



Evaluation of the expression of *TaWRKY10*, *TaWRKY53*, and *NAC2* genes and some biochemical traits of bread wheat cultivars under salt stress

Hanifeh Bahalkeh¹ , Saeid Navabpour² & Mostafa Hamidi³

¹ Master's student in genetics and plant breeding, Department of Plant Breeding and Biotechnology, Gorgan University of Natural Resources and Agricultural Sciences, Gorgan, Golestan, Iran.

² Professor of Plant Breeding and Biotechnology Department of Gorgan University of Natural Resources and Agricultural Sciences, Gorgan, Golestan, Iran.

³ PhD student, Department of Plant Breeding and Biotechnology, Gorgan University of Natural Resources and Agricultural Sciences, Gorgan, Golestan, Iran.

Corresponding author. E-mail: s.navabpour@yahoo.com

ABSTRACT

Introduction: Salinity stress is one of the most limiting non-living factors in wheat production. To overcome this problem, helpful information can be provided by understanding how genes respond and act in stress, to help plants withstand environmental stress. The biochemical and molecular response of wheat to salinity stress is diverse. Considering the effective role of the important family of transcription factors *NAC* and *WRKY* in dealing with stresses, this study evaluated the expression levels of three important genes from these families, *TaWRKY10*, *TaWRKY53*, and *NAC2*, as well as the content of chlorophyll, malondialdehyde, catalase, and polyphenol oxidase enzymes in bread wheat cultivars (Kalateh, Baharan, and Gonbad).

Materials and methods: The experiment was conducted in a randomized complete block design with four replications in greenhouse conditions. The main factor was salinity treatment (control, 9 and 12 deci-siemens) applied through irrigation after germination and plant establishment. The secondary factor was wheat varieties (Kalate, Gonbad, and Baharan). Sampling was performed to evaluate gene expression and biochemical traits. Real-Time PCR technique was used to check gene expression.

Results: In all tested cultivars, the chlorophyll content decreased with increasing salinity. The highest amounts of chlorophyll a and b were observed in the control treatment of the Kalate variety (14.5 and 18.2 mg/g fresh weight, respectively). Catalase and polyphenol oxidase enzymes, as well as the expression of *TaWRKY10*, *TaWRKY53*, and *NAC2* genes, increased with salinity compared to the control in all three cultivars. The highest enzyme levels were observed in 12 deci-siemens salinity treatment of the Kalateh variety. The highest malondialdehyde amount (31 $\mu\text{mol/g}$ fresh weight) was observed in the Baharan cultivar under 12 deci-siemens salt stress, indicating greater cell membrane damage in this cultivar. Based on the results, the Kalateh variety showed greater tolerance to salt stress compared to Baharan and Gonbad varieties.

Conclusion: Transcription factors play a crucial role in enhancing plant resistance to salinity. The results of this study confirm the role of transcription factors in salinity resistance and could be utilized in developing and introducing tolerant wheat cultivars.

Keywords: gene expression, catalase, chlorophyll, salinity, transcription factors, wheat.

Article Type: Research Article

Article history: Received: 17 Mar 2024, Revised: 07 Apr 2024, Accepted: 29 May 2024, Published online: 21 Jun 2024

Cite this article: Bahalkeh, H., Navabpour, S. & Hamidi, M. (2024). Evaluation of the expression of *TaWRKY10*, *TaWRKY53*, and *NAC2* genes and some biochemical traits of bread wheat cultivars under salt stress. *Cereal Biotechnology and Biochemistry*, 3(2), 232-250. DOI: [10.22126/cbb.2024.10996.1078](https://doi.org/10.22126/cbb.2024.10996.1078)



© The Author(s).
[10.22126/cbb.2024.10996.1078](https://doi.org/10.22126/cbb.2024.10996.1078)

Publisher: Razi University



ارزیابی بیان ژن های *NAC2*، *TaWRKY53*، *TaWRKY10* و برخی صفات بیوشیمیایی ارقام گندم نان تحت تنش شوری

حنیفه بهلکه^۱، سعید نواب پور^۲✉ و مصطفی حمیدی^۳

^۱ دانشجوی کارشناسی ارشد ژنتیک و به نژادی گیاهی، گروه اصلاح نباتات و بیوتکنولوژی دانشگاه منابع طبیعی و علوم کشاورزی گرگان، گلستان، ایران.

^۲ استاد گروه اصلاح نباتات و بیوتکنولوژی دانشگاه منابع طبیعی و علوم کشاورزی گرگان، گلستان، ایران.

^۳ دانش آموخته دکتری، گروه اصلاح نباتات و بیوتکنولوژی دانشگاه منابع طبیعی و علوم کشاورزی گرگان، گلستان، ایران.

✉ نویسنده مسئول. رایانامه: s.navabpour@yahoo.com

چکیده

مقدمه: تنش شوری یکی از محدودکننده ترین عامل غیرزنده در تولید گندم است، برای غلبه بر این مشکل با شناخت نحوه پاسخ و عمل ژن ها در تنش می توان اطلاعات مفیدی برای اصلاح گیاهان به منظور تحمل تنش های محیطی فراهم کرد. واکنش بیوشیمیایی و مولکولی گندم به تنش شوری بسیار متنوع است. با توجه به نقش مؤثر خانواده مهم عوامل رونویسی *NAC* و *WRKY* در تقابل با تنش ها، در این پژوهش میزان بیان سه ژن مهم این خانواده ها شامل *TaWRKY53* و *TaWRKY10* و *NAC2* و همچنین میزان محتوای کلروفیل، مالون دی آلدئید، آنزیم های کاتالاز و پلی فنل اکسیداز در ارقام گندم نان (کلاته، بهاران و گنبد) مورد ارزیابی قرار گرفتند. **مواد و روش ها:** آزمایش به صورت کرت های خرد شده در قالب طرح بلوک کامل تصادفی با چهار تکرار در شرایط گلخانه انجام شد. عامل اصلی، تیمار شوری (شاهد، ۹ و ۱۲ دسی زیمنس) با اعمال آب آبیاری پس از جوانه زنی و استقرار گیاهان اعمال شد. عامل فرعی سه رقم گندم (کلاته، گنبد و بهاران) بود. نمونه برداری جهت ارزیابی بیان ژن و صفات بیوشیمیایی انجام شد. جهت بررسی بیان ژن ها تکنیک Real Time PCR مورد استفاده قرار گرفت. **یافته ها:** در هر سه رقم با افزایش میزان شوری از میزان محتوای کلروفیل کاسته شد، بیشترین میزان کلروفیل a و b به ترتیب با (۱۴/۵ و ۱۸/۲ میلی گرم بر گرم وزن تر) در تیمار شاهد رقم کلاته مشاهده گردید. در هر سه رقم با افزایش میزان شوری نسبت به شاهد میزان آنزیم های کاتالاز و پلی فنل اکسیداز و همچنین بیان ژن های مورد بررسی (*TaWRKY10*، *TaWRKY53* و *NAC2*) افزایش یافت. بیشترین میزان آنزیم ها در تیمار شوری ۱۲ دسی زیمنس شوری رقم کلاته مشاهده شد. بیشترین میزان مالون دی آلدئید ۳۱ میکرومول بر گرم وزن تر در رقم بهاران تحت تنش شوری ۱۲ دسی زیمنس مشاهده شد که تخریب بیشتر غشای سلولی این رقم را نشان می دهد. بر اساس نتایج حاصل از رقم کلاته با این پژوهش متحمل بودن بیشتر رقم کلاته به تنش شوری نسبت به دو رقم بهاران و گنبد را تأیید کرد. **نتیجه گیری:** در بهبود و اصلاح گیاهان در مقاومت به شوری فاکتورهای رونویسی نقش مهمی دارند. نتایج این تحقیق در راستای تأیید نقش فاکتورهای رونویسی در مقاومت به شوری مورد توجه است و در ایجاد و معرفی ارقام گندم متحمل می تواند به کار گرفته شود.

واژه های کلیدی: بیان ژن، کاتالاز، کلروفیل، شوری، فاکتورهای رونویسی.

نوع مقاله: مقاله پژوهشی

نوع مقاله: دریافت: ۱۴۰۲/۱۲/۲۷ **اصلاح:** ۱۴۰۲/۰۱/۱۹ **پذیرش:** ۱۴۰۲/۰۳/۰۹، **انتشار آنلاین:** ۱۴۰۳/۰۴/۰۱

استناد: بهلکه، ح.، نواب پور، س. و حمیدی، م. (۱۴۰۳). ارزیابی بیان ژن های *TaWRKY10*، *TaWRKY53*، *NAC2* و برخی صفات بیوشیمیایی ارقام گندم نان تحت

تنش شوری. *بیوتکنولوژی و بیوشیمی غلات*، ۳(۲)، ۲۳۲-۲۵۰. DOI: [10.22126/cbb.2024.10996.1078](https://doi.org/10.22126/cbb.2024.10996.1078)



مقدمه

غیرفعال شدن آنزیم‌های خاص را مختل می‌کند (Safdar *et al.*, 2019). الگوی ترانسکریپتوم گیاه، تحت تأثیر تنش‌ها تغییر می‌یابد که حاصل سیگنال‌های مختلفی است که توسط محیط بیرون سلول به داخل آن انتقال می‌یابد (Moore *et al.*, 2011). در واقع گیاهان برای کاهش آسیب تنش و نیز هموستازی دوباره یون و آب با تغییر الگوی بیان ژن‌های مرتبط با تنش پاسخ می‌دهند که می‌تواند اهمیت ویژه‌ای برای ایجاد مقاومت گیاه نسبت به تنش شوری داشته باشد. انتقال دهنده‌های یونی مختلفی تعیین کننده میزان نهایی هموستازی یونی هستند که در سطح رونویسی و پس از رونویسی تنظیم می‌شوند (Apel & Hirt, 2004). عوامل رونویسی یا TF¹ از مهم‌ترین ژن‌هایی که با تنظیم بیان ژن‌های عملکردی می‌توانند در تحمل گیاهان به تنش‌ها نقش کلیدی داشته باشند (Huang *et al.*, 2015). یکی از آثار شوری، تولید گونه‌های اکسیژن فعال (ROS²) است که منجر به تخریب سلول‌های گیاهی می‌شوند. گونه‌های اکسیژن فعال در غلظت‌های بالا به شدت سمی‌اند و با نوکلئیک اسیدها، لیپیدها، و پروتئین‌ها واکنش داده و سبب تخریب DNA، دناوراسیون پروتئین و پراکسیداسیون لیپید می‌شوند (You & Chan, 2015)، گیاه برای مواجهه با این آثار سوء، از مجموعه‌ای از مکانیسم‌ها استفاده می‌کند که در تحمل شوری دخالت دارند. در راستای القاء و تنظیم این مکانیسم‌ها، طیف

گندم یکی از محصولات راهبردی کشور است که در برنامه‌های سیاست‌های اقتصادی به سمت خودکفایی آن گام برداشته شده است. با این وجود بخش قابل توجهی از گندم در زمین‌های شور کشت می‌شود (Rahaie *et al.*, 2011). نزدیک به ۵۰ درصد از سطح زیرکشت گندم با درجات متفاوتی با چالش شوری و قلیایی بودن خاک رو به رو هستند (Bartles & Sunkar, 2015). با در نظر داشتن اینکه پیوسته تقاضای جهانی گندم و سایر غلات افزایش می‌یابد، تداوم افزایش تولید به منظور تأمین غذا، از اهمیت بالایی برخوردار است (Amini *et al.*, 2016) هم اکنون نیمی از اراضی قابل کشت ایران (۹/۵ میلیون هکتار) متأثر از شوری است که اثر عمده‌ای در کاهش سطح زیر کشت و عملکرد محصولات زراعی دارند (Nabiollahi *et al.*, 2017). افزایش و تجمع انواع نمک‌های موجود در لایه‌های مختلف خاک سبب شده است تا بخش وسیعی از اراضی قابل کشت دنیا متأثر از تنش شوری شوند. براساس گزارش‌های موجود، تقریباً ۳۳ درصد از اراضی آبی و ۲۰ درصد از کل اراضی قابل کشت در سراسر دنیا متأثر از فرآیندهای شور شدن خاک هستند (Al-Tawaha *et al.*, 2021). تنش شوری عمدتاً از دو طریق بر گیاهان تأثیر می‌گذارد، اولاً استرس اسمزی، ناشی از رسوب مقادیر زیاد نمک‌های محلول در خاک است، که باعث کاهش عرضه آب خاک به گیاهان می‌شود، ثانیاً سمیت یونی، ناشی از تجمع نمک زیاد در گیاه، که تعدادی از فرآیندهای متابولیک، از جمله

¹ Transcription factor² Reactive Oxygen Species

محققان فراهم کرده و در نتیجه راهکارهای مولکولی مناسبی را برای افزایش تحمل به تنش در گیاهان فراهم می‌کند به همین منظور در این پژوهش به ارزیابی بیان ژن‌های *NAC2*، *TaWRKY53*، *TaWRKY10* و برخی صفات بیوشیمیایی و آنزیمی تحت تنش شوری در ارقام گندم نان و دست‌یابی به رقم متحمل‌تر به تنش شوری به‌منظور استفاده برای کشت در مناطق با خاک شور و کاربرد در برنامه‌های آبی به‌نژادی پرداخته شد.

مواد و روش‌ها

این مطالعه در گلخانه مؤسسه تحقیقات کشاورزی شهر گردکوی، استان گلستان در پایان آذر ماه سال ۱۴۰۰ انجام شد. موقعیت جغرافیایی منطقه کشت با طول ۵۴ درجه و ۳۴ دقیقه شرقی و عرض جغرافیایی آن ۳۶ درجه و ۸۳ دقیقه شمالی و با ارتفاع ۱۷۶ متر از سطح دریا بود. در این مطالعه از سه رقم گندم به نام‌های کلاته، بهاران و گنبد به‌دلیل رواج کاشت در منطقه استفاده شد. برای بررسی تنش شوری آزمایشی به صورت کرت‌های خرد شده در قالب طرح بلوک کامل تصادفی با چهار تکرار انجام شد. برای انجام آزمایش ۱۶ گلدان با کوکوپیت+پرلیت به نسبت ۲:۱ پر شد. در هر گلدان از ارقام مورد استفاده به تعداد ۱۵ عدد کشت شد. عامل اصلی شامل سه سطح شوری (صفر، ۹ و ۱۲ دسی زیمنس) و عامل فرعی سه رقم گندم (کلاته، گنبد و بهاران) است. تیمار شوری با اعمال آب آبیاری پس از جوانه‌زنی و استقرار گیاهان اعمال شد. پس از رسیدن

گسترده‌ای از پروتئین‌ها تنظیمی و فاکتورهای رونویسی مثل *NAC* و *WRKY* ایفای نقش می‌کنند (Zhou *et al.*, 2008). ژن *NAC* یکی از عوامل مهم رونویسی است که نقش آن‌ها در تحمل گیاهان به تنش‌های غیرزیستی تاکنون در مطالعات گزارش شده است که در اصل از نام سه پروتئین مشتق شده است، الف-*NAM* ب-*ATAF1* ج-*CUC2* که شامل یک دمین اختصاصی، اتصال به DNA است (Rushton *et al.*, 2010). فرآیند پاسخ به تنش‌های غیرزیستی مثل خشکی و شوری در گیاهان در مطالعات متعدد نشان داده شده است که عوامل رونویسی *WRKY* به شدت و با سرعت زیاد بیان می‌شوند که این امر به دلیل عملکرد تنظیمی آن‌ها در این مسیر پیام‌رسانی است، که مقاومت به تنش را سبب می‌شود (Chen *et al.*, 2012). فاکتورهای رونویسی *DREB* و *bZIP* ، *NAC* ، *WRKY* ، به‌عنوان اجزاء کلیدی شبکه ژنی پاسخ به شوری عمل می‌کنند، بطوریکه بیان طیف وسیعی از ژن‌های تنظیمی و ساختاری تحت تاثیر آن‌ها قرار می‌گیرد. پروتئین‌های *WRKY* به جعبه *W* پاسخگو به غلظت بالای نمک‌ها در سلول‌های گیاهی متصل شده و بدین-ترتیب رونویسی آن‌ها را کنترل می‌کنند (Kamyab *et al.*, 2022). بررسی‌های انجام شده نشان می‌دهد که شناسایی ژن‌های جدید به‌ویژه عوامل رونویسی و تعیین الگوی بیان آن‌ها در پاسخ به تنش شوری درک بهتری از نقش کارکردی آن‌ها در انطباق با تنش شوری برای

³No Apical Meristem

⁴Cup-Shaped Cotyledon

داخل تیوب جدید ریخته شد. هر تیوب که حاوی ۱۱ میکرولیتر از محتویات مذکور بود، مقدار یک میکرولیتر آغازگر oligo dt به همراه ۰/۵ میکرولیتر ddH₂O افزوده شد تا حجم نهایی آن به ۱۲/۵ رسید. سپس به مدت پنج دقیقه در دمای ۶۵ درجه سانتیگراد قرار گرفت و در دستگاه sin down به مدت پنج ثانیه قرار داده شد. سپس چهار میکرولیتر بافر ۵x ساخت cDNA، ۰/۵ میکرولیتر RNase inhibitor، دو میکرولیتر مخلوط dNTP با غلظت ۱۰ میکرومولار افزوده شد و در آخر مقدار یک میکرولیتر آنزیم رونوشت برداری معکوس افزوده شده تا محلول مذکور حجم به ۲۰ میکرولیتر رسید. سپس واکنش RT که پنج دقیقه در دمای ۲۵ درجه سانتی گراد، ۶۰ دقیقه در دمای ۴۲ درجه سانتیگراد و ۱۰ دقیقه در دمای ۷۰ درجه سانتیگراد انجام شد. برای کسب تأیید ساخته شدن cDNA از روش RT-PCR و الکتروفورز ژل آگارز ۲ درصد استفاده شد.

بررسی بیان ژن‌ها: برای بررسی الگوی تظاهر ژن‌های مورد نظر (شامل *TaWRKY10*، *TaWRKY53* و *NAC2*) از دستگاه شرکت Bio rad با نام iQ5 و با استفاده از کیت سایبربیوپارس با بهره‌گیری تکنولوژی رنگ سایبر گرین I انجام شد. به منظور نرمال‌سازی داده‌ها از ژن خانه‌دار *ACTIN* که دارای بیان یکسانی در تمام تیمارها است استفاده شد. آغازگرهای مورد نیاز بر اساس 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. در پایان

گیاهان به مرحله رشدی در مرحله آغاز ساقه‌دهی از هر گلدان آزمایشی نمونه‌برداری به منظور بررسی صفات بیوشیمیایی شامل (میزان کلروفیل، اکسیداسیون سلولی، میزان فعالیت آنزیم کاتالاز و پلی فنل اکسیداز) انجام شد. همچنین ارزیابی بیان ژن‌ها شامل *TaWRKY10*، *TaWRKY53* و *NAC2* با استفاده از نمونه‌های برگ صورت گرفت.

برای اندازه‌گیری آنزیم پلی فنل اکسیداز روش (Gonzalez et al., 1999) استفاده شد. برای اندازه‌گیری میزان مالون‌دی‌آلدئید (MDA) از روش (Hagege et al., 1990) و برای اندازه‌گیری میزان کلروفیل از روش (Porra et al., 1989) استفاده شد.

نمونه‌برداری و ارزیابی مولکولی

جهت ارزیابی بیان ژن‌ها حدود پنج گرم نمونه برگ از تیمارهای مختلف برای اندازه‌گیری میزان بیان ژن‌ها برداشت شد و درون فویل آلومینیومی قرار گرفت و سپس نمونه‌ها در تانک نیتروژن مایع منجمد شد. پس از آن تا مرحله استخراج RNA نمونه‌ها در فریزر منفی ۸۰ درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند. استخراج RNA با استفاده از بافر استخراج پی بایوزول شرکت بیوفلکس (توکيو، ژاپن) صورت گرفت. کیفیت RNA استخراج‌شده، توسط الکتروفورز روی ژل آگارز ۱/۵ درصد تعیین گردید.

ساخت cDNA: به منظور ساخت cDNA از روش پیشنهاد شده شرکت فرمنتاز استفاده شد. هر نمونه از RNA بعد از اینکه تحت تیمار DNaseI قرار گرفت

واکنش و پس از دریافت نمودار منحنی ذوب (شکل ۲)، اساس طرح آزمایشی انجام گرفت (Moloudi *et al.*، ۲۰۱۳). اطلاعات به نرم‌افزار REST منتقل شده و تجزیه داده‌ها بر

جدول ۱- توالی آغازگرهای استفاده شده

Table 1- sequence of primers used

آغازگرها Primers	آغازگر رفت Forward	آغازگر برگشت Reverse	دمای ذوب Tm
<i>NAC2</i>	CGAGTGGGAGAAGATGCAGC	TTGTCCACGATCTCCGACTC	60
<i>TaWRKY10</i>	GGCTTCGCTAGGACTTACC	CGTAGGTGGTGAGGACGTA	57
<i>TaWRKY53</i>	CCTTTCAGCAGGATGAGGTC	ACCTTCTGCCCGTACTTCCT	60
<i>TaActin</i>	GCTCCTCATGCTATCCTC	CCAGGAACTTCCATACCAAC	56

جدول ۲- چرخه حرارتی واکنش زنجیره‌ای پلیمرز

Table 2-Thermal cycle of polymerase chain reaction

دما (سلیسیوس) Temperature (Celsius)	زمان Time	مرحله Stage	شماره چرخه Number of cycles
95	3 minutes	Denaturation	1
95	10 minutes	Denaturation	40
60	10 minutes	Annealing	
72	20 seconds	Extension	
78	20 seconds	Reading	
72	5 minutes	Final Extension	1

نتایج و بحث

درصد معنی‌دار است. اثر متقابل تنش شوری و رقم بر میزان کروفیل a، پلی فنل اکسیداز و فعالیت آنزیم کاتالاز در سطح یک درصد و بر میزان کلروفیل b در سطح پنج درصد معنی‌دار است (جدول ۳).

تأثیر تنش شوری و رقم بر صفات بیوشیمیایی و آنزیمی نتایج تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد که اثر ساده رقم و تنش شوری بر تمام صفات مورد بررسی در سطح یک

جدول ۳- نتایج تجزیه واریانس صفات مورد بررسی تحت تنش شوری

Table 3 - The results of variance analysis of investigated traits under salinity stress

متابع تغییرات SOV	درجه آزادی DF	میانگین مربعات Mean Squares				
		مالون دی‌الدئید Malondialdehyde	پلی فنل اکسیداز polyphenol oxidase enzyme	آنزیم کاتالاز Catalase enzyme	کلروفیل b chlorophyll b	کلروفیل a chlorophyll a
بلوک Block	3	6.93 ^{ns}	0.13 ^{ns}	0.11 ^{ns}	0.92 ^{ns}	3.11 ^{ns}
تنش شوری Salinity stress	2	155.45 ^{**}	7.80 ^{**}	5.34 ^{**}	6.51 ^{**}	542.13 ^{**}
خطای 1 Error 1	6	11.95	0.67	0.55	1.02	54.3
رقم variety	2	338.7 ^{**}	1.53 ^{**}	1.11 ^{**}	4.35 ^{**}	9.5 ^{**}
تنش شوری × رقم Salinity stress × variety	4	78.05 ^{**}	1.23 ^{**}	1.01 ^{**}	0.95 ^{**}	13.52 ^{**}
خطای 2 Error 2	18	14.69	0.31	0.11	0.19	0.41
ضریب تغییرات CV		4.33	3.49	4.92	16.32	3.40

*، ** و ^{ns}: به ترتیب معنی‌دار در سطح احتمال پنج و یک درصد و عدم تفاوت معنی‌دار**، * and ^{ns}: significant at 5%, 1% probability levels, and non-significant, respectively

رقم کلاته (۱۴/۵ میلی‌گرم بر گرم وزن تر) مشاهده شد که

از نظر آماری با تیمارهای کلاته و ۹ دسی‌زیمنس شوری

و شاهد رقم بهاران تفاوت معنی‌داری نداشت. کمترین

میزان کلروفیل a در رقم گنبد و ۱۲ دسی‌زیمنس شوری

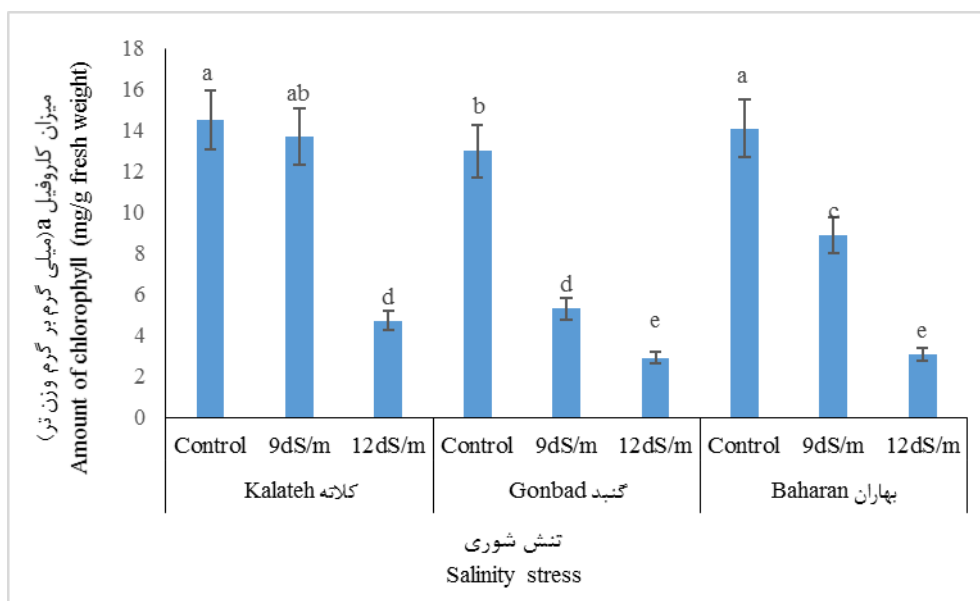
(۲/۹ میلی‌گرم بر گرم وزن تر) مشاهده شد (شکل ۱).

محتوای کلروفیل a و b

مقایسه میانگین داده‌ها نشان داد که در هر سه رقم با

افزایش میزان شوری نسبت به شاهد از میزان کلروفیل a

و b کاسته شد. بیشترین میزان کلروفیل a در تیمار شاهد



شکل ۱- تغییرات میزان کلروفیل a در ارقام مختلف گندم تحت تاثیر سطوح مختلف تنش شوری

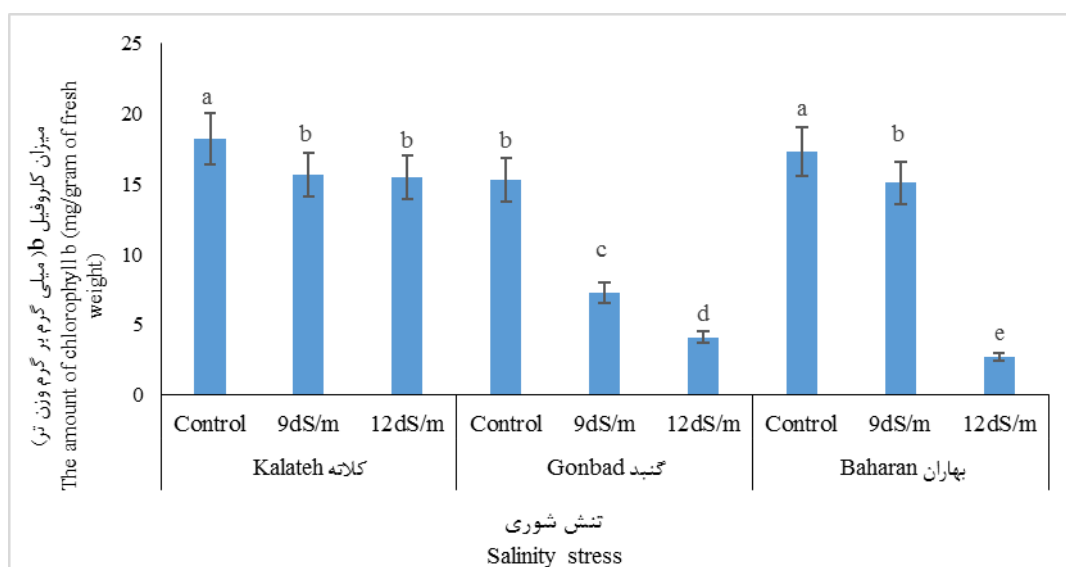
Figure 1. Changes in the amount of chlorophyll in different varieties of wheat under the influence of different levels of salinity stress

پلاسماهای گندم نان ایرانی از نظر تحمل به تنش شوری نتایج نشان داده است که صفت کلروفیل برگ به دلیل اینکه به نسبت کم هزینه است و اندازه‌گیری آن آسان است و همچنین نسبت به سایر صفات می‌تواند غیر قابل تخریب باشد به‌عنوان یک شاخص مناسب در برنامه‌های اصلاحی برای انتخاب ژنوتیپ‌ها با عملکرد بالا در شرایط تنش شوری در مزرعه مورد استفاده قرار گیرد (Gholizadeh *et al.*, 2016). از مهم‌ترین معیارهای فیزیولوژیکی سنجش تحمل شوری، ثبات کلروفیل است. افزایش غلظت نمک باعث کاهش ثبات کلروفیل در گیاه است. کاهش شدت فتوسنتز ناشی از تنش شوری به دلیل عوامل متعددی مانند دهیدراسیون غشای سلول و در نتیجه کاهش نفوذپذیری CO_2 ، کاهش میزان CO_2 به دلیل بسته شدن روزنه‌ها، تسریع در فرآیند پیری برگ‌ها، تغییر فعالیت آنزیم‌ها به دلیل تغییرات ساختاری در

بیشترین میزان کلروفیل b در تیمار شاهد رقم کلاته (۱۸/۲ میلی‌گرم بر گرم وزن تر) مشاهده شد که از نظر آماری با تیمار شاهد رقم بهاران (۱۷/۳ میلی‌گرم بر گرم وزن تر) تفاوت معنی‌داری نداشت، و کمترین میزان کلروفیل b (۲/۷ میلی‌گرم بر گرم وزن تر) مربوط به تیمار رقم بهاران تحت تنش ۱۲ دسی زیمنس شوری است (شکل ۲). یک ویژگی مهم برای تحمل به تنش‌های غیرزیستی فتوسنتز است (Reynolds *et al.*, 2005). بر اساس مشاهدات مطالعات متعدد فتوسنتز از عوامل مهم در جذب کربن و ترکیبات مهم در طی پر شدن دانه است (Jia *et al.*, 2015). در شرایط ایده‌آل افزایش فتوسنتز باعث افزایش عملکرد می‌شود، در حالی که کاهش فتوسنتز در اثر تنش شوری کاهش عملکرد و همچنین تسریع پیری اندام‌های فتوسنتزکننده را به دنبال دارد (Liu *et al.*, 2016). در پژوهشی در بررسی نوع ژنتیکی ژرم-

بین ارقام گندم شد و بیان داشتند بیشترین تغییرات کلروفیل مربوط به ژنوتیپ‌های حساس بود که می‌تواند به خصوصیات ژنتیکی متفاوت این ژنوتیپ‌ها نسبت داده شود، احتمالاً ژنوتیپ‌های متحمل، به علت دارا بودن مکانیسم‌های دفاعی قوی‌تر در مقایسه با ژنوتیپ‌های حساس، در شرایط شوری قادر به حفظ ساختار کلروفیل خود بوده‌اند (Ghasemi Mosremi *et al.*, 2022).

سیتوپلاسم و بازخورد منفی به دلیل کاهش فعالیت منبع می‌باشد. همچنین تنش شوری باعث جلوگیری از انتقال الکترون فتوسنتزی، کاهش هدایت روزنه‌ای و افزایش تولید انواع اکسیژن فعال شده که باعث آسیب اکسیداسیونی به فتوسیستم‌ها می‌گردد (Munns *et al.*, 2016). در تحقیقاتی به نتایج مشابه پژوهش حاضر دست یافتند و با افزایش تنش شوری موجب کاهش کلروفیل در



شکل ۲- تغییرات میزان کلروفیل b در ارقام مختلف گندم تحت تأثیر سطوح مختلف تنش شوری

Figure 2. Changes in chlorophyll b levels in various wheat varieties under different levels of salinity stress.

مختلف گیاهی مانند برنج (Abdelaziz *et al.*, 2018)، جو (Kiani *et al.*, 2017) و گندم (Askari *et al.*, 2016) در زمان تنش شوری گزارش شده است. پراکسید هیدروژن (H_2O_2) تولید شده توسط ⁵ SOD، توسط کاتالاز که در گیاهان و

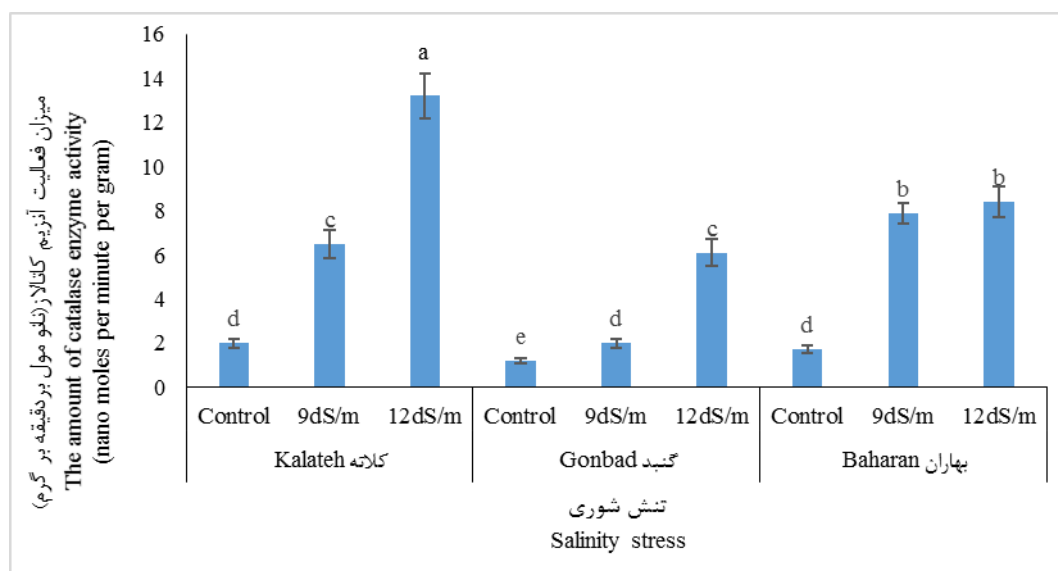
بررسی تغییرات آنزیم کاتالاز

بیشترین میزان فعالیت آنزیم کاتالاز در رقم کلاته تحت تنش شوری ۱۲ دسی زمینس (۱۳/۲ نانومول بر دقیقه بر گرم) و کمترین آن در رقم گنبد در تیمار شاهد (۱۳/۲ نانومول بر دقیقه بر گرم) مشاهده شد (شکل ۳). افزایش فعالیت کاتالاز در تنش شوری در گونه‌های

⁵ Superoxide dismutase

گونه‌های مختلف گیاهی مانند برنج (Abdelaziz *et al.*, 2018)، جو (Kiani *et al.*, 2017) و گندم (Askari Kolestani *et al.*, 2016) در زمان تنش شوری گزارش شده است.

موجودات هوازی دیگر یافت می‌شود تجزیه می‌شود. در حقیقت، کاتالاز پراکسید هیدروژن را به محصول بی‌ضرر شامل آب و اکسیژن تبدیل می‌کند (Sharma *et al.*, 2012). افزایش فعالیت کاتالاز در تنش شوری در



شکل ۳- تغییرات میزان آنزیم کاتالاز در ارقام مختلف گندم تحت تاثیر سطوح مختلف تنش شوری

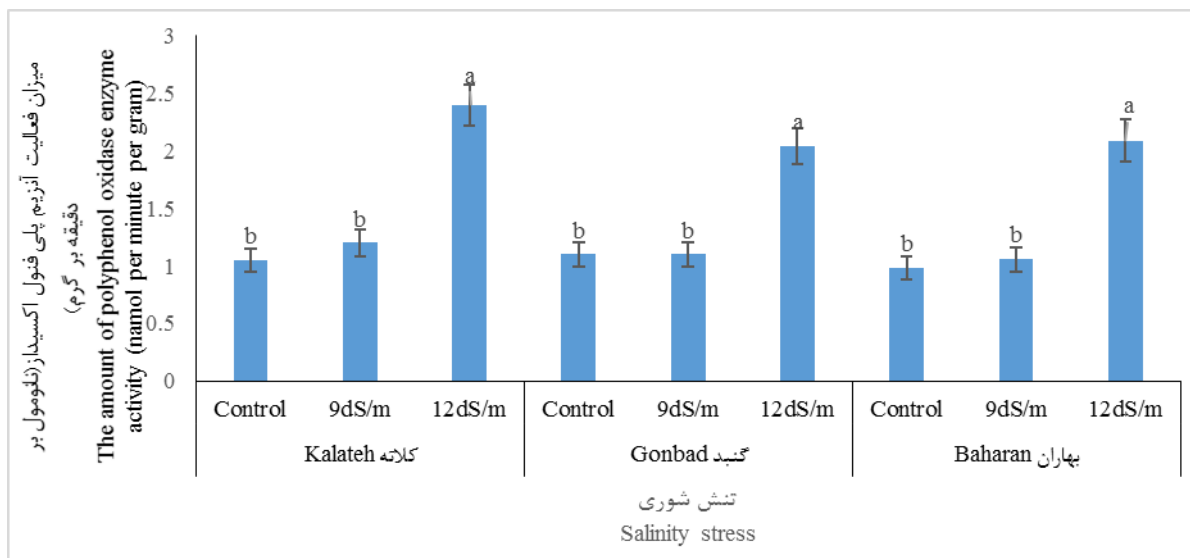
Figure 3. Changes in the amount of catalase enzyme in different varieties of wheat under the influence of different levels of salinity stress

اکسیداز در گیاه جو تحت شوری ۲۰۰ میلی‌مولار ۷۵، ۲۳/۳، ۲۸/۹ درصد بیشتر از شاهد شد (Torabi & Farzami Sepehr, 2015). ارقام مختلف گیاه، ظرفیت‌های آنتی‌اکسیدانی متفاوتی را برای مقابله با خسارت ناشی از تنش اکسیداتیو، استفاده می‌نمایند (Moharramnejad & Valizadeh, 2015). در مطالعه‌ای دریافت که در شرایط شوری ۷۵ میلی‌مولار در گندم میزان فعالیت آنزیم‌های پراکسیداز و پلی فنل اکسیداز نسبت به شاهد افزایش نشان داد که با نتایج بدست آمده این پژوهش در رابطه با افزایش فعالیت آنزیم

بررسی تغییرات آنزیم پلی فنل اکسیداز

در رقم کلاته تحت تنش ۱۲ دسی زیمنس (۲/۴ نانومول بر دقیقه بر گرم) بیشترین میزان فعالیت آنزیم پلی فنل اکسیداز مشاهده شد که از نظر آماری با تیمارهای رقم گنبد و بهاران تنش ۱۲ دسی زیمنس تفاوت معنی‌داری نداشت (شکل ۴). فعالیت ترکیبی دو آنزیم کاتالاز و پراکسیداز برای حفاظت سلول‌های گیاهی پیش‌نیاز تجمع پراکسید هیدروژن ناشی از واکنش سوپراکسید دیسموتاز است. در نتیجه این دو آنزیم در حذف پراکسید هیدروژن نقش مهمی را ایفا می‌کنند. افزایش فعالیت پلی فنل

پلی فنل اکسیداز در ارقام تحت تیمار مشابه است (Khanzadeh, 2017).



شکل ۴- تغییرات میزان آنزیم پلی فنل اکسیداز در ارقام مختلف گندم تحت تاثیر سطوح مختلف تنش شوری

Figure 4. Changes in the amount of polyphenol oxidase enzyme in different varieties of wheat under the influence of different levels of salinity stress

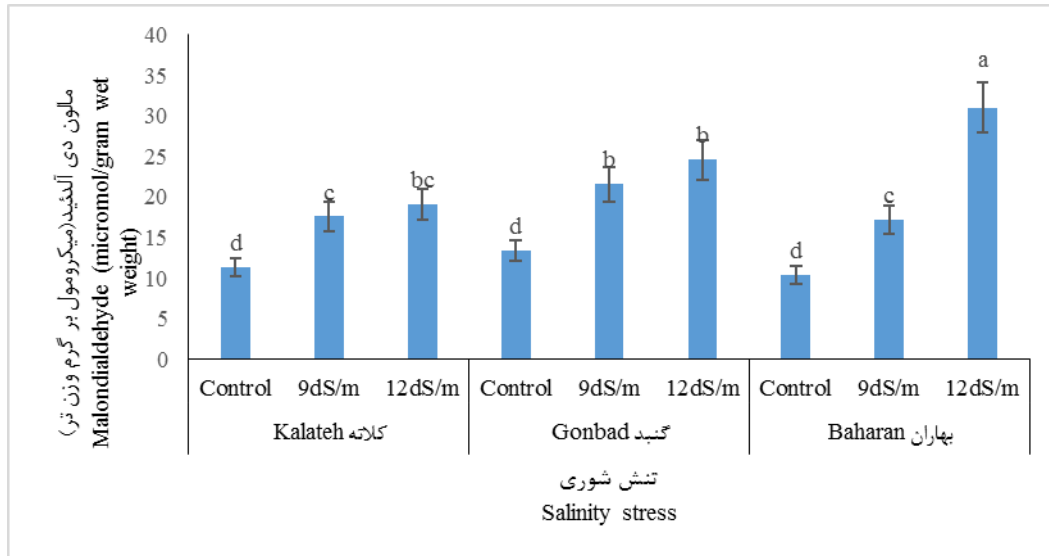
ذرت شد (Gunes *et al.*, 2007). در گیاه ارزن نیز گزارش شد شوری باعث تخریب غشای سلولی و آسیب به گیاهچه می شود (Sreenivasulu *et al.*, 2000). در گیاه برنج نیز مشاهده شد که تحت تنش شوری میزان مالون-دی آلدئید در اثر تخریب و تجزیه چربی های غشای سلولی بالا می رود که می تواند معیار خوبی برای تخریب میزان تحمل این گیاهان به شوری به کار رود (Bandeoglu *et al.*, 2004). در اثر تنش های غیر زنده مانند خشکی و شوری، تنش اکسیداتیو رخ می دهد که منجر به افزایش ROSها و در نهایت آسیب به متابولیسم عادی لیپیدها، پروتئین ها و اسیدهای نوکلئیک می شود. افزایش در فعالیت آنزیم هایی که مربوط به چرخه AsA-GSH (آنتی

مالون دی آلدئید (MDA)

اندازه گیری میزان مالون دی آلدئید در اندام های مختلف گندم، به عنوان شاخص تشخیص آسیب غشایی قابل استفاده است (Guo *et al.*, 2006). نتایج مقایسه میانگین داده ها نشان داد که بیشترین میزان مالون دی-آلدئید در تیمار شوری ۱۲ دسی زیمنس در رقم بهاران (۳۱ میکرومول بر گرم وزن تر) مشاهده شد که بیانگر تخریب شدید غشای این رقم تحت تنش تیمار شوری است. کمترین آن در تیمار شاهد (۱۰/۴ میکرومول بر گرم وزن تر) مشاهده شد که با تیمارهای شاهد در رقم کلاته و گنبد در یک گروه آماری قرار داشت (شکل ۵). تنش شوری باعث افزایش میزان مالون دی آلدئید در برگ های

برابر شوری بود. گزارش شده است تنش های طولانی مدت و تنش های شوری بالا موجب افزایش میزان مالون دی آلدئید در گیاه گندم گردید (Hnilickova *et al.*, 2021).

اکسیدانی) هستند پاسخ دفاعی گیاه در برابر این تنش‌ها می‌باشند (Zhong *et al.*, 2009). در مطالعه حاضر افزایش بیشتر فعالیت آنزیم‌های مطالعه در رقم کلاته نسبت به رقم بهاران و گنبد تحت تنش شوری نیز بیانگر پاسخ دفاعی مناسب این رقم نسبت به دو رقم دیگر در



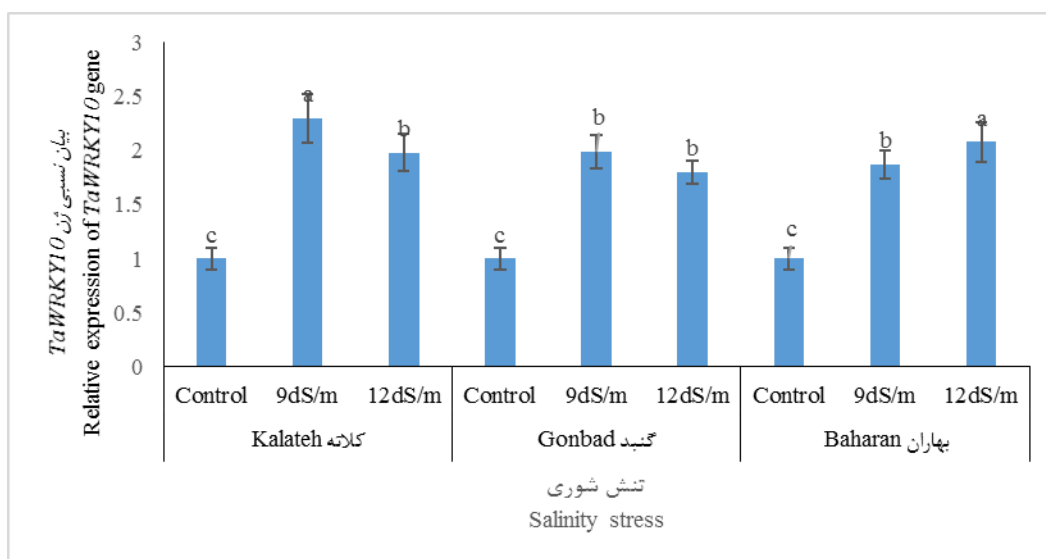
شکل ۵- تغییرات میزان مالون دی آلدئید در ارقام مختلف گندم تحت تاثیر سطوح مختلف تنش شوری
Figure 5. Changes in the amount of malondialdehyde in different varieties of wheat under the influence of different levels of salinity stress

است که طی فرآیند پاسخ به تنش‌های غیرزیستی در گیاهان مثل خشکی و شوری فاکتورهای رونویسی WRKY به شدت و با سرعت زیاد بیان می‌شوند که این امر به دلیل عملکرد تنظیمی آن‌ها در این مسیر پیامرسانی است، که مقاومت به تنش را سبب می‌شود (Chen *et al.*, 2012). فاکتورهای رونویسی تنظیم‌کننده‌هایی هستند که عناصر تنظیم‌کننده DNA خاص را مستقیماً برای کنترل مثبت یا منفی هدف قرار می‌دهند و مسیر کاهش استرس را واسطه می‌کنند (Price *et al.*, 2023). WRKYها، شوری را از طریق

تأثیر تنش شوری و رقم بر میزان بیان ژن‌ها نتایج حاصل از تجزیه و تحلیل آماری بر روی ژن *TaWRKY10* نشان داد که با افزایش تنش شوری نسبت به شاهد بیان ژن *TaWRKY10* تا میزان شوری نه دسی-زیمنس در رقم کلاته و گنبد افزایش یافته و سپس اندکی کاهش می‌یابد. ولی در رقم بهاران از شاهد تا تنش شوری ۱۲ دسی‌زیمنس میان بیان ژن افزایش یافت (شکل ۶). به‌طور کلی میزان بیان ژن *TaWRKY10* در رقم کلاته نسبت به ارقام گنبد و بهاران با افزایش میزان شوری افزایش بیشتری نشان داد. مطالعات متعدد نشان داده

در مطالعه‌ای گزارش شده است که ژن *GmWRKY54* مقاومت به شوری را در گیاه آرابیدوپسیس القاء می‌کند (Zhou et al., 2008). هم‌چنین با بررسی الگوی بیان فاکتور رونویسی *TaWRKY10* در گیاه تراریخت توتون نشان دادند که این ژن با تعدیل اسمزی و تأثیر بر رونویسی ژن‌های وابسته به تنش، یک فاکتور مؤثر در فرایند مقاومت به شوری محسوب می‌شود (Wang et al., 2013). ژن *OsWRKY72* در برنج، تحمل به شوری را بهبود بخشید (Ashwini et al., 2016).

پاسخ اسمزی، انتقال یون، کاهش استرس اکسیداتیو و مسیرهای سیگنادهی هورمونی تنظیم می‌کند، ژن‌های WRKY یک عنصر مشترک در تنظیم پاسخ‌های استرس زنده و غیرزیستی هستند و یک پروتئین WRKY توالی‌های W-box خاصی را هدف قرار می‌دهد که به‌عنوان عناصر تنظیم‌کننده برای ژن‌های پایین‌دست عمل می‌کنند و متعاقباً مسیرهای زیادی را القا می‌کنند (Baillo et al., 2023). در برخی از گونه‌ها، بیش از ۱۰۰ WRKY شناسایی شده است که برخی از آنها در تحمل به شوری نقش دارند (Amin et al., 2016).



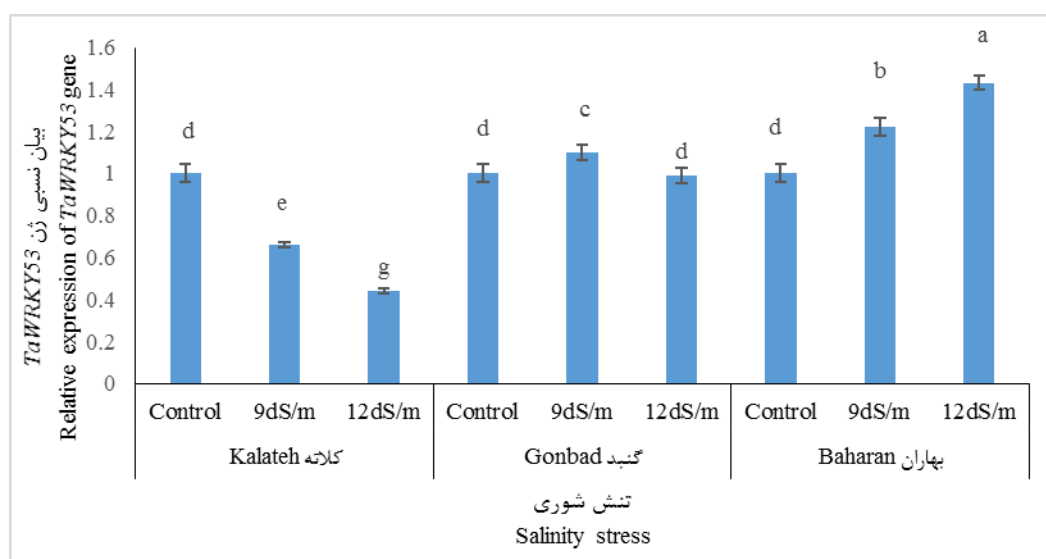
شکل ۶- بیان نسبی ژن *TaWRKY10* در ارقام مختلف گندم تحت تأثیر سطوح مختلف تنش شوری
Figure 6. Relative expression of *TaWRKY10* gene in different varieties of wheat under the influence of different levels of salinity stress

زمینس در رقم کلاته کاهش پیدا کرد و با افزایش میزان شوری تا ۱۲ دسی زمینس در رقم گنبد و بهاران افزایش بیان ژن *TaWRKY53* مشاهده شد (شکل ۷). میزان کاهش بیان ژن *TaWRKY53* در شرایط اعمال تنش

نتایج حاصل از تجزیه و تحلیل آماری بر روی ژن *TaWRKY53* در تنش شوری در هر سه رقم کلاته، گنبد و بهاران روند متفاوتی داشت به این ترتیب که بیان ژن *TaWRKY53* از تیمار شاهد تا تیمار تنش ۱۲ دسی

(Miao & Zentgraf, 2010). بیان آن در شرایط تنش، مخصوصاً در ژنوتیپ‌های حساس به تنش افزایش می‌یابد (Ishihama & Yoshioka, 2012). در مطالعه روی گیاه آرابیدوپسیس نیز نتایج نشان داده شده است که بیش بیان ژن *WRKY53* تأثیر منفی در مقاومت به تنش‌های محیطی از جمله شوری و خشکی دارد (Sun & Yu, 2015).

شوری در رقم کلاته نسبت به شاهد و دیگر ارقام تحت تیمار زیاد بود. بنابراین به نظر می‌رسد ژن *TaWRKY53* تأثیر معکوس را در مقاومت به شوری در گندم دارد، که شاید به دلیل رابطه متقابل ژن های القاء شونده در شرایط تنش از جمله ژن *TaWRKY18* و یا سایر ژن‌ها با ژن *TaWRKY53* در رقم مقاوم باشد. هم‌چنین گزارش شده است که ژن *WRKY53* در فرایند پیری نقش دارد



شکل ۷- بیان نسبی ژن *TaWRKY53* در ارقام مختلف گندم تحت تاثیر سطوح مختلف تنش شوری

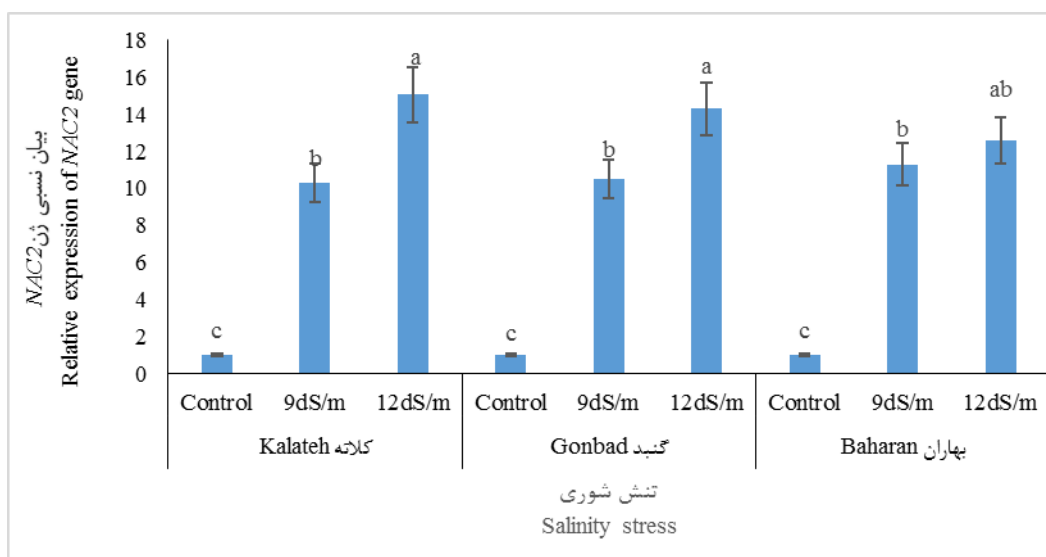
Figure 7. Relative expression of *TaWRKY53* gene in different varieties of wheat under the influence of different levels of salinity stress

بالاترین بیان ژن را نشان دادند. بسیاری از اعضای خانواده فاکتورهای رونویسی NAC، نه تنها نقش مهمی در فرآیندهای رشد و نمو گیاه به‌عهده دارند بلکه در پاسخ به تنش‌های غیرزیستی و افزایش تحمل گیاهان به اینگونه تنش‌ها نیز اثرگذار می‌باشند (Nakashima *et al.*, 2012). در پژوهشی نشان داده‌اند NAC67 که یکی از اعضای خانواده NAC است در طول تیمار استرس شوری افزایش می‌یابد و پروتئین کد شده همولوگ بسیار نزدیکی

مقایسه میانگین داده‌های بررسی میزان بیان ژن *NAC2* ارقام مورد بررسی تحت تنش شوری نشان داد که در هر سه رقم کمترین میزان بیان ژن در تیمار شاهد مشاهده شد و با افزایش میزان شوری تا ۱۲ دسی‌زیمنس میزان بیان ژن *NAC2* نیز افزایش یافت (شکل ۸). بیشترین میزان بیان ژن *NAC2* در رقم کلاته تحت تنش ۱۲ شوری دسی‌زیمنس (۱۵/۰۶) مشاهده شد. بعد از آن به ترتیب رقم گنبد و بهاران در ۱۲ دسی‌زیمنس شوری

تنظیم کنند، در نتیجه بر ظاهر، رسیده بودن، پیری، طعم و کیفیت غذایی میوه تأثیر می‌گذارند. علاوه بر این، فاکتورهای رونویسی NAC همچنین DNA یا سایر پروتئین کینازها را برای تنظیم رشد و نمو در گیاهان و فرآیندهای فیزیولوژیکی مختلف، از جمله مریستم رأسی تشکیل دیواره ثانویه، رشد اندام گل، تمایز جوانه، رشد جنین تشکیل ریشه جانبی، پیری اندام گیاه و بلوغ میوه متصل کند (Han et al., 2022).

به گندم دارد (Rahaie et al., 2011). مکانیسم تنظیمی NAC TF از دو نوع تشکیل شده است. اولین مورد تنظیم سطوح رونویسی از جمله miRNA های فسفوریلاسیون و ubiquitination است که می‌تواند بیان TFs را در سطح پروتئین تنظیم کند، مورد دیگر این است که تنظیم پس از رونویسی می‌تواند با اتصال به mRNA هدف انجام شود. فاکتورهای رونویسی NAC می‌توانند ژن‌های هدف را با اتصال به NACRS (توالی شناسایی NAC) یا NACBS (توالی اتصال NAC)



شکل ۸- بیان نسبی ژن NAC2 در ارقام مختلف گندم تحت تاثیر سطوح مختلف تنش شوری

Figure 8. The relative expression of NAC2 gene in different varieties of wheat under the influence of different levels of salinity stress

می‌کند (Wei et al., 2015). در مطالعه حاضر، به نظر افزایش بیان ژن‌های مرتبط با چرخه آنتی‌اکسیدانی در شرایط تنش شوری، به ترتیب باعث تقویت توان گیاه به مقابله با کم آبی و شوری شده است (نمودارهای ۱ تا ۴). در تأیید این فرضیه، نتایج فعالیت‌های آنزیمی چرخه آنتی‌اکسیدانی که همسو با نتایج بیان ژن است، بیشتر

بررسی نقش ژن NAC2 در تحمل به تنش غیرزنده برنج نشان داد که ژن NAC2 در تنش خشکی، شوری بالا و دمای پایین القا می‌شود و باعث افزایش تحمل گیاه برنج در تنش های غیرزنده می‌باشد (Zheng et al., 2009). چرخه آنتی‌اکسیدانی، که مهار ROSها را بر عهده دارد، در رونویسی ژن‌های پاسخ دهنده به تنش نیز مشارکت

آنزیمی جهت مقابله با آسیب‌های اکسیداتیو است.

فاکتورهای رونویسی در مقاومت به شوری را تأیید کرده و در ایجاد و معرفی ارقام گندم مقاوم می‌تواند به کار گرفته شود. با توجه به تمامی عوامل بیوشیمیایی در نظر گرفته شده و همچنین ارزیابی بیان ژن‌ها می‌توان به این نتیجه رسید که رقم کلاته می‌تواند به عنوان رقم مقاوم در شرایط تنش شوری معرفی و در برنامه‌های آتی به‌نژاد گران به عنوان یک رقم متحمل به شوری مورد استفاده قرار گیرد. بررسی اثرات تنش شوری به کمک آنزیم‌ها، می‌تواند با سرعت بیشتری به شناسایی پایه‌های مقاومت یک گیاه منجر شود، چرا که رابطه‌ی قوی در تحمل به تنش‌های محیطی و تغییرات غلظت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان در گیاهان فتوسنتزکننده وجود دارد و با عنایت به اینکه سنتز هر ماده‌ای در سلول‌ها تحت کنترل ژن‌ها می‌باشد، لذا می‌توان با شناسایی ژن‌های مسئول سنتز این مواد و انتقال آن به گیاهان دیگر، با سرعت بیشتری به تولید پایه‌های مقاومت به شوری پرداخت.

تشکر و قدردانی

از دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان به جهت تأمین مالی این پژوهش سپاس‌گزاری می‌گردد.

جلب توجه می‌کند (نمودارهای ۵ تا ۸). می‌توان نتیجه گرفت که افزایش بیان ژن هم زمان با افزایش فعالیت‌های

نتیجه‌گیری

از عوامل اصلی خسارت زای تنش‌های محیطی مانند شوری، خشکی و ... تولید انواع رادیکال‌های آزاد اکسیژن است. کلروپلاست و میتوکندری دو جایگاه حضور چرخه‌های انتقال الکترون در سلول‌های گیاهی هستند که معمولاً در معرض خطر تولید گونه‌های فعال اکسیژن هستند. در مطالعه حاضر، میزان تغییرات پارامترهای فتوسنتزی و فعالیت‌های آنزیمی تحت شرایط تنش محیطی شوری در اندام‌های برگ سه رقم کلاته، بهاران و گنبد مورد بررسی قرار گرفت. بیشترین میزان کلروفیل a و b در تیمار شاهد رقم کلاته و بیشترین میزان آنزیم کاتالاز و پلی‌فنل‌اکسیداز در تیمار ۱۲ دسی-زیمنس شوری رقم کلاته مشاهده شد. بیشترین میزان مالون دی‌آلدئید در رقم بهاران تحت تنش ۱۲ دسی-زیمنس مشاهده شد که تخریب بیشتر غشای سلولی این رقم را نشان می‌دهد. نتایج این پژوهش متحمل بودن بیشتر رقم کلاته به تنش شوری نسبت به دو رقم بهاران و گنبد را تأیید کرد. برخی از ژن‌ها از جمله فاکتورهای رونویسی نقش مهمی در بهبود و اصلاح گیاهان در مقاومت به شوری دارند. نتایج این تحقیق نقش

References

- Abdelaziz, M., Xuan, T., Mekawy, A., Wang, H., & Khanh, T. 2018. Relationship of Salinity Tolerance to Na⁺ Exclusion, Proline Accumulation, and Antioxidant Enzyme Activity in Rice Seedlings. *Agriculture*, 8(11), 166. <https://doi.org/10.3390/agriculture8110166>.

- Al-Tawaha A.R., Samarah, N., & Ranga, A.D. 2021. Soil Salinity and Climate Change. In: Sustainable soil and land management and climate change. CRC Press, UK, 83-93. <https://doi.10.1201/9781003108894>.
- Amini, A., Amirnia, R., & Gazvini, H. 2016. Evaluation of the relationship between physiological and agronomic traits related to salinity tolerance in bread Wheat (*Triticum aestivum* L.) genotypes. Iranian Journal of Crop Sciences, 17(4): 329-348. [In Persian].
- Ashwini, N., Sajeevan, R. S., Udayakumar, M., & Nataraja, K. N. 2016. Identification and characterization of OsWRKY72 variant in indica genotypes. Rice Science, 23(6), 297-305. <https://doi.10.1016/j.rsci.2016.07.002>.
- Askari Kolestani, A., R., Ramadanpour, S., S., Barzoui, A., Sultanlou, H. & Nawabpour, S. 2016. Study of biochemical and molecular changes of salt tolerance in bread wheat lines (*Triticum aestivum* L.) irradiated with gamma rays. PhD thesis, Gorgan University of Agriculture and Natural Resources.(petition).
- Apel, K., & Hirt, H. 2004. Reactive oxygen species: metabolism, oxidative stress, and signal transduction. Plant Biology, 55:373-399. <https://doi.10.1146/annual.arplant.55.031903.141701>.
- Baillo, E. H., Hanif, M. S., Guo, Y., Zhang, Z., Xu, P., & Algam, S. A. 2020. Genome-wide Identification of WRKY transcription factor family members in sorghum (*Sorghum bicolor* (L.) moench). PloS one, 15(8), e0236651. <https://doi.10.1371>.
- Bandeoglu, E., F. Eyidogan, M. Yucel. & H.A. Oktem. 2004. Antioxidant response of shoots and roots of lentil to NaCl Salinity stress. Plant Growth Regulation. 42:69-77. <https://doi.10.1023/B:GROW.0000014891.35427.7b>
- Bartles, D., & Sunkar., R. 2015. Drought and salt tolerance in plants. Plant Science, 24: 23-58. <https://doi.10.1080/07352680590910410>.
- Chen, L., Song, Y., Li, S., Zhang, L., Zou, C. & Yu., D.. 2012. The role of WRKY transcription factors in plant abiotic stresses. Biochimica Biophysica Acta (BBA) -Gene Regulatory Mechanisms, 18: 120 -128. <https://doi.10.1016/j.bbagr.2011.09.002>.
- Ghasemi Mosremi, A., Selouki, M., Golkari, S., Mahdinejad, N., Fakheri, B.A., Ghalaji, M. H., & Jabari, M. 2022. Comparison of photosystem II performance in native Iranian wheat genotypes using chlorophyll fluorescence parameters under salinity stress, production, and Plant Genetics, (1)3 67-84. (in Persian). <https://doi.10.34785/J020.2022.154>
- Gholizadeh, D., Amini, A., & Akbarpour, O. A. 2016. Investigating the genetic diversity of Iranian bread wheat germplasm in terms of tolerance to salt stress. Agricultural Plant Breeding Journal, 10(26), 173-184. (In Persian). <https://doi.10.29252/jcb.10.26.173>.
- Gonzalez, E.M., Ancos, B., & Cano, M.P. 1999. Partial characterization of polyphenol oxidase activity in raspberry fruits. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 47: 4068 - 4072. <https://doi.10.1021/jf000169w>.
- Gunes, A., Inal, A., Alpuslan, M., Fraslan, F., Guneri, E., & Cicek., N. 2007. Salicylic acid induced changes in some physiological parameters symptomatic for oxidative stress and mineral nutrition in maize grown under salinity. Journal of Plant Physiology, 164: 728-736. <https://doi.10.1016/j.jplph.2005.12.009>.
- Guo, Z., Ou, W., Lu, S., & Zhong, Q. 2006. Differential responses of antioxidative system to chilling and drought in four rice cultivars differing in sensitivity. Plant Physiology and Biochemistry, 44(11): 828-836. <https://doi.10.1016/j.plaphy.2006.10.024>.
- Hagege, D., Nouvelot, A., Boucard, J. & Gaspar, T. 1990. Malondialdehyde titration with thiobarbiturate in plant extracts: avoidance of pigment interference. Phytochem Anal, 1: 86-89. <https://doi.org/10.24200/nst.2019.236>.
- Han, D., Du, M., Zhou, Z., Wang, S., Li, T., Han, J., Xu, T., & Yang, G. 2022. Overexpression of a *Malus baccata* NAC Transcription Factor Gene MbNAC25 Increases Cold and Salinity Tolerance in Arabidopsis. Int J Mol Sci, 21(4), 1198. <https://doi.10.3390/ijms21041198>.
- Hnilickova, H., Kraus, K., Vachova, P., & Hnilicka, F. 2021. Salinity stress affects photosynthesis, malondialdehyde formation, and proline content in *Portulaca oleracea* L. Plants (Basel), 10, 845. [10.3390/plants10050845](https://doi.10.3390/plants10050845).

- Huang, Q., Y. Wang, B. Li, J. Chang, M. Chen, K. Li, G. Yang, & G. He. 2015. TaNAC29, a NAC transcription factor from wheat, enhances salt and drought tolerance in transgenic Arabidopsis, BMC Plant Biology, 15: 268. <https://doi.org/10.1186/s12870-015-0644-9>
- Ishihama, N. Yoshioka, H. 2012. Post-translational regulation of WRKY transcription factors in plant immunity. Plant Biology, 15: 431-437. <https://doi.org/10.1016/j.pbi.2012.02.003>
- Jia, S., Lv, J., Jiang, S., Liang, T., Liu, C., & Jing, Z. 2015. Response of wheat ear photosynthesis and photosynthate carbon distribution to water deficit. Photosynthetica, 53(1): 95-109. <https://doi.org/10.1007/s11099-015-0087-4>.
- Kamyab, S., Alami -Saeid, Kh., Eslahi, M.R., & Moradi, M. 2022. Key Genes Involved in Wheat Response to Salinity Stress and Mapping their Gene Network. Journal of Crop Breeding, 14(43), 201-207. <https://doi.org/10.52547/jcb.14.43.201>
- Khanzadeh, P. 2017. Effects of seed inoculation by cycocel and biofertilizers on grain filling period in various levels of soil salinity. MSc thesis, Mohaghegh Ardabili University, Ardabil, Iran (In Persian).
- Kiani, D., Soltanloo, H., Ramezani, S.S., Qumi, A.A.N., Yamchi, A., Nezhad, K.Z. & Tavakol, E. 2017. A barley mutant with improved salt tolerance through ion homeostasis and ROS scavenging under salt stress. Acta physiologiae plantarum, 39(3), p.90. [doi:10.1007/s11738-017-2359-z](https://doi.org/10.1007/s11738-017-2359-z).
- Liu, E.K., Mei, X.R., Yan, C.R., Gong, D.Z., & Zhang, Y.Q. 2016. Effects of water stress on photosynthetic characteristics, dry matter translocation, and WUE in two winter wheat genotypes. Agricultural Water Management, 167: 75-85. <https://doi.org/10.1016/j.agwat.2015.12.026>
- Miao, Y. Zentgraf, U. 2010. A HECT E3 ubiquitin ligase negatively regulates Arabidopsis leaf senescence through degradation of the transcription factor WRKY53. Plant Journal, 63(2):179-188. <https://doi.org/10.1111/j.1365-3113.2010.04233.x>
- Moharramnejad, S. & Valizadeh, M. 2015. Variation of pigment content and antioxidant enzyme activities in pinto bean (*Phaseolus vulgaris* L.) seedlings under salt stress. Journal of Crop Ecophysiology 9: 153 -166 (In Persian).
- Moloudi, F., Navabpour, S., Soltanloo, H., Ramezani, S.S., & Sadeghipour, H. (2013). Catalase and metallothionein gene expression analysis in wheat cultivars under drought stress conditions. Journal of Plant Molecular Breeding. 1(2), 58-64. <https://doi.org/10.22058/JPMB.2013.3262>.
- Moore, J.W., Loake G.J., & Spoel, S.H. 2011. Transcription dynamics in plant immunity. Plant Cell, 23: 2809-2820. <https://doi.org/10.1105/tpc.111.087346>.
- Munns, R., James, R. A., Gilliam, M., Flowers, T. J., & Colmer, T. D. 2016. Tissue tolerance: an essential but elusive trait for salt-tolerant crops. Functional Plant Biology, 43(12), 1103-1113. <https://doi.org/10.1071/FP16187>.
- Nabiollahi, K., Taghizadeh -Mehrdadi, R., Kerry, R. & Moradian, S. 2017. Assessment of soil quality indices for salt - affected agricultural land in Kurdistan Province, Iran. Ecological Indicators, 83: 482 -494. (In Persian).
- Nakashima, K., Takasaki, H., Mizoi, J., Shinozaki, K. & Yamaguchi-shinozaki, K. 2012. NAC transcription factors in plant abiotic stress responses. Iranian Journal of Rangelands and Forests Plant Breeding and Genetic Research, Vol. 26, No.1, 2018. <https://doi.org/10.1016/j.bbagr.2011.10.005>.
- Price, R. M., Budzyński, M. A., Shen, J., Mitchell, J. E., Kwan, J. Z., & Teves, S. S. 2023. Heat shock transcription factors demonstrate a distinct mode of interaction with mitotic chromosomes. Nucleic acids research, 51(10), 5040-5055. <https://doi.org/10.1093/nar/gkad304>.
- Porra, R.J., Thompson, W.A., & Kriedmann, 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. Biochem. Biophys. Acta, 975:384-394. [https://doi.org/10.1016/S0005-2728\(89\)80347-0](https://doi.org/10.1016/S0005-2728(89)80347-0).
- Rahaie, M., Gomarian, M., Alizadeh, H., Malboobi, M.A. & Naghavi, M.R. 2011. The expression analysis of transcription factors under long term salt stress in tolerant and

- susceptible wheat (*Triticum aestivum* L.) genotypes using Reverse Northern Blot. Iranian Journal of Crop Science, 3(51): 580-595. (in Persian).
- Reynolds, M.P., A. Mujeeb-Kazi, & M. Sawkins. 2005. Prospects for utilising plant-adaptive mechanisms to improve wheat and other crops in drought-and salinity-prone environments. *Annals of Applied Biology*, 146(2): 239-259. <https://doi.org/10.1111/j.1744-7348.2005.040058.x>
- Rushton, P. J., Somssich, I.E., Ringler, P. & Shen, Q.J. 2010. WRKY transcription factors. *Trends in Plant Science*, 15: 247 -258. <https://doi.10.4161/psb.27700>
- Safdar, H., Amin, A., Shafiq, Y., Ali, A., Yasin, R., Shoukat, A., & Sarwar, M.I. 2019. A review: Impact of salinity on plant growth. *Nat. Sci*, 17(1): 34-40. <https://doi.10.7537/marsnj170119.06>.
- Sharma, P., Jha, A.B., Dubey, R.S., & Pessarakli, M. 2012. Reactive oxygen species, oxidative damage, and antioxidative defense mechanism in plants under stressful conditions. *J. Bot.* <https://doi.org/10.1155/2012/217037>.
- Sreenivasulu, N., Grimm, B., Wobns, U., & Weschke, W. 2000. Differential response of antioxidant compounds to salinity stress in salt-tolerant and salt-sensitive seedling of foxtail millet. *Physiology Plantarum*, 109: 435-442. <https://doi.10.1034/j.1399-3054.2000.100410.x>
- Sun, Y., & Yu, D. 2015. Activated expression of AtWRKY53 negatively regulates drought tolerance by mediating stomatal movement. *Plant Cell Reports*, 34: 1295-1306. <https://doi.10.1007/s00299-015-1787-8>
- Torabi, A. & Farzami Sepehr, M. 2015. The effect of salt pretreated Glomus fasciculation salinity tolerance induction of barley plants. *Iranian Journal of Plant Physiology*, 5: 1323 -1331. (in Persian).
- Wang, C. Deng, P., Chen, L. Wang, X. Ma, H. Hu, W. Yao, N. Feng, Y. Chai, R. Yang, G. & He, G. 2013. A Wheat WRKY Transcription Factor TaWRKY10 Confers Tolerance to Multiple Abiotic Stresses in Transgenic Tobacco, *PLoS ONE*. 8(6):1356-1371. <https://doi.10.1371/journal.pone.0065120>
- Wei, L., Wang, L., Yang, Y., Wang, P., Guo, T. & Kang, G. 2015. Abscisic acid enhances tolerance of wheat seedlings to drought and regulates transcript levels of genes encoding ascorbate-glutathione biosynthesis. *Frontiers in Plant Science*. 6(20):1-11. <https://doi.org/10.3389/fpls.2015.00458>
- You, J. & Z. Chan. 2015. Protein kinases and ROS regulation during abiotic stress response in crop plant. *Plant Science*, 176(5): 669-677. <https://doi.org/10.3389/fpls.2015.01092>
- Zheng, X., Chen, B., Lu, G., & Han, B. 2009. Overexpression of a NAC transcription factor enhances rice drought and salt tolerance. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 379(4), 985-989. <https://doi.10.1016/j.bbrc.2008.12.163>
- Zhong, L., Xu, Y. & Wang, J. 2009. DNA-methylation changes induced by salt stress in wheat *Triticum aestivum*. *African Journal of Biotechnology*, 8(22): 6201-6207. <https://doi.10.5897/AJB09.1058>
- Zhou, Q.Y. Tian, A. G. Zou, H. F, Xie, Z. M. Lei, G. Huang, J. Wang, C. M. Wang, H. W Zhang, J. S. & Chen, S. Y. 2008. Soybean WRKY-type transcription factor genes, GmWRKY13, GmWRKY21, and GmWRKY54, confer differential tolerance to abiotic stresses in transgenic Arabidopsis plants. *Plant Biotechnology Journal*, 6(5):486- 503. <https://doi.10.1111/j.1467-7652.2008.00336.x>