

## بررسی فعالیت آنتی اکسیدان‌ها و تنش اکسیداتیو ناشی از شوری در لاین‌های تریتیکاله و گندم در شرایط مزرعه

احمد ارزانی<sup>۱\*</sup> و مریم صالحی<sup>۱</sup>

گروه زراعت و اصلاح نباتات، دانشکده کشاورزی، دانشگاه صنعتی اصفهان

### چکیده:

تأثیر شوری بر فعالیت آنزیم‌های آسکوربات پراکسیداز (APX)، گلوکاتایون ردوکتاز (GR)، سوپر اکسید دیسموتاز (SOD)، محتوای کاروتنوئیدها، میزان پراکسیداسیون لیپید بر حسب میزان تیوباریبوتیوریک اسید و عملکرد دانه ۱۸ لاین تریتیکاله شامل نه لاین دابل هاپلوئید و نه لاین F<sub>8</sub> خواهری در مقایسه با دو رقم گندم روشن (متحمل به خشکی) و کویر (متحمل به شوری) در شرایط بدون تنش و تنش شوری در آزمایشی در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی با سه تکرار در دو شرایط محیطی (عدم تنش و تنش شوری) در سال زراعی ۱۳۸۸-۱۳۸۷ در مزرعه تحقیقاتی دانشکده کشاورزی دانشگاه صنعتی اصفهان مطالعه شد. در هر دو شرایط محیطی، تا اواسط مرحله ساقه‌دهی آبیاری با آب معمولی (غیر شور) انجام شده و پس از آن در آزمایش شوری آبیاری با آب شور (هدایت الکتریکی ۱۶ دسی زیمنس بر متر) انجام گرفت. شوری منجر به افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان و پراکسیداسیون لیپید و کاهش محتوای کاروتنوئیدها در ژنوتیپ‌های گندم و تریتیکاله شد. رابطه منفی و معنی داری ( $r = -0.54^*$ ) بین کاهش عملکرد دانه ناشی از شوری و محتوای کاروتنوئید در شرایط تنش شوری وجود داشت. در هر دو شرایط محیطی همبستگی منفی و معنی داری بین عملکرد دانه و پراکسیداسیون لیپید (در هر دو شرایط محیطی  $r = -0.61^*$ ) مشاهده شد. مقایسات متعامد نشان دهنده فعالیت بالاتر آنزیم‌های آنتی اکسیدان و پراکسیداسیون لیپید کمتر در تریتیکاله نسبت به گندم بود که احتمالاً مرتبط با تحمل به شوری بالاتر تریتیکاله بوده است.

**واژه‌های کلیدی:** آسکوربات پراکسیداز، پراکسیداسیون لیپید، تریتیکاله، سوپر اکسید دیسموتاز، گلوکاتایون ردوکتاز، گندم

### مقدمه:

هکتار) تحت تأثیر شوری قرار دارد که ۸/۵ میلیون هکتار آن شدیداً تحت تأثیر شوری است (Cheraghi *et al.*, 2009). عملکرد به عنوان پیچیده‌ترین ویژگی گیاه تحت تأثیر تعداد زیادی از فرآیندهای فیزیولوژیک است و نمود قابل اندازه‌گیری این فرآیندها در صفات نمو، فیزیولوژیکی و مورفولوژیکی گیاه تجلی می‌یابد (Wallance *et al.*, 1972). غربالگری برای صفت تحمل به شوری در شرایط کنترل شده و با استفاده از صفات فیزیولوژیک نسبت به انتخاب

مطالعه تحمل گیاه به تنش‌های محیطی، نقش مهمی در جلوگیری از کاهش رشد و عملکرد محصولات زراعی دارد. شوری از مشکلات عمده در مناطق خشک و نیمه خشک جهان است و برآوردها حاکی از این است که بیش از ۸۰۰ میلیون هکتار برابر با بیش از ۶٪ زمین‌های جهان تحت تأثیر سطوح مختلف شوری هستند (FAO, 2011). در حدود ۲۰ درصد از اراضی کشور (حدود ۳۴ میلیون

\*نویسنده مسؤل، نشانی پست الکترونیکی: a\_arzani@cc.iut.ac.ir

کلروپلاستی در تنباکو تراریخته تحمل افزایش یافته به تنش شوری را موجب می‌شود (Mudgal et al., 2010).

کارتوتوئیدها از آنتی‌اکسیدان‌های غیر آنزیمی محلول در چربی است که از سلول در مقابل رادیکال‌های آزاد و اکسیژن منفرد طی یک فعالیت آنتی‌اکسیدانی حمایت می‌کنند (Hidalgo et al., 2006). کارتوتوئیدها نقش دفع کردن رادیکال‌های آزاد را با همکاری توکوفرول انجام می‌دهند (Carter and Knapp, 2001).

تریتیکاله (X. Triticosecale Wittmack) موفق‌ترین گیاه غلاتی ساخت بشر است که با هدف بدست آوردن محصولی با کیفیت برتر والد گندم و دارای تحمل به تنش‌های زنده و غیر زنده والد چاودار تولید شده‌است (Lelley, 2006). با توجه به تلاش‌های اصلاحی متمرکز که در این زمینه انجام شده است، ارقام جدید تریتیکاله با بهترین ارقام گندم از نظر ظرفیت عملکرد تحت شرایط مطلوب برابری داشته و ولی در انواع خاک‌های حاشیه‌ای پر محصول‌تر از گندم هستند (Ammar et al., 2004).

روش دابل‌هاپلوئیدی در حال حاضر در برنامه‌های اصلاحی تعدادی از گونه‌های زراعی استفاده می‌شود. برای هر صفت پیچیده ژنتیکی، کار با ژنوتیپ‌های با هموزیگوسیتی بالا همانند تولید با روش دابل‌هاپلوئیدی، خصوصاً تحت تنش شوری، دارای مزیت است. بنابراین لاین‌های دابل‌هاپلوئید مشتق شده از دانه گرده هیبریدهای  $F_1$  حاصل از والدین متحمل به شوری، ابزار نوید دهنده‌ای برای تحمل به شوری رقم‌های گیاهی محسوب می‌شوند (Arzani, 2008).

این آزمایش به منظور ارزیابی لاین‌های تریتیکاله از لحاظ آنتی‌اکسیدان‌ها و میزان پراکسیداسیون لیپید در شرایط مزرعه‌ای شور، مقایسه آنها با دو رقم گندم نان (روشن، رقم متحمل به خشکی و کویر، رقم متحمل به شوری) و مقایسه واکنش لاین‌های  $F_8$  با لاین‌های دابل هاپلوئید خواهری آن انجام شد.

برای عملکرد و اجزای آن در شرایط شوری می‌تواند مؤثرتر باشد (Flowers and Yeo, 1995).

تنش شوری به دلیل اثرات اسمزی بر فعالیت‌های متابولیک مختلف، کمبود آب را القا می‌کند که این کمبود آب منجر به تنش اکسیداتیو از طریق افزایش گونه‌های فعال اکسیژن (ROS) مثل سوپر اکسید ( $O_2^-$ ), پراکسید هیدروژن ( $H_2O_2$ ) و رادیکال‌های هیدروکسیل ( $OH^\cdot$ ) می‌شود و ممکن است منجر به صدمه سلولی از طریق اکسیداسیون لیپیدها، پروتئین و اسیدهای نوکلئیک شود (Mudgal et al., 2010; Parida and Das, 2005) پراکسیداسیون لیپید (Lipid Peroxidation) به عنوان شاخصی از تنش اکسیداتیو در گیاه در معرض شوری استفاده می‌شود (Mudgal et al., 2010). نتایج حاصل از پراکسیداسیون لیپید شامل از دست دادن اسیدهای چرب غیر اشباع، کاهش سیالیت و پتانسیل غشاء لیپیدی، تغییر در نفوذپذیری غشاء سلولی، تأثیر بر روی آنزیم‌های غشایی و رها سازی مواد داخل سلول می‌باشد (Halliwell, 1999).

برای غلبه بر آثار اکسیداتیو القا شده از شوری، گیاهان از یک سیستم آنتی‌اکسیدانی پیچیده استفاده می‌کنند که شامل آنتی‌اکسیدان‌های غیر آنزیمی مثل کارتوتوئیدها و آنزیم‌های جارویگر ROS مثل سوپر اکسیداز دیسموتاز (SOD)، آسکوربات پراکسیداز (APX)، گلووتاتیون ردوکتاز (GR) است (Mudgal et al., 2010). فعالیت هماهنگ آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان در قسمت‌های سلولی مختلف تعادل بین نسبت تشکیل و حذف گونه‌های فعال اکسیژن و نگهداری پراکسید هیدروژن در سطح مورد نیاز برای علامت‌دهی سلول را انجام می‌دهد (Munns and Tester, 2008).

مطالعات اخیر نشان داده که بیان بالای Mn-SOD میتوکندریایی در آرابیدوسیس و Cu/Zn-SOD



جدول ۱- مقادیر ضریب هدایت الکتریکی و کاتیون‌های محلول عصاره اشباع خاک

بلوک	EC (dS/m)		pH		Mg <sup>2+</sup> + Ca <sup>2+</sup> (m eq/l)		Na <sup>+</sup> (m eq/l)	
	بدون تنش	تنش شوری	بدون تنش	تنش شوری	بدون تنش	تنش شوری	بدون تنش	تنش شوری
۱	۱/۶	۶/۱	۷/۸	۷/۵	۷	۲۴	۹	۴۹
۲	۱/۸	۵/۸	۷/۹	۷/۶	۷/۵	۲۲	۱۰/۵	۴۲
۳	۱/۸	۵/۸	۷/۹	۷/۶	۷/۵	۲۲	۱۰/۵	۴۲

اعداد مربوط به میانگین عمق ۳۰ سانتی متری خاک می‌باشد.

### مواد و روش‌ها:

این پژوهش در مزرعه تحقیقاتی دانشگاه صنعتی اصفهان واقع در لورک نجف‌آباد در سال زراعی ۱۳۸۸-۱۳۸۷ در قالب دو آزمایش جداگانه به صورت طرح بلوک‌های کامل تصادفی با سه تکرار و دو نوع آب آبیاری (آب مزرعه تحقیقاتی لورک با هدایت الکتریکی یک دسی زیمنس بر متر و آب تهیه شده با غلظت ۱۷۵ میلی‌مولار نمک طعام معادل با ضریب هدایت الکتریکی ۱۶ دسی زیمنس بر متر) با استفاده از ۹ لاین F<sub>8</sub> و ۹ لاین دابل هاپلوئید خواهری تریتیکاله (تهیه شده از دکتر نورمن داروی، موسسه اصلاح‌نباتات، دانشگاه سیدنی، استرالیا) حاصل از تلاقی PolonyQ/TW179، همراه با دو رقم گندم نان روشن (رقم متحمل به خشکی) و کویر(رقم متحمل به شوری) انجام شد.

هر کرت شامل ۴ ردیف ۳ متری با فاصله خطوط ۲۵ سانتیمتری بود و با تراکم ۳۰۰ بوته در متر مربع کشت شد. در هر دو آزمایش تا اواسط مرحله ساقه رفتن (43 Zadoks)، آبیاری با استفاده از آب غیر شور با هدایت الکتریکی یک دسی زیمنس بر متر تا حد ظرفیت زراعی خاک و بر اساس ۷۰ میلی‌متر تبخیر از تشتک تبخیر مرکز هواشناسی نجف‌آباد انجام گردید (بافت خاک لوم رسی سیلتی، pH = ۷/۳-۷/۸ و EC = ۱/۱-۱/۲ dS m<sup>-1</sup>). در این آزمایش، تنش شوری از اواسط مرحله ساقه رفتن گیاه

اعمال شد. برای اعمال تنش شوری آبیاری با آب شور با غلظت ۱۷۵ میلی‌مولار نمک طعام معادل هدایت الکتریکی ۱۶ دسی‌زیمنس بر متر انجام گرفت. متوسط هدایت الکتریکی عصاره اشباع خاک تا عمق ۳۰ سانتی‌متر قبل از اعمال تنش ۱/۷ دسی‌زیمنس بر متر بود که بعد از پنج نوبت آبیاری با آب شور به ۵/۹ دسی‌زیمنس بر متر رسید (جدول ۱).

صفات گیاهی مورد بررسی شامل میزان فعالیت آنزیم-های آنتی‌اکسیدان آسکوربات پراکسیداز، گلوکاتیون ردوکتاز، سوپر اکسیداز دیسموتاز، میزان آنتی‌اکسیدان غیر آنزیمی کارتنوئید، میزان پراکسیداسیون لیپید، وزن خشک پدانکل و عملکرد دانه بود.

**آسکوربات پراکسیداز (APX):** فعالیت این آنزیم با روش Nakano و Asada (۱۹۸۷) مورد ارزیابی قرار گرفت. بدین ترتیب که ۰/۵ گرم از نمونه برگ تازه در درون لوله آزمایش که داخل ظرف یخ قرار گرفته بود با ۱/۵ میلی‌لیتر بافر استخراج (۵۰ میلی‌مولار بافر فسفات (pH=۷/۴)، ۱ میلی‌مولار اتیلن دی آمین تترا استیک (EDTA) (۰/۰۳۶ گرم)، ۱ گرم پلی ونیل پلی پیرولیدون (PVP)، ۲۵ میلی‌لیتر تریتون X-۱۰۰ (۰/۰۵٪) ترکیب گردید. مخلوط حاصل به مدت ۳۰ دقیقه در سانتی‌فریژ با دور ۱۰۰۰۰ g قرار گرفت، لایه شناور بالایی به منظور ادامه آزمایش به کار گرفته شد. ۱۰۰ میکرولیتر از مخلوط

واکنش (۵۰ میلی مولار بافر پتاسیم فسفات (pH=۷/۰)، ۰/۱ میلی مولار  $H_2O_2$ ، ۰/۵ میلی مولار آسکوربات (۰/۸۸۰۰ گرم)، ۰/۱ میلی مولار (EDTA) (۰/۰۳۶ گرم)) با ۱۰۰ میکرولیتر از لایه شناور بالایی مخلوط شد، تا واکنش اکسیداسیون توسط آنزیم موجود در بافت برگ گیاه انجام گردید. در نهایت در طول موج ۲۹۰ nm میزان فعالیت این آنزیم اندازه گیری شد. غلظت با استفاده از ضریب جذب ( $2/8 \text{ mM}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ ) محاسبه گردید.

**گلوکاتایون ردوکتاز (GR):** فعالیت این آنزیم از سرعت اکسید شدن نیکوتین آمید آدنین دی نوکلئوتید فسفات (NADPH) با استفاده از روش Donahue و همکاران (۱۹۹۷) انجام شد. مقدار ۰/۱ نمونه بافت گیاه در نیتروژن مایع به خوبی پودر شده سپس نمونه حاصل با ۰/۴ میلی لیتر از محلولی متشکل از مواد ۵۰ میلی مولار بافر فسفات (pH=۷) (۵۰ میکرولیتر)، ۱ میلی مولار اتیلن دی آمین تتراسنتیک اسید (EDTA) (۳۶ درصد)، ۱ میلی مولار آسکوربیت اسید (۰/۱۷ گرم)، ۲ گرم پلی ونیل پلی پیرولیدون ۲٪ (PVP)، ۰/۵۰ میلی لیتر تریتون ۰/۵۰ درصد (۵۰ میکرولیتر) که در ۱۰۰ میلی لیتر آب مقطر حل شدند، یکنواخت گردید. مخلوط حاصل به مدت ۲۰ دقیقه در سانتیفریژ با دور ۱۷۰۰۰ g قرار گرفت. حجم محلول آزمایش به ۱ میلی لیتر رسید که شامل تریس بافر ۰/۱ مولار (pH=۷/۸)، اتیلن دی آمین تتراسنتیک ۲ میلی مولار (EDTA) (۰/۷۳۴ گرم)، ۵۰ میکرومولار NADPH (۰/۰۰۴ گرم)، ۰/۵ میلی مولار گلوکاتایون اکسید شده (GSSG) (۰/۰۳۰ گرم)، ۲۰ میکرولیتر محلول شناور بود. با اضافه کردن NADPH بعد از ۵ دقیقه در دمای ۲۵ درجه سانتی گراد واکنش آغاز گردید. فعالیت GR با سرعت اکسیداسیون نیکوتین آمید آدنین دی نوکلئوتید فسفات (NADPH) در طول موج ۳۴۰ nm اندازه گیری شد. نتایج حاصل در ضریب جذب ( $6/2 \text{ mM}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ ) ضرب شد. واکنش GR به صورت mmol NADPH

می کند. **سوپر اکسید دیسموتاز (SOD):** فعالیت این آنزیم با استفاده از روش Laspina و همکاران (۲۰۰۵) انجام شد. بدین منظور ۰/۱۵ گرم از نمونه برگ گیاه تازه در درون لوله آزمایشی که داخل ظرف یخ گرفته بود با ۱/۵ میلی لیتر بافر استخراج (۲۵ میلی مولار بافر فسفات (pH=۷/۸) (۲۵۰ میکرولیتر)، ۰/۵ میلی مولار اتیلن دی آمین تتراسنتیک اسید (EDTA) (۰/۰۱۸ گرم)، ۰/۵ گرم پلی ونیل پلی پیرولیدون (PVP)، ۲۵ میلی لیتر تریتون ۱۰۰-X (۲۵ درصد) که در ۱۰۰ میلی لیتر آب مقطر حل شدند) با دمای ۴ درجه سانتی گراد به طور یکنواخت مخلوط گردید. مخلوط حاصل به مدت ۲۰ دقیقه در سانتیفریژ با دور ۱۰۰۰۰ g قرار گرفت. سپس مخلوط واکنش (۰/۲۱۳ گرم متیونین، ۰/۰۶۷ گرم NBT، ۰/۰۰۰۰۸ گرم ریو فلاوین که با آب مقطر به حجم ۱۰۰ میلی لیتر رسانیده شد) و ۱۰۰ میکرولیتر از لایه بالایی با ۰/۰۰۳ گرم EDTA و ۵۰۰ میکرولیتر پتاسیم فسفات مخلوط شد. لوله ها پس از تکان دادن در فاصله ۳۰ سانتی متری از منبع نوری که شامل ۶ لامپ فلورسانت ۱۵ وات می باشد، به مدت ۱۰ دقیقه قرار گرفتند. این واکنش در مجاورت نور انجام می گیرد و بعد از خارج شدن از مجاورت نور متوقف می گردد. سپس واکنش احیا NBT با استفاده از اسپکتوفتومتر در طول موج ۵۶۰ نانومتر اندازه گیری شد.

**پراکسیداسیون لیپید (LP):** میزان پراکسیداسیون لیپید بر حسب میزان ماده ای به نام تیوباریتوریک اسید (TBARS) طبق روش یانلری و همکاران (۲۰۰۶) اندازه گیری شد. مقدار ۰/۵ گرم از نمونه برگ گیاه با ۱۰ میلی لیتر تیوباریتوریک اسید ۰/۱ درصد ترکیب شد. ماده هموزن

واکنش (۵۰ میلی مولار بافر پتاسیم فسفات (pH=۷/۰)، ۰/۱ میلی مولار  $H_2O_2$ ، ۰/۵ میلی مولار آسکوربات (۰/۸۸۰۰ گرم)، ۰/۱ میلی مولار (EDTA) (۰/۰۳۶ گرم)) با ۱۰۰ میکرولیتر از لایه شناور بالایی مخلوط شد، تا واکنش اکسیداسیون توسط آنزیم موجود در بافت برگ گیاه انجام گردید. در نهایت در طول موج ۲۹۰ nm میزان فعالیت این آنزیم اندازه گیری شد. غلظت با استفاده از ضریب جذب ( $2/8 \text{ mM}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ ) محاسبه گردید.

واکنش GR به صورت mmol NADPH

جدول ۲- نتایج تجزیه واریانس مرکب صفات پراکسیداسیون لیپید، میزان فعالیت آنزیم‌های APX، GR، SOD، کاروتنوئید و عملکرد دانه در ژنوتیپ‌های گندم و تریتیکاله مورد مطالعه در شرایط تنش شوری و بدون تنش

منابع تغییرات	درجه آزادی	میانگین مربعات				پراکسیداسیون لیپید
		SOD	GR	APX	کاروتنوئید	
محیط	۱	۸۶/۵۵ <sup>**</sup>	۴/۸۶ <sup>**</sup>	۸/۴۵ <sup>**</sup>	۲۸۱۶۱۵۰۶۰ <sup>**</sup>	۰/۰۵۶ <sup>**</sup>
بلوک (محیط)	۴	۰/۳۱ <sup>ns</sup>	۰/۰۹ <sup>**</sup>	۰/۱۳ <sup>**</sup>	۳۰۶۹۴۷ <sup>ns</sup>	۰/۰۰۲ <sup>*</sup>
ژنوتیپ	۱۹	۳/۱۲ <sup>**</sup>	۰/۲۶ <sup>**</sup>	۰/۳۴ <sup>**</sup>	۷۰۰۳۵۲۵ <sup>**</sup>	۰/۰۰۷ <sup>**</sup>
ژنوتیپ × محیط	۱۹	۲/۲۲ <sup>**</sup>	۰/۱۱ <sup>**</sup>	۰/۱۴ <sup>**</sup>	۱۶۱۱۳۹۴ <sup>**</sup>	۰/۰۰۲ <sup>**</sup>
خطای آزمایش	۷۶	۰/۱۴	۰/۰۰۳	۰/۰۰۷	۶۱۰۳۷۱	۰/۰۰۰۶

<sup>ns</sup> غیر معنی‌دار، \* و \*\* به ترتیب معنی‌دار در سطح احتمال پنج و یک درصد

انجام شد. برای مقایسات گروهی ژنوتیپ‌ها شامل مقایسه لاین‌های F<sub>8</sub> در مقابل لاین‌های دابل‌هاپلوئید و همچنین مقایسه لاین‌های تریتیکاله در مقابل دو رقم گندم (روشن و کویر) از مقایسات متعامد (اورتوگنال) استفاده شد. به منظور تعیین روابط بین صفات، همبستگی فنوتیپی محاسبه گردید. محاسبات آماری با استفاده از نرم‌افزار SAS (SAS Institute, 1994) انجام شد.

### نتایج و بحث:

#### پراکسیداسیون لیپید:

نتایج تجزیه واریانس مرکب داده‌ها بیانگر اثر بسیار معنی‌دار تنش شوری و همچنین اثر متقابل ژنوتیپ و محیط برای صفت میزان پراکسیداسیون لیپید (LP) بود (جدول ۲). نتایج تجزیه واریانس نیز نشان داد که در هر دو شرایط محیطی اختلاف بسیار معنی‌داری بین ژنوتیپ‌های مورد آزمایش از نظر این صفت وجود داشت (جدول ۳). میانگین میزان پراکسیداسیون لیپید (LP) ژنوتیپ‌های مورد آزمایش در شرایط بدون تنش  $10/76 \text{ nmol g}^{-1} \text{ FW}$  و در شرایط تنش شوری  $15/9 \text{ nmol g}^{-1} \text{ FW}$  بود (جدول ۴). پراکسیداسیون لیپید تحت شرایط شوری افزایش یافت که

به مدت ۵ دقیقه در دور  $15000 \text{ g}$  سانتریفوژ گردید. ۲ میلی‌لیتر از محلول شناور بالای با ۴ میلی‌لیتر از ترکیب تری‌کلرو استیک اسید ۲۰ درصد (۲۰ گرم در ۱۰۰ میلی‌لیتر آب مقطر حل شد)، تیوباریتوریک اسید ۰/۵ درصد (۰/۵ گرم در ۱۰۰ میلی‌لیتر آب مقطر حل شد) مخلوط گردید. سپس مخلوط حاصل به مدت ۳۰ دقیقه در دمای ۹۵ درجه سانتی‌گراد قرار گرفته و سپس سریعاً به وسیله یخ سرد شد. محلول مجدداً به مدت ۱۰ دقیقه در سانتریفوژ با دور  $10000 \text{ g}$  قرار گرفت. در مرحله بعد جذب محلول بالای در طول موج  $532 \text{ nm}$  اندازه‌گیری شد. جذب غیر اختصاصی نیز در طول موج  $600 \text{ nm}$  اندازه‌گیری شد. سپس عدد جذب اختصاصی از میزان جذب غیر اختصاصی کسر شده و در نهایت میزان TBARS با استفاده از ضریب جذبی  $155 \text{ mmol}^{-1} \text{ cm}^{-1}$  محاسبه شد.

تجزیه واریانس مرکب صفات پس از انجام آزمون بارتلت برای همگن بودن خطای آزمایشی صورت گرفت. همچنین تجزیه واریانس صفات مورد مطالعه در هر یک از دو محیط آزمایشی شامل تنش شوری و بدون تنش در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی به صورت جداگانه

جدول ۳ - نتایج تجزیه واریانس صفات اندازه گیری شده در ژنوتیپ‌های گندم و تریتیکاله مورد مطالعه در شرایط تنش بدون تنش و تنش شوری

منابع تغییرات	درجه آزادی	میانگین مربعات					
		پراکسیداسیون لیپید	APX	GR	SOD	کارتونوئید	عملکرد دانه
بلوک	۲	۰/۲۳ <sup>n.s.</sup>	۰/۰۴ <sup>**</sup>	۰/۰۱ <sup>n.s.</sup>	۰/۳۲ <sup>*</sup>	۰/۰۰۲ <sup>*</sup>	۹۵۸۳۵ <sup>n.s.</sup>
		(۰/۲۹ <sup>n.s.</sup> )	(۰/۲۳ <sup>**</sup> )	(۰/۱۷ <sup>**</sup> )	(۰/۳۰ <sup>n.s.</sup> )	(۰/۰۰۰۹ <sup>n.s.</sup> )	(۵۱۸۰۵۹ <sup>n.s.</sup> )
ژنوتیپ	۱۹	۳۸/۰۶ <sup>**</sup>	۰/۱۲ <sup>**</sup>	۰/۰۹ <sup>**</sup>	۲/۲۱ <sup>**</sup>	۰/۰۰۶ <sup>**</sup>	۶۲۱۹۳۶۸ <sup>**</sup>
		(۳۱/۸۳ <sup>**</sup> )	(۰/۳۶ <sup>**</sup> )	(۰/۲۸ <sup>**</sup> )	(۳/۱۳ <sup>**</sup> )	(۰/۰۰۳ <sup>**</sup> )	(۲۳۹۵۵۵۰ <sup>**</sup> )
لاین‌های F8	۸	۲۹/۸۱ <sup>**</sup>	۰/۲۰ <sup>**</sup>	۰/۰۹ <sup>**</sup>	۲/۷۱ <sup>**</sup>	۰/۰۰۳ <sup>**</sup>	۵۷۱۸۳۸۹ <sup>**</sup>
		(۱۶/۷۸ <sup>**</sup> )	(۰/۲۷ <sup>**</sup> )	(۰/۱۸ <sup>**</sup> )	(۴/۰۶ <sup>**</sup> )	(۰/۰۰۳ <sup>**</sup> )	(۱۵۵۵۷۴۶ <sup>n.s.</sup> )
لاین‌های DH	۸	۴۰/۰۸ <sup>**</sup>	۰/۰۶ <sup>**</sup>	۰/۱۱ <sup>**</sup>	۱/۹۳ <sup>**</sup>	۰/۰۱۰ <sup>**</sup>	۲۶۱۰۲۶۳ <sup>*</sup>
		(۴۷/۰۹ <sup>**</sup> )	(۰/۴۵ <sup>**</sup> )	(۰/۳۴ <sup>**</sup> )	(۲/۴۲ <sup>**</sup> )	(۰/۰۰۴ <sup>**</sup> )	(۱۹۹۸۱۴۱ <sup>**</sup> )
DH vs. F8	۱	۱۳/۸۰ <sup>**</sup>	۰/۰۱۷ <sup>n.s.</sup>	۰/۰۱۶ <sup>*</sup>	۲/۵۲ <sup>**</sup>	۰/۰۰۲ <sup>n.s.</sup>	۱۷۰ <sup>n.s.</sup>
		(۰/۰۲ <sup>n.s.</sup> )	(۰/۳۸ <sup>**</sup> )	(۰/۷۱ <sup>**</sup> )	(۰/۰۸ <sup>n.s.</sup> )	(۰/۰۰۰ <sup>n.s.</sup> )	(۱۴۰۲۸۳۳ <sup>n.s.</sup> )
ارقام گندم	۱	۳۵/۰۴ <sup>**</sup>	۰/۰۰۰۶ <sup>n.s.</sup>	۰/۰۲ <sup>*</sup>	۰/۱۷ <sup>n.s.</sup>	۰/۰۰۰ <sup>n.s.</sup>	۳۲۲۹۴۴ <sup>n.s.</sup>
		(۷/۰۴ <sup>n.s.</sup> )	(۰/۰۰۸ <sup>n.s.</sup> )	(۰/۰۲ <sup>*</sup> )	(۰/۴۸ <sup>n.s.</sup> )	(۰/۰۱۱ <sup>**</sup> )	(۱۰۲۵۴ <sup>n.s.</sup> )
گندم در مقابل تریتیکاله	۱	۱۱۵/۱۸ <sup>**</sup>	۰/۲۴ <sup>**</sup>	۰/۱۱ <sup>**</sup>	۲/۱۱ <sup>**</sup>	۰/۰۰۰۶ <sup>n.s.</sup>	۵۱۲۱۵۶۵۷ <sup>**</sup>
		(۸۶/۷۵ <sup>**</sup> )	(۰/۶۷ <sup>**</sup> )	(۰/۴۹ <sup>**</sup> )	(۷/۲۵ <sup>**</sup> )	(۰/۰۰۰۵ <sup>n.s.</sup> )	(۱۵۶۷۱۲۷۳ <sup>**</sup> )
خطای آزمایش	۳۸	۱/۴۱	۰/۰۰۵	۰/۰۰۳	۰/۰۹	۰/۰۰۰۶	۷۶۸۹۴۹
		(۲/۵۶)	(۰/۰۰۸)	(۰/۰۰۳)	(۰/۲۰)	(۰/۰۰۰۶)	(۴۵۱۷۹۳)
ضریب تغییرات (CV%)		۱۱/۰۴	۹/۵۲	۷/۴۸	۶/۳۴	۹/۶۸	۱۲/۷۶
		(۱۰/۰۱)	(۷/۳۵)	(۴/۹۰)	(۶/۹۰)	(۱۱/۲۶)	(۱۷/۶۴)

<sup>n.s.</sup> غیر معنی‌دار، \* و \*\* به ترتیب معنی‌دار در سطح احتمال پنج و یک درصد. اعداد داخل پرانتز مربوط به شرایط تنش شوری می‌باشد

لاین‌های F<sub>8</sub> در مقابل لاین‌های دابل‌هاپلوئید از نظر پراکسیداسیون لیپید در شرایط تنش شوری اختلاف معنی داری نداشتند ولی تحت شرایط بدون تنش لاین‌های F<sub>8</sub> پراکسیداسیون لیپید بیشتری داشتند. میانگین پراکسیداسیون لیپید لاین‌های تریتیکاله کمتر از ارقام گندم بود که بیانگر مقاومت بیشتر تریتیکاله به تنش اکسیداتیو ناشی از شوری است (جدول‌های ۳ و ۴).

#### فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان GR، APX و SOD:

نتایج تجزیه واریانس مرکب داده‌ها بیانگر اثر بسیار معنی‌دار

هماهنگ با مطالعات دیگر در گندم و ذرت تحت تنش شوری است (Stepien. and Klobus, 2005) و نشان دهنده وقوع تنش اکسیداتیو است (Mudgal *et al.*, 2010). همبستگی منفی و معنی‌داری بین میزان LP با عملکرد دانه (در هر دو شرایط محیطی  $r = -0/61^{**}$ ) و وزن خشک پدانکل در هر دو شرایط محیطی (در شرایط بدون تنش  $r = -0/64^{**}$  و در شرایط تنش شوری  $r = -0/81^{**}$ ) وجود داشت. پراکسید شدن چربی (LP) به عنوان معیاری از میزان مقاومت گیاه در برابر تنش‌های محیطی می‌باشد (Richards *et al.*, 2002).

جدول ۴. مقایسه میانگین صفات پراکسیداسیون لیپید، میزان فعالیت آنزیم‌های **SOD**، **GR**، **APX**، **کاترولید** و **عملکرد دانه** در ژنوتیپ‌های گندم و ترتیب‌کاله مورد مطالعه در شرایط بدون و تنش شوری.

ژنوتیپ	پراکسیداسیون لیپید (mmol g <sup>-1</sup> FW)		APX (U mg <sup>-1</sup> FW)		GR (U g <sup>-1</sup> FW)		SOD (U g <sup>-1</sup> FW)		کاترولید (mg g <sup>-1</sup> FW)		عملکرد دانه (kg ha <sup>-1</sup> )	
	تنش	بدون تنش	تنش	بدون تنش	تنش	بدون تنش	تنش	بدون تنش	تنش	بدون تنش	تنش	بدون تنش
۱	۱۰/۰۵۶ <sup>۱</sup>	۱۶/۳۰۶ <sup>۱</sup>	۱/۳۳۴ <sup>۱</sup>	۰/۰۹۷ <sup>۱</sup>	۱/۴۹۴ <sup>۱</sup>	۳/۸۳۱ <sup>۱</sup>	۶/۸۸۷ <sup>۱</sup>	۰/۲۱۶ <sup>۱</sup>	۰/۱۸۴ <sup>۱</sup>	۰/۲۱۶ <sup>۱</sup>	۰/۲۱۶ <sup>۱</sup>	۹۶۶۹ <sup>۱</sup>
۲	۶/۰۰۸ <sup>۱</sup>	۱۱/۶۲۱ <sup>۱</sup>	۱/۶۴۳ <sup>۱</sup>	۱/۲۹۱ <sup>۱</sup>	۱/۱۶۴ <sup>۱</sup>	۶/۸۸۷ <sup>۱</sup>	۵/۲۲۲ <sup>۱</sup>	۰/۲۲۶ <sup>۱</sup>	۰/۱۹۴ <sup>۱</sup>	۰/۲۲۶ <sup>۱</sup>	۰/۱۹۴ <sup>۱</sup>	۸۰۴۳ <sup>۱</sup>
۳	۱۰/۰۰۴ <sup>۱</sup>	۱۸/۹۰۸ <sup>۱</sup>	۱/۲۹۴ <sup>۱</sup>	۰/۴۰۸ <sup>۱</sup>	۱/۱۷۴ <sup>۱</sup>	۵/۶۱۶ <sup>۱</sup>	۷/۹۰۸ <sup>۱</sup>	۰/۲۷۶ <sup>۱</sup>	۰/۲۱۶ <sup>۱</sup>	۰/۲۷۶ <sup>۱</sup>	۵۰۰۶ <sup>۱</sup>	
۴	۶/۹۷۸ <sup>۱</sup>	۱۶/۱۷۰ <sup>۱</sup>	۱/۳۰۴ <sup>۱</sup>	۰/۷۳۰ <sup>۱</sup>	۱/۳۰۴ <sup>۱</sup>	۶/۷۳۰ <sup>۱</sup>	۶/۶۳۰ <sup>۱</sup>	۰/۲۲۶ <sup>۱</sup>	۰/۲۰۴ <sup>۱</sup>	۰/۲۲۶ <sup>۱</sup>	۸۱۱۷ <sup>۱</sup>	
۵	۱۰/۲۷۶ <sup>۱</sup>	۱۴/۵۰۴ <sup>۱</sup>	۱/۳۰۴ <sup>۱</sup>	۰/۶۱۶ <sup>۱</sup>	۱/۳۰۴ <sup>۱</sup>	۷/۲۰۴ <sup>۱</sup>	۵/۲۰۴ <sup>۱</sup>	۰/۲۰۴ <sup>۱</sup>	۰/۱۹۴ <sup>۱</sup>	۰/۲۰۴ <sup>۱</sup>	۷۰۴۳ <sup>۱</sup>	
۶	۱۴/۵۰۴ <sup>۱</sup>	۱۵/۴۶۶ <sup>۱</sup>	۱/۳۰۴ <sup>۱</sup>	۰/۷۸۴ <sup>۱</sup>	۱/۳۰۴ <sup>۱</sup>	۵/۰۰۴ <sup>۱</sup>	۷/۵۰۴ <sup>۱</sup>	۰/۲۳۰ <sup>۱</sup>	۰/۲۳۰ <sup>۱</sup>	۰/۲۳۰ <sup>۱</sup>	۶۹۰۹ <sup>۱</sup>	
۷	۱۱/۸۳۰ <sup>۱</sup>	۱۵/۰۰۴ <sup>۱</sup>	۱/۳۳۴ <sup>۱</sup>	۰/۶۲۰ <sup>۱</sup>	۰/۹۰۸ <sup>۱</sup>	۶/۹۷۸ <sup>۱</sup>	۸/۱۷۴ <sup>۱</sup>	۰/۲۸۴ <sup>۱</sup>	۰/۲۷۶ <sup>۱</sup>	۰/۲۷۶ <sup>۱</sup>	۶۲۳۹ <sup>۱</sup>	
۸	۱۵/۶۷۸ <sup>۱</sup>	۱۵/۶۷۸ <sup>۱</sup>	۰/۶۵۴ <sup>۱</sup>	۰/۴۸۴ <sup>۱</sup>	۰/۶۵۴ <sup>۱</sup>	۶/۸۱۶ <sup>۱</sup>	۵/۴۲۲ <sup>۱</sup>	۰/۲۸۴ <sup>۱</sup>	۰/۲۲۶ <sup>۱</sup>	۰/۲۲۶ <sup>۱</sup>	۷۲۶۸ <sup>۱</sup>	
۹	۱۲/۰۰۴ <sup>۱</sup>	۱۴/۸۰۴ <sup>۱</sup>	۰/۸۰۴ <sup>۱</sup>	۰/۶۶۶ <sup>۱</sup>	۰/۸۰۴ <sup>۱</sup>	۶/۳۰۴ <sup>۱</sup>	۵/۸۳۰ <sup>۱</sup>	۰/۲۲۶ <sup>۱</sup>	۰/۲۳۰ <sup>۱</sup>	۰/۲۳۰ <sup>۱</sup>	۷۷۴۳ <sup>۱</sup>	
۱۰	۷/۵۰۴ <sup>۱</sup>	۱۷/۵۰۴ <sup>۱</sup>	۰/۹۴۴ <sup>۱</sup>	۰/۶۰۸ <sup>۱</sup>	۰/۹۴۴ <sup>۱</sup>	۳/۰۱۶ <sup>۱</sup>	۶/۱۸۴ <sup>۱</sup>	۰/۲۲۶ <sup>۱</sup>	۰/۲۳۰ <sup>۱</sup>	۰/۲۳۰ <sup>۱</sup>	۷۵۲۲ <sup>۱</sup>	
۱۱	۶/۰۰۸ <sup>۱</sup>	۱۸/۶۷۸ <sup>۱</sup>	۰/۵۰۴ <sup>۱</sup>	۰/۶۵۴ <sup>۱</sup>	۱/۱۷۴ <sup>۱</sup>	۵/۰۱۶ <sup>۱</sup>	۷/۴۰۴ <sup>۱</sup>	۰/۲۰۴ <sup>۱</sup>	۰/۱۹۴ <sup>۱</sup>	۰/۱۹۴ <sup>۱</sup>	۸۱۳۶ <sup>۱</sup>	
۱۲	۱۵/۶۳۰ <sup>۱</sup>	۱۸/۸۵۰ <sup>۱</sup>	۱/۰۰۴ <sup>۱</sup>	۱/۰۰۴ <sup>۱</sup>	۱/۱۶۴ <sup>۱</sup>	۶/۱۳۰ <sup>۱</sup>	۷/۱۷۴ <sup>۱</sup>	۰/۲۲۶ <sup>۱</sup>	۰/۲۱۶ <sup>۱</sup>	۰/۲۱۶ <sup>۱</sup>	۵۲۱۴ <sup>۱</sup>	
۱۳	۱۵/۳۳۰ <sup>۱</sup>	۲۰/۵۰۴ <sup>۱</sup>	۱/۲۳۴ <sup>۱</sup>	۰/۶۴۴ <sup>۱</sup>	۱/۱۸۴ <sup>۱</sup>	۵/۳۳۰ <sup>۱</sup>	۶/۸۰۴ <sup>۱</sup>	۰/۲۲۶ <sup>۱</sup>	۰/۲۵۰ <sup>۱</sup>	۰/۲۵۰ <sup>۱</sup>	۷۰۶۱۰ <sup>۱</sup>	
۱۴	۹/۱۷۰ <sup>۱</sup>	۱۲/۸۸۰ <sup>۱</sup>	۱/۷۷۸ <sup>۱</sup>	۰/۶۲۰ <sup>۱</sup>	۱/۴۰۴ <sup>۱</sup>	۵/۲۷۰ <sup>۱</sup>	۶/۹۰۴ <sup>۱</sup>	۰/۲۵۰ <sup>۱</sup>	۰/۱۹۴ <sup>۱</sup>	۰/۱۹۴ <sup>۱</sup>	۶۱۱۵ <sup>۱</sup>	
۱۵	۸/۲۳۰ <sup>۱</sup>	۱۸/۴۳۰ <sup>۱</sup>	۱/۰۰۴ <sup>۱</sup>	۰/۸۸۴ <sup>۱</sup>	۱/۰۰۴ <sup>۱</sup>	۳/۸۸۰ <sup>۱</sup>	۶/۳۲۰ <sup>۱</sup>	۰/۲۲۶ <sup>۱</sup>	۰/۲۳۰ <sup>۱</sup>	۰/۲۳۰ <sup>۱</sup>	۷۷۶۳ <sup>۱</sup>	
۱۶	۹/۶۷۸ <sup>۱</sup>	۱۲/۱۲۰ <sup>۱</sup>	۰/۷۴۴ <sup>۱</sup>	۰/۷۴۴ <sup>۱</sup>	۱/۴۲۴ <sup>۱</sup>	۵/۰۸۴ <sup>۱</sup>	۶/۸۹۴ <sup>۱</sup>	۰/۲۷۶ <sup>۱</sup>	۰/۲۷۶ <sup>۱</sup>	۰/۲۷۶ <sup>۱</sup>	۷۰۶۴۰ <sup>۱</sup>	
۱۷	۱۱/۰۰۴ <sup>۱</sup>	۱۲/۳۹۰ <sup>۱</sup>	۱/۲۳۰ <sup>۱</sup>	۰/۷۶۴ <sup>۱</sup>	۱/۹۰۴ <sup>۱</sup>	۵/۲۵۰ <sup>۱</sup>	۶/۸۵۴ <sup>۱</sup>	۰/۲۲۶ <sup>۱</sup>	۰/۲۳۰ <sup>۱</sup>	۰/۲۳۰ <sup>۱</sup>	۸۰۶۴۰ <sup>۱</sup>	
۱۸	۵/۵۰۴ <sup>۱</sup>	۹/۲۵۰ <sup>۱</sup>	۰/۹۰۴ <sup>۱</sup>	۰/۹۰۴ <sup>۱</sup>	۱/۷۳۰ <sup>۱</sup>	۶/۳۵۰ <sup>۱</sup>	۶/۳۵۰ <sup>۱</sup>	۰/۲۲۶ <sup>۱</sup>	۰/۲۲۶ <sup>۱</sup>	۰/۲۲۶ <sup>۱</sup>	۷۵۶۴۰ <sup>۱</sup>	
گندم روشن	۱۷/۳۳۰ <sup>۱</sup>	۲۰/۶۷۴ <sup>۱</sup>	۰/۵۵۰ <sup>۱</sup>	۰/۹۱۴ <sup>۱</sup>	۰/۹۱۴ <sup>۱</sup>	۶/۳۵۰ <sup>۱</sup>	۵/۱۲۴ <sup>۱</sup>	۰/۲۲۶ <sup>۱</sup>	۰/۲۲۶ <sup>۱</sup>	۰/۲۲۶ <sup>۱</sup>	۳۸۶۹۰ <sup>۱</sup>	
گندم کبر	۱۲/۵۰۴ <sup>۱</sup>	۱۸/۵۰۴ <sup>۱</sup>	۰/۵۳۰ <sup>۱</sup>	۰/۹۰۴ <sup>۱</sup>	۰/۹۰۴ <sup>۱</sup>	۶/۰۱۶ <sup>۱</sup>	۵/۶۸۴ <sup>۱</sup>	۰/۲۲۶ <sup>۱</sup>	۰/۲۲۶ <sup>۱</sup>	۰/۲۲۶ <sup>۱</sup>	۶۲۳۳۰ <sup>۱</sup>	
LSD	۱/۹۶	۲/۶۴	۰/۱۱۵	۰/۱۱۵	۰/۱۵۳	۰/۰۹۵	۰/۰۹۵	۰/۰۴	۰/۰۴	۰/۰۴	۱۴۴۹	

در هر ستون، میانگین‌های دارای حداقل یک حرف مشترک متفاوت معنی‌دار با استفاده از آزمون LSD در سطح احتمال ۵ درصد ندارند.



دابل هاپلوئید بیشتر از لاین‌های  $F_8$  بود. از طرفی فعالیت آنزیم SOD در شرایط بدون تنش در لاین‌های  $F_8$  بیشتر از لاین‌های دابل‌هاپلوئید بود. در هر دو شرایط محیطی میانگین فعالیت آنزیمی لاین‌های تری‌تیکاله بیشتر از ارقام گندم بود که بیانگر سیستم دفاع آنتی اکسیدان قوی‌تر گندم است (جدول ۳ و ۴).

همبستگی منفی و معنی‌داری بین میزان LP با وزن خشک پدانکل (در شرایط بدون تنش  $r = -0.64^{**}$ ) و در شرایط تنش شوری  $r = -0.81^{**}$ ) و عملکرد دانه در هر دو شرایط محیطی (در هر دو شرایط محیطی  $r = -0.61^{**}$ ) و با فعالیت آنزیم‌های APX ( $r = -0.72^{**}$ ) و GR ( $r = -0.51^*$ ) در شرایط تنش وجود داشت که هماهنگ با مطالعات قبلی در ارتباط با رابطه منفی فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدان با میزان LP است (Stepien and Klobus, 2005).

همبستگی مثبت و معنی‌داری بین میزان فعالیت دو آنتی اکسیدان APX و GR تحت هر دو شرایط محیطی (شرایط بدون تنش  $r = 0.71^{**}$  و شرایط تنش  $r = 0.76^{**}$ ) وجود داشت. این همبستگی‌ها ناشی از شباهت مسیرهای داخل سلولی در بیوسنتز این دو آنتی‌اکسیدان و یا اعمال آنزیمی مشابه می‌باشد. Kurilich و همکاران (۱۹۹۹) وجود همبستگی مثبت و معنی‌داری بین آلفا-توکوفرول و بتاکاروتن را به دلیل وجود شباهت در مسیرهای ساخت آنها گزارش کردند.

تحت شرایط تنش شوری همبستگی مثبت و معنی‌داری ( $r = 0.49^*$ ) بین عملکرد و میزان فعالیت آنزیم GR وجود داشت. همچنین وزن خشک پدانکل همبستگی مثبت و معنی‌داری با فعالیت آنزیم APX در هر دو شرایط محیطی (شرایط بدون تنش  $r = 0.69^{**}$  و شرایط تنش شوری  $r = 0.62^{**}$ ) و با میزان فعالیت آنزیم GR در شرایط تنش شوری ( $r = 0.48^*$ ) داشت. از آن جا که جایگاه اصلی آنزیم APX در کلروپلاست‌ها می‌باشد. بنابراین اختلال در فتوسنتز و ایجاد ROS در کلروپلاست

تنش شوری و همچنین اثر متقابل ژنوتیپ و محیط برای صفات میزان فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدان GR، APX و SOD بود (جدول ۲). نتایج تجزیه واریانس نیز نشان داد که در هر دو شرایط محیطی اختلاف بسیار معنی‌داری بین ژنوتیپ‌های مورد آزمایش از نظر این صفات وجود دارد (جدول ۳). میانگین میزان فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدان GR، APX و SOD ژنوتیپ‌های مورد آزمایش در شرایط بدون تنش به ترتیب  $0.73 \text{ U mg}^{-1} \text{ FW}$ ،  $0.77 \text{ U g}^{-1} \text{ FW}$  و  $4.75 \text{ U g}^{-1} \text{ FW}$  و در شرایط تنش شوری به ترتیب  $1.26 \text{ U mg}^{-1} \text{ FW}$ ،  $1.17 \text{ U g}^{-1} \text{ FW}$  و  $6.44 \text{ U g}^{-1} \text{ FW}$  بود (جدول ۴). بنابراین نتایج نشان می‌دهد که در اثر تنش شوری فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان ژنوتیپ‌های مورد آزمایش افزایش یافته است که هماهنگ با گزارشات قبلی در خصوص افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان در اثر تنش شوری می‌باشد (Hidalgo et al., 2006; Stepien and Klobus, 2005). بیشترین میزان فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان GR، APX و SOD در شرایط بدون تنش به ترتیب به لاین  $F_8$  شماره ۲ ( $1.29 \text{ U mg}^{-1} \text{ FW}$ )، لاین دابل‌هاپلوئید شماره ۹ ( $1.12 \text{ U g}^{-1} \text{ FW}$ ) و لاین  $F_8$  شماره ۵ ( $0.70 \text{ U g}^{-1} \text{ FW}$ ) و کمترین مقدار آن‌ها به لاین  $F_8$  شماره ۳ ( $0.47 \text{ U g}^{-1} \text{ FW}$ )، لاین  $F_8$  شماره ۸ ( $0.43 \text{ U g}^{-1} \text{ FW}$ ) و لاین دابل‌هاپلوئید شماره ۱ ( $0.31 \text{ U g}^{-1} \text{ FW}$ ) اختصاص داشت. در شرایط تنش شوری بیشترین مقدار این صفات به ترتیب متعلق به لاین دابل‌هاپلوئید شماره ۸ ( $1.99 \text{ U mg}^{-1} \text{ FW}$ )، لاین دابل‌هاپلوئید شماره ۸ ( $1.87 \text{ U g}^{-1} \text{ FW}$ ) و لاین  $F_8$  شماره ۷ ( $0.87 \text{ U g}^{-1} \text{ FW}$ ) و کمترین مقدار آن‌ها به لاین  $F_8$  شماره ۸ ( $0.65 \text{ U mg}^{-1} \text{ FW}$ )، لاین  $F_8$  شماره ۸ ( $0.69 \text{ U g}^{-1} \text{ FW}$ ) و لاین دابل‌هاپلوئید شماره ۶ ( $0.69 \text{ U g}^{-1} \text{ FW}$ ) بود (جدول ۴).

میزان فعالیت آنزیم GR در هر دو شرایط محیطی و میزان فعالیت APX در شرایط تنش شوری در لاین‌های

ها بیشتر منجر به فعال شدن APX و به تبع آن GR که جزء سیستم‌های آنزیمی آنتی‌اکسیدانی کلروپلاستی است، می‌گردد. با این وجود نقش APX در حذف  $H_2O_2$  در درجه دوم اهمیت قرار دارد. (Breusgam *et al.*, 2001). به نظر می‌رسد فعالیت این دو آنزیم نقش مهمی در حفظ تجمع کربوهیدرات‌های ذخیره‌ای در پدانکل و به تبع آن افزایش عملکرد داشته است.

تحقیقات نشان داده است که ارتباط قوی بین تحمل به تنش‌های اکسیداتیو که به دلیل تنش‌های محیطی ایجاد می‌شود و افزایش در غلظت آنتی‌اکسیدان‌های گیاهی وجود دارد. (Cheruth *et al.*, 2007; Mudgal *et al.*, 2005) جهت جلوگیری از پراکسیداسیون لیپید مکانیسم‌های مختلفی دارند که از آن جمله کاهش غلظت اکسیژن، جلوگیری از شروع پراکسیداسیون لیپید به وسیله گرفتن رادیکال‌های آزاد فعال و پیش‌گیری از تولید رادیکال‌های آزاد با استفاده از شلات کننده‌های یون‌های فلزی را می‌توان نام برد. همچنین شکستن زنجیره اسیدهای چرب توسط آنتی‌اکسیدان‌ها موجب جلوگیری از ادامه جذب هیدروژن به وسیله رادیکال‌های فعال می‌شود. آنتی‌اکسیدان‌ها با تجزیه پراکسیدها، از شروع زنجیره تولید رادیکال جلوگیری می‌کنند (Rice Evans and Burdon, 1994).

#### کارتونوئیدها:

نتایج تجزیه واریانس مرکب داده‌ها نشان داد که تنش شوری تأثیر بسیار معنی‌داری ( $P < 0/01$ ) بر محتوای کارتونوئیدها داشته است. ضمن این که اثر متقابل ژنوتیپ و محیط برای این صفت معنی‌دار ( $P < 0/01$ ) بود (جدول ۲). نتایج تجزیه واریانس در هر دو شرایط محیطی نشان داد که ژنوتیپ‌های مورد آزمایش از لحاظ این صفت اختلاف بسیار معنی‌داری ( $P < 0/01$ ) دارند (جدول ۳). میانگین

محتوای کارتونوئیدها در شرایط بدون تنش  $0/26$  میلی‌گرم بر گرم برگ و در شرایط تنش شوری  $0/22$  میلی‌گرم بر گرم برگ بود (جدول ۴). کارتونوئیدها به عنوان رنگدانه‌های فرعی، جمع‌کننده نور جهت فتوسنتز هستند که به عنوان حمایت‌کنندگان نوری در ممانعت از آثار مضر تنش نوری نیز ایفای نقش دارند (Blachburn, 1998; Carter and Knapp, 2001). نتایج مطالعه حاضر با گزارشات قبلی در خصوص کاهش محتوای کارتونوئیدهای برگ تحت تنش شوری هماهنگ است (Parida and Das, 2005). رنگ اندام‌های تعرق کننده به نسبت کلروفیل  $a/b$  و نیز وجود رنگدانه‌های آنتوسیانین و کارتونوئیدها بستگی دارد. این رنگدانه‌ها بر نسبت بازتاب نور ورودی بر روی برگ و در نتیجه گرم شدن برگ مؤثر هستند (Arnon and Sairam, 2002). بیشترین محتوای کارتونوئید در شرایط بدون تنش  $0/39$  (لاین دابل‌هاپلوئید شماره ۹) و در شرایط تنش شوری  $0/27$  (لاین  $F_8$  شماره ۷) بود. کمترین مقدار کارتونوئیدها در شرایط بدون تنش ( $0/20$ ) و در شرایط تنش شوری ( $0/14$ ) به لاین دابل‌هاپلوئید شماره ۲ اختصاص داشت (جدول ۴).

همبستگی منفی و معنی‌داری ( $r = -0/54^*$ ) بین کاهش عملکرد ناشی از شوری و محتوای کارتونوئید تحت شرایط تنش شوری وجود داشت. Akbarian و همکاران (۲۰۱۱) نیز چنین همبستگی را در شرایط بدون تنش در همین ژنوتیپ‌ها مشاهده کردند. میزان آنتی‌اکسیدان‌ها با میزان تحمل به تنش‌ها همبستگی دارد و هر چه میزان آنتی‌اکسیدان‌ها بیشتر باشد، خسارت به سلول کمتر خواهد بود (Asada, 1992).

#### عملکرد دانه:

نتایج تجزیه واریانس مرکب داده‌ها نشان دهنده تأثیر معنی‌دار ژنوتیپ و محیط بر عملکرد دانه بود (جدول ۲).

حفظ عملکرد ارقام تریتیکاله در شرایط تنش محیطی اشاره داشته است. در آزمایش حاضر در هر دو شرایط محیطی تفاوت لاین‌های F<sub>8</sub> تریتیکاله در مقابل لاین‌های دابل‌هاپلوئید از نظر عملکرد دانه معنی‌دار (جدول ۳ و ۴).

#### نتیجه‌گیری:

در این آزمایش تنش شوری تأثیر معنی‌داری بر تمام صفات گیاهی مورد بررسی داشت. همچنین بین ژنوتیپ‌ها از نظر کلیه صفات بررسی شده در هر دو شرایط محیطی تفاوت معنی‌داری وجود داشت. در هر دو شرایط محیطی نتایج گویای فعالیت بیشتر آنزیم‌های GR، APX و SOD در لاین‌های تریتیکاله نسبت به ارقام گندم بود. پراکسیداسیون لیپید در لاین‌های تریتیکاله بسیار کمتر از گندم بود. این امر گویای آن است که لاین‌های تریتیکاله به میزان کمتری تحت تأثیر تنش اکسیداتیو قرار گرفته‌اند. همبستگی مثبت و معنی‌داری بین فعالیت آنزیم‌های APX و GR با وزن خشک پدانکل در هر دو شرایط محیطی وجود داشت و به نظر می‌رسد فعالیت این دو آنزیم نقش مهمی در حفظ تجمع کربوهیدرات‌های ذخیره‌ای در پدانکل و به تبع آن افزایش عملکرد داشته باشد.

در هر دو شرایط محیطی ژنوتیپ‌های مورد آزمایش از نظر عملکرد دانه اختلاف معنی‌داری ( $P < 0/01$ ) داشتند (جدول ۳). در شرایط بدون تنش و تنش شوری، میانگین عملکرد دانه در ژنوتیپ‌های مورد بررسی به ترتیب ۶۸۷۳ و ۳۸۰۹ کیلوگرم در هکتار بود (جدول ۴). در آزمایش El-hendawy و همکاران (۲۰۰۵) عملکرد دانه به طور معنی‌داری ( $P < 0/01$ ) تحت تأثیر سه عامل ژنوتیپ، سطح شوری و اثر متقابل این دو عامل قرار گرفته است. عملکرد دانه به عنوان یک خصوصیت پیچیده ژنتیکی به طور گسترده‌ای تحت تأثیر محیط به ویژه تنش‌های محیطی از جمله شوری قرار می‌گیرد. نتایج آزمایش حاضر در خصوص کاهش عملکرد دانه ناشی از تنش شوری با گزارش‌های موجود مطابقت دارد (Poustini and Siosemardeh, 2004; Sadat Noori and McNeilly, 2003). بیشترین و کمترین عملکرد دانه تحت شرایط بدون تنش به ترتیب ۹۴۶۹ (لاین F<sub>8</sub> شماره ۱) و ۳۸۶۹ (رقم روشن) کیلوگرم در هکتار و در شرایط تنش شوری ۵۱۲۵ (لاین F<sub>8</sub> شماره ۱) و ۲۲۳۵ (رقم کویر) کیلوگرم در هکتار بود. در هر دو شرایط محیطی میانگین عملکرد دانه در واحد سطح، در لاین‌های تریتیکاله به طور معنی‌داری بیشتر از ارقام گندم بود (جدول‌های ۳ و ۴). Oettler (۲۰۰۵) نیز به برتری تریتیکاله نسبت به گندم در شرایط مطلوب رطوبتی اشاره کرده است. Jessop (۱۹۹۶) نیز به

#### منابع:

- Arzani, A. (2008) Improving salinity tolerance in crop plants: a biotechnological view. *In Vitro Cellular & Developmental Biology-Plant* 44: 373-383.
- Asada, K. (1992) Ascorbat peroxidase-a hydrogen peroxide-Scavenging enzyme in plants. *Plant Physiology* 85: 235-247.
- Blachburn, G. A. (1998) Quantifying chlorophylls and carotenoids at leaf and canopy scale. *Remote Sensing of Environment* 66: 273-285.
- Breusgam, F. V., Vranove, E., Dat, J. F. and Inze, D. (2001) The role of active oxygen species in plant signal transduction. *Plant Science* 161: 405-414.
- Carter, A. C. and Knapp, A. K. (2001) Leaf optical properties in higher plants: linking spectral
- Akbarian, A., Arzani, A., Salehi, M. and Salehi, M. (2011) Evaluation of triticale genotypes for terminal drought tolerance using physiological traits. *Indian Journal of Agricultural Sciences* 81: 1110-1115.
- Ammar, K., Mergoum, M. and Rajaram, S. (2004) Th history and evolution of triticale. In: *Triticale Improvement and Production* (eds. Mergoum, M. and Mergoum, H.) 2-9. FAO.
- Arnon, A. and Sairam, R. K. (2002) Oxidative stress and anti oxidative systems in plants. *Current Science* 82: 1227-1238.

- Lelley, T. (2006) Triticale: A Low-input Cereal with Untapped Potential. In: Genetic Resources Chromosome Engineering and Crop Improvement (ed. Singh, J. R.) 398-430. CRC Taylor.
- Mudgal, V., Madaan, N. and Mudgal, A. (2010) Biochemical Mechanisms of salt Tolerance in Plants: A Review. *International Journal of Botany* 6: 136-143.
- Munns, R. and Tester, M. (2008) Mechanisms of Salinity Tolerance. *Annual Review of Plant Biology* 59: 651-681.
- Nakano, Y. and Asada, K. (1987) Purification of ascorbate peroxidase in spinach chloroplasts, its inactivation in ascorbate-depleted medium and reactivation by monodehydro ascorbate radical. *Plant and Cell Physiology* 28: 131-140.
- Oettler, G. (2005) The fortune of a botanical curiosity-triticale: Past, Present and Future. *Journal of Agricultural Science* 143: 329-346.
- Parida, A. K. and Das, A. B. (2005) Salt tolerance and salinity effects on plants: a review. *Ecotoxicology and Environmental Safety* 60: 324-349.
- Poustini, K. and Siosemardeh, A. (2004) Ion distribution in wheat cultivars in response to salinity stress. *Field Crops Research* 85: 25-133.
- Rice-Evans, C. A. and Burdon, K. M. (1994) Free radical damage and its control. Elsevier Science BV. Amsterdam. 113-153.
- Richards, R. A., Condon, A. G. and Rebetzke, G. J. (2002) Traits to improve yield in dry environments. In: *Application of Physiology in Wheat Breeding* (eds. Reynolds, M. P., Ortiz-Monastrio, J. I. and McNab, A.) 88-101, Mexico.
- Sadat Noori, S. A. and McNeilly, S. (2003) The genetic architecture of salt character in bread wheat (morphological characters). *Proceedings 10<sup>th</sup> International Wheat Genetics Symposium, Italy*, 3: 1242-1243.
- SAS Institute. 1994. The SAS System for Windows. Release 6.10 SAS Institute, Cary, NC. USA.
- Stepien, P. and Klobus, G. (2005) Antioxidant defense in the leaves of C3 and C4 plants under salinity stress. *Physiologia Plantarum* 125: 31-40.
- Wallance, D. H., Ozbun, J. L. and Manger, H. M. (1972) Physiological genetics of crop yield. *Advances in Agronomy*. 24: 97-127.
- Yannerelli, G. G., Gallego, S. M. and Tamaro, M. L. (2006) Effect of UV-B radiation on the activity and isoforms of enzymes with peroxidase activity in sunflower cotyledons. *Environmental and Experimental Botany* 56: 174-181.
- characteristics to stress and chlorophyll concentration. *American Journal of Botany* 88: 677-684.
- Cheraghi, S. A., Hasheminejhad, M. Y. and Rahimian, M. H. (2009) An overview of the salinity problem in Iran: Assessment and monitoring technology. In: *Advances in the assessment and monitoring of salinization and status of biosaline agriculture Reports of expert consultation held in Dubai, United Arab Emirates, 26-29 November 2007*. World Soil Resources Reports No. 104. FAO, Rome, p 21-22.
- Cheruth A. J., Manivannan, P., Sanker, B., Kumar, A. K. and Panneerselvam, R. (2007) Calcium chloride effects on salinity induced oxidative stress, proline metabolism and indole alkaloid accumulation in *Catharanthus roseus*. *Comptes Rendus Biologies* 330: 674-683.
- Donahue, J. L., Okpodu, C. M., Cramer, C. L., Grabau, E. A. and Alschler, R. G. (1997) Response of antioxidant to paraquat pea leaves. *Plant Physiology*. 113: 249-257.
- El-Hendawy, S. E., Hua, Y., Yakout, G. M., Awad, A. M., Hafizb, S. H. and Schmidhalter, U. (2005) Evaluating salt tolerance of wheat genotypes using multiple parameters. *European Journal of Agronomy* 22: 243-253.
- FAO, (2011) FAO land and plant nutrition management service. Available on line at: <http://www.fao.org/ag/agl/agll/spush/>. Accessed 25 November 2011
- Flowers, T. J. and Yeo, A. R. (1995) Breeding for salinity resistance in crop plants. Where Next?. *Australian Journal of Plant Physiology* 22: 875-884.
- Halliwell, B. (1999) Antioxidant defense mechanism from the beginning to the end. *Free Radical Research* 31: 261-272.
- Hidalgo, A., Brandolini, A., Pompei, C. and Piscozzi, R. (2006) Carotenoids and tococls of einkorn Wheat (*Triticum monococcum* ssp. *monococcum* L.). *Journal of Cereal Science* 44: 182-193.
- Jessop, R. S. (1996) Stress tolerance in newer triticales compared to other cereals. In: *Triticale Today and Tomorrow* (ed. Guedes, H.) 419-427. Kluwer Academic Publishers, London.
- Kurilich, A., Tsau, J. C., Brown, A., Howard, L., Klein, B. P., Jeffery, E. H., Kushad, M., Walling, M. A. and Juvik, A. (1999) Carotene, tocopherol and ascorbate contents in subspecies of *Brassica oleracea*. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* 47: 1576-1581.
- Laspina, N. V., Groppa, M. D., Tomaro, M. L. and Benavides, M. P. (2005) Nitric oxide protects sunflower leaves against Cd-induced oxidative stress. *Plant Science* 169: 323-330.

## Antioxidant activity and oxidative stress due to salinity in triticale and wheat lines in field condition

Ahmad arzani<sup>\*1</sup> and Maryam Salehi<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Department of agronomy and plant breeding, College of Agricultur, Isfahan University of Technology, Iran

\*Corresponding Author: a\_arzani@cc.iut.ac.ir

### Abstract:

In this study, the effects of salt stress on the activity of ascorbate peroxidase (APX), glutathione reductase (GR), superoxide dismutase enzymes (SOD), carotenoid content, the rate of lipid peroxidation (LP) in terms of thiobarbituric acid-reactive substances (TBARS) content and grain yield were investigated. Eighteen triticale lines comprising 9 doubled haploid (DH) lines and 9 corresponding F<sub>8</sub> lines in comparison with two bread wheat cultivars ('Roshan' as a drought tolerant and 'Kavir' as a salt tolerant cultivar), were used. A randomized complete block design with three replications was used for each environmental condition (non-stressed and salt-stressed conditions) at the Research Farm of College of Agriculture, Isfahan University of Technology in a silty clay loam soil in 2008-2009. Both salt stressed and non-stressed experiments were irrigated with water having EC of 1 dS m<sup>-1</sup> until mid-jointing stage (43 growth stage of Zadoks scale), and afterward salt-stressed experiment was irrigated with saline water containing 175 mM NaCl and EC= 16 dS m<sup>-1</sup>. Salinity led to an increase in the enzyme activities and LP and a decrease in carotenoid content in the leaves of both triticale and wheat genotypes. An inverse and significant relationship between grain yield loss due to salinity stress with carotenoid content was observed ( $r = -0.54^*$ ). Under both conditions, negative and significant correlations ( $r = -0.61^{**}$ ) were observed between grain yield and LP. The orthogonal comparison between triticale line and wheat cultivars revealed the superiority of triticale lines for the production of antioxidants and less LP in triticale than wheat under both environmental conditions, which might be related to the development of relatively higher salt tolerant in triticale.

**Keywords:** ascorbate peroxidase enzyme (APX), glutathione reductase enzyme (GR); lipid peroxidation, superoxide dismutase enzyme (SOD), Triticale; Wheat.