


## Study of the Expression of Transcription Factors *TaWRKY10*, *TaWRKY53*, *NAC2*, and *P5CS* and Biochemical Traits Related to Salt Stress in Bread Wheat Cultivars

Saeid Navabpour<sup>1,\*</sup>  | Hoorieh Najafi<sup>1</sup>  | Zohreh Emdadi<sup>2</sup>  | Mostafa Hamidi<sup>1</sup> 

1- Department of Plant Breeding and Biotechnology, Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources, Gorgan, Iran

2- Department of Agriculture and Plant Breeding, Faculty of Agriculture, Campus of Agriculture and Natural Resources, University of Tehran, Tehran, Iran

\*Corresponding author : [s.navabpour@gau.ac.ir](mailto:s.navabpour@gau.ac.ir)

### Article Info

**Article type:**  
Research Article

**Article history:**

Received: August 23, 2025;  
Received in revised form: December 04, 2025;  
Accepted: December 08, 2025;  
Available online: December 30, 2025

**Keywords:**

Salinity,  
Transcription factors,  
Chlorophyll,  
Wheat

### ABSTRACT

Wheat is a vital food crop; however, its production is continuously threatened by abiotic stresses, particularly salinity stress. Understanding the molecular mechanisms through which wheat responds to salinity stress is essential for the development of salt-tolerant varieties. Given the significant role of the *NAC* and *WRKY* transcription factor families in stress responses, the expression levels of three key genes from these families—*TaWRKY10*, *TaWRKY53*, *NAC2*, and *P5CS*—were evaluated in the cultivars Kalateh, Baharan Gonbad, and N9108. In addition, total chlorophyll content and the cellular oxidation index were assessed in this study. The experiment was conducted as a split-plot arrangement within a randomized complete block design with four replications. Salinity treatment was applied through irrigation water after plant emergence and establishment (Zadoks growth stage 34). Sampling for gene expression and biochemical trait analysis was performed at the stem elongation stage. Gene expression levels were analyzed using qRT-PCR technology. Analysis of variance revealed that the interaction effect of salinity stress × cultivar was significant at the 1% level for chlorophyll a content and malondialdehyde content, and at the 5% level for chlorophyll b content. Gene expression analysis showed that *TaWRKY10* exhibited the highest expression (1.5-fold increase compared to the control) under 9 dS/m salinity treatment in the Kalateh cultivar. *NAC2* showed a 15-fold increase in expression compared to the control under 12 dS/m salinity treatment in the Kalateh cultivar. The *P5CS* gene also displayed an increasing trend under salinity stress with rising salinity levels, with the highest expression (16.34-fold increase compared to the control) observed in the Kalateh cultivar under 12 dS/m salinity treatment. The gene expression results indicated that increasing salinity levels significantly induced stress-responsive genes, including *TaWRKY10*, *NAC2*, and *P5CS*, particularly in the Kalateh cultivar, highlighting their key role in salinity tolerance mechanisms. The marked upregulation of these genes, especially under higher salinity levels, suggests that they may serve as suitable molecular markers in breeding programs aimed at selecting salt-tolerant wheat cultivars.



**Cite this article:** Navabpour, S., Najafi, H., Emdadi, Z. and Hamidi, M. (2025). Study of the expression of transcription factors *TaWRKY10*, *TaWRKY53*, *NAC2*, and *P5CS* and biochemical traits related to salt stress in bread wheat cultivars. *Plant Genetic Research*, 12(2): 23–38.

**DOI:** <https://doi.org/10.22034/pgr.2025.2069794.1013>



© Author(s) retain the copyright.

Homepage: <https://www.pgr.lu.ac.ir> | Publisher: Lorestan University

## Introduction

Wheat plays a vital role in global food security, and understanding the genetic responses to environmental conditions, especially salinity stress, is essential to increase yield and sustainability of production. In Iran, where saline and alkaline soils are common, salinity stress poses a significant challenge to wheat production by impairing germination, photosynthetic efficiency, nutrient uptake, and grain filling. A deeper understanding of the gene responses to salinity stress could help develop more resistant wheat cultivars that can grow under harsh environmental conditions, thereby supporting agricultural resilience and rural livelihoods. This study aimed to investigate the expression levels of four key genes from the *NAC* and *WRKY* transcription factor families in three wheat cultivars - Kalateh, Baharan, and Gonbad, as well as line N9108. The aim was to establish a link between gene responses, salt stress resistance, and biochemical changes, with a particular focus on chlorophyll levels, which serve as a proxy for photosynthetic capacity and cellular health under saline conditions. By integrating molecular expression profiles with physiological indices, this study seeks to identify robust biomarkers that can be used in marker-assisted selection and breeding strategies aimed at increasing salt tolerance in wheat.

## Materials and Methods

A split-plot arrangement within a randomized complete block design with four replications was used to assess the effects of salinity and cultivars on different biochemical traits in wheat. Salinity stress was applied by saline irrigation after germination to study gene expression and biochemical responses across genotypes and mimic field-relevant salinity scenarios. Salinity treatments included a gradient reflecting moderate to high salt exposure typically observed in arid and semi-arid regions. qRT-PCR analysis was used to quantify the expression levels of four genes *TaWRKY10*, *TaWRKY53*, *NAC2*, and *P5CS* transcription factors due to their roles in stress signaling, transcriptional regulation, osmolyte biosynthesis, and reactive oxygen species (ROS) production. Gene expression data were normalized against a validated housekeeping gene and analyzed using appropriate statistical models. In addition, chlorophyll content was assessed as an indicator of oxidation and cellular health, and measurements were taken at multiple time points to capture dynamic responses to salinity. Statistical analysis was performed to identify significant differences between cultivars and salt stress treatments. Post-hoc comparisons were performed to determine which cultivars exhibited distinct responses at specific salinity levels, providing practical insights for breeding programs.

## Results and Discussion

Biochemical and gene expression analyses showed that the cultivar Kalateh exhibited significant resistance to salt stress. In Kalateh, changes in the expression of *TaWRKY10*, *TaWRKY53*, *NAC2*, and *P5CS* genes were correlated with chlorophyll levels, indicating activation of stress response pathways and enhanced biochemical resistance mechanisms, including increased expression of potential osmoprotectants and preservation of the photosynthetic apparatus. These features could serve as molecular and biochemical markers for selection and enhancement in salt-tolerant wheat breeding programs, allowing breeders to screen for genomic and physiological traits associated with resilience. The findings suggest that chalcopyrite is promising for salinity tolerance due to its stress response gene expression and biochemical resistance capacity, with *TaWRKY10* and *TaWRKY53* likely playing

pivotal roles in regulating acute stress responses, such as ROS accumulation and defense signaling, while *NAC2* is involved in multiple regulatory pathways during salinity exposure and potentially mediates cross-talk between hormonal signals and osmotic regulation. *P5CS*, a key enzyme in proline biosynthesis, may play a role in osmotic balance and membrane stabilization under salt stress and potentially interacts with WRKY regulators to fine-tune stress responses. These genes could potentially interact to enhance salinity tolerance and maintain crop yield by maintaining cellular integrity and photosynthetic efficiency. This study also highlights subtle cultivar-specific differences and suggests that Baharan and Gonbad may exhibit distinct transcriptional and biochemical pathways under salinity, which warrants further research to reveal genotype-environment interactions and identify optimal genes.

## Conclusions

The study results demonstrate that the Kalateh wheat cultivar displays significant resistance to salt stress, positioning it as a promising candidate for salt-tolerant breeding initiatives. The concurrent assessment of stress response gene expression and biochemical traits underscores Kalateh's potential to enhance salt tolerance in wheat and bolster food security in arid and saline regions. These findings support the prospect of deploying Kalateh in breeding programs aimed at improving resilience to soil salinity, contributing to yield stability, and mitigating the adverse impacts of climate variability on wheat production. Future work should include time-course analyses to capture the dynamic regulation of *TaWRKY10*, *TaWRKY53*, *NAC2*, and *P5CS*, functional validation through gene-editing or overexpression approaches, and multi-environment trials to validate the robustness of identified biomarkers across diverse soil and climatic conditions.

## Author Contributions

The first author contributed to the experimental design and performed the data analysis, while the other authors carried out the laboratory work, implemented the study design, and participated in writing the manuscript.

## Data Availability Statement

Data available on request from the authors.

## Acknowledgements

The authors would like to sincerely thank all individuals who contributed to this research. We are especially grateful to the laboratory staff and all those who assisted with data collection and various stages of the study.

## Ethical Considerations

The authors avoided data fabrication, falsification, and plagiarism, and any form of misconduct.

## Funding

No funding was received for this study.

## Conflict of Interest

The authors declare no conflict of interest.

بررسی بیان عوامل رونویسی *TaWRKY10*، *TaWRKY53*، *NAC2* و *P5CS* و صفات بیوشیمیایی

مرتبط با تنش شوری در ارقام گندم نان

سعید نواب پور<sup>۱\*</sup> | حوریه نجفی<sup>۱</sup> | زهره امدادی<sup>۲</sup> | مصطفی حمیدی<sup>۱</sup>

۱- گروه اصلاح نباتات و بیوتکنولوژی، دانشگاه علوم کشاورزی گرگان و منابع طبیعی گرگان، گرگان، ایران

۲- گروه زراعت و اصلاح نباتات، دانشکده کشاورزی، پردیس کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه تهران، تهران، ایران

## اطلاعات مقاله

## چکیده

نوع مقاله:

مقاله پژوهشی

گندم یک محصول غذایی حیاتی است، با این حال، تولید آن به طور مداوم توسط تنش‌های غیرزیستی به‌ویژه تنش شوری، تهدید می‌شود. درک مکانیسم‌های مولکولی که گندم از طریق آن‌ها به تنش شوری پاسخ می‌دهد، برای توسعه گونه‌های مقاوم به شوری ضروری است. با توجه به نقش مؤثر خانواده‌های مهم عوامل رونویسی *WRKY* و *NAC* در تقابل با تنش‌ها، میزان بیان سه ژن مهم این خانواده‌ها از جمله *TaWRKY10*، *TaWRKY53*، *NAC2* و *P5CS* در ارقام کلاته، بهاران گنبد و N9108 مورد بررسی قرار گرفت. همچنین میزان کلروفیل و شاخص سطح اکسیداسیون سلولی در این پژوهش مورد ارزیابی قرار گرفتند. آزمایش به صورت کرت‌های خرد شده در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی با چهار تکرار اجرا گردید. تیمار شوری با اعمال آب آبیاری پس از جوانه‌زنی و استقرار گیاهان (مرحله ۳۴ زادوکس) اعمال گردید. پس از رسیدن گیاهان به مرحله ساقه‌دهی نمونه‌برداری جهت ارزیابی بیان ژن و صفات بیوشیمیایی انجام شد. بیان ژن‌ها با استفاده از فناوری qRT-PCR مورد بررسی قرار گرفت. نتایج تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد که اثر متقابل تنش شوری × رقم در صفات محتوای کروویل a میزان مالون‌دی‌آلدئید در سطح یک درصد و برای صفات میزان کلروفیل b در سطح ۵ درصد معنی‌دار شد. همچنین تجزیه و تحلیل بیان ژن‌ها نشان داد که ژن *TaWRKY10* با ۱/۵ برابر بیشتر نسبت به شاهد تحت تیمار ۹ دسی زیمنس شوری در رقم کلاته بیشترین مقدار بیان و ژن *NAC2* با ۱۵ برابر افزایش بیان نسبت به شاهد تحت تیمار ۱۲ دسی زیمنس شوری در رقم کلاته داشتند. ژن *P5CS* نیز تحت تنش شوری روند افزایشی با افزایش سطح تنش شوری نشان داد که بیشترین مقدار آن در رقم کلاته ۱۶۳۴ برابر نسبت به شاهد تحت تیمار ۱۲ دسی زیمنس شوری بدست آمد. نتایج بیان ژن نشان داد که افزایش سطح شوری موجب القای معنی‌دار ژن‌های مرتبط با پاسخ به تنش از جمله *TaWRKY10*، *NAC2* و *P5CS* به‌ویژه در رقم کلاته شد که بیانگر نقش کلیدی این ژن‌ها در سازوکارهای تحمل به تنش شوری است. افزایش چشمگیر بیان این ژن‌ها، به‌خصوص در سطوح بالاتر شوری، می‌تواند به‌عنوان شاخص مولکولی مناسبی در برنامه‌های به‌زادای و انتخاب ارقام متحمل به شوری مورد استفاده قرار گیرد.

تاریخ دریافت: ۱۴۰۴/۰۶/۰۱

تاریخ بازنگری: ۱۴۰۴/۰۹/۱۳

تاریخ پذیرش: ۱۴۰۴/۰۹/۱۷

تاریخ انتشار: ۱۴۰۴/۱۰/۰۹

واژگان کلیدی:

شوری،

عامل رونویسی،

کلروفیل،

گندم



مقدمه

گندم به‌عنوان یکی از اصلی‌ترین منابع غذایی در جهان، به‌ویژه در کشورهای در حال توسعه، نقشی کلیدی در تأمین امنیت غذایی ایفا می‌کند. گیاهان به‌طور نامطلوبی تحت تاثیر تنش‌های زیستی و غیرزیستی قرار می‌گیرند و این تنش‌ها به شکل‌های گوناگون بر تولید و رشد گیاهان زراعی تاثیر منفی می‌گذارند (Hassanzadeh et al., 2025). تنش‌های محیطی از جمله شوری همواره عامل کاهش کمیت و کیفیت محصولات زراعی بوده‌اند که این تغییرات در گونه‌های مختلف گیاهی و حتی واریته‌های مختلف یک گونه و بسته به نوع و شدت تنش متفاوت هستند (Ghorbani et al., 2022). افزایش غلظت نمک در خاک می‌تواند منجر به کاهش قدرت جذب آب، اختلال در متابولیسم گیاه و در نهایت کاهش عملکرد و کیفیت دانه‌ها گردد. گندم یکی از محصولات راهبردی کشور است که در برنامه‌های سیاست‌های اقتصادی به سمت خودکفایی آن گام برداشته شده است (Riahi et al., 2020)؛ با این وجود، بخش قابل توجهی از گندم در زمین‌های شور کشت می‌شود. نزدیک به ۵۰ درصد از سطح زیرکشت گندم با درجات متفاوتی با چالش شوری و قلیایی بودن خاک رو به رو هستند (Bartles and Sunkar, 2015). تنش شوری یکی از مهم‌ترین عوامل محیطی است که تولید و توزیع جغرافیایی گیاهان را در سراسر جهان محدود می‌کند. اصلاح ژنتیکی برای تحمل به شوری یکی از روش‌های مؤثر به‌نژادی برای گندم است؛ اما درک سازوکار، مطالعه و شناسایی ژن‌های تحمل به شوری پیش نیاز به‌نژادی ژنتیکی است. شوری بر تمام فرآیندهای اصلی گیاه مانند رشد، فتوسنتز، سنتز پروتئین، متابولیسم لیپید و انرژی مؤثر بوده، در نتیجه تمام مراحل زندگی گیاه از جوانه‌زنی تا تولید زیست‌توده و عملکرد دانه را تحت تأثیر قرار می‌دهد (Parida et al., 2004). الگوی ترنسکرپتوم گیاه، تحت تأثیر تنش‌ها تغییر می‌یابد. این تغییر الگوی بیان ژن‌ها حاصل پیام‌های مختلفی است که توسط محیط بیرون سلول به داخل آن انتقال می‌یابد

(Moore et al., 2011). در واقع گیاه با تغییر الگوی بیان ژن‌های مرتبط با تنش برای کاهش خسارت تنش و نیز هموستازی دوباره یون و آب، پاسخ می‌دهد که این سازوکار دارای اهمیت ویژه‌ای برای ایجاد مقاومت گیاه نسبت به تنش شوری است. انتقال دهنده‌های یونی مختلفی تعیین‌کننده میزان نهایی هموستازی یونی هستند که در سطح رونویسی و پس از رونویسی تنظیم می‌شوند (Apel and Hirt, 2004). از مهم‌ترین ژن‌هایی که با تنظیم بیان ژن‌های عملکردی می‌توانند در تحمل گیاهان به تنش‌ها نقش کلیدی داشته باشند عوامل رونویسی می‌باشند (Huang et al., 2015). عوامل رونویسی پروتئین‌هایی هستند که با اتصال به عناصر تنظیمی در ناحیه بالادست ژن‌های هدف همانند سویچی، روشن و یا خاموش کردن این ژن‌ها را عهده‌دار هستند و بیان آن‌ها را تنظیم می‌کنند (Aida et al., 1997). یکی از آثار تنش شوری، تولید گونه‌های اکسیژن فعال (ROS) است که منجر به تخریب سلول‌های گیاهی می‌شوند. گونه‌های اکسیژن فعال به‌شدت سمی‌اند و با نوکلئیک اسیدها، لیپیدها و پروتئین‌ها واکنش داده و سبب تخریب DNA، دناتوراسیون پروتئین و پراکسیداسیون لیپیدها می‌شوند (You and Chan, 2015). گیاهان برای مقابله با این آثار سوء از مجموعه‌ای از مکانیسم‌ها استفاده می‌کنند که در تحمل شوری دخالت دارند. در راستای القاء و تنظیم این مکانیسم‌ها، طیف گسترده‌ای از پروتئین‌ها تنظیمی و عوامل رونویسی نظیر *NAC* و *WARKY* ایفای نقش می‌کنند (Zhou et al., 2008). از عوامل پر اهمیت رونویسی که نقش آن‌ها در تحمل گیاهان به تنش‌های غیرزیستی تاکنون در مطالعات متعدد گزارش شده است می‌توان به ژن‌های خانواده *NAC* اشاره کرد. نام این خانواده ژنی در اصل از نام سه پروتئین شامل: *NAM* (No apical meristem)، *TAF1* و *CUC2* (Cupshaped cotyledon) مشتق شده است (Aida et al., 1997). بسیاری از اعضای خانواده عوامل رونویسی *NAC*، نه تنها نقش مهمی در فرآیندهای رشد و نمو گیاه به‌عهد

از این رو پژوهش حاضر با هدف بررسی تغییرات بیان ژن‌های *TaWRKY10*، *TaWRKY53*، *NAC2* و *P5CS* با استفاده از qRT-PCR و بررسی تغییرات برخی از صفات بیوشیمیایی در گندم تحت تنش شوری انجام شد.

### مواد و روش‌ها

برای بررسی تنش شوری آزمایشی به صورت کرت‌های خرد شده در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی با چهار تکرار انجام شد. برای انجام آزمایش گلدان‌ها با کوکویت+پرلیت به نسبت ۲:۱ پر شدند. در هر گلدان ۱۵ عدد بذر از ارقام مورد مطالعه کشت شد. عامل اصلی شامل سه سطح شوری (۰، ۹ و ۱۲ dS/m) و عامل فرعی چهار رقم گندم نان (کلاته، گنبد و بهاران و لاین N9108) بود. در این مطالعه، با استفاده از EC متر، شوری خاک اندازه‌گیری شد و مقدار نمک لازم برای دستیابی به شوری هدف ۹ و ۱۲ dS/m محاسبه شد. تیمارهای شوری با آبیاری با آب با EC مناسب به گلدان‌ها اعمال شد و به محض رسیدن به سطح هدف (۹ و ۱۲ dS/m)، نگهداری EC در همان مقدار با همان روش آبیاری ادامه یافت. هر ۲ تا ۳ روز یکبار، EC خاک و محلول آبیاری اندازه‌گیری شد تا پایداری سطح EC تأیید گردد. پس از رسیدن گیاهان به مرحله رشدی ساقه‌دهی به منظور بررسی صفات بیوشیمیایی شامل (میزان کلروفیل و اکسیداسیون سلولی) از هر گلدان آزمایشی نمونه‌برداری انجام شد. همچنین ارزیابی بیان ژن‌ها شامل *TaWRKY10*، *TaWRKY53*، *NAC2* و *P5CS* با استفاده از نمونه‌های بافت برگ صورت گرفت.

**فرآیند استخراج RNA:** استخراج RNA از نمونه‌های برگ با استفاده از کیت ترایزول (شرکت سینا کلون ایران) انجام شد. همچنین از الکتروفورز روی ژل آگارز ۱/۵ درصد برای تعیین کیفیت RNA استخراج شده استفاده شد. علاوه بر این از دستگاه اسپکتروفتومتر برای بررسی کیفیت و کمیت میزان RNA استخراج شده نیز استفاده شد.

**ساخت cDNA:** به منظور ساخت cDNA از روش پیشنهاد شده شرکت فرمتاز استفاده شد. هر نمونه از RNA بعد از تیمار *DNaseI* داخل تیوب جدید ریخته شد. به هر تیوب

دارند بلکه در پاسخ به تنش‌های غیرزیستی و افزایش تحمل گیاهان به اینگونه تنش‌ها نیز اثرگذار می‌باشند (Nakashima et al., 2012). در پژوهشی محققین نشان دادند که بیان یکی از اعضای خانواده NAC (*NAC67*)، تحت تنش شوری افزایش می‌یابد (Rahaie et al., 2011). عوامل رونویسی *WRKY* از بزرگترین خانواده‌های تنظیم‌کننده رونویسی در گیاهان می‌باشند و در تنظیم بسیاری از فرآیندهای زیستی شرکت می‌کنند. شواهد متعددی از نقش این خانواده ژنی در فرآیند تحمل به تنش‌های غیرزیستی و زیستی و همچنین مراحل نموی گزارش شده است. در آراییدوپسیس و برنج نقش خانواده ژنی *WRKY* در تحمل به تنش خشکی به اثبات رسیده است (Rushton et al., 2010). مطالعات متعدد نشان داده است که طی فرآیند پاسخ به تنش‌های غیرزیستی مثل خشکی و شوری در گیاهان، عوامل رونویسی *WRKY* به‌شدت و با سرعت زیاد بیان می‌شوند که این امر به دلیل عملکرد تنظیمی آن‌ها در این مسیر پیام‌رسانی است (Chen et al., 2012). مطالعات ژنوم آراییدوپسیس نشان داده است که بسیاری از ژن‌های *NAC* به‌وسیله حداقل یکی از تنش‌های غیرزیستی از قبیل شوری، خشکی یا سرما القا می‌شوند (Jensen et al., 2010). در مطالعه‌ای روی برنج، مشخص شد که ژن *OsNAC6* پس از ۱۲، ۲۴، ۴۸ ساعت از اعمال تیمار شوری به صورت تصاعدی افزایش بیان نشان داد (Ohnishi et al., 2005).

پرویلین-۵- کربوکسیالت سنتتاز (*P5CS*) آنزیم کلیدی در سنتز پرویلین است. ژن *P5CS* در بیوسنتز پرویلین از طریق تأثیر بر ساخت آنزیم *P5CS* تأثیر گذار است (Zarea and Karimi, 2023). در پژوهشی شوهدی از افزایش بیان ژن *P5CS* تحت تنش شوری در گندم گزارش شده است (Tavakoli et al., 2016).

با توجه به بررسی‌های انجام شده به‌نظر می‌رسد شناسایی ژن‌های جدید به‌ویژه عوامل رونویسی و تعیین الگوی بیان آن‌ها در پاسخ به تنش‌ها می‌تواند درک بهتری از نقش کارکردی آن‌ها در انطباق با تنش‌ها از جمله تنش شوری برای محققان فراهم کرده و بر این اساس راهکارهای مولکولی مناسبی را برای افزایش تحمل به تنش در گیاهان فراهم نمایند؛

شدند. توالی آغازگرهای مورد استفاده و چرخه حرارتی در واکنش مذکور به‌تریب در جدول ۱ و ۲ ارائه شده است. برای نرمال‌سازی داده‌ها از ژن خانه‌دار اکتین که دارای بیان یکسانی در شرایط مختلف تیماری است، استفاده شد.

**تجزیه و تحلیل داده‌ها:** آنالیز داده‌های صفات بیوشیمیایی با استفاده از نرم‌افزار SAS (نسخه ۹/۴) انجام شد و نمودارها توسط نرم‌افزار Excel ترسیم گردید. درخصوص بیان ژن‌ها تجزیه واریانس انجام نشد، مقایسه میانگین بیان ژن‌ها بر اساس میزان واریانس خطای ناشی از تکرار آزمایش محاسبه شد و بر این اساس مقادیر خطای معیار نیز بر آورد گردید که در اشکال قید شده است. بیان نسبی ژن‌های مورد نظر با استفاده از معادله زیر محاسبه گردید (Pfaffl, 2002).

$$\text{Ratio} = (E_{\text{target}})^{\Delta C_{\text{Ptarget}}(\text{control-sample})} / (E_{\text{ref}})^{\Delta C_{\text{Pref}}(\text{control-sample})}$$

در این معادله نسبت سطح بیان یک ژن هدف بر اساس راندمان واکنش زنجیره‌ای پلی‌مراس (E) برای ژن هدف و مرجع و تفاوت ( $\Delta$ ) نقطه تقاطع (Crossing point: CP) یک نمونه ناشناخته در مقابل کنترل CP (Control-Sample  $\Delta$ ) محاسبه می‌شود.

که حاوی ۱۱ میکرولیتر از محتویات مذکور بود، مقدار یک میکرولیتر آغازگر oligo dt به‌همراه ۰/۵ میکرولیتر ddH<sub>2</sub>O افزوده شد تا حجم نهایی آن به ۱۲/۵ رسید. سپس به‌مدت پنج دقیقه در دمای ۶۵ درجه سانتیگراد قرار گرفت. در مرحله بعد به واکنش چهار میکرولیتر بافر ۵× ساخت cDNA، ۰/۵ میکرولیتر RNase inhibitor، ۲ میکرولیتر مخلوط dNTP با غلظت ۱۰ میکرومولار افزوده شد و در آخر مقدار یک میکرولیتر آنزیم رونوشت‌برداری معکوس افزوده شده تا حجم محلول مذکور به ۲۰ میکرولیتر رسید. واکنش RT که پنج دقیقه در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد، ۶۰ دقیقه در دمای ۴۲ درجه سانتی‌گراد و ۱۰ دقیقه در دمای ۷۰ درجه سانتی‌گراد انجام شد. برای صحت سنجی cDNA ساخته شده از روش RT-PCR و الکتروفورس ژل آگارز ۲ درصد استفاده شد.

**ارزیابی ژن‌ها:** برای بررسی الگوی بیان ژن‌های مورد نظر شامل *NAC2* و *P5CS*، *TaWRKY53*، *TaWRKY10* دستگاه شرکت Bio rad با نام iQ5 و کیت سایبربیوپارس استفاده شد. ژن‌ها در ۴ تکرار زیستی و ۲ تکرار فنی ارزیابی

جدول ۱- مشخصات آغازگرها

Table 1. Primer specifications

نام آغازگر	توالی آغازگر رفت	توالی آغازگر برگشت	دمای ذوب
Primer name	Forward primer sequence	Reverse primer sequence	Tm (C)
<i>NAC2</i>	5'-CGAGTGGGAGAAGATGCAGC-3'	5'-TTGTCCACGATCTCCGACTC-3'	60
<i>P5CS</i>	5'-TCGGTGCTGAGGTGGCATAAG-3'	5'-TTGTCACCATTCACCACTTGCCC-3'	60
<i>TaWRKY10</i>	5'-GGCTTCGCTAGGACTTACC-3'	5'-CGTAGGTGGTGAGGACGTA-3'	57
<i>TaWRKY53</i>	5'-CCTTTCAGCAGGATGAGGTC-3'	5'-ACCTTCTGCCCGTACTTCT-3'	60
<i>TaActin</i>	5'-GCTTCCTCATGCTATCCTTC-3'	5'-CCAGGAACCTCCATACCAAC-3'	56

جدول ۲- چرخه حرارتی واکنش زنجیره‌ای پلیمراس

Table 2. Thermal cycle of polymerase chain reaction

تعداد چرخه	مرحله	زمان	دما (سانتی‌گراد)
Number of cycles	Stage	Time	Temperature (C)
1	Primary denaturation واسرشت‌سازی اولیه	3 minutes	95
40	واسرشت‌سازی Denaturation	10 seconds	95
	اتصال Annealing	10 minutes	60
	طویل‌سازی Extension	20 seconds	72
1	طویل‌سازی انتهایی Final Extension	5 minutes	72

۱۵ دقیقه سانتریفوژ شد. رسوب کوچک حاصل از سانتریفوژ با ۵ میلی لیتر استون شستشو و پس از ورتکس مجدداً با همان دور به مدت ۱۰ دقیقه سانتریفوژ شد. این مرحله چهار مرتبه تکرار شد. سپس به محلول ۳ میلی لیتر اسید فسفریک تری کلرواستیک (۱ درصد وزنی-حجمی) و یک میلی لیتر اسید تیوباریبورتیک تری کلرواستیک (۰/۶ درصد وزنی-حجمی) افزوده و محلول به مدت ۳۰ دقیقه در دمای ۱۰۰ درجه سانتی گراد قرار گرفت. واکنش با سرد کردن سریع لوله‌ها در ظرف یخ متوقف و مقدار جذب محلول حاصل در طول موج ۵۳۲ و ۵۹۰ نانومتر توسط دستگاه جذب نوری (مدل BR-Technologies BT 600) خوانش شد (Hageg *et al.*, 1990).

### نتایج و بحث

تأثیر تنش شوری و رقم بر صفات بیوشیمیایی: تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد که اثر ساده رقم و تنش خشکی بر تمام صفات مورد بررسی معنی دار بود. اثر متقابل تنش شوری × رقم در صفات محتوای کروфіل a و مالون‌دی‌آلدئید در سطح یک درصد و در صفت محتوای کروфіل b در سطح ۵ درصد معنی دار بود (جدول ۳).

اندازه‌گیری میزان کروфіل: برای اندازه‌گیری میزان کروфіل به ۰/۵ گرم نمونه برگ منجمد کاملاً خرد شد ۱۰ میلی لیتر استون ۸۰ درصد سرد اضافه شد. پس از سانتریفوژ با دور ۵۰۰۰ به مدت ۱۵ دقیقه، میزان جذب (A) مایع‌رویی در طول موج‌های ۶۴۶/۶ و ۶۶۳/۶ نانومتر توسط دستگاه اسپکتروفوتومتر WAP مدل S2000UV/vis خوانش شد. در نهایت محتوای کروфіل a و b بر اساس فرمول‌های زیر محاسبه شد (Porra *et al.*, 1989).

$$\text{Chl a (mg.ml}^{-1}\text{)} = 12.25 \text{ A}663.6 + 2.55 \text{ A}646.6$$

$$\text{Chl b (mg.ml}^{-1}\text{)} = 20.31 \text{ A}646.6 + 4.91 \text{ A}663.6$$

### سنجش اکسیداسیون سلولی ( Thiobarbituric Acid )

**(Reactive Materia: TBARM):** در این سنجش که معیاری برای اندازه‌گیری میزان تنش اکسیداسیونی است، مقدار مالون‌دی‌آلدئید که محصول نهایی و نسبتاً پایدار واکنش اکسیداسیون مولکول‌های بزرگ است اندازه‌گیری شد. بدین منظور ۱ میلی لیتر اسید تری کلرواستیک (۱۵ درصد وزنی-حجمی) به ۰/۵ گرم برگ هم‌وزن‌بزه شده اضافه شد. محلول حاضر پس از افزودن ۱۰ میلی لیتر استون به شدت ورتکس شد و سپس با دور ۴۷۵۰ در دقیقه به مدت

جدول ۳- نتایج تجزیه واریانس تأثیر رقم و تنش خشکی بر صفات بیوشیمیایی گندم نان

Table 3. The results of variance analysis of cultivar and drought stress effects on biochemical traits

منابع تغییرات S.O.V	درجه آزادی D.F	میانگین مربعات صفات Mean squares of traits		
		کلروфіل a Chlorophyll a	کلروфіل b Chlorophyll b	مالون‌دی‌آلدئید Malondialdehyde
بلوک Block	3	4.66 <sup>ns</sup>	1.28*	10.79 <sup>ns</sup>
تنش شوری Salinity stress	2	642.13**	6.51**	145.45**
خطای ۱ Error 1	6	83.45	1.44	17.93
رقم Variety	3	6.10**	3.90**	235.77**
تنش شوری × رقم Salinity stress × variety	6	9.01**	0.63*	42.03**
خطای ۲ Error 2	27	0.44	0.19	13.67
ضریب تغییرات (درصد) CV (%)	-	3.4	6.3	4.3

\*, \*\*, و <sup>ns</sup>: به ترتیب معنی دار در سطح احتمال ۵ و ۱ درصد و عدم تفاوت معنی دار

\*, \*\*, and <sup>ns</sup>: Significant at 5%, 1% probability levels, and non-significant, respectively

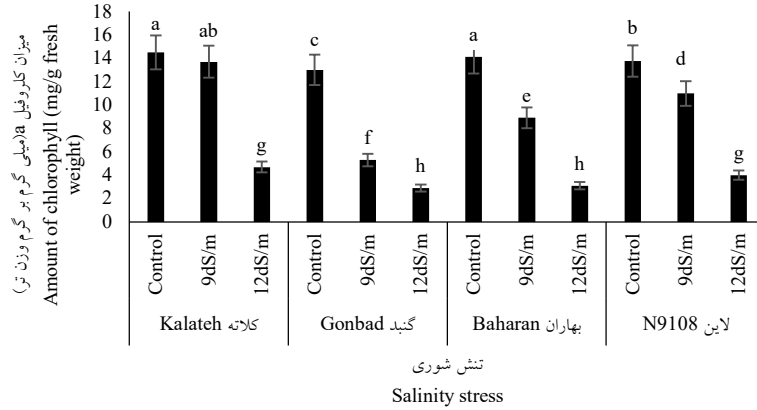
غشاهای سلولی، کاهش نفوذ اکسیژن و دی‌کسی‌کربن، کاهش میزان CO<sub>2</sub> به دلیل بسته شدن روزنه‌ها، تسریع روند پیری برگ‌ها، تغییر فعالیت آنزیم‌ها به دلیل ساختارهای تغییر یافته در سیتوپلاسم و بازخورد منفی ناشی از کاهش فعالیت منبع می‌باشد (Munns *et al.*, 2020). همچنین، تنش شوری مانع انتقال الکترون‌های فتوسنتزی، کاهش هدایت روزنه‌ای، و تولید انواع اکسیژن فعال می‌شود که منجر به آسیب‌های اکسیداتیو در فتوسیستم‌ها می‌گردد. نتایج تحقیقات مشابه نشان می‌دهند که با افزایش تنش شوری، میزان کلروفیل در ارقام گندم کاهش می‌یابد و بیش‌ترین تغییرات مربوط به ژنوتیپ‌های حساس است که ممکن است به تفاوت‌های ژنتیکی میان آن‌ها نسبت داده شود. احتمالاً ژنوتیپ‌های مقاوم‌تر، به دلیل دارا بودن مکانیسم‌های دفاعی قوی‌تر، در شرایط شوری قادر به حفظ ساختار کلروفیل خود هستند (Ghasemi Mosremi *et al.*, 2022).

**مالون‌دی‌آلدئید (MDA):** اندازه‌گیری میزان MDA در اندام‌های مختلف گندم، شاخص مناسبی برای تشخیص آسیب غشایی می‌باشد (Guo *et al.*, 2006). نتایج مقایسه میانگین داده‌ها نشان داد که بیشترین میزان مالون‌دی‌آلدئید در تیمار رقم بهاران-۱۲ دسی‌زیمنس بر متر (۳۱) میکرومول بر گرم وزن تر) مشاهده شد که بیانگر تخریب شدید غشای این رقم تحت تنش تیمار شوری است. کمترین آن در تیمار رقم بهاران-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 ۳). تنش‌های ثانویه مانند تنش اکسیداتیو اغلب به دلیل تولید بیش از حد گونه‌های اکسیژن فعال اتفاق می‌افتد. گزارش شده شوری موجب افزایش میزان گونه‌های اکسیژن فعال در گیاه گندم گردیده است (Kononenko *et al.*, 2020)؛ بنابراین افزایش سطح گونه‌های فعال در گیاه به علت شوری باعث شکل‌گیری گونه‌های اکسیژن فعال شده که نتیجه آن اکسیداسیون لیپیدهای غشاء است (Zeeshan *et al.*, 2020; Sharma *et al.*, 2012).

**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 رقم کلاته (۱۴/۵ میلی‌گرم بر گرم وزن تر) مشاهده شد که از نظر آماری این ترکیب تیماری با تیمارهای رقم کلاته-۹ دسی‌زیمنس بر متر شوری و رقم بهاران-شاهد تفاوت معنی‌داری نداشت. کمترین میزان کلروفیل a در رقم گنبد-۱۲ دسی‌زیمنس شوری (۲/۹ میلی‌گرم بر گرم وزن تر) مشاهده شد (شکل ۱).

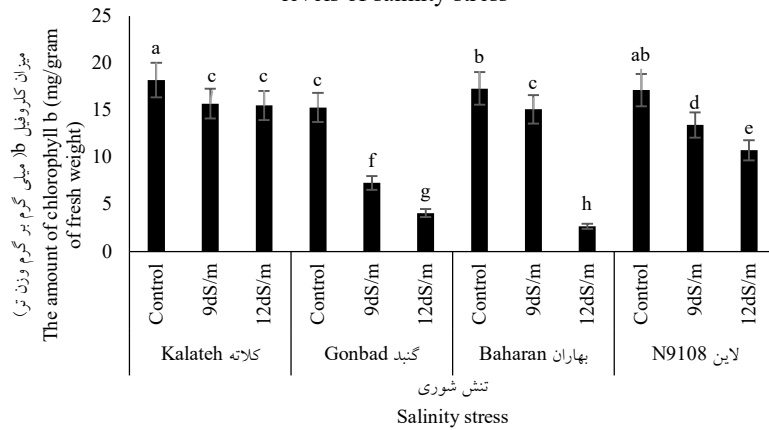
در تیمار رقم کلاته-شاهد، بیش‌ترین میزان کلروفیل b (۱۸/۲ میلی‌گرم بر گرم وزن تر) مشاهده شد، که از لحاظ آماری تفاوت معنی‌داری با تیمار رقم بهاران-شاهد (۱۷/۳ میلی‌گرم بر گرم وزن تر) نداشت. کم‌ترین مقدار کلروفیل b (۲/۷ میلی‌گرم بر گرم وزن تر) مربوط به تیمار رقم بهاران-۱۲ دسی‌زیمنس بر متر بود (شکل ۲).

یکی از ویژگی‌های مهم در تحمل به تنش‌های غیرزیستی، شاخص فتوستتوز است (Reynolds *et al.*, 2005). بر اساس مشاهدات متعدد، فرآیند فتوستتوز از عوامل کلیدی در جذب کربن و تولید ترکیبات مهم در فرآیند پر شدن دانه است (Jia *et al.*, 2015). در شرایط بهینه، افزایش سطح فتوستتوز منجر به افزایش عملکرد محصول می‌شود، در حالی‌که کاهش آن در اثر تنش شوری، موجب کاهش عملکرد و تسریع پیری اندام‌های فتوستتوزکننده می‌گردد (Liu *et al.*, 2016). نتایج مطالعات متعددی درباره تنوع ژنتیکی ژنوتیپ‌های گندم نان ایرانی نشان می‌دهد که صفت کلروفیل برگ به دلیل هزینه کم، سهولت در اندازه‌گیری و پایداری در مقابل آسیب‌های محیطی، به عنوان شاخص مناسبی در برنامه‌های به‌نژادی برای انتخاب ژنوتیپ‌های مقاوم در شرایط تنش شوری در مزرعه مورد استفاده قرار می‌گیرد (Gholizadeh *et al.*, 2016). یکی از معیارهای فیزیولوژیکی مهم در سنجش تحمل شوری، ثبات کلروفیل است. افزایش غلظت نمک در محیط موجب کاهش ثبات کلروفیل در گیاه می‌شود. کاهش شدت فتوستتوز در اثر تنش شوری ناشی از عوامل متعددی از جمله کاهش نفوذپذیری



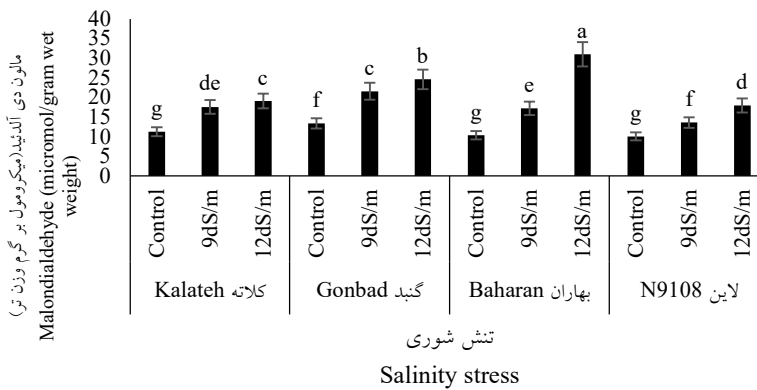
شکل ۱- تغییرات میزان کلروفیل a در ارقام مختلف گندم تحت تأثیر سطوح مختلف تنش شوری

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



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

Figure 2. Changes in the amount of chlorophyll b in different varieties of wheat under the influence of different levels of salinity stress



شکل ۳- تغییرات میزان مالون دی آلدئید در ارقام مختلف گندم تحت تأثیر سطوح مختلف تنش شوری

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

بهاران روند متفاوتی داشت به این ترتیب که بیان ژن *TaWRKY53* از تیمار شاهد تا سطح تنش شوری ۱۲ دسی‌زیمنس بر متر در رقم کلاته و لاین N9108 کاهش پیدا کرد و با افزایش سطح شوری تا ۱۲ دسی‌زیمنس بر متر در رقم گنبد و بهاران افزایش بیان ژن *TaWRKY53* مشاهده شد (شکل ۵). میزان کاهش بیان ژن *TaWRKY53* در شرایط اعمال تنش شوری در لاین N9108 نسبت به شاهد و دیگر ارقام تحت تیمار شوری زیاد بود؛ بنابراین به نظر می‌رسد ژن *TaWRKY53* تأثیر معکوس را در تحمل به شوری در گندم دارد، که شاید به دلیل رابطه متقابل ژن‌های 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 فرآیند پیری نقش دارد (Miao and Zentgraf, 2010). همچنین گزارش شده است که بیان ژن *WRKY53* در شرایط تنش، مخصوصاً در ژنوتیپ‌های حساس به تنش افزایش می‌یابد (Ishihama and Yoshioka, 2012) در مطالعه روی گیاه آرابیدوپسیس نیز نتایج نشان داد که بیش بیان ژن *WRKY53* تأثیر منفی در تحمل به تنش‌های محیطی از جمله شوری و خشکی دارد (Sun and Yu, 2015).

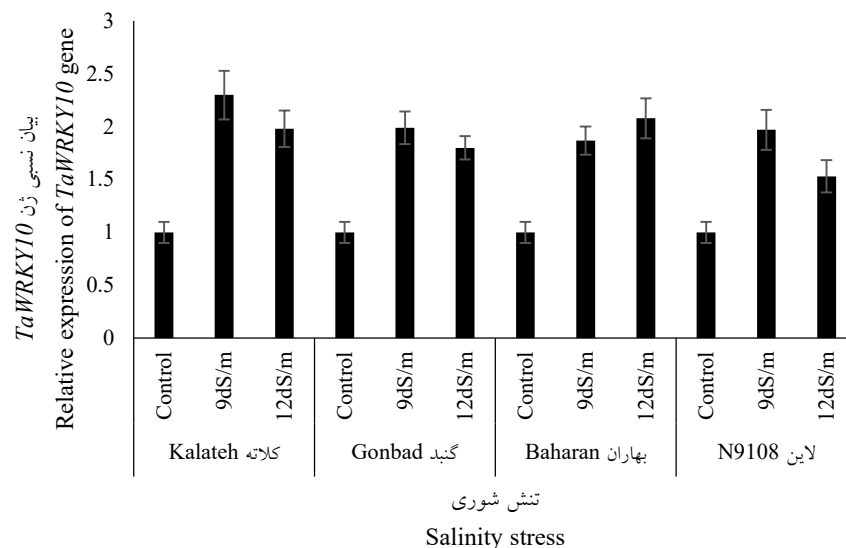
مقایسه میانگین داده‌های بیان ژن *NAC2* ارقام مورد بررسی تحت تنش شوری نشان داد که در همه ارقام کمترین میزان بیان ژن در تیمار شاهد مشاهده شد و با افزایش میزان شوری تا سطح ۱۲ دسی‌زیمنس بر متر میزان بیان ژن *NAC2* نیز افزایش یافت (شکل ۶). بیشترین میزان بیان ژن *NAC2* در رقم کلاته-۱۲ دسی‌زیمنس بر متر (۱۵/۰۶) مشاهده شد. بعد از آن به ترتیب لاین N9108 و رقم گنبد-۱۲ دسی‌زیمنس بر متر شوری بالاترین بیان ژن را نشان دادند. بسیاری از اعضای خانواده عوامل رونویسی NAC، نه تنها نقش مهمی در فرآیندهای رشد و نمو گیاه به عهده دارند بلکه در پاسخ به تنش‌های غیرزیستی و افزایش تحمل گیاهان به این‌گونه تنش‌ها نیز اثرگذار می‌باشند (Nakashima et al., 2012). برخی از عوامل رونویسی NAC دارای موتیف‌های تراغشایی (TM) در ناحیه C-

تولید مالون‌دی‌آلدئید در اثر اکسیداسیون لیپیدها در غشا اتفاق می‌افتد؛ بنابراین میزان مالون‌دی‌آلدئید می‌تواند نشانه‌ای از میزان شدت تنش وارده بر گیاه باشد. در مطالعات مختلف افزایش محتوای مالون‌دی‌آلدئید تحت تنش شوری در گیاه گندم نان، ذرت و ارزن نیز گزارش گردیده است (Sreenivasulu et al., 2000; Gunes et al., 2007; Hnilickova et al., 2021; Zeeshan et al., 2020).  
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* در رقم کلاته و گنبد و لاین N9108 (تا میزان شوری ۹ دسی‌زیمنس بر متر) افزایش یافته و سپس اندکی کاهش می‌یابد. در مقابل میزان بیان ژن *TaWRKY10* در رقم بهاران با افزایش سطح شوری از شاهد تا ۱۲ دسی‌زیمنس بر متر افزایش یافت (شکل ۴). به‌طور کلی میزان بیان ژن *TaWRKY10* در رقم کلاته نسبت به ارقام گنبد، لاین N9108 و بهاران با افزایش سطح شوری افزایش بیشتری نشان داد. مطالعات متعدد نشان داده است که طی فرآیند پاسخ به تنش‌های غیرزیستی در گیاهان مثل خشکی و شوری، عوامل رونویسی *WRKY* به‌شدت و با سرعت زیاد بیان می‌شوند که این امر به دلیل عملکرد تنظیمی آن‌ها در این مسیر پیام‌رسانی است (Chen et al., 2012). در مطالعه ای گزارش شده است که ژن *GmWRKY54* تحمل به شوری را در گیاه آرابیدوپسیس القاء می‌کند (Zhou et al., 2008). همچنین وانگ و همکاران (Wang et al., 2013) با بررسی الگوی بیان عامل رونویسی *TaWRKY10* در گیاه تراریخت توتون نشان دادند که این ژن با تعدیل اسمزی و تأثیر بر رونویسی ژن‌های وابسته به تنش، عاملی مؤثر در فرآیند تحمل به شوری محسوب می‌شود (Wang et al., 2013). بیان بیش از حد ژن‌های *WRKY44* و *WRKY46* گندم تحمل به هر دو تنش خشکی و شوری را افزایش می‌دهد (Wang et al., 2015; Li et al., 2020).  
نتایج حاصل از تجزیه و تحلیل آماری بیان ژن *TaWRKY53* در تنش شوری در هر سه رقم کلاته، گنبد و

روند افزایشی بیان این ژن مشاهده شد، اما شدت افزایش در این رقم نسبت به سایر ارقام مورد بررسی کمتر بود. ژن *P5CS* به عنوان یکی از ژن‌های درگیر در مسیر متابولیسمی پاسخ به تنش خشکی و شوری مطرح می‌باشد که بیوستز پرولین را کنترل می‌نماید (Fang *et al.*, 2025; Chen *et al.*, 2012). افزایش بیان ژن *P5CS* می‌تواند به طور مؤثر تجمع پرولین را افزایش دهد و در نتیجه ظرفیت گیاهان را برای مقاومت در برابر تنش‌ها را نیز افزایش دهد (Anton *et al.*, 2020). نتایج مطالعه دو و همکاران (Du *et al.*, 2023) نشان داد که لاین‌های تراریخت گندم دارای با بیش بیان ژن *TaP5CS1* سطح پرولین بیشتری تولید کرده و تحمل به خشکی و شوری بیشتری نسبت به گیاهان وحشی نشان می‌دهند (Du *et al.*, 2023). در سایر مطالعات نیز افزایش بیان ژن *P5CS* در بخش‌های رویشی بسیاری از گیاهان عالی از جمله برنج زراعی (Hur *et al.*, 2004) و آرابیدوپسیس (Seki *et al.*, 2005) گزارش شده است.

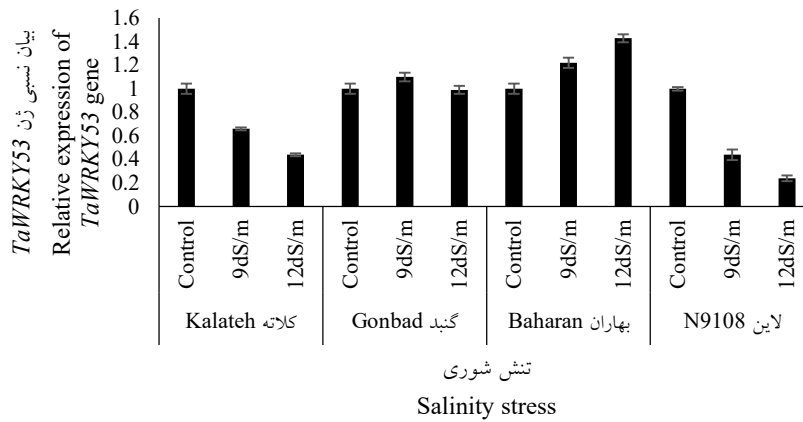
انتهایی خود هستند که جایگزینی در غشای پلاسمایی یا شبکه آندوپلاسمی را تسهیل می‌کنند. این پروتئین‌ها از طریق هیدرولیز پروتئولیتیکی شکسته شده و متعاقباً در مراحل تکوینی خاص یا شرایط تنش به هسته منتقل می‌شوند (Ray *et al.*, 2023). در پژوهشی نشان داده شد که *NAC67* تحت تنش شوری افزایش بیان می‌یابد و پروتئین کدشده همولوگ بسیار نزدیکی به گندم دارد (Rahaie *et al.*, 2011). بررسی نقش ژن *NAC2* در تحمل به تنش غیرزیستی در برنج نشان داد که ژن *NAC2* در تنش خشکی، شوری بالا و دمای پایین القا می‌شود و باعث افزایش تحمل گیاه برنج به تنش‌های غیرزیستی می‌گردد (Zheng *et al.*, 2009).

نتایج تحلیل بیان ژن *P5CS* نشان داد که افزایش سطح تنش شوری منجر به افزایش میزان بیان این ژن می‌گردد. در بین نمونه‌های مورد بررسی، رقم کلاته و لاین N9108 بیشترین افزایش در سطح بیان این ژن را تحت تنش شوری در سطح ۱۲ دسی‌زیمنس بر متر نشان دادند. همچنین، در رقم گنبد،



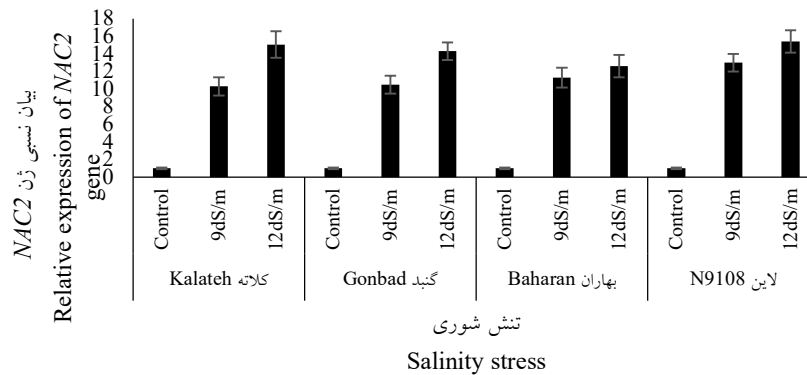
شکل ۴- بیان نسبی ژن *TaWRKY10* در ارقام مختلف گندم تحت تأثیر سطوح مختلف تنش شوری (مپله روی ستون‌ها نشان‌دهنده خطای معیار می‌باشد)

Figure 4. Relative expression of *TaWRKY10* gene in different varieties of wheat under the influence of different levels of salinity stress (Bars on columns indicate standard error)



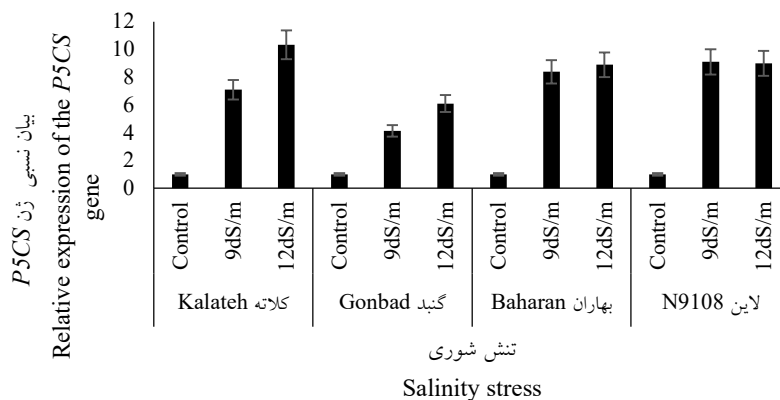
شکل ۵- بیان نسبی ژن *TaWRKY53* در ارقام مختلف گندم تحت تأثیر سطوح مختلف تنش شوری (میله روی ستون‌ها نشان‌دهنده خطای معیار می‌باشد)

Figure 5. Relative expression of *TaWRKY53* gene in different varieties of wheat under the influence of different levels of salinity stress (Bars on columns indicate standard error)



شکل ۶- بیان نسبی ژن *NAC2* در ارقام مختلف گندم تحت تأثیر سطوح مختلف تنش شوری (میله روی ستون‌ها نشان‌دهنده خطای معیار می‌باشد)

Figure 6. The relative expression of *NAC2* gene in different varieties of wheat under the influence of different levels of salinity stress (Bars on columns indicate standard error)



شکل ۷- بیان نسبی ژن *P5CS* در ارقام مختلف گندم تحت تأثیر سطوح مختلف تنش شوری (میله روی ستون‌ها نشان‌دهنده خطای معیار می‌باشد)

Figure 7. Relative expression of the *P5CS* gene in different wheat varieties under the influence of different levels of salt stress (Bars on columns indicate standard error)

برخوردار بود، این مقاومت ممکن است ناشی از فعالیت‌های بیوشیمیایی و مولکولی متفاوت در این رقم باشد. علاوه بر این از نظر بیان عوامل رونویسی که در این مطالعه بررسی شد رقم کلاته شرایط بهتری نسبت به دیگر ارقام مورد بررسی نشان داد. با توجه به یافته‌های پژوهش حاضر می‌توان رقم کلاته را در برنامه‌های بهنژادی آینده به منظور توسعه ارقام گندم متحمل به تنش شوری توصیه نمود.

### سپاسگزاری

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

نتایج این مطالعه نشان داد که در تیمار شاهد (عدم تنش)، بیشترین میزان کلروفیل a و b در رقم کلاته مشاهده شد، که نشان‌دهنده قابلیت بالا در فتوسنتز و تحمل بهتر این رقم در برابر تنش شوری است. در مقابل، بیشترین میزان مالون‌دی‌آلدئید، که شاخصی از تخریب غشاهای سلولی و تنش اکسیداتیو است، در رقم بهاران تحت تنش ۱۲ دسی‌زیمنس بر متر شوری ثبت شد که نشان‌دهنده آسیب بیشتر به غشاهای سلولی در این رقم است. نتایج کلی این پژوهش تأیید می‌کند که رقم کلاته در مقایسه با سایر ارقام مورد مطالعه، از تحمل بیشتری نسبت به تنش شوری

### References

- Aida, M., Ishida, T., Fukaki, H., Fujisawa, H. and Tasaka, M. (1997). Genes involved in organ separation in Arabidopsis: an analysis of the cup-shaped cotyledon mutant. *Plant Cell*, 9: 841. <https://doi.org/10.1105/tpc.9.6.841>
- Anton, D.B., Guzman, F.L., Vetó, N.M., Krause, F.A., Kulcheski, F.R., Coelho, A.P.D., Duarte, G.L., Margis, R., Dillenburg, L.R. and Turchetto-Zolet, A.C. (2020). Characterization and expression analysis of P5CS ( $\Delta$ 1-pyrroline-5-carboxylate synthase) gene in two distinct populations of the Atlantic Forest native species *Eugenia uniflora* L. *Molecular Biology*, 47: 1033-1043. <https://doi.org/10.1007/s11033-019-05195-7>
- Apel, K. and Hirt, H. (2004). Reactive oxygen species: metabolism, oxidative stress, and signal transduction. *Plant Biology*, 55: 373-399. <https://doi.org/10.1146/annurev.arplant.55.031903.141701>
- Bartles, D. and Sunkar, R. (2015). Drought and salt tolerance in plants. *Plant Science*, 24: 23-58. <https://doi.org/10.1080/07352680590910410>
- Chen, L., Song, Y., Li, S., Zhang, L., Zou, C. and Yu, D. (2012). The role of WRKY transcription factors in plant abiotic stresses. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) Gene Regulatory Mechanisms*, 18: 120-128. <https://doi.org/10.1016/j.bbgrm.2011.09.002>
- Du, L., Huang, X., Ding, L., Wang, Z., Tang, D., Chen, B., Ao, L., Liu, Y., Kang, Z. and Mao, H. (2023). TaERF87 and TaAKS1 synergistically regulate TaP5CS1/TaP5CR1-mediated proline biosynthesis to enhance drought tolerance in wheat. *New Phytologist*, 237: 232-250. <https://doi.org/10.1111/nph.18549>
- Fang, H., Gao, X., Wu, Y., Zhang, K., Wu, Y., Li, J. and Wang, B. (2025). Unveiling the role of GhP5CS1 in cotton salt stress tolerance: a comprehensive genomic and functional analysis of P5CS genes. *Plants*, 14(2): 231. <https://doi.org/10.3390/plants14020231>
- Ghasemi Mosreimi, A., Selouki, M., Golkari, S., Mahdinejad, N., Fakheri, B.A., Ghalaji, M.H. and Jabari, M. (2022). Comparison of photosystem II performance in native Iranian wheat genotypes using chlorophyll fluorescence parameters under salinity stress. *Plant Production and Genetics*, (1)3: 67-84. (In Persian). <https://doi.org/10.34785/J020.2022.154>
- Gholizadeh, D., Amini, A. and 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.org/10.29252/jcb.10.26.173>
- Gunes, A., Inal, A., Alpuslan, M., Fraslan, F., Guneri, E. and Cicek, N. (2007). Salicylic acid induced changes on some physiological parameters symptomatic for oxidative stress and mineral nutrition in maize grown under salinity. *Journal of Plant Physiology*, 164: 728-736. <https://doi.org/10.1016/j.jplph.2005.12.009>
- Guo, Z., Ou, W., Lu, S. and 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.org/10.1016/j.plaphy.2006.10.024>
- Ghorbani, R., Ghasemzadeh, R. and Alipour, H. (2022). Genome-wide association study of seedling traits in bread wheat cultivars under normal and salinity stress conditions. *Plant Genetic Research*, 9(1) 13-26 (In Persian). <http://dx.doi.org/10.52547/pgr.9.1.2>
- Hagege, D., Nouvelot, A., Boucaud, J. and Gaspar, T. (1990). Malondialdehyde titration with thiobarbiturate in plant extracts: avoidance of pigment interference. *Phytochemical Analysis*, 1(2): 86-89. <https://doi.org/10.1002/pca.2800010208>

- Hassanzadeh, M., Abdollahi Mandoulakani, B. and Mahmoodian, Z. (2025). Assessment of the relative expression of the transcription factors bHLH94, bZIP33 and WRKY46 in bread wheat cultivars under iron deficiency conditions. *Plant Genetic Research*, 12(1): 91-104 (In Persian). <https://doi.org/10.22034/pgr.2025.2069008.1012>
- Hnilickova, H., Kraus, K., Vachova, P. and Hnilicka, F. (2021). Salinity stress affects photosynthesis, malondialdehyde formation, and proline content in *Portulaca oleracea* L. *Plants* (Basel), 10: 845. <https://doi.org/10.3390/plants10050845>
- Huang, Q., Wang, Y., Li, B., Chang, J., Chen, M., Li, K., Yang, G. and He, G. (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>
- Hur, J., Jung, K.H., Lee, C.H. and An, G. (2004). Stress-inducible OsP5CS2 gene is essential for salt and cold tolerance in rice. *Plant Science*, 167: 417-426. <https://doi.org/10.1016/j.plantsci.2004.04.009>
- Ishihama, N. and 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>
- Jensen, M.K., Kjaersgaard, T., Nielsen, M.M., Galberg, P., Petersen, K., O'Shea, C. and Skriver, K. (2010). The Arabidopsis thaliana NAC transcription factor family: Structure-function relationships and determinants of ANAC019 stress signalling. *Biochem Journal*, 426: 183-196. <https://doi.org/10.1042/BJ20091234>
- Jia, S., Lv, J., Jiang, S., Liang, T., Liu, C. and 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>
- Kononenko, N., Baranova, E., Dilovarova, T., Akanov, E. and Fedoreyeva, L. (2020). Oxidative damage to various root and shoot tissues of durum and soft wheat seedlings during salinity. *Agriculture*, 10(3): 55. <https://doi.org/10.3390/agriculture10030055>
- Li, X., Tang, Y., Zhou, C., Zhang, L. and Lv, J. (2020). A wheat WRKY transcription factor TaWRKY46 enhances tolerance to osmotic stress in transgenic Arabidopsis plants. *International Journal of Molecular Sciences*, 21: 21041321. <https://doi.org/10.3390/ijms21041321>
- Liu, E.K., Mei, X.R., Yan, C.R., Gong, D.Z. and 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. and 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.1365-313X.2010.04233.x>
- Moore, J.W., Loake G.J. and Spoel, S.H. (2011). Transcription dynamics in plant immunity. *Plant Cell*, 23: 2809-2820. <https://doi.org/10.1105/tpc.111.087346>
- Munns, R., Day, D. A., Fricke, W., Watt, M., Arsova, B., Barkla, B.J. and Tyerman, S.D. (2020). Energy costs of salt tolerance in crop plants. *New Phytologist*, 225(3): 1072-1090. <https://doi.org/10.1111/nph.15864>
- Nakashima, K., Takasaki, H., Mizoi, J., Shinozaki, K. and Yamaguchi-shinozaki, K. (2012). NAC transcription factors in plant abiotic stress responses. *Biochim Biophys Acta*, 1819(2): 97-103. <https://doi.org/10.1016/j.bbagr.2011.10.005>
- Ohnishi, T., Sugahara, S., Yamada, T., Kikuchi, K., Yoshida, Y., Hirano, H.Y. and Tsutsumi, N. (2005). OsNAC6, a member of the NAC gene family, is induced by various stresses in rice. *Genes & Genetic Systems*, 80: 135-139. <https://doi.org/10.1266/ggs.80.135>
- Parida, A.K., Das, A.B. and Mohanty, P. (2004). Defense potentials to NaCl in a mangrove, *Bruguiera parviflora*: differential changes of isoforms of some antioxidative enzymes. *Journal of Plant Physiology*, 161: 531-542. <https://doi.org/10.1078/0176-1617-01084>
- Pfaffl, M.W., Horgan, G.W. and Dempfle, L. (2002). Relative expression software tool (REST©) for group-wise comparison and statistical analysis of relative expression results in real-time PCR. *Nucleic Acids Research*, 30(9): 36. <https://doi.org/10.1093/nar/30.9.e36>
- Porra, R.J., Thompson, W.A. and Kriedemann, P.E. (1989). Determination of accurate extinction coefficients and simultaneous equations for assaying chlorophylls a and b extracted with four different solvents: verification of the concentration of chlorophyll standards by atomic absorption spectroscopy. *Biochimica et Biophysica Acta* (BBA)- Bioenergetics, 975: 384-394. [https://doi.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. and 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).
- Ray, S., Basnet, A., Bhattacharya, S., Banerjee, A. and Biswas K. (2023). A comprehensive analysis of NAC gene family in *Oryza sativa* japonica: a structural and functional genomics approach. *Journal of Biomolecular Structure and Dynamics*, 41(3): 856-870. <https://doi.org/10.1080/07391102.2021.2014968>
- Reynolds, M.P., Mujeeb-Kazi, A. and Sawkins, M. (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>

- Riahi, M., Mostajeran, A. and Miroliaei, M. (2020). Investigation of salinity stress effect on germination of 18 strains wheat (*Triticum aestivum* L.). Journal of Iranian Plant Ecophysiological Research, 15(58): 1-10 (In Persian).
- Rushton, P.J., Somssich, I.E., Ringler, P. and Shen, Q.J. (2010). WRKY transcription factors. Trends in Plant Science, 15: 247-258. <https://doi.org/10.1016/j.tplants.2010.02.006>
- Seki, M., Narusaka, M. and Ishida, J. (2005). Monitoring the expression profiles of 7000 Arabidopsis genes under drought, cold and high-salinity stresses using a full-length cDNA microarray. Plant Journal, 31: 279-292. <https://doi.org/10.1046/j.1365-3113X.2002.01359.x>
- Sharma, P., Jha, A.B., Dubey, R.S. and Pessarakli, M. (2012). Reactive oxygen species, oxidative damage, and antioxidative defense mechanism in plants under stressful conditions. Journal of Botany, 1-26. <https://doi.org/10.1155/2012/217037>
- Sreenivasulu, N., Grimm, B., Wobns, U. and Weschke, W. (2000). Different response of antioxidant compounds to salinity stress in salt-tolerant and salt-sensitive seedling of foxtail millet. Physiology Plantarum, 109: 435-442. <https://doi.org/10.1034/j.1399-3054.2000.100410.x>
- Sun, Y. and Yu, D. (2015). Activated expression of AtWRKY53 negatively regulates drought tolerance by mediating stomatal movement. Plant Cell Reports, 34: 1295-1306. <https://doi.org/10.1007/s00299-015-1787-8>
- Tavakoli, M., Poustini, K. and Alizadeh, H. (2016). Proline accumulation and related genes in wheat leaves. Under salinity stress. Journal of Agricultural Science and Technology, 18: 707-716. 20.
- Wang, C., Deng, P., Chen, L., Wang, X., Ma, H., Hu, W., Yao, N., Feng, Y., Chai, R., Yang, G. and 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.org/10.1371/journal.pone.0065120>
- Wang, X., Zeng, J., Li, Y., Rong, X., Sun, J., Sun, T. and He, G. (2015). Expression of TaWRKY44, a wheat WRKY gene, in transgenic tobacco confers multiple abiotic stress tolerances. Frontiers in Plant Science, 6: 615. <https://doi.org/10.3389/fpls.2015.00615>
- You, J. and 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>
- Zarea, M.J. and Karimi, N. (2023). Zinc-Regulated P5CS and sucrose transporters SUT1B expression to enhance drought stress tolerance in wheat. Journal of Plant Growth Regulation, 42: 5831-5841. <https://doi.org/10.1007/s00344-023-10968-3>
- Zeeshan, M., Lu, M., Sehar, S., Holford, P. and Wu, F. (2020). Comparison of biochemical, anatomical, morphological, and physiological responses to salinity stress in wheat and barley genotypes differing in salinity tolerance. Agronomy, 10: 127. <https://doi.org/10.3390/agronomy10010127>
- Zheng, X., Chen, B., Lu, G. and 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.org/10.1016/j.bbrc.2008.12.163>
- Zhou, Q.Y., Tina, A.G., Zho, H.F. and Xie, M. (2008). WRKY-type transcription factor genes to abiotic stress in plants. Plant Biotechnology Journal, 6(5): 486-503. <https://doi.org/10.1111/j.1467-7652.2008.00336.x>