**Plant Production and Genetics** **تولید و ژنتیک گیاهی**
**Vol. 4, No. 1, Spring & Summer 2023, p. 19-32** **جلد ۴، شماره ۱، بهار و تابستان ۱۴۰۲، صفحه ۳۲-۱۹**
DOI: 10.22034/PLANT.2023.62750 مقاله پژوهشی

# تحلیل بیان ژن‌های دفاعی و صفات بیوشمیایی در واکنش به تیمار سطوح سولفات مس در گندم

**آیدا حاجیلری[۱]، سعید نواب‌پور[۲*]، احد یامچی[۳]**

۱. دانشجوی کارشناسی ارشد، گروه اصلاح نباتات و بیوتکنولوژی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، گرگان، ایران
۲. دانشیار، گروه اصلاح نباتات و بیوتکنولوژی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، گرگان، ایران
۳. استادیار، گروه اصلاح نباتات و بیوتکنولوژی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، گرگان، ایران

تاریخ دریافت: ۱۴۰۲/۰۲/۰۸
تاریخ پذیرش: ۱۴۰۲/۰۳/۰۷

**چکیده**

آلودگی ناشی از فلزات سنگین یکی از مشکلات اساسی جوامع بشری در تولید محصولات کشاورزی است و به‌عنوان یکی از عوامل اساسی تهدید سلامت بشر به شمار می‌رود. مس نقش بسیار مهمی در فعالیت‌های بیوشیمیایی گیاهان نظیر فتوسنتز، تنفس، انتقال کربوهیدرات‌ها، احیا و تثبیت همزیستی نیتروژن، متابولیسم پروتئین‌ها دارد. پژوهش حاضر به‌منظور بررسی تأثیر تنش فلز سنگین مس بر خصوصیات بیوشیمیایی و الگوی بیان ژن‌های کاتالاز وگلوتاتیون پراکسیدازو متالوتیونین آزمایشی به‌صورت فاکتوریل بر پایه طرح کاملا تصادفی در سه تکرار در شرایط گلخانه اجرا شد. فاکتورهای آزمایشی شامل ژنوتیپ‌های مروارید و گنبد و لاین امید بخش N9108 و سولفات مس (صفر، ۱/۵، ۲/۵ و ۳/۵ میلی‌گرم در کیلوگرم خاک) بود. نمونه‌برداری‌ها از برگ در حداکثر رشد رویشی (مرحله زادوکس GS45) انجام گرفت. نتایج نشان داد که نمک مس منجر به افزایش بیان برخی از ژن‌ها در ژنوتیپ‌های گندم مورد مطالعه شد. سطح بیان ژن‌ها در برگ نسبت به شاهد در تنش تیمار مس افزایش معنی‌داری نشان داد. به طور کلی لاین امید بخش N9108 تحت تنش فلز مس، واکنش بهتری طی تنش در خصوص بیان ژن و صفات بیوشیمیایی (میزان کلروفیل و اکسیداسیون سلولی)، نسبت به رقم مروارید و گنبد از خود نشان داد.

**کلیدواژگان:** بیان ژن، تنش فلزات سنگین، گندم، مس

*ایمیل نویسنده مسئول: s.navabpour@gau.ac.ir

**مقدمه**

گندم به عنوان یک محصول استراتژیک در تغذیه انسان به شمار می‌رود و افزایش روزافزون جمعیت جهانی مستلزم تولید بیشتر محصولات کشاورزی است (Najafi *et al*., 2019). با توسعه سریع صنعت و کشاورزی مدرن، آلودگی فلزات سنگین در نتیجه فعالیت‌های انسانی به یک مشکل شدید جهانی تبدیل شده است (Roy *et al*., 2017). اگرچه مس یکی از سمی‌ترین فلزات سنگین است، اما به دلیل نقش مهم در پروتئین‌ها و آنزیم‌های مختلف مورد نیاز گیاهان، برای انجام عملکردهای متابولیک ضروری است، از جمله برای فتوسنتز، تنفس، بازسازی دیواره سلولی و واکنش‌های ردوکس و برای رشد و نمو گیاهان نیز حیاتی است (Pichhode and Nikhil, 2015). مشکل اصلی فلزات سنگین این است که در بدن متابولیزه نمی‌گردند این فلزات سنگین موجود در خاک و سایر اجزای محیط زیست ممکن است منبع طبیعی داشته باشد و یا ناشی از فعالیت‌های انسانی باشند، برخی فعالیت‌های انسان از قبیل رهاسازی زباله‌ها در محیط، فعالیت‌های صنعتی و انتشار گازها از اگزوز وسایل نقلیه، تخلیه کودهای شیمیایی و آفتکش‌ها و نیز استفاده از لجن فاضلاب در زمین‌های کشاورزی و احتراق سوخت و زغال سنگ همگی منبع بالقوه برای ورود فلزات سنگین به خاک‌های کشاورزی هستند (Massa *et al*., 2010). عوامل انسانی دیگری از جمله معدن، دباغی، پالایش، کودهای دامی هم باعث ایجاد مس بیش از حد در خاک شده است که می‌تواند منجر به سمیت و کاهش رشد گیاه شود. بنابراین، این یک تهدید قابل توجه برای محصولات کشاورزی، کیفیت و ایمنی و همچنین برای سلامت انسان و حیوانات است (Guo *et al*., 2014). به دلیل این که گیاهان فلزات سنگین را از خاک‌های آلوده و یا رسوب این عناصر از هوای آلوده جذب می‌کنند، آلودگی فلزات در خاک‌های کشاورزی تأثیرات منفی جدی بر سلامت انسان دارد (Li *et al*., 2010). همچنین، فلزات سنگین در غلظت‌های بالا فعالیت میکروارگانیسم‌های خاک را تغییر می‌دهند و بر فلور مفید نیز تأثیر می‌گذارند که ممکن است باعث کاهش حاصلخیزی خاک شوند (Gajewska *et al*., 2022). فلزات سنگین با تجمع در دیواره سلولی و ورود به سیتوپلاسم سبب تنش اکسیداتیو شده که به دنبال آن گونه‌های فعال اکسیژن واکنش‌گر در گیاهان تولید می‌شود (Zhou *et al*., 2007). رادیکال‌های آزاد اکسیژن که اغلب تحت تأثیر تنش‌های محیطی سطح آن‌ها در سلول افزایش می‌یابد، از طریق انتقال علامت، کنترل بیان ژن‌ها و سنتز پروتئین‌ها نقش مهمی در ثبات وضعیت متابولیکی سلول دارند، ژنوتیپ‌های گندم پاسخ‌های مختلفی به تنش نشان می‌دهند. بنابراین مکانیزم‌های فیزیولوژیکی گوناگونی در تنظیم سطوح مقاومت به تنش نقش دارند که این موضوع حاکی از تنوع ژنتیکی قابل ملاحظه در گیاه گندم است (Shao *et al*., 2007). برای کم کردن و از بین بردن انواع اکسیژن‌های فعال و اجتناب از آسیب‌های اکسیداتیو در گیاهان فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان نظیر کاتالاز و سوپراکسیددیسموتاز و پراکسیداز افزایش می‌یابد (Smeets *et al*., 2008). بنابراین مکانیسم‌های مولکولی آنزیمی و غیر آنزیمی نقش مهمی در پاسخ‌های گیاه به تنش مس ایفا می‌کنند، آنزیمی (کاتالاز، پراکسیداز، سوپراکسید دیسموتاز و غیره) و مکانیسم‌های پاسخ ایمنی غیر آنزیمی (گلوتاتیون، GSH، آسکوربات، ASA و ...) به عنوان کلات‌کننده فلزات سنگین برای سم‌زدایی مس شناسایی شده‌اند (Roy et al., 2017). گلوتاتیون نقش حیاتی در سم‌زدایی غیر آنزیمی ایفا می‌کنند (Sun *et al*., 2019). کاتالاز بالاترین و سریع‌ترین پتانسیل از بین بردن پراکسید هیدروژن را در بین آنزیم‌ها دارا است و با همکاری پراکسیداز و دیگر آنزیم‌ها، پراکسیدهیدروژن تولید شده در شرایط تنش را از بین می‌برد، کاتالاز یک آنزیم محتوی هم است که تبدیل دو مولکول پراکسید هیدروژن به آب و اکسیژن را کاتالیز می‌کند (Foyer *et al*., 1994). کاهش فعالیت کاتالاز و اسکوربات پراکسیداز به ترتیب در ارقام الوند و زرین گندم می‌تواند سبب تجمع پراکسید هیدروژن شود که علاوه بر اجرای واکنش هابر-ویس سبب کاهش فعالیت برخی از آنزیم‌های چرخه کالوین نظیر ریبولوز منوفسفات کیناز و بیسفاتازها می‌گردد (Asada, 2000) حذف مقادیر اضافی گونه‌های فعال اکسیژنی و دخالت در تنظیم سلولی به عهده دو آنزیم کاتالاز و پراکسیداز است که کاتالاز در این عملکرد نقش موثرتری را ایفا می‌کند. نقش کاتالاز در سیستم دفاعی و پدیده پیری در گیاهان نیز به اثبات رسیده است (Mura *et al*., 2007).

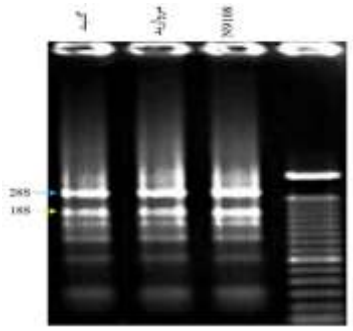
با توجه به توسعه سریع صنعت و کشاورزی مدرن، مس نه تنها به دلیل مستقیم آن‌ها پیامدهای جدی و نامطلوبی را به همراه داشته است، اثرات سمی روی موجودات زنده،

همچنین به این دلیل که می‌تواند بر کیفیت و ایمنی محصولات غذایی تأثیر بگذارد، به عنوان یک عامل استرس غیرزیستی گسترده عمل کرده است (Liu *et al*., 2019). بنابراین، درک عمیق‌تر از تحمل مس روی محصولات برای اطمینان از ایمنی محصولات کشاورزی بسیار مهم است، اگرچه برخی از اثرات فنوتیپی و فیزیولوژیکی تنش مس مشخص شده است (Zhang *et al*., 2007). اثرات سمی آن بر تنظیم مکانیسم‌های آزمایشگاهی در سطح مولکولی، به ویژه در محصولات کشاورزی، به خوبی درک نشده‌اند. با توجه به اهمیت مطالب گفته شده در خصوص تنش فلز مس در این پژوهش به بررسی بیان ژن‌های کاتالاز و گلوتاتیون پراکسیداز و متالوتیونین و صفات بیوشمیایی در واکنش به تیمار سطوح سولفات مس در گندم پرداخته شد

## مواد و روش‌ها

این آزمایش به صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی در سه تکرار در گلخانه دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان انجام شد. فاکتورهای آزمایشی شامل ژنوتیپ مشتمل بر سه ژنوتیپ گنبد، مروارید و لاین امید بخش N9108 و سولفات مس شامل چهار سطح صفر (شاهد)، ۰/۵، ۱/۵ و ۲/۵ میلی‌گرم در کیلوگرم خاک بود. بذرها با کلرید جیوه ۰/۰۱ درصد به مدت ۳ دقیقه ضدعفونی شد بعد چند مرتبه با آب مقطر شستشو داده شدند و ۱۰ بذر از هر ژنوتیپ روی کاغذ صافی مرطوب در پتری دیش‌های مرطوب منتقل شدند و در شرایط کنترل شده (دوره روشنایی/تاریکی به مدت ۸/۱۶ ساعت، دمای ۲۰-۲۵ درجه سانتی‌گراد و رطوبت نسبی ۷۰-۶۰ درصد) جوانه‌زنی صورت گرفت. کاشت بذرهای جوانه‌زده در داخل گلدان‌هایی با گنجایش پنج کیلوگرم خاک لومی – رسی صورت گرفت. تیمار سولفات مس در چهار سطح صفر (شاهد)، ۰/۵، ۱/۵ و ۲/۵ میلی‌گرم در کیلوگرم خاک برروی ژنوتیپ‌های مورد نظر در مرحله دو تا سه برگی اعمال شد، تیمارهای سولفات مس را در سطوح مطرح شده به گلدان‌های ۵ کیلوگرمی اضافه و آبیاری کردیم انتظار می‌رود که در اثر آبیاری مقداری از تیمار آبشویی شود ولی آبیاری در حد ظرفیت مزرعه بوده است. این میزان آب آبیاری براساس تعیین مقدار آب لازم به صورت وزن حجمی انجام شده است. بنابرایت آبشویی نداشته و مقدار مختصری است که این اتفاق در طبیعت هم رخ می‌دهد. تعداد بوته‌ها در هر گلدان ۱۰-۱۵ بوده و نمونه‌برداری پس از رسیدن گیاهان به مرحله حداکثر رشد رویشی (در مرحله زادوکس GS45) انجام گرفت. نمونه‌های گیاهی (برگ) در دمای منفی ۸۰ درجه سانتی‌گراد برای انجام آزمایشات نگه‌داری شد. استخراج RNA با استفاده از بافر استخراج پی بایوزول شرکت بیوفلکس (توکیو، ژاپن) صورت گرفت. کیفیت RNA استخراج شده، توسط الکتروفورز روی ژل آگارز ۱/۵ درصد تعیین گردید (شکل ۱). سپس سنتز cDNA با روش پیشنهادی شرکت فرمنتاز صورت گرفت و به‌وسیله آغازگرهای ژن خانه‌دار GAPDH با استفاده از PCR، cDNA سنتز شده آزمون گردید (Kazemi *et al*., 2010). آغازگرهای موردنیاز بر اساس اطلاعات موجود در سایت NCBI و با استفاده از نرم‌افزار پرایمر ۳ و در نظر گرفتن خصوصیات مطلوب برای استفاده در روش PCR-QRT طراحی شدند. از آنجا که طول توالی محصولات بین ۱۳۲ و ۱۸۷ باز بود، دمای نقطه ذوب بین ۵۱/۴ تا ۶۰ درجه سانتی‌گراد، با توجه به درصد GC و طول باندها انتخاب شد. اطلاعات مربوط به آغازگرها در (جدول ۱) آورده شده است. جهت ارزیابی الگوی بیان ژن‌های کاتالاز و متالوتیونین در زمان واقعی از دستگاه iQ5 شرکت BioRad و کیت سایبر بیوپارس (دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان) استفاده شد. در ادامه میزان کلروفیل a و b و شاخص اکسیداسیون سلولی اندازه‌گیری شد. برای استخراج کلروفیل ۰/۵ گرم از بافت برگ یخ‌زده با ۱۰ میلی‌لیتر استون ۸۰ درصد مخلوط شده و به مدت ۱۵ دقیقه با سرعت ۵۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفوژ شد. سپس با استفاده از دستگاه اسپکتروفوتومتر WAP مدل UV/vis2000S، در طول موج‌های ۶۶۳ و ۶۴۵ نانومتر جذب محلول اندازه‌گیری شد و میزان کلروفیل a و b از فرمول‌های زیر محاسبه b گردید (Porra *et al*., 1998). برای اندازه‌گیری TBARM (Thiobarbioturic Acid Reactive Materia) (شاخص اکسیداسیون سلولی) از روش (Hageg *et al*., 1990) استفاده شد.

Chl. a (– 2.55A646.6 mg ml-1) = 12.25A663.6 [1]
Chl. (mg ml-1) = 20.31A646.6 – 4.91A663.6 [2]



شکل ۱- تعیین کیفیت RNA استخراج شده بر روی ژل آگارز

جدول۱- تجزیه واریانس صفات زراعی توتون تحت تأثیر تیمارهای مختلف کودی در استان گلستان

| نام آغازگر | توالی آغازگر | طول محصول واکنش | دمای ذوب (°C) | شماره دسترسی در NCBI |
|---|---|---|---|---|
| *CAT1*, FOR | 5′-CCATCTGGCTCTCCTACTGG-3′ | 141 | 60 | E 16461 |
| *CAT1*, REV | 5′-AGAACTTGGACGACGGCCCTGA-3′ | | 57.9 | |
| FOR *MT1*, | 5′-ACACCAAGGGCAGAGCATAG-3′ | 132 | 51.4 | L 11879 |
| REV *MT1*, | 5′-CACTCGTGTGATGGTGTGAG-3′ | | 53.9 | |
| FOR *GPX1*, | 5′-GGAAAGTCCTGCTTATTGT-3′ | 124 | 59 | AF475124 |
| REV *GPX1*, | 5′-CTTCTCATCGCTATCTGGT-3′ | | 61 | |
| *GAPDH*, FOR | 5′-TCACCACCGACTACATGACC-3′ | 121 | 60 | EF 592180 |
| *GAPDH*, REV | 5′-ACAGCAACCTCCTTCTCACC-3′ | | 60 | |

جدول ۲- تجزیه واریانس تاثیر رقم و سولفات مس بر صفات بیوشیمیایی گندم

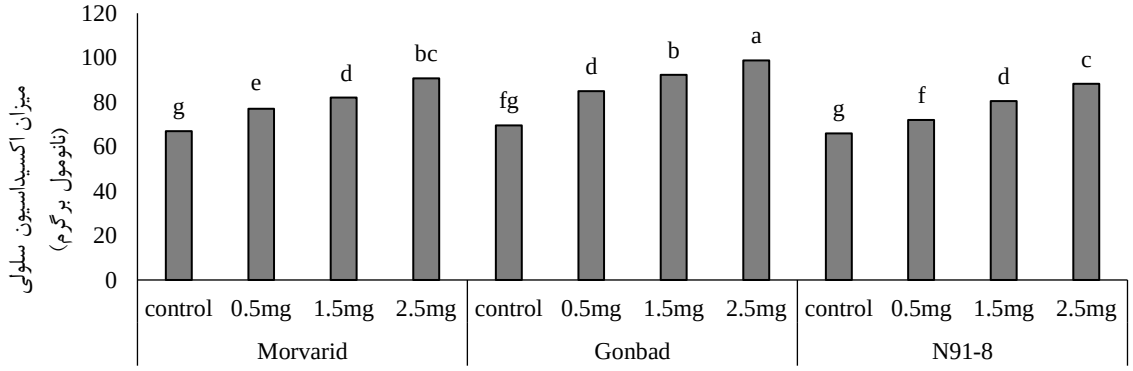
| منابع تغییرات | درجه آزادی | میانگین مربعات | | |
|---|---|---|---|---|
| | | اکسیداسیون سلولی | کلروفیل a | کلروفیل b |
| رقم | ۲ | ۳۲۰/۰** | ۳/۰۹** | ۱۴/۳** |
| سولفات مس | ۳ | ۱۳۳۴** | ۲۸/۵** | ۲۵/۰** |
| رقم × تیمار | ۶ | ۲۰/۴۶** | ۰/۲۸۸** | ۰/۰۵۷ns |
| خطا | ۲۴ | ۴/۲۵۶ | ۰/۰۵۲ | ۰/۰۳۱ |
| ضریب تغییرات (٪) | - | ۲/۵۵ | ۲/۴۵ | ۲/۶۹ |

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

**نتایج و بحث**

نتایج تجزیه واریانس صفات بیوشیمیایی (جدول ۲) نشان داد اثر ژنوتیپ و عامل سولفات مس بر روی تمامی صفات مورد مطالعه در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار گردید. همچنین اثر متقابل رقم در سولفات مس در رابطه با صفات اکسیداسیون سلولی و کلروفیل a در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار بود ولی برای صفت کلرفیل b معنی‌دار نشد. نتایج مقایسه میانگین اثر رقم برای صفت مقدار اکسیداسیون سلولی نشان داد (شکل ۲) بیشترین مقدار اکسیداسیون سلولی مربوط به رقم گنبد (۸۵ نانومول بر گرم) بود که اختلاف آن با دو ژنوتیپ دیگر در سطح احتمال پنج درصد آزمون LSD معنی‌دار گردید. کمترین مقدار اکسیداسیون سلولی در لاین N9108 (۷۷ نانومول بر گرم) مشاهده شد ولی اختلاف آن با رقم مروارید در سطح احتمال پنج درصد آزمون LSD معنی‌دار نشد. مقایسه میانگین اثر تیمار سولفات مس بر روی مقدار اکسیداسیون سلولی نشان داد (شکل۲) در شرایط عدم کاربرد سولفات مس (شاهد) کمترین مقدار اکسیدان سلولی مشاهده شد و اختلاف معنی‌داری با سایر تیمارها در سطح احتمال پنج درصد آزمون LSD داشت. با کاربرد سولفات مس میزان اکسیداسیون سلولی افزایش نشان داد و اختلاف بین همه تیمارها در سطح احتمال پنج درصد آزمون LSD معنی‌دار بود. بیشترین مقدار اکسیداسیون سلولی در شرایط کاربرد ۲/۵ میلی‌گرم سولفات مس (۹۲/۵ نانومول بر گرم) مشاهده شد.

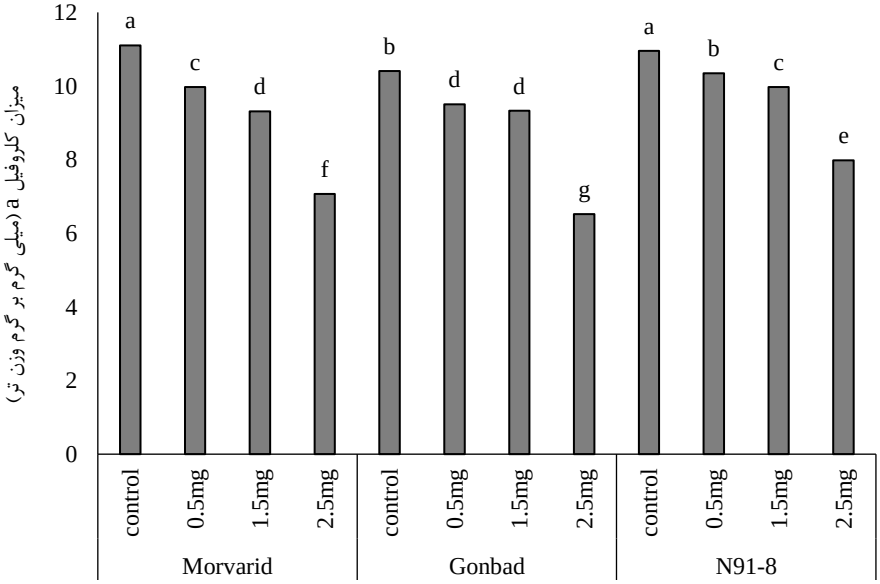
همان‌طور که در شکل ۲ مشاهده می‌شود، مقایسه میانگین اثر متقابل تیمار در ژنوتیپ نشان داد در هر سه ژنوتیپ با افزایش میزان کاربرد سولفات مس میزان اکسیداسیون سلولی افزیش یافت و رقم گنبد با میزان اکسیداسیون سلولی ۹۸/۷ نانومول بر گرم بالاترین مقدار را داشت که در شرایط کاربرد ۲/۵ میلی‌گرم سولفات مس مشاهده شد و اختلاف آن نیز با سایر تیمارها در سطح احتمال پنج درصد آزمون LSD معنی‌دار بود. کمترین میزان اکسیداسیون سلولی در لاین N9108 در شرایط عدم کاربرد سولفات مس (شاهد) مشاهده شد (۶۶ نانومول بر گرم) ولی اختلاف آن با میزان اکسیداسیون سلولی در رقم مروارید (۶۷/۷ نانومول بر گرم) و رقم گنبد (۶۹/۵ نانومول بر گرم) در شرایط مشابه در سطح احتمال پنج درصد آزمون LSD معنی‌دار نگردید. در شرایط تنش‌زا فرایندهای مخرب غشاء فعال شده و منجر به پراکسیداسیون لیپیدهای غشاء می‌شوند. به عنوان مثال رادیکال‌های آزاد تنش اکسیداتیو حاصل از شرایط محیطی نامناسب باعث آسیب رساندن به لیپیدها و اسیدهای چرب غشایی شده و رادیکال‌های لیپید و پراکسی و هیدروکسی پراکسی تولید می‌کنند. رادیکال‌های جدید تولید شده می‌توانند واکنش‌های اکسیداسیون لیپیدها را تسریع کنند (Sandalio *et al*., 2001).




شکل ۲- مقایسه میانگین اثر متقابل سولفات مس در رقم بر روی میزان اکسیداسیون سلولی

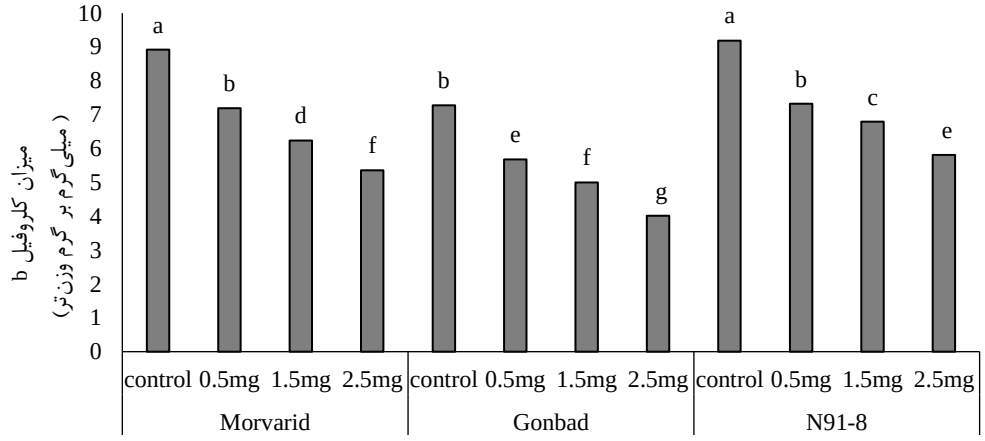
مقایسه میانگین میزان کلروفیل a و b ژنوتیپ‌ها نشان داد (شکل ۳ و ۴) لاین N9108 با محتوای کلروفیل a ۸۲/۹ میلی‌گرم بر گرم وزن تر و محتوای کلروفیل b ۲۸/۷ میلی‌گرم بر گرم وزن تر بیشترین مقدار برای این صفت را داشت و اختلاف آن با دو ژنوتیپ دیگر در سطح احتمال پنج درصد آزمون LSD معنی‌دار گردید. رقم گنبد نیز با محتوای کلروفیل a ۹۴/۸ میلی‌گرم بر گرم وزن تر و محتوای کلروفیل b ۴۹/۵ میلی‌گرم بر گرم وزن‌تر کمترین مقدار را برای این صفت داشت و اختلاف آن با رقم مروارید نیز در سطح احتمال پنج درصد آزمون LSD معنی‌دار شد. همچنین مقایسه میانگین اثر تیمار سولفات مس بر روی محتوای کلروفیل a و b نشان داد با افزایش کاربرد این تیمار مقدار کلروفیل a و b کاهش یافت و اختلاف بین تیمارها در سطح احتمال پنج درصد آزمون LSD معنی‌دار بود. بیشترین و کمترین مقدار کلروفیل a به ترتیب ۱۰/۷ و ۷/۱۹ میلی‌گرم بر گرم وزن‌تر و بیشترین و کمترین مقدار کلروفیل b به ترتیب ۸/۴ و ۵/۰ میلی‌گرم بر گرم وزن‌تر بود که در تیمار شاهد و کاربرد ۲/۵ میلی‌گرم سولفات مس مشاهده شد. تأثیر فلزات سنگین بر روی پیگمان‌های فتوسنتزی ممکن است به سه دلیل باشد، ۱- با ورود فلزات سنگین به داخل کلروپلاست‌ها و تجمع بالای آن‌ها در این اندامک ممکن است تنش‌های اکسیداتیو رخ دهد که موجب آسیب‌هایی از قبیل پراکسیداسیون کلروپلاست‌ها می‌شوند (Seregin *et al*., 2006)، همچنین آن‌ها می‌توانند به‌طور مستقیم ساختار و عملکرد کلروپلاست‌ها را با اتصال به گروه‌های سولفیدریل آنزیم‌ها از هم‌گسیخته و روی‌هم‌رفته بیوسنتز کلروفیل را تحت تأثیر قرار دهند (Srivastava *et al*., 2006). ۲- فلزات سنگین جذب و انتقال سایر عناصر ضروری از قبیل $Fe^{2+}$ و $Mn^{2+}$ و $Zn^{2+}$ را به‌وسیله تأثیرات ضدیت مهار می‌نمایند و بنابراین از این طریق ظرفیت سنتز پیگمان‌ها در برگ‌ها تحت تأثیر قرار می‌گیرد (Gardea *et al*., 2004). ۳- مشخص شده است که فلزات سنگین در یکی از مراحل آنزیمی تاثیرات مهارکنندگی مستقیم دارند (Singh, 1995). از آنجایی که تجزیه کلروفیل پاسخ عمومی به تنش است، می‌توان نتیجه گرفت که تغییرات در میزان کلروفیل یکی از شاخص‌های مهم تنش محیطی است و تحمل گونه‌ها به تنش را توصیف می‌کند. به دلیل تاثیر فلزات بر بیوسنتز کلروفیل و ایجاد تنش اکسیداتیو محتوای

کلروفیل در برگ می‌تواند معیاری برای سنجش سمیت محسوب شود. گزارش‌های متعددی مبنی بر اثر فلز کادمیوم بر محتوای رنگیزه‌های فتوسنتزی مانند کلروفیل a و b در بسیاری از گونه‌های گیاهی وجود دارد. که این کاهش به اثر بازدارنده کادمیوم بر جذب آهن و منگنز و نیز مهار آنزیم سولفیدریل شرکت کننده در مسیر بیوسنتز رنگیزه‌ها توسط کادمیوم عنوان شده است (Prasad and Power, 1997). مقایسه میانگین اثر متقابل تیمار در ژنوتیپ برای محتوای کلروفیل a نشان داد (شکل ۳) در هر سه ژنوتیپ با افزایش میزان کاربرد سولفات مس و مقدار کلروفیل a کاهش یافت و رقم گنبد با محتوای کلروفیل a ۵۲/۶ میلی‌گرم بر گرم وزن‌تر کمترین مقدار را داشت که در شرایط کاربرد ۲/۵ میلی‌گرم سولفات مس مشاهده شد و اختلاف آن نیز با سایر تیمارها در سطح احتمال پنج درصد آزمون LSD معنی‌دار بود. بالاترین میانگین محتوای کلروفیل a در تیمار شاهد و در رقم مروارید و لاین N9108 مشاهده شد که به ترتیب برابر با ۱۱/۰۲ و ۱۰/۹۵ میلی‌گرم بر گرم وزن‌تر بود و اختلاف معنی‌داری در سطح احتمال پنج درصد آزمون LSD با محتوای کلروفیل a رقم گنبد (۱۰/۴۱ میلی‌گرم بر گرم وزن‌تر) در شرایط مشابه داشتند.




شکل ۳- مقایسه میانگین اثر متقابل سولفات مس در رقم بر روی محتوای کلروفیل a

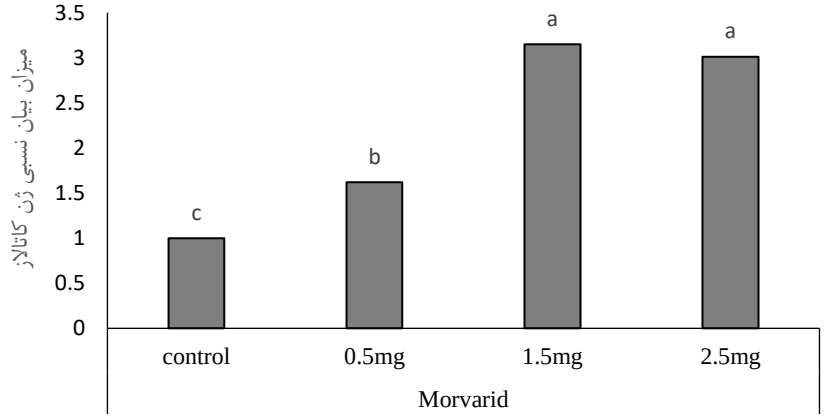
با توجه به معنی‌دار نشدن اثر متقابل رقم در سولفات مس برای محتوای کلروفیل b (شکل ۴) مقایسه میانگین‌ها با آزمون دانکن انجام شد و نتایج نشان داد با افزایش مقدار سولفات مس محتوای کلروفیل b کاهش یافت. بیشترین محتوای کلروفیل b ۱۹/۹ میلی‌گرم بر گرم وزن‌تر بود که در لاین N9108 و در تیمار شاهد (عدم کاربرد سولفات مس) مشاهده شد ولی اختلاف آن با محتوای کلروفیل b در رقم مروارید در تیمار شاهد (۸/۹۷ میلی‌گرم بر گرم وزن‌تر) در سطح احتمال پنج درصد آزمون دانکن معنی‌دار نگردید. کمترین مقدار محتوای کلروفیل b در هر سه رقم در تیمار کاربرد ۲/۵ میلی‌گرم مشاهده شد که رقم گنبد با محتوای کلروفیل b ۴/۰۱ میلی‌گرم بر گرم وزن‌تر کمترین مقدار را دارا بود و اختلاف آن با دو ژنوتیپ دیگر در سطح احتمال پنج درصد آزمون دانکن معنی‌دار گردید. یکی از مهم‌ترین اثرات فلزات سمی بر گیاهان، کاهش رنگیزه‌های فتوسنتزی برگ می‌باشد (Gerami *et al*., 2018). طی تحقیقی گزارش کردند که محتوای کلروفیل در حضور غلظت بالای فلز مس در جوانه‌های گیاه Pinus sylvestris کاهش می‌یابد و این کاهش در محتوای کلروفیل می‌تواند ناشی از پراکسیداسیون غشاهای کلروپلاست توسط مس باشد (Hong, 2004).



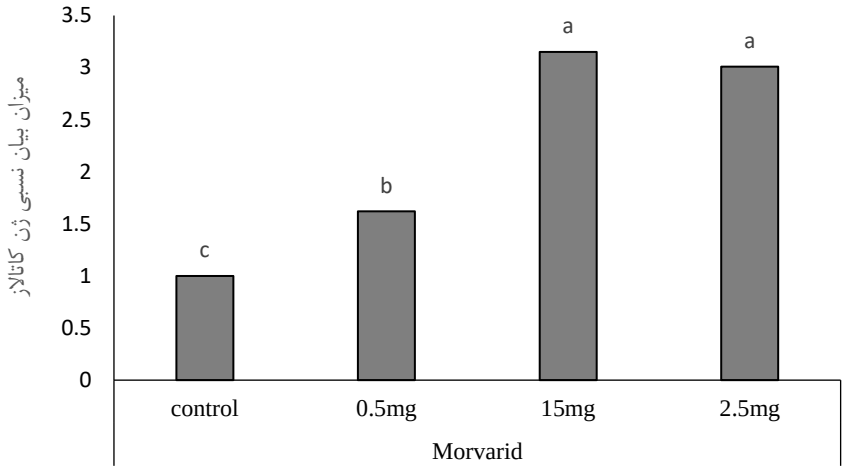

شکل ۴- مقایسه میانگین اثر متقابل سولفات مس در رقم بر روی محتوای کلروفیل b

همان‌طور که در شکل ۵ مشاهده می‌شود بیان ژن کاتالاز در رقم مروارید با کاربرد سولفات مس نسبت به شاهد افزایش معنی‌داری یافت و بیشترین مقدار بیان آن ۳/۱۵ برابر نسبت به تیمار شاهد بود که در شرایط کاربرد ۱/۵ میلی‌گرم سولفات مس مشاهده گردید اما اختلاف آن با تیمار کاربرد ۲/۵ میلی‌گرم سولفات مس با وجود کاهش بیان این ژن نسبت به شاهد در سطح احتمال پنج درصد آزمون LSD معنی‌دار نشد. کاهش بیان این ژن در کاربرد مقادیر بالای سولفات مس (۲/۵ میلی‌گرم) بیانگر ایجاد مسمومیت گیاهی می‌باشد که ساز و کار طبیعی گیاه را مختل می‌کند. کمترین مقدار بیان این ژن نسبت به شاهد ۱/۶۲ برابر بود که در شرایط کاربرد ۰/۵ میلی‌گرم سولفات مس مشاهده شد و اختلاف آن با سایر تیمارها نیز در سطح احتمال پنج درصد آزمون LSD معنی‌دار بود. مقایسه میانگین اثر سولفات مس بر روی بیان ژن کاتالاز در رقم گنبد (شکل ۶) نتایج مشابه با بیان این ژن در رقم مروارید مطابقت داشت و تنها تفاوت در رقم گنبد در بیان ژن کاتالاز در تیمار کاربرد ۲/۵ میلی‌گرم سولفات مس مشاهده شد که اختلاف آن با تیمار استفاده از ۱/۵ میلی‌گرم سولفات مس در سطح احتمال پنج درصد آزمون LSD معنی‌دار شد ولی با تیمار ۰/۵ میلی‌گرم سولفات مس معنی‌دار نشد. در لاین N9108 (شکل۷) بر خلاف دو ژنوتیپ دیگر بیشترین بیان ژن کاتالاز در تیمار کاربرد ۲/۵ میلی‌گرم سولفات مس مشاهده شد و اختلاف بین تیمارها نیز در سطح احتمال پنج درصد آزمون LSD معنی‌دار شد. Nenghui *et al*, (2014) طی پژوهشی گزارش نمودند کاربرد بیش از حد مس نه تنها موجب کاهش فعالیت آنزیم کاتالاز در طی جوانه‌زنی گردید بلکه مقدار mRNA تولیدی ژن OsCATa در برنج را نیز تحت تأثیر قرار داد

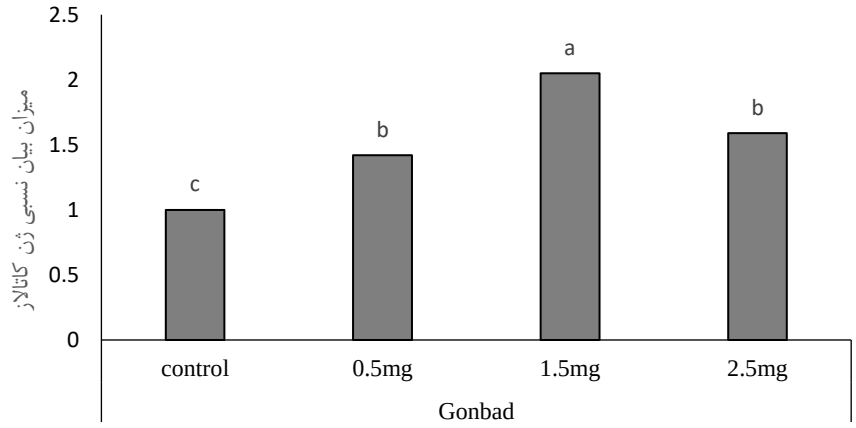
.




شکل ۵- بیان ژن کاتالاز در رقم مروارید تحت تیمار سولفات مس



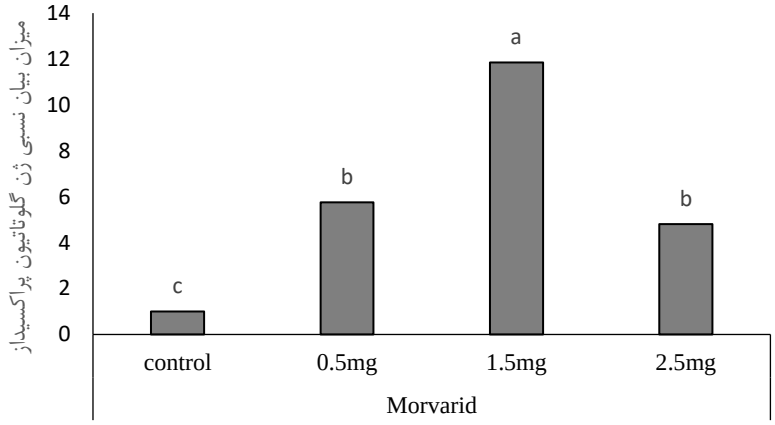

شکل ۶- بیان ژن کاتالاز در رقم گنبد تحت تیمار سولفات مس



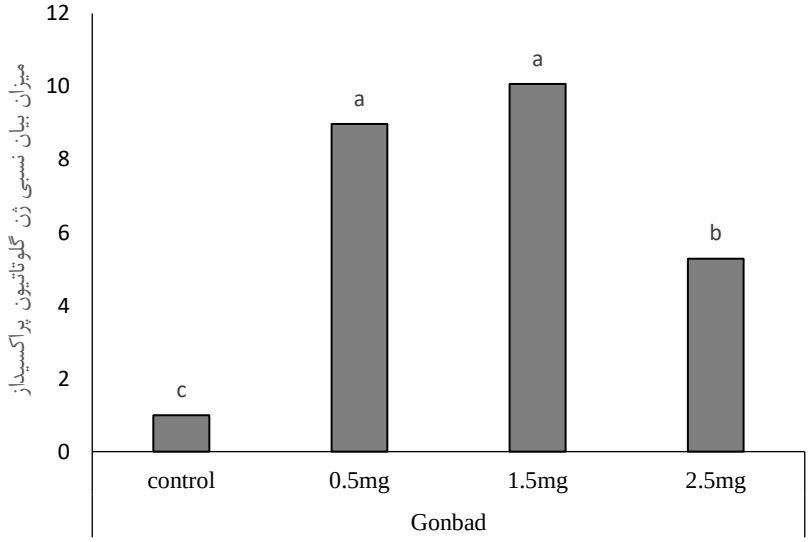

شکل ۷- بیان ژن کاتالاز در لاین N9108 تحت تیمار سولفات مس

مقایسه میانگین بیان ژن گلوتاتیون پراکسیداز برای رقم مروارید (شکل ۸) نشان داد با کاربرد سولفات مس مقدار بیان این ژن نسبت به شاهد افزایش یافت و اختلاف در سطح احتمال پنج درصد آزمون LSD معنی‌دار بود، اما با افزایش شدت تنش وارده و کاربرد مقادیر بالای سولفات مس مقدار بیان ژن کاهش یافت. بالاترین مقدار بیان ژن گلوتاتیون پراکسیداز برای رقم مروارید افزایش ۱۱/۸۵ برابری نسبت به شاهد بود که در تیمار کاربرد ۱/۵ میلی‌گرم سولفات مس مشاهده شد و اختلاف آن با سایر تیمارها در سطح احتمال پنج درصد آزمون LSD معنی‌دار شد. مقایسه میانگین بیان این ژن برای رقم گنبد (شکل ۸) نشان داد بیشترین مقدار بیان ژن گلوتاتیون پراکسیداز در رقم گنبد نیز در تیمار کاربرد ۱/۵ میلی‌گرم سولفات مس بود که ۱۰/۰۷ برابر نسبت به شاهد افزایش بیان نشان داد اما اختلاف آن با تیمار کاربرد ۰/۵ میلی‌گرم سولفات مس در سطح احتمال پنج درصد آزمون LSD معنی‌دار نگردید. همانطور که در شکل (۹) مشاهده می‌شود، بیان ژن گلوتاتیون پراکسیداز در لاین N9108 روند مشابه با دو رقم دیگر داشت (۱۰) و در تیمار کاربرد ۱/۵ میلی‌گرم سولفات مس بیشترین افزایش بیان را نسبت به شاهد (۱۹/۶۶ برابر نسبت به شاهد) داشت با این تفاوت که بر خلاف دو رقم دیگر اختلاف آن با مقدار بیان این ژن در تیمار کاربرد ۲/۵ میلی‌گرم سولفات مس که افزایش ۱۷/۳۷ برابری نسبت به شاهد داشت، در سطح احتمال پنج درصد آزمون LSD معنی‌دار نشد. Nenghui *et al*, (2014) بیان داشتند غلظت‌های بالای کاربرد مس موجب کاهش مقدار آنزیم‌های

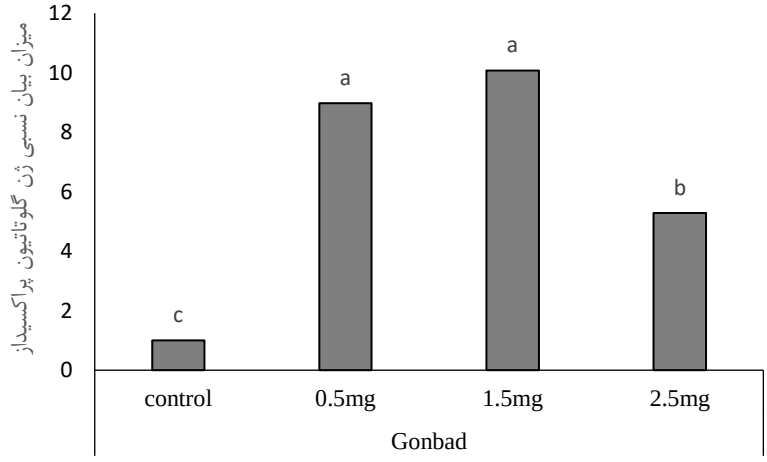
آنتی‌اکسیدانت شده که به دلیل کاهش سوخت و ساز سلولی و افزایش سطح رادیکال‌های آزاد اکسیژن در گیاه می‌باشد. گلوتاتیون یک مکانیسم مهم سم‌زدایی فلزات است ( Macar *et al.*, 2020) مس بیش از حد رشد گیاه را مهار می‌کند و تولید ROS را القا می‌کند که متعاقباً به سلول‌های گیاهی آسیب می‌رساند (Asselman *et al.*, 2019).




شکل۸- بیان ژن گلوتاتیون پراکسیداز در رقم مروارید تحت تیمار سولفات مس



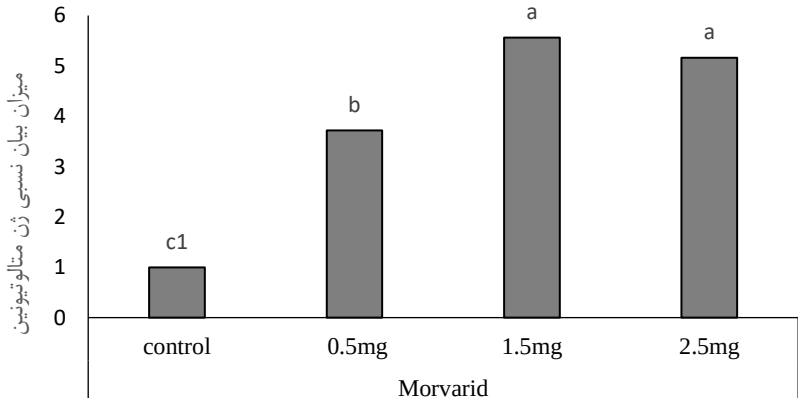

شکل ۹- بیان ژن گلوتاتیون پراکسیداز در رقم گنبد تحت تیمار سولفات مس



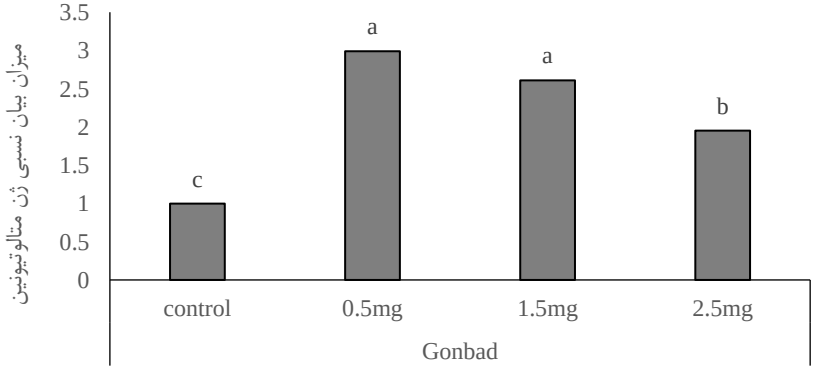

شکل ۱۰- بیان ژن گلوتاتیون پراکسیداز در لاین N9108 تحت تیمار سولفات مس

نتایج مقایسه میانگین بیان ژن متالوتیونین نشان داد (شکل ۱۱) بیان ژن متالوتیونین تحت تأثیر کاربرد سولفات مس افزایش یافت و بیشترین مقدار بیان این ژن در تیمار کاربرد ۱/۵ میلی‌گرم سولفات مس بود که بیان آن ۵/۵۶ برابر نسبت به شرایط عدم کاربرد سولفات مس (شاهد) افزایش یافت. با وجود کاهش بیان ژن متالوتیونین در تیمار ۲/۵ میلی‌گرم سولفات مس اختلاف آن با تیمار شاهد در سطح احتمال پنج درصد آزمون LSD معنی‌دار بود ولی اختلاف آن با تیمار تیمار کاربرد ۱/۵ میلی‌گرم سولفات مس معنی‌دار نگردید. بیان ژن متالوتیونین در رقم گنبد (شکل ۱۲) نشان داد در تیمار کاربرد ۰/۵ میلی‌گرم سولفات مس افزایش بیان ۲/۹۹ برابری نسبت به شاهد مشاهده گردید که اختلاف آن به جز با تیمار ۱/۵ میلی‌گرم سولفات مس با سایر تیمارها در سطح احتمال پنج درصد آزمون LSD معنی‌دار گردید. مقایسه میانگین مقدار بیان ژن متالوتیونین در لاین N9108 در شرایط استفاده از سولفات مس نشان داد (شکل ۱۳) بیان این ژن در شرایط کاربرد ۰/۵ میلی‌گرم سولفات مس ۳/۸۷ نسبت به شاهد افزایش یافت که اختلاف بین آن‌ها در سطح احتمال ۵ درصد آزمون LSD معنی‌دار گردید اما با افزایش مقدار سولفات مس به ۱/۵ میلی‌گرم بیان این ژن کمی کاهش یافت (۳/۶ برابر نسبت به شاهد) ولی با این وجود اختلاف آن با شاهد در سطح احتمال پنج درصد آزمون LSD معنی‌دار شد و با تیمار ۰/۵ میلی‌گرم سولفات مس معنی‌دار نگردید. همچنین بیشترین مقدار بیان این ژن در لاین N9108 نسبت به شاهد در شرایط کاربرد ۲/۵ میلی‌گرم سولفات مس بود که بیان آن ۵ برابر نسبت به شرایط عدم کاربرد سولفات مس (شاهد) افزایش یافت.

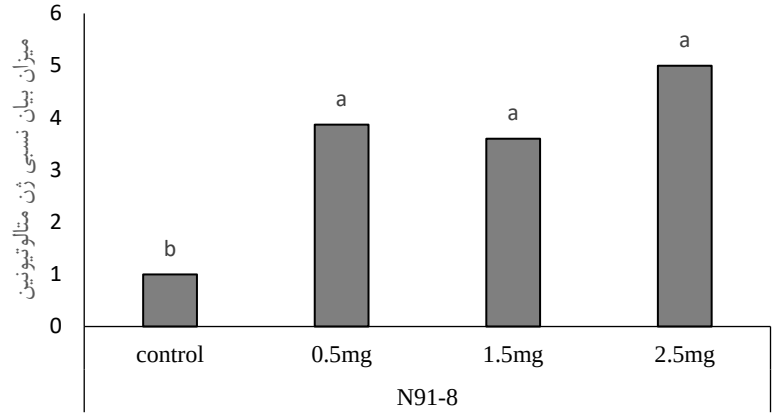
.




شکل ۱۱- بیان ژن متالوتیونین در رقم مروارید تحت تیمار سولفات مس




شکل۱۲- بیان ژن متالوتیونین در رقم گنبد تحت تیمار سولفات مس




شکل ۱۳- بیان ژن متالوتیونین در لاین N9108 تحت تیمار سولفات مس

## نتیجه‌گیری کلی

بطور کلی نتایج حاصل از این پژوهش در رابطه با صفات بیوشیمیایی نتایج نشان داد با کاربرد سولفات مس مقدار اکسیداسیون سلولی افزایش یافت و با افزایش غلظت آن مقدار اکسیداسیون سلولی نیز افزایش چشم‌گیری یافت. یکی از پاسخ‌های عمومی به گستره وسیعی از تنش‌های زیستی و غیر زیستی، تولید گونه‌های اکسیژن فعال یا ROS است. فلزات سنگین باعث تولید ROS در سلول‌ها می‌شوند که این پدیده پاسخی بر تنش محسوب می‌شود. وجود مس در مقادیر بالا سمی است که می‌تواند گونه‌های ROS را تولید کند که باعث آسیب اکسیداتیو به گیاهان می‌شوند. مقدار کلروفیل a و b نیز تحت تأثیر سمیت مس در هر سه ژنوتیپ کاهش یافت. از جمله فرآیندهایی که تحت تأثیر تنش ناشی از فلزات سنگین قرار می‌گیرد فتوسنتز و رنگیزه‌های فتوسنتزی است. فلزات سنگین کاهش فتوسنتز را ممکن است از طریق آسیب به سازماندهی فراساختاری کلروپلاست، تغییر در متابولیت‌های فتوسنتزی، جایگزینی یون‌هایی مانند منیزیم و منگنز و غیره با سرب در کلروپلاست و ممانعت از ساختن یا تجزیه رنگیزه‌های فتوسنتزی القاء کند. ارزیابی مقدار بیان ژن‌ها تحت تنش سولفات مس نشان داد مقدار بیان ژن کاتالاز و متالوتیونین تحت تأثیر سمیت مس نسبت به تیمار شاهد افزایش بیان داشت و با افزایش غلظت آن بیان این ژن‌ها افزایش کمتری به جز در چند مورد مشاهده شد. در رابطه با ژن گلوتاتیون پراکسیداز نتایج نشان داد در تیمار کاربرد ۱/۵ میلی‌گرم سولفات مس مقدار بیان این ژن بیشترین افزایش را داشت و با افزایش غلظت آن مقدار بیان این ژن کاهش یافت، ولی مقدار آن بیشتر از تیمار شاهد بود. به طور کلی نتایج حاکی از این بود لاین N9108 شرایط بهتری از نظر کلیه صفات نسبت به رقم مروارید و گنبد تحت شرایط استفاده از سولفات مس داشت.

## سپاسگزاری

پژوهش حاضر برگرفته از پایان نامه‌ی مقطع کارشناسی ارشد مصوب دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان است، بدین وسیله از حمایت مالی دانشگاه تقدیر و تشکر به عمل می‌آید.

## منابع


Asada, K. (2000). The water-water cycle as alternative photon and electron sinks. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences***,** *355*, 1419-1431.

Asselman, J., Semmouri, I., Jackson, C.E., Keith, N., Van Nieuwerburgh, F., Deforce, D., Shaw, Joseph, R., & Karel, A.C., De Schamphelaere. (2019). Genome-wide stress responses to copper and arsenic in a field population of daphnia. *Environmental Science Technology*, 3850–3859 .

Foyer, C.H., Lelandais, M., & Kunerk, K.J. (1994). Oxidative stress in plants. *Physiology Plant*, *92*, 696-717.

Gajewska, J., Floryszak-Wieczorek, J., Sobieszczuk-Nowicka, E., Mattoo, A., & Arasimowicz-Jelonek, M. (2022). Fungal and oomycete pathogens and heavy metals: an inglorious couple in the environment. IMA Fungus, *13*, 1–20.

Gardea-Torresdey, J.L., Peralta-Videa, J.R., Montes, M., Rose, G.D., & Corral-Diaz, B. (2004). Bioaccumulation of cadmium, chromium and copper by (*Convolvulus arvensis* L.): Impact on plant growth and uptake of nutritional elements. *Bioresource Technology*, *92*, 229-235.

Gerami, M., Ghorbani, A., & Karimi, S. (2018). Role of salicylic acid pretreatment in alleviating cadmium-induced toxicity in Salvia officinalis L. Iranian Journal. *Plant Biology*, *10*(1), 81-96

Guo, P., Wang, T., Liu, Y., Xia, Y., Wang, G.P., Shen, Z.G., & Chen, Y.H. (2014). Phytostabilization potential of evening primrose (*Oenothera glazioviana*) for copper contaminated sites. *Environmental Science and Pollution Research*, *21*, 631–640 .

Kazemi, G., Navabpour, S., & Ramezanpour, S.S. (2010). Evaluation of catalase gene expression and morphological traits in two wheat cultivars under salt stress. *Modern Genetic Journal*, *1*, 79-87. (In Persian).

Hagege, D., Nouvelot, A., Boucaud, J., & Gaspar, T. (1990). Malondialdehyde titration with thiobarbiturate in plant extracts: avoidance of pigment interference. *Phytochemical Analysis*, *1*, 86-89.

Hong, L. (2004). Effects of salt strees on root plasma membrane characteristics of salt tolerance and salt sensitive buffalo grass clons. *Environmental and Experimental Botany*, *36*, 239-245.

Li, F., QI, J., Zhang, G. y., Lin, L.h., Fang, P., Tao, A., & Xu, J. (2010). Effect of cadmium stress on the growth, antioxidative enzymes and lipid peroxidation in two kenaf (*Hibiscus cannabinus* L.) plant seedlings. *Journal of Integrative Agriculture*, *12*, 610-620.

Li, P., Wang, X., Zhang, T., Zhou, D., & He, Y. (2008). Effect of several amendments on rice growth and uptake of copper and cadmium from a contaminated soil. *Journal of Environmental Sciences*, *20*(4), 449–455 .

Li, Z., Hansen, J.L., Liu, Y., Zemetra, R.S., & Berger, P.H. (2004). Using real-time PCR to determine transgene copy number in wheat. *Plant Molecular Biology Reporter*, *22*, 179-188.

Liu, N., Zhong, G., Zhou, J., Liu, Y., Pang, Y., Cai, H., & Wu, Z. (2019). Separate and combined effects of glyphosate and copper on growth and antioxidative enzymes in (*Salvinia natans* L.). *The Science of The Total Environment, 655, 448–456.*

Macar, O., Macar, Kalefetoglu, Çavus¸oglu, T., & Yalçın, E, K. (2020). Protective effects of anthocyanin-rich bilberry (*Vaccinium myrtillus* L.) extract against copper (II) chloride toxicity. *Environmental Science and Pollution Research*, *27*, 1428–1435.

Massa, N., Andreucci, F., Poli, M., Aceto, M., Barbato, R & Berta, G. (2010). Screening for heavy metal accumulators amongst autochthonous plants in a polluted site in Italy. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, *73*(8), 1988–1997.

Mishra, A., & Choudhuri, M. (1999). Effects of salicylic acid on heavy metal-induced membrane deterioration mediated by lipoxygenase in rice. *Biologia Plantarum*, *42*, 409-415.

Mura, A., Pintus, F., Medda, R., Floris, G., Rinaldi, A. C., & Padiglia, A. (2007). Catalase and antiquitin from *Euphorbia characias*: Two proteins involved in plant defense. *Journal of Biochemistry*, *72*, 501-5.

Najafi, N., Ahmadinezhad, R., Aliasgharzad, N., & Oustan, Sh. (2019). Effects of urea integration with manure and two types of compost (municipal waste and sewage sludge) on concentrations of micronutrients and sodium in wheat leaf, stem and seed. *Journal of Water and Soil Conservation*, *26*(3), 63-81. (In Persian).

Nenghui, Y.Haoxuan, L.Guohui, Z.Yinggao, L.Rui, L. Weifeng, X. Yu, J.Xinxiang, P., & Jianhua, Z. (2014). Copper Suppresses Abscisic Asid catabolism and Catalase Activity, and Inhibits Seed Germination of Rice. *Plant and cell Physiology*, *55*(11), 2008-2016.

Pichhode, M., & Nikhil, K. (2015). Effect of copper mining dust on the soil and vegetation in India: a critical review. *International Journal Model Science Engeerenig Technology*, *2*, 73e76 .

Prasad, R., & Power, J. F. (1997). Soil fertility management for sustainabl agriculture. I. ewis, NewYork.

Porra, R.J., Thompson, W.A., & Kriedemann, P.E. (1989). Determination of accurate extinction coefficients and simultaneous equations for assaying chlorophylls a and b extracted with four different solvents: verification of the concentration of chlorophyll standards by atomic absorption spectroscopy. *Biochimica et Biophysica*

*Acta (BBA)- Bioenergetics*, *975*, 384-394.

Roy, S.K., Cho, S.W., Kwon, S.J., Kamal, A.H.M., Lee, D.G., Sarker, K., Lee, M.S., Xin, Z., & Woo, S.H. (2017). Proteome characterization of copper stress responses in the roots of sorghum. *Biometals*, *30*, 765–785.

Sandalio, L. M., Dalurzo, H. C., Gomez, M., Romero-Puertas, M. C., & Del Rio, L. A. (2001). Cadmium-induced changes in the growth and oxidative metabolism of pea plants. *Journal of Experimental Botany*, *52*(364), 2115-2126.

Seregin, I.V., & Kozhevnikova, A.D. (2006). Physiological role of nickel and its toxic effects on higher plants. *Russian Journal of Plant Physiology*, *53*, 257–277.

Shao, H. B., Chu, L. Y., Wu, G., Zhang, J. H., & Hu, Y.C. (2007). Changes of some anti-oxidative physiological indices under soil water deficits among 10 wheat (*Triticum aestivum* L.) genotypes at tillering stage. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces, 45*, 7-13.

Singh, V.P. (1995). Toxic metal cadmium. In: Trivedy R.K. (ed.), Phytotoxicity and tolerance in plants. *Advances in Environmental Science Technology, Ashish Publication House*, New Delhi. Pp. 225-256.

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

Srivastava, S., Mishra, S., Tripathi, R. D., Dwivedi, S., & Gupta, D.K. (2006). Copper induced oxidative stress and responses of antioxidants and phytochelatins in Hydrilla verticillata (Lf.). *Royle Aquatic Toxicology*, *80*(4), 405–415.

Sun, C., Dudley, S., McGinnis, M., Trumble, J., & Gan, J. (2019). Acetaminophen detoxification in cucumber plants via induction of glutathione S-transferases. *Science of The Total Environment, 649*, 431–439 .

Zhang, H., Xia, Y., Wang, G., & Shen, Z. (2008). Excess copper induces accumulation of hydrogen peroxide and increases lipid peroxidation and total activity of copper-zinc superoxide dismutase in roots of *Elsholtzia haichowensis. Planta*, *227*, 465–475.

Zhou, Z.S, Huang, S.Q., Gou, K., Mehta, S.K., Zhang, P.C., & Yang, Z.M. (2007). Metabolic adaptations to mercury-induced oxidative stress in roots of Medicago sativa L. *Journal of Inorganic Biochemistry*,*101*, 1-9.

**Plant Production and Genetics** **تولید و ژنتیک گیاهی**

**Vol. 4, No. 1, Spring & Summer 2023, p. 19-32** **جلد ۴، شماره ۱، بهار و تابستان ۱۴۰۲، صفحه ۳۲-۱۹**

Research Article DOI: 10.22034/PLANT.2023.62750

# Analysis of the expression of defense genes and biochemical traits in response to the treatment of copper sulfate levels in wheat

**Aida Hajileri[1], Saeed Nawabpour[2]*, Ahad Yamchi[3]**

1-MS.C. Student, Department of Plant Breeding and Biotechnology, Gorgan university of Agricultural Sciences and Resources, Gorgan, Iran
2-Associate Professor, Department of Plant Breeding and Biotechnology, Gorgan university of Agricultural Sciences and Resources, Gorgan, Iran
3-Assistant Professor, Department of Plant Breeding and Biotechnology, Gorgan university of Agricultural Sciences and Resources, Gorgan, Iran

Received: 2023-04-28

Accepted: 2023-05-28

## Abstract

Heavy metal pollution is one of the fundamental problems in human societies concerning agricultural production and is considered a major threat to human health. Copper plays a very important role in the biochemical activities of plants such as photosynthesis, respiration, transport of carbohydrates, regeneration and stabilization of nitrogen coexistence, protein metabolism. In order to investigate the effect of copper heavy metal stress on the biochemical characteristics and the expression pattern of catalase and glutathione peroxidase metallothionein genes, a factorial experiment was conducted based on a completely randomized design in three replications under greenhouse conditions. The experimental factors included pearl and dome genotypes and promising line N9108 and copper sulfate (zero, 1.5, 2.5 and 3.5 mg/kg soil). Sampling of leaves was done at the maximum vegetative growth (Zadox GS45 stage). The results showed that copper salt led to an increase in the expression of some genes in the studied wheat genotypes. The level of expression of genes in the leaf was increased compared to the control in the stress of copper treatment. showed significance. In general, the promising line N9108 under stress of copper metal showed a better response during stress in terms of gene expression and biochemical traits (chlorophyll level and cellular oxidation) compared to Morvarid and Gonbad cultivars.

**Keywords**: Gene expression, heavy metal stress, wheat, copper

Citation: Hajileri, A., Nawabpour, S., & Yamchi, A. (2023). Analysis of the expression of defense genes and biochemical traits in response to the treatment of copper sulfate levels in wheat. *Plant Production and Genetics*, 4(1), 19-32. https://doi.org/10.22034/PLANT.2023.62750.

Copyrights:
Copyrights rights for this article is retained by the author (s), with publication rights granted to Plant Production and Genetics. This is an open-access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution License (http://creativecommons.org/licenses/by/4.0), which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

*Corresponding Author: s.navabpour@gau.ac.ir