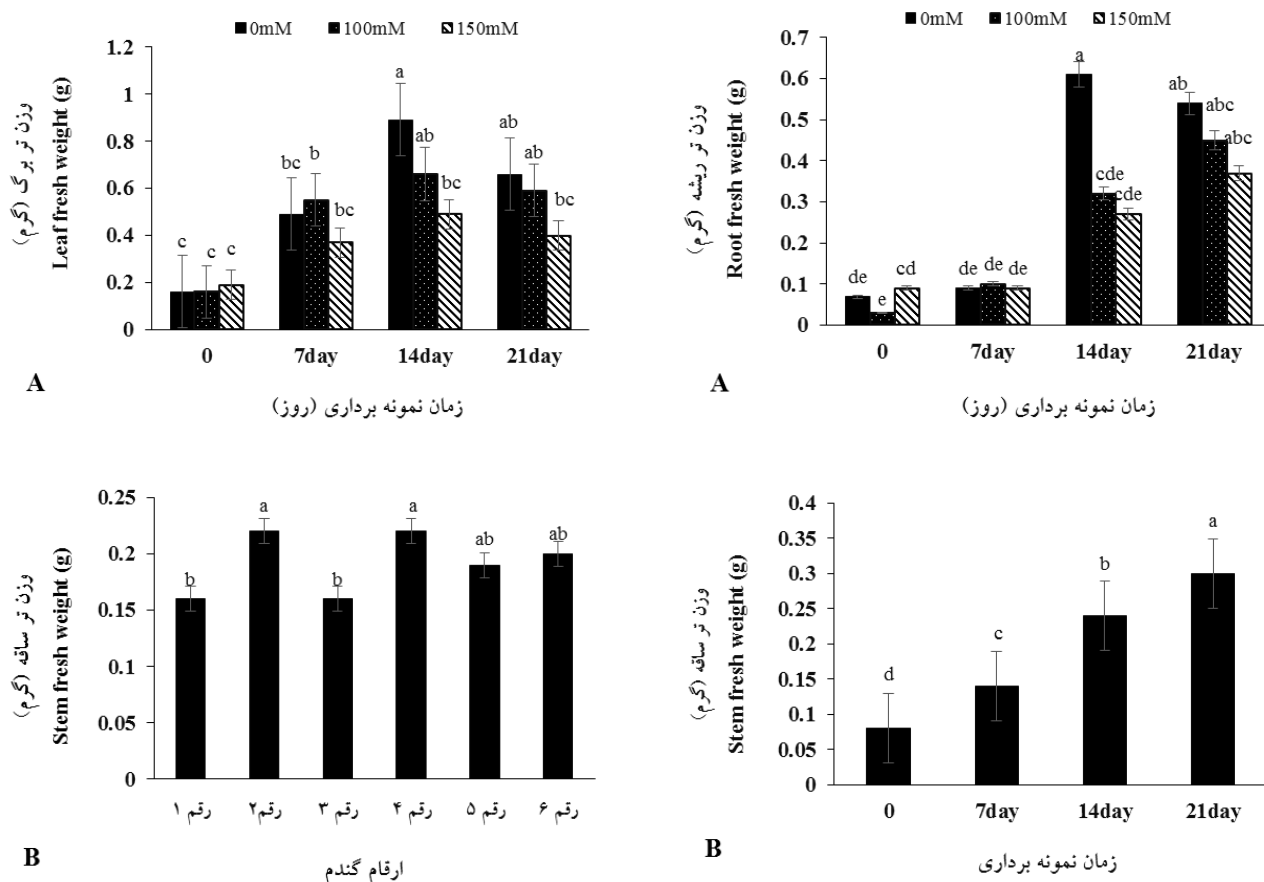
وزن خشک برگ، ساقه و ریشه: نتایج نشان داد که بیشترین وزن خشک برگ در رقم فلات، ۲۱ روز بعد از نمونه‌برداری مشاهده شد و کمترین میزان این شاخص در ارقام آزادی و قدس تیمار شاهد به‌دست آمد (شکل ۶). همچنین

استفاده از آسکوربیت به‌عنوان یک بستر آنزیمی سم‌زدا عمل می‌کند (Emami Bistegani and Bakhshandeh, 2020). این باند در ارقام ارگ و بزم نسبت به چهار رقم دیگر از غلظت بیشتری برخوردار است (شکل ۴).

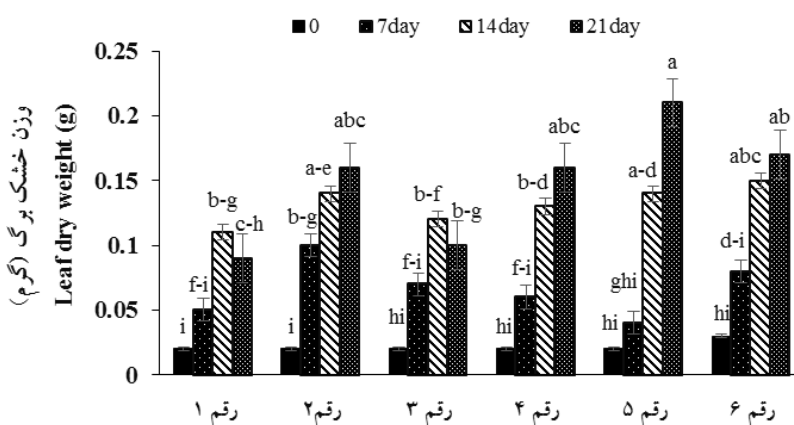
باند هفتم پروتئینی به‌نام تریو فسفات ایزومراز، سیتوزولی است. این پروتئین جز پروتئین‌های سم‌زدا بوده که وزن مولکولی آن برابر با ۳۰/۱۳ کیلودالتون است. این پروتئین در بیوسنتز کربوهیدرات نقش دارد. کاتابولیسم گلوکز می‌تواند تا حدی نیاز به انرژی اضافی برای سم‌زدایی و بازسازی خسارت ایجادشده توسط مولکول‌های اکسیداتیو را تنظیم کند. به‌نظر می‌رسد این پروتئین در ارقام ارگ، بزم، فلات و قدس با میزان بیشتری بیان شده است (شکل ۴).

باند شماره هشت پروتئین سیستین سنتاز است که وزن مولکولی آن ۳۵ کیلودالتون است. این آنزیم متعلق به خانواده ترانسفرازها می‌باشد، این آنزیم در سه مسیر متابولیک؛ متابولیسم سیستین، متابولیسم اسید سلنوآمینو و متابولیسم گوگرد شرکت می‌کند (Becker et al., 1969). این باند در ارقام ارگ و بزم با وضوح بیشتری قابل رویت است (شکل ۴).

وزن تر برگ، ساقه و ریشه: نتایج مقایسه میانگین نشان داد که با اعمال تنش شوری از میزان وزن تر برگ و ریشه کاسته شد (شکل ۵A). بیشترین میزان وزن تر برگ و ریشه در شرایط بدون تنش شوری و ۱۴ روز بعد از نمونه‌برداری



شکل ۵- مقایسه میانگین اثرات متقابل تنش شوری و زمان نمونه برداری بر وزن تر برگ و ریشه (A) و ارقام و زمان نمونه برداری بر وزن تر ساقه (B)



شکل ۶- مقایسه میانگین وزن خشک برگ ارقام گندم در زمان‌های نمونه برداری

تحت تنش شوری ۱۰۰ میلی‌مولار و ۲۱ روز بعد از نمونه برداری به دست آمد که اختلاف معنی داری با رقم فلات، در شرایط بدون تنش شوری و رقم آزادی تحت تنش شوری

بیشترین میزان وزن خشک ساقه در رقم تجن، تحت تنش شوری ۱۵۰ میلی‌مولار و ۲۱ روز بعد از نمونه برداری به دست آمد (جدول ۳). بیشترین میزان وزن خشک ریشه در رقم تجن،

جدول ۳- مقایسه میانگین اثرات سه جانبه ارقام گندم × تنش شوری × زمان نمونه برداری برای وزن خشک ساقه و ریشه

ارقام گندم	زمان نمونه برداری (روز)						تنش شوری	ساقه (گرم)
	۱	۲	۳	۴	۵	۶		
	۰/۰۱۰ t-x	۰/۰۰۷ wvx	۰/۰۰۵ x	۰/۰۰۹ u-x	۰/۰۰۹ u-x	۰/۰۰۹ u-x	۰ (نمونه برداری قبل تنش)	
	۰/۰۱۴ s-x	۰/۰۲۲ m-w	۰/۰۱۵ f-x	۰/۰۱۶ q-x	۰/۰۱۳ s-x	۰/۰۱۸ p-x	۷ (عدم اعمال تنش)	
	۰/۰۲۰ o-x	۰/۰۳۶ g-n	۰/۰۲۷ i-s	۰/۰۳۹ f-j	۰/۰۳۶ g-l	۰/۰۳۱ h-q	۱۴	
	۰/۰۳۳ g-o	۰/۰۴۴ fgh	۰/۰۳۲ g-p	۰/۰۵۸ cde	۰/۰۶۶ a-d	۰/۰۵۹ b-e	۲۱	
	۰/۰۰۷ wx	۰/۰۱۰ t-x	۰/۰۰۸ wvx	۰/۰۰۹ u-x	۰/۰۱۱ t-x	۰/۰۰۹ u-x	۰	وزن خشک ساقه (گرم)
	۰/۰۱۶ q-x	۰/۰۱۶ q-x	۰/۰۱۶ q-x	۰/۰۲۱ n-w	۰/۰۲۰ o-x	۰/۰۱۶ q-x	۷	۱۰۰ میلی مولار (mM)
	۰/۰۲۲ m-w	۰/۰۲۳ l-v	۰/۰۲۹ h-r	۰/۰۳۵ g-n	۰/۰۳۵ g-o	۰/۰۳۰ h-r	۱۴	
	۰/۰۴۲ f-i	۰/۰۶۸ abc	۰/۰۵۲ def	۰/۰۷۳ ab	۰/۰۴۶ efg	۰/۰۶۵ a-d	۲۱	
	۰/۰۰۷ wvx	۰/۰۱۰ w-x	۰/۰۰۸ wvx	۰/۰۱۱ t-x	۰/۰۰۷ wvx	۰/۰۱۱ t-x	۰	
	۰/۰۱۲ s-x	۰/۰۱۳ s-x	۰/۰۱۵ q-x	۰/۰۲۱ n-x	۰/۰۱۷ p-x	۰/۰۲۶ j-t	۷	۱۵۰ میلی مولار (mM)
	۰/۰۲۴ l-u	۰/۰۲۸ h-r	۰/۰۳۳ g-o	۰/۰۳۸ f-l	۰/۰۳۹ f-j	۰/۰۴۴ fgh	۱۴	
	۰/۰۴۱ f-i	۰/۰۶۳ a-d	۰/۰۶۱ a-d	۰/۰۷۵ a	۰/۰۵۲ def	۰/۰۴۲ f-i	۲۱	
	۰/۰۰۹ v	۰/۰۱۵ uv	۰/۰۱۵ uv	۰/۰۲۴ s-v	۰/۰۲۴ s-v	۰/۰۲۰ s-v	۰ (نمونه برداری قبل تنش)	
	۰/۰۲۰ s-v	۰/۰۶۰ h-r	۰/۰۴۳ k-v	۰/۰۲۷ r-v	۰/۰۱۸ tuv	۰/۰۶۲ h-q	۷ (عدم اعمال تنش)	
	۰/۰۷۶ d-l	۰/۰۷۸ d-k	۰/۰۵۸ cde	۰/۰۱۰ c-g	۰/۰۸۲ d-j	۰/۰۷۸ d-k	۱۴	
	۰/۰۷۴ e-l	۰/۱۱۹ bc	۰/۰۶۷ h-o	۰/۱۰۴ c-f	۰/۱۶۴ a	۰/۱۰۱ c-g	۲۱	
	۰/۰۰۸ v	۰/۰۱۴ uv	۰/۰۱۲ v	۰/۰۱۶ uv	۰/۰۱۵ uv	۰/۰۲۰ s-v	۰	وزن خشک ریشه (گرم)
	۰/۰۲۸ q-v	۰/۰۳۶ o-v	۰/۰۶۶ h-p	۰/۰۴۸ j-u	۰/۰۳۲ o-v	۰/۰۳۷ m-v	۷	۱۰۰ میلی مولار (mM)
	۰/۰۵۳ h-s	۰/۰۶۴ h-p	۰/۰۷۳ e-l	۰/۱۰۳ c-g	۰/۰۸۸ c-h	۰/۰۶۱ h-r	۱۴	
	۰/۰۷۸ d-k	۰/۱۴۴ ab	۰/۰۷۹ d-j	۰/۱۷۲ a	۰/۱۱۰ cd	۰/۱۱۹ bc	۲۱	
	۰/۰۱۲ v	۰/۰۱۹ s-v	۰/۰۱۵ uv	۰/۰۱۹ s-v	۰/۰۱۶ uv	۰/۰۱۴ uv	۰	
	۰/۰۲۲ s-v	۰/۰۳۱ p-v	۰/۰۴۲ l-v	۰/۰۳۵ n-v	۰/۰۲۸ q-v	۰/۰۵۲ i-t	۷	۱۵۰ میلی مولار (mM)
	۰/۰۵۴ h-s	۰/۰۵۱ h-p	۰/۰۵۹ h-q	۰/۰۸۲ c-h	۰/۰۷۳ e-l	۰/۰۶۹ f-l	۱۴	
	۰/۰۶۹ h-m	۰/۰۸۰ d-j	۰/۰۸۷ c-i	۰/۱۰۱ c-g	۰/۰۶۴ h-p	۰/۰۷۱ e-l	۲۱	

ستون‌هایی با حروف مشابه اختلاف آماری معنی داری با هم ندارند.

کاهش وزن خشک ریشه و برگ چغندر قند می‌شود (Dadkhah, 2011)، لذا کاهش وزن خشک ریشه و اندام هوایی در نهایت منجر به کاهش بیوماس کل گیاه می‌گردد. نتایج مطالعات فتوحی و زاهدی (۱۳۹۳) نشان داد که شوری بر وزن خشک اندام هوایی و ریشه ذرت تأثیر معنی دار دارد. همچنین در تحقیقی دیگر حیدری و همکاران (۱۳۹۸) دریافتند

۱۰۰ میلی مولار و ۲۱ روز بعد از نمونه برداری نداشت. کمترین میزان وزن خشک ریشه در رقم قدس ملاحظه شد، که اختلاف معنی داری با تیمارهای تنش شوری نداشت و نیز رقم ارگ تحت تنش شوری و ۲۱ روز بعد از زمان نمونه برداری در تیمار شاهد به دست آمد (جدول ۳). یون‌های زیان بار مانند سدیم، کلر و سولفات در شرایط تنش شوری موجب آسیب پذیری و

کاهش دهد و یا از وقوع آن جلوگیری کند. بیشترین وزن تر ریشه، ساقه و برگ و نیز بیشترین وزن خشک ریشه، ساقه و برگ در شرایط بدون تنش شوری برای رقم فلات مشاهده شد. از بین ارقام مورد مطالعه رقم ارگ تحمل بیشتری در مقابل تنش شوری نشان داد. پیشنهاد می‌شود که آزمایشات پروتئینی بر روی پروتئوم اندام‌های دیگر گیاه گندم و در مراحل رشدی دیگری انجام شود.

سیاس‌گذاری

از مرکز تحقیقات کشاورزی مغان که بذور ارقام مورد مطالعه این تحقیق را فراهم نمودند، کمال تشکر را دارم و از سرکار خانم دکتر سیده یلدا رئیسی ساداتی که در این پژوهش نهایت همکاری را داشتند، صمیمانه قدردانی می‌نمایم.

وزن تر و خشک کل گیاه کنگد تحت تیمارهای ۱۰۰ و ۲۰۰ میلی‌مولار کلرید سدیم کاهش یافت اما تحت تیمار ۵۰ میلی‌مولار کلرید سدیم افزایش داشت. نتایج تحقیق حاضر در رابطه با کاهش وزن خشک ساقه و ریشه در غلظت پایین شوری (۱۰۰ میلی‌مولار) با یافته‌های فوق مطابقت داشت

نتیجه‌گیری

به‌طور کلی نتایج حاصل از آزمایش نشان داد که تنش شوری، ارقام مختلف گندم را به نحو متفاوتی تحت تأثیر قرار داده است، به‌طوری‌که رقم‌ها با استفاده از مکانیسم‌های مختلفی با سمیت ناشی از تنش شوری مقابله می‌کنند. همچنین تجمع پروتئین‌ها در ارقام بم، ارگ و فلات بیشتر از ارقام تجن، قدس و ازادی بود و فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان سازوکار دفاعی بسیار مهمی محسوب می‌شود و افزایش فعالیت آن‌ها در زمان تنش شوری می‌تواند تنش اکسیداتیو را

منابع

- جهانبخش گده‌کهریز، سدابه، و رئیسی‌ساداتی، سیده یلدا (۱۴۰۱). ارزیابی برخی ویژگی‌های فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی ژنوتیپ‌های گندم نان (*Triticum aestivum* L.) تحت تنش شوری. *مجله فرآیند و کارکرد گیاهی*، ۱۱(۵۰)، ۲۶۱-۲۷۴. DOR: 20.1001.1.23222727.1401.11.50.16.1
- حیدری، حمیده، نیکنام، وحید، و ابراهیم‌زاده معبود، حسن (۱۳۹۸). بررسی اثر پنکونازول بر پاسخ‌های فیزیولوژیکی، بیوشیمیایی گیاه کنگد (*Sesamum indicum* L.) تحت تأثیر تنش شوری. *مجله پژوهش‌های گیاهی (مجله زیست‌شناسی ایران)*، ۳۱(۴)، ۱-۱۰. DOR: 20.1001.1.23832592.1399.33.4.14.0
- فتحی، علی‌رضا، و زاهدی، مرتضی (۱۳۹۳). تأثیر محلول‌پاشی نانوذرات اکسید آهن و روی بر رشد و محتوی یونی دو ژنوتیپ ذرت (*Zea mays*) در شوری‌های متفاوت خاک. *نشریه پژوهش‌های زراعی ایران*، ۲(۱)، ۱۱۰-۱۱۷. Doi: 10.22067/GSC.V12I1.36647
- کارگر خرمی، سروش، جامعی، رشید، درویش‌زاده، رضا، و حسینی سرقین، سیاوش (۱۳۹۸). تأثیر تنش شوری بر هورمون‌های اکسین، جیبرلین، و ویژگی‌های فیزیولوژیکی، ریخت‌شناختی و آناتومیکی دانه رست‌های گیاه بامیه (*Hibiscus esculentus* L.). *مجله زیست‌شناسی گیاهی ایران*، ۱۱(۴۲)، ۶۷-۸۲. Doi: 10.22108/IJPB.2019.114287.1128
- Abd El-Mageed, T. A., Rady, M. O., Semida, W. M., Shaaban, A., & Mekdad, A. A. (2021). Exogenous micronutrients modulate morpho-physiological attributes, yield, and sugar quality in two salt-stressed sugar beet cultivars. *Journal of Soil Science and Plant Nutrition*, 21, 1421-1436. Doi: 10.1007/s42729-021-00450-y
- Alavilli, H., Yolcu, S., Skorupa, M., Aciksoz, S. B., & Asif, M. (2023). Salt and drought stress-mitigating approaches in sugar beet (*Beta vulgaris* L.) to improve its performance and yield. *Planta*, 258(2), 30. <https://doi.org/10.1007/s00425-023-04189-x>
- Ashraf, M. F. M. R. & Foolad, M. R. (2007). Roles of glycine betaine and proline in improving plant abiotic stress resistance. *Environmental and Experimental Botany*, 59(2), 206-216. <https://doi.org/10.1016/j.envexpbot.2005.12.006>

- Allocati, N., Federici, L., Masulli, M., & Di Ilio, C. (2009). Glutathione transferases in bacteria. *The FEBS Journal*, 276(1), 58-75. <https://doi.org/10.1111/j.1742-4658.2008.06743.x>
- Abu Hena, M. K., Kim KiHyun, K. K., Shin DongHoon, S. D., Seo HyungSeok, S. H., Shin KwangHyun, S. K., Park CheolSoo, P. C., & Woo SunHee, W. S. (2010). Proteomics profile of pre-harvest sprouting wheat by using MALDI-TOF mass spectrometry. *Plant Omics*, 2(3), 110-119.
- Abedini, M. & Hassani, B. D. (2015). Salicylic acid affects wheat cultivars antioxidant system under saline and non-saline condition. *Russian Journal of Plant Physiology*, 62, 604-610. <https://doi.org/10.1134/S1021443715050027>
- Amirkhiz, K. F., Dehaghi, M. A., Sanavi, S. A. M. M., & Heshmati, S. (2011). The effects of soil and foliar application of Fe on some biochemical characteristics of safflower (*Carthamus tinctorius* L.) under two irrigation regimes. *Iranian Journal of Field Crop Science*, 42, 509-518. DOR: 20.1001.1.20084811.1390.42.3.8.8
- Bai, J., Liu, J., Zhang, N., SA, R., & Jiang, L. (2013). Effect of salt stress on antioxidant enzymes, soluble sugar and yield of oat. *Advance Journal of Food Science and Technology*, 5(3), 303-309. DOI: 10.19026/ajfst.5.3261
- Becker, M. A. & Tomkins, G. M. (1969). Pleiotropy in a cysteine-requiring mutant of *Salmonella typhimurium* resulting from altered protein-protein interaction. *Journal of Biological Chemistry*, 244(21), 6023-6030. DOI:[https://doi.org/10.1016/S0021-9258\(18\)63576-8](https://doi.org/10.1016/S0021-9258(18)63576-8)
- Bates, L. S., Waldren, R. P., & Teare, I. D. (1973). Rapid determination of free proline for wither stress studies. *Plant and Soil*, 39, 205-208. Doi: 10.1007/BF00018060
- Bouras, H., Bouaziz, A., Bouazzama, B., Hirich, A., & Choukr-Allah, R. (2021). How phosphorus fertilization alleviates the effect of salinity on sugar beet (*Beta vulgaris* L.) productivity and quality. *Agronomy*, 11(8), 1491. Doi: doi.org/10.3390/agronomy11081491
- Bradford, M. M. (1976). A rapid and sensitive for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Analytical Biochemistry*, 72, 248. Doi: 10.1006/abio.1976.9999
- Cui, S., Huang, F., Wang, J., Ma, X., Cheng, Y., & Liu, J. (2005). A proteomic analysis of cold stress responses in rice seedlings. *Proteomics*, 5(12), 3162-3172. <https://doi.org/10.1002/pmic.200401148>
- Dolatabadi, N., Toorchi, M., Valizadeh, M., & Bandehagh, A. (2018). The proteomic analysis of leaf in Rapeseed (*Brassica napus* L) under salt stress. *Agricultural Biotechnology Journal*, 9, 51-64. Doi: 10.22103/JAB.2018.2014
- Dastneshan, S. & Sabokdast, M. (2020). Evaluation of tolerance rate of some genotypes of beans (*Phaseolus vulgaris* L.) to salinity stress. *Journal of Crop Breeding*, 11(32), 184-194. doi:10.29252/jcb.11.32.184
- Dadkhah, A. (2011). Effect of salinity on growth and leaf photosynthesis of two sugar beet (*Beta vulgaris* L.) cultivars. *Journal of Agriculture Science and Technology*, 13, 1001-1012. DOR: 20.1001.1.16807073.2011.13.7.5.0
- Emami Bistegani, Z. & Bakhshande, A. M. (2020). Physiology of Environmental Stress in Medicinal Plants. Tehran, Agricultural Research, Education and Extension Organization. Publication of agricultural education.
- Ferrel, R. E., Fellers, D. A., & Shepherd, A. D. (1969). Determination of free lysine and methionine in amino acid-fortified wheat. *Cereal Chemistry*, 46, 614-620.
- Gomes, F. P., Oliva, M. A., Mielke, M. S., Almeida, A. A. F., & Aquino, L. A. (2010). Osmotic adjustment, proline accumulation and cell membrane stability in leaves of *Cocos nucifera* submitted to drought stress. *Scientia Horticulturae*, 126(3), 379-384. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2010.07.036>
- Hasanuzzaman, M., Oku, H., Nahar, K., Bhuyan, M. B., Mahmud, J. A., Baluska, F., & Fujita, M. (2018). Nitric oxide-induced salt stress tolerance in plants: ROS metabolism, signaling, and molecular interactions. *Plant Biotechnology Reports*, 12, 77-92. <https://doi.org/10.1007/s11816-018-0480-0>
- Hosseini, H., Mousavi-Fard, S., Fatehi, F., & Qaderi, A. (2017). Changes in phytochemical and morpho-physiological traits of thyme (*Thymus vulgaris* CV Varico 3) under different salinity levels. *Journal of Medicinal plants*, 16(61), 22-33. DOR: 20.1001.1.2717204.2017.16.61.18.9
- Hong, Z., Lakkineni, K., Zhang, Z., & Verma, D. P. S. (2000). Removal of feedback inhibition of Δ^1 -pyrroline-5-carboxylate synthetase results in increased proline accumulation and protection of plants from osmotic stress. *Plant Physiology*, 122(4), 1129-1136. <https://doi.org/10.1104/pp.122.4.1129>
- Jahanbakhsh Godehkahriz, S. & Yalda Raisi Sadati, S. (2022). Evaluation of some physiological and biochemical characteristics of bread wheat (*Triticum aestivum* L.) genotypes under salinity stress. *Journal of Plant Process and Function*, 11(50), 261-274. DOR: 20.1001.1.23222727.1401.11.50.16.1
- Jafarnejadi, A. R., Meskini-Vishkaee, F., Mousavi Fazl, M. H., Ayeneh, G. L., & Behbahani, L. (2022). Evaluating the effect of iron and zinc micronutrient on wheat quantitative and qualitative yield under salinity stress in Khuzestan climate. *Agricultural Engineering*, 44(4), 367-381. DOI: 10.22055/agen.2022.39694.1625
- Laemmli, U. K. (1970). Cleavage of structural proteins during the assembly of the head of bacteriophage T4. *Nature*, 227(5259), 680-685. <https://doi.org/10.1038/227680a0>
- Loll, B., Kern, J., Saenger, W., Zouni, A., & Biesiadka, J. (2005). Towards complete cofactor arrangement in the 3.0 Å resolution structure of photosystem II. *Nature*, 438(7070), 1040-1044. <https://doi.org/10.1038/nature04224>
- Muchate, N. S., Rajurkar, N. S., Suprasanna, P., & Nikam, T. D. (2019). NaCl induced salt adaptive changes and enhanced accumulation of 20-hydroxyecdysone in the in vitro shoot cultures of *Spinacia oleracea* (L.). *Scientific*

- reports, 9(1), 12522. <https://doi.org/10.1038/s41598-019-48737-6>
- Mahadevaiah, C., Vignesh, P., Appunu, C., Valarmathi, R., Dhansu, P., Kumar, A., & Kumar, R. (2023). Physiological characterization of *Tripidium arundinaceum* and sugarcane (*Saccharum* spp.) germplasm for salinity stress tolerance at the formative stage. *Sustainability*, 15(8), 6962. <https://doi.org/10.3390/su15086962>
- Mekdad, A. A., Rady, M. M., Ali, E. F., & Hassan, F. A. (2021). Early sowing combined with adequate potassium and sulfur fertilization: Promoting *Beta vulgaris* (L.) yield, yield quality, and K-and S-use efficiency in a dry saline environment. *Agronomy*, 11(4), 806. <https://doi.org/10.3390/agronomy11040806>
- Ndimba, B. K., Chivasa, S., Simon, W. J., & Slabas, A. R. (2005). Identification of Arabidopsis salt and osmotic stress responsive proteins using two-dimensional difference gel electrophoresis and mass spectrometry. *Proteomics*, 5(16), 4185-4196. <https://doi.org/10.1002/pmic.200401282>
- Niazian, M., Nomani, M., & Sadat, N. S. A. (2016). A review on biometrical methods used for salt tolerance breeding in crops. *Journal of Crop Breeding*, 8(17), 24-41. DOI: 10.18869/acadpub.jcb.8.17.41
- Omokolo, N. D., Tsala Ndzomo, G., & Djocgoue, P. F. (1996). Changes in carbohydrate, amino acid and phenol content in cocoa pods from three clones after infection with *Phytophthora megakarya* Bra. and Grif. *Annals of Botany*, 77(2), 153-158. <https://doi.org/10.1006/anbo.1996.0017>
- Pang, X. M., Zhang, Z. Y., Wen, X. P., Ban, Y., & Moriguchi, T. (2007). Polyamines, all-purpose players in response to environment stresses in plants. *Plant Stress*, 1(2), 173-188.
- Pirasteh-Anosheh, H., Emam, Y., & Pessarakli, M. (2019). Grain filling pattern of *Hordeum vulgare* as affected by salicylic acid and salt stress. *Journal of Plant Nutrition*, 42(3), 278-286. <https://doi.org/10.1080/01904167.2018.1554680>
- Rinalducci, S., Egidi, M. G., Mahfoozi, S., Godehkahriz, S. J., & Zolla, L. (2011). The influence of temperature on plant development in a vernalization-requiring winter wheat: A 2-DE based proteomic investigation. *Journal of Proteomics*, 74(5), 643-659. <https://doi.org/10.1016/j.jprot.2011.02.005>
- Rostami, M., Javadi, A., & Hosseinzadeh, S. M. (2020). Induction of resistance to salinity stress in the produced seeds of wheat after foliar application of nano-zinc oxide and nano-iron oxide. *Journal of Plant Research (Iranian Journal of Biology)*, 33(3), 593-606. DOR: 20.1001.1.23832592.1399.33.3.5.9
- Souri, M. K. (2016). Amino chelate fertilizers: The new approach to the old problem; a review. *Open Agriculture*, 1(1), 118-123. <https://doi.org/10.1515/opag-2016-0016>
- Shi Qing Hua, S. Q., Lin JiaPeng, L. J., Yao ZhengPei, Y. Z., Feng HaiYing, F. H., & Shi ShuBing, S. S. (2010). Effects of NaCl stress on physiological and biochemistry characteristics of wheat. *Agricultural Science*, 47(7), 1479-1484.
- Shahraki, H., Mahdi Nezhad, N., & Fakheri, B. A. (2021). The effect of synthesis nanosilver by plant extract on morphological and antioxidant properties of Artichoke (*Cynara scolymus* L.) under salinity stress. *Plant Productions*, 44(1), 103-114. <https://doi.org/10.22055/ppd.2020.29011.1746>
- Skorupa, M., Szczepanek, J., Yolcu, S., Mazur, J., Tretyn, A., & Tyburski, J. (2022). Characteristic of the ascorbate oxidase gene family in *Beta vulgaris* and analysis of the role of AAO in response to salinity and drought in beet. *International Journal of Molecular Sciences*, 23(21), 12773. <https://doi.org/10.3390/ijms232112773>
- Shafiei, Y., Jahanbakhsh Godehkahriz, S., Farzaneh, S., & Raisi Sadati, S. Y. (2023). Investigating the expression of induced proteins in leaves of two soybean cultivars under salt stress by two-dimensional electrophoresis technique. *Modern Genetics Journal*, 18(3), 325-337.
- Sanchez-Aguayo, I., Rodriguez-Galan, J. M., Garcia, R., Torreblanca, J., & Pardo, J. M. (2004). Salt stress enhances xylem development and expression of S-adenosyl-L-methionine synthase in lignifying tissues of tomato plants. *Planta*, 220, 278-285. <https://doi.org/10.1007/s00425-004-1350-2>
- Tahjib-UI-Arif, M., Sohag, A. A. M., Afrin, S., Bashar, K. K., Afrin, T., Mahamud, A. S. U., Polash, M. A. S., Hossain, M. T., Sohel, M. A. T., Brestic, M., & Murata, Y. (2019). Differential response of sugar beet to long-term mild to severe salinity in a soil-pot culture. *Agriculture*, 9(10), 223. DOI: 10.3390/agriculture9100223
- Yang LiMing, Y. L., Tian DaGang, T. D., Luo YuMing, L. Y., Zhang RuiYue, Z. R., Ren ChongMiao, R. C., & Zhou Xin, Z. X. (2011). Proteomics-based identification of storage, metabolic, and allergenic proteins in wheat seed from 2-DE gels. *International Journal of Agricultural Sciences*, 6(4), 808-816.
- Yang, Q., Zhao, D., & Liu, Q. (2020). Connections between amino acid metabolisms in plants: Lysine as an example. *Frontiers in Plant Science*, 11, 928. <https://doi.org/10.3389/fpls.2020.00928>

The effect of salt stress on the electrophoresis pattern of total protein and some biochemical traits of wheat

Alireza Shahbazi¹, Sodabeh Jahanbakhsh Godehkahriz*¹, Seyedeh Yalda Raeisi Sadati²

¹ Department of Production Engineering and Plant Genetics, Faculty of Agriculture and Natural Resources, University of Mohaghegh Ardabili, Ardabil, Iran

² Plant Breeding-Molecular Genetics, Faculty of Agriculture and Natural Resources, University of Mohaghegh Ardabili, Ardabil, Iran

(Received: 2024/04/12, Accepted: 2024/08/13)

Abstract

Evaluation of the tolerance of different wheat cultivars to environmental stresses, especially salinity stress, and its effect on wheat in different stages of growth is an important factor in choosing them for cultivation under these stress conditions. Therefore, knowing the mechanisms of tolerance to salt stress in wheat will help to choose suitable cultivars for cultivation in areas that are exposed to this stress. The present study was evaluated with the aim of investigating the effect of salinity stress on different varieties of wheat in order to identify the mechanisms involved in the transmission of the defense message of this plant from the biochemical and molecular aspects. The experiment was conducted in a factorial manner based on a completely randomized design, with three replications in the greenhouse of the Faculty of Agriculture of the University of Mohaghegh Ardabili. The investigated factors include salinity stress at three levels (zero, 100 and 150 mM sodium chloride (NaCl)), six wheat cultivars (Quds, Azadi, Arg, Tajen, Flat and Bam) and sampling time (before applying stress was 7, 14 and 21 days after application of salt stress). From the two-leaf stage onwards, the samples of the salinity stress level for the first three days were stressed with salt solution, every day with a concentration of 50 mM, so that the plants would not be shocked by sudden salinity stress. After 3 days, the plants were exposed to stress with concentrations of 100 and 150 mM sodium salt, and normal water was used for the control treatment. The results showed that the amount of proline, total protein, lysine and methionine increased with the increase in salinity stress. Also, under salinity stress, protein accumulation was higher in Bam, Arg and Plat cultivars than Tajen, Quds and Azadi cultivars. As a result, the numbers deal with the toxicity caused by salinity by using different defense mechanisms. In general, according to the results of this research, it can be concluded that salinity changed the studied biochemical traits, and among the cultivars studied, the Arg cultivar showed more tolerance to salinity stress. Also, in general, the accumulation of proteins in Bam, Arg and Plat varieties was higher than Tajn, Quds and Azadi varieties.

Keywords: Lysine, One-dimensional electrophoresis, Salt stress, Total soluble protein

Corresponding author, Email: jahanbakhsh@uma.ac.ir