اثر تنش شوری بر آنزیم مالات دهیدروژناز دو رقم گندم*

The effect of salt stress on malate dehydrogenase in wheat

فریبا میقانی و حسن ابراهیم زاده**

بخش تحقیقات علف‌های هرز، موسسه تحقیقات آفات و بیماری‌های گیاهی و
دانشکده علوم، دانشگاه تهران

دریافت 1381/11/15 پذیرش 1382/4/8

چکیده

اثر تیمارهای متفاوت شوری سدیم کلرید (0، 50، 100، 200 و 300 میلی مولار) در مراحل مختلف رشد و نمو (پنجه زنی، تورم غلاف، گلدهی و گرده افشانی) دو رقم گندم (قدس: حساس به شوری؛ بولانی: مقاوم به شوری) بر فعالیت سینتیکی و الگوی الکتروفورزی آنزیم مالات دهیدروژناز برگ در شرایط گلخانه‌ای مورد بررسی قرار گرفت. در مجموع، در پاسخ به تیمارهای شوری مشاهده شد که: افزایش فعالیت مالات دهیدروژناز تنها طی پنجه زنی و تورم غلاف معنی‌دار بود و این فعالیت بین قدس و بولانی تفاوت معنی‌داری نشان نداد. الگوی الکتروفورزی مالات دهیدروژناز نیز طی مراحل پنجه زنی و تورم غلاف تغییراتی نشان داد و از این نظر تفاوت چشمگیری بین قدس و بولانی وجود نداشت. بنابراین، به نظر می‌رسد تنش شوری تنها طی مراحل اولیه زندگی (پنجه زنی و تورم غلاف)، قادر به القای تغییرات قابل ملاحظه در فعالیت سینتیکی و الگوی الکتروفورزی آنزیم مالات دهیدروژناز رقم‌های مورد مطالعه می‌باشد.

واژه‌های کلیدی: تنش شوری، نیترات ردوکتاز، گندم

---

* بخشی از رساله دکتری نگارنده اول به راهنمایی دکتر حسن ابراهیم زاده ارایه شده به دانشگاه تهران.

** مسئول مکاتبه

مقدمه

با وجودی که گستره وسیعی از سازش‌های ژنتیکی به شرایط شور و همچنین پاسخ‌های فیزیولوژیکی در رابطه با مقاومت به شوری مشاهده شده‌اند (Maighany 2000)، مکانیسم‌های بیوشیمیایی و بیولوژی مولکولی مسئول مقاومت به شوری به خوبی شناخته نشده‌اند (Botella *et al*. 1993)، زیرا مقاومت به شوری از نظر ژنتیکی پیچیده است و دربرگیرنده ژن‌های متعددی است (Morpurgo 1991،Ahmad & San Pietro 1986).

اهمیت آنزیم‌های چرخه تری‌کربوکسیلیک اسید مستقر در سیتوپلاسم در مقالات متعددی در رابطه با شوری و جذب مفرط کاتیون‌ها مطالعه شده است. بررسی‌های فراوانی به رابطه بین جذب نمک و انباشته شدن اسیدهای چرخه تری کربوکسیلیک اسید اشاره می‌کنند. بسیاری از پژوهشگران، اثر شوری را بر فعالیت آنزیم مالات دهیدروژناز مورد توجه قرار داده‌اند. البته عده زیادی از آنها اثر نمک موجود را در مخلوط آزمون (assay) بر فعالیت این آنزیم بررسی کرده‌اند. به نظر می‌رسد اثر محیط شور بر رشد گیاهان، متفاوت از اثر مستقیم نمک بر مخلوط آزمون است (Porath & Poljakoff-Mayber 1969). مالات دهیدروژناز حاصل از عصاره‌های ریشه بسیاری از گیاهان، نسبت به عصاره برگ، مقاومت بیشتری به شوری دارند. بنابراین، آنزیم ریشه با کده‌بندی کاراتریون‌ها در سلول‌های ریشه نسبت به سلول‌های برگ، سازش بیشتری به محیط شور دارد (Weimberg 1975).

رفتار سینتیکی مالات دهیدروژناز اغلب با تشکیل یک کمپلکس سه گانه توجیه می‌شود. نخست، یک اتصال آنزیم-کوآنزیم روی می‌دهد. سپس اتصال گهرمایه (substrate) به آنزیم روی می‌دهد. *کالیر* و *پولیاکوف میبر* (Kalir & Poliakoff-Mayber 1975) معمولا یک واکنش چهار مرحله‌ای را معرفی می‌نمایند:

$$MDH + NAD \rightleftharpoons MDH.NAD \quad (1)$$

$$MDH.NAD + Malate \rightleftharpoons MDHXY \quad (2)$$

$$MDHXY \rightleftharpoons MDH.NADH + OAA \quad (3)$$

$$MDH.NADH \rightleftharpoons MDH + NADH \quad (4)$$

به نظر می‌رسد که مرحله چهارم، یعنی جدا شدن کمپلکس MDH-NADH، محدود کننده میزان است. افزایش تمایل نسبت به کوآنزیم که با شوری القا می‌شود، سبب افزایش میزان مرحله 1 می‌شود. همچنین کمپلکس آنزیم-کوآنزیم احیا شده را نیز پایدار می‌کند.

به این ترتیب، میزان مرحله 4 کاهش چشمگیری می یابد. سدیم کلرید احتمالاً مانع تفکیک فراورده‌های واکنش از آنزیم می‌شود و تمایل به کوآنزیم را افزایش می‌دهد، اما در عین حال، میزان واکنش را کاهش می‌دهد.

روش بررسی

کشت گلخانه‌ای: برای انجام پژوهش حاضر، دو رقم گندم (قدس: حساس به شوری؛ بولانی: مقاوم به شوری) از انبار غلات واقع در موسسه تحقیقات تهیه و اصلاح نهال و بذر کرج انتخاب شدند. حساس و مقاوم بودن آنها مورد تایید بخش غلات موسسه تحقیقات تهیه و اصلاح نهال و بذر می باشد. کشت بذور در گلدان‌های پلاستیکی محتوی سه کیلوگرم مخلوطی از خاک با بافت متوسط، ماسه و کود به ترتیب با نسبت 1:1:2 انجام گرفت (Rascio *et al.* 1992). گلدان‌ها در گلخانه‌ای با شرایط کنترل شده (دما: 20 الی 25 درجه سانتی‌گراد، شدت روشنایی: 500 میکرو مول بر متر مربع در ثانیه، دوره روشنایی: 16/8 ساعت، رطوبت نسبی: 45-40 درصد) نگهداری شدند. در هر گلدان، ده بذر کاشته شد و 16 روز بعد به چهار گیاه تنک شدند. طی پنجه زنی و تورم غلاف، گیاهان با محلول غذایی محتوی نیترات آمونیوم، نیترات پتاسیم و سوپر فسفات آبیاری شدند. بدین منظور، 200 میلی گرم از دو ماده اول و 100 میلی گرم از ماده آخر در یک لیتر آب حل شدند و 50 میلی لیتر از هر محلول غذایی در مراحل مورد نظر به خاک محتوی گیاه افزوده شد. آبیاری هفته ای دو بار و هر بار با 500 میلی لیتر آب انجام می‌گرفت. چهار تیمار شوری، علاوه بر شاهد (بدون سدیم کلرید) درنظر گرفته شد: 50، 100، 200 و 300 میلی مولار سدیم کلرید (Huang *et al.* 1993). گیاهان در مراحل پنجه زنی، تورم غلاف، گلدهی و گرده افشانی (با 500 میلی لیتر محلول سدیم کلرید با غلظت های مورد نظر) تحت تاثیر تیمارهای شوری قرار گرفتند. مطابق کد *زادوکس* و همکاران (Zadoks *et al.* 1974)، این مراحل به ترتیب 22، 45، 58 و 69 روز پس از بذر افشانی (DAS) بودند. گیاهان پس از دو هفته رشد در خاک شور برداشت شدند. نمونه‌برداری از برگ ششم (22 روز پس از بذر افشانی)، برگ هفتم (45 روز پس از بذر افشانی) و برگ پرچم (58 و69 روز پس از بذر افشانی) انجام گرفت.

استخراج پروتیین: بافر تریس – HCl (0/05 مولار، 7/5 = pH) به نسبت 1:3 مورد استفاده قرار گرفت. پس از استخراج پروتیین در سردخانه با دمای بین صفر تا چهار درجه سانتی‌گراد و سانتریفوژ نمونه‌ها (19000 rpm، 45 دقیقه، دمای 4-2 درجه سانتی‌گراد) (Gomori 1995) محلول روشناور برای سنجش فعالیت و الکتروفورز آنزیم مالات دهیدروژناز مورد استفاده قرار گرفت.

سنجش فعالیت آنزیم مالات دهیدروژناز: پس از آماده‌سازی عصاره های پروتیینی، برای سنجش فعالیت آنزیم مالات دهیدروژناز از معرف زیر استفاده شد:

بافرفسفات (0/05M ،pH = 7/5)	2 میلی لیتر
مالیک اسید (30 میکرومول)	0/3 میلی لیتر
منگنز کلرید (3 میکرومول)	0/1 میلی لیتر
منیزیم سولفات (10 میکرومول)	0/2 میلی لیتر

بـه مخلـوط فـوق در حمـام یـخ، 0/1 میلـی لیتـر عصـاره آنزیمـی افـزوده شـد. سـپس 0/1 میلی لیتر NAD (30µM) اضافه شد. منحنی تغییرات جذب در طول موج 340 نانومتر با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر خوانده شد. فعالیت آنزیمی بر حسب واحد جـذب در دقیقـه به ازای هر میلی گرم پروتیین محاسبه شد (Aebi 1983).

الکتروفورز به روش PAGE: در پژوهش حاضر از دو ژل با غلظت و pH متفاوت اسـتفاده شد. ژل متـراکم کننـده غلظـت و pH کمتـری دارد، امـا ژل جـدا کننـده دارای غلظـت و pH بالاتری می‌باشد. پس از پایان الکتروفورز، ژل های پلـی اکریلامیـدی 10 درصـد، بـرای آشـکار ساختن نوارهای مالات دهیدروژناز به محلول شامل ترکیبات زیر منتقل شدند:

مالیک اسید	150 میلی گرم
بافرتریس - HCl (8/5 =pH، M، 0/02)	50 میلی لیتر
NAD (نیکوتین آمید آدنین دی نوکلئوتید)	10 میلی گرم
MTT (دی متیل تیازول دی فنیل تترازولیوم)	10 میلی گرم
PMS (فنازین متوسولفات)	10 میلی گرم

سرانجام Rm هر نوار مالات دهیدروژنازی محاسبه شد (*صبورا* 1994).

بررسی آماری داده‌ها: آزمایش به صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصـادفی در سـه تکرار انجام شد. در این آزمایش، تیمارهای شوری (5 تیمار) به عنوان فاکتور A ، ارقـام گنـدم (دو رقم) به عنوان فاکتور B و مراحل مختلف رشد و نمو (4 مرحله) به عنوان فاکتور C بودنـد. داده‌های آزمایش با استفاده از روش تجزیه واریانس تحلیل شدند و سپس مقایسـه میـانگین‌هـا با استفاده از روش دانکن انجام گردید.

نتیجه

1- نتایج حاصل از بررسی اثر شوری بر فعالیت آنـزیم مـالات دهیـدروژناز: مطـابق شـکل هـای 1و2، در پاسخ به تیمارهای شوری مشاهده شد که:

الف) مرحله پنجه زنی: فعالیت مالات دهیدروژناز برگ ششم قدس و بولانی افزایش یافت (p<0/05). در قدس با تیمار 300 و در بولانی با تیمار 50 این فعالیت به ترتیب 2/8 و 2/5 برابر شاهد افزایش نشان داد. در بولانی اثر تیمارهای شوری و در قدس اثر تیمارهای 100 و 200 از نظر آماری مشابه بود.

ب) مرحله تورم غلاف: پاسخ برگ هفتم قدس و بولانی، افزایش فعالیت سینتیکی مالات دهیدروژناز بود (p< 0/05). در قدس در تیمار 200 و در بولانی در تیمار 300 این فعالیت به ترتیب 1/7 و 2/3 برابر شاهد افزایش نشان داد. در قدس اثر تیمارهای 50، 100 و 300 و در بولانی اثر تیمارهای 200 و 300 از نظر آماری مشابه بود.

پ) مرحله گلدهی و گرده افشانی: فعالیت مالات دهیدروژناز برگ پرچم قدس و بولانی تغییرات آماری قابل توجهی را نشان نداد (جدول 1).

جدول1- آنالیز واریانس تغییرات فعالیت آنزیم مالات دهیدروژناز برگ قدس و بولانی در پاسخ به تنش شوری

Tab. 1. Analysis of variance of changes in malate dehydrogenase activity in Ghods and Boolani leaf in response to salt stress

K value	source	degree of freedom	sum of square	mean square	F value	Prob
2	factor A	4	0.000	0.000	15.2646	0.0000**
4	factorB	1	0.000	0.000	1.2212	0.2725 ns
6	AB	4	0.000	0.000	0.4885	ns
8	factor C	3	0.001	0.000	53.1777	0.0000**
10	AC	12	0.000	0.000	1.7259	0.0770 ns
12	BC	3	0.000	0.000	3.4681	0.0201*
14	ABC	12	0.000	0.000	1.7178	0.0788 ns
-15		error	78			
		total	119	0.003		

**: very significant (at p <0.01)
*: significant (at p <0.05)
ns: non significant
coefficient of variation: 10.1%

2- نتایج حاصل از بررسی اثر شوری بر الگوی الکتروفورزی آنزیم مالات دهیدروژناز: زیموگرام‌های 1 تا 4 الگوی الکتروفورزی (PAGE) مالات دهیدروژناز را در برگ قدس (شکل 3) و زیموگرام‌های 5 تا 9 این الگو را در برگ بولانی (شکل 4) نشان می‌دهند.

به طورکلی، 28 ایزوآنزیم مالات دهیدروژنازی شناسایی گردید که برای سهولت، آنها را از 1 تا 28 شماره گذاری کردیم. از ایزوزیم 1 به سمت ایزوزیم 28، Rm افزایش می‌یابد.

الف- مرحله پنجه زنی

در این مرحله، 6 ایزوزیم مالات دهیدروژنازی در برگ قدس مشاهده شد. کد آنها عبارتست از: 4، 10، 14، 17، 18 و 24. ایزوزیم های 17و 18 به ترتیب در پاسخ به تیمارهای شوری ظاهر و بسیار پررنگتر بودند (شکل 3- زیموگرام 1) .در برگ بولانی، 5 ایزوزیم مالات دهیدروژنازی 4، 10، 14، 18 و 21 مشاهده شد. با افزایش غلظت نمک، ایزوزیم 17 ظاهر و ایزوزیم 10 پررنگتر شد (شکل 4- زیموگرام 5).

ب- مرحله تورم غلاف

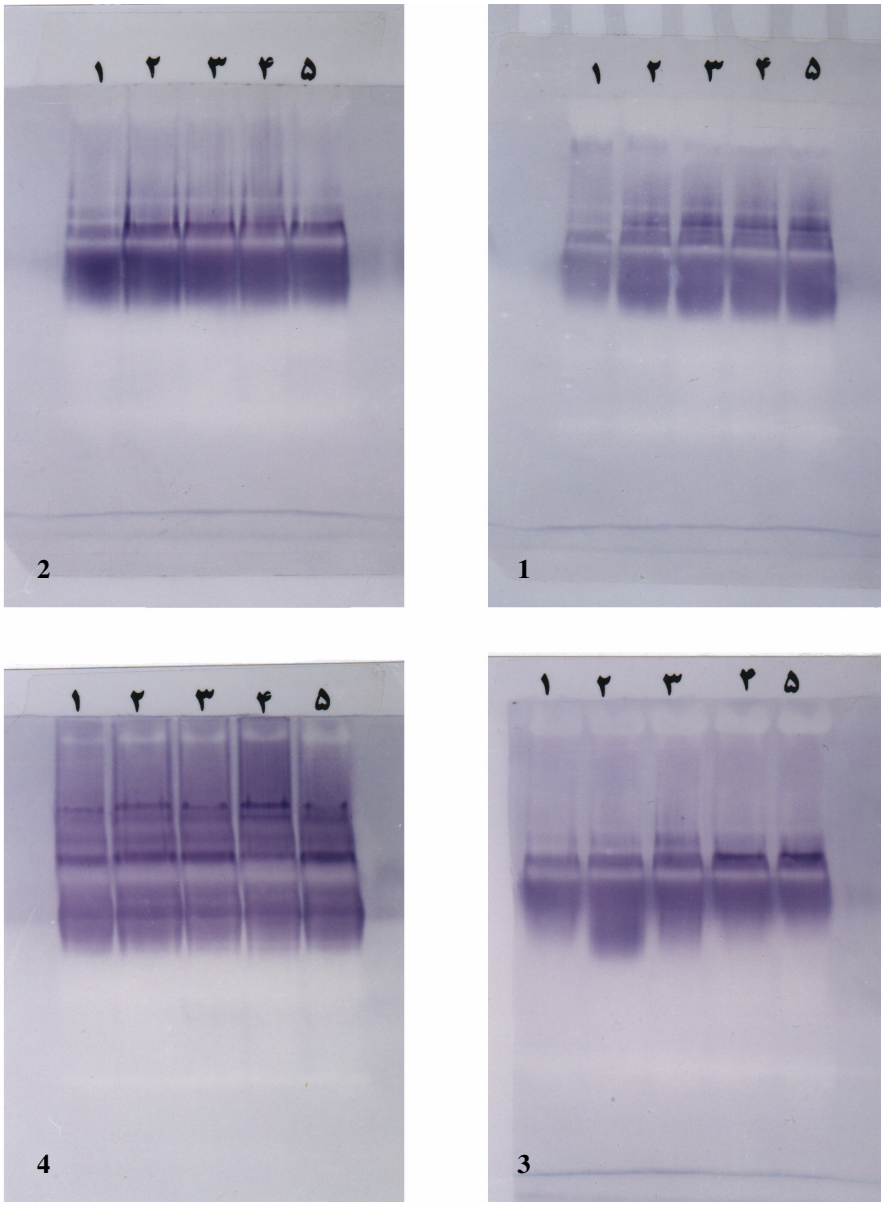
برگ قدس، دارای ایزوزیم‌های 4، 10، 14، 17، 18 و 24 بود. ایزوزیم 17 در پاسخ به شوری پررنگتر شد. ایزوزیم 14 نیز تنها در تیمار 200 ظاهر و با افزایش غلظت سدیم کلرید حذف شد (شکل 3- زیموگرام 2). الگوی الکتروفورزی مالات دهیدروژناز برگ بولانی، نمایانگر ایزوزیم های 11، 13، 19، 22 و 25 بود. با افزایش غلظت نمک، ایزوزیم های 19و22 پررنگتر شدند (شکل 4- زیموگرام 6).

پ) مرحله گلدهی

الگوی الکتروفورزی مالات دهیدروژناز برگ پرچم قدس، 5 ایزوزیم 3، 12، 13، 19و24 را نشان داد. ایزوزیم 13 در پاسخ به تیمارهای 200 و 300 کاملاً پررنگتر شد (شکل 3- زیموگرام 3). در برگ پرچم بولانی، باندهای 10، 12، 14، 16، 18و22 مشاهده شدند. ایزوزیم 22 در پاسخ به تیمارهای 200 و 300 تا حدودی پررنگتر شد (شکل 4- زیموگرام 7).

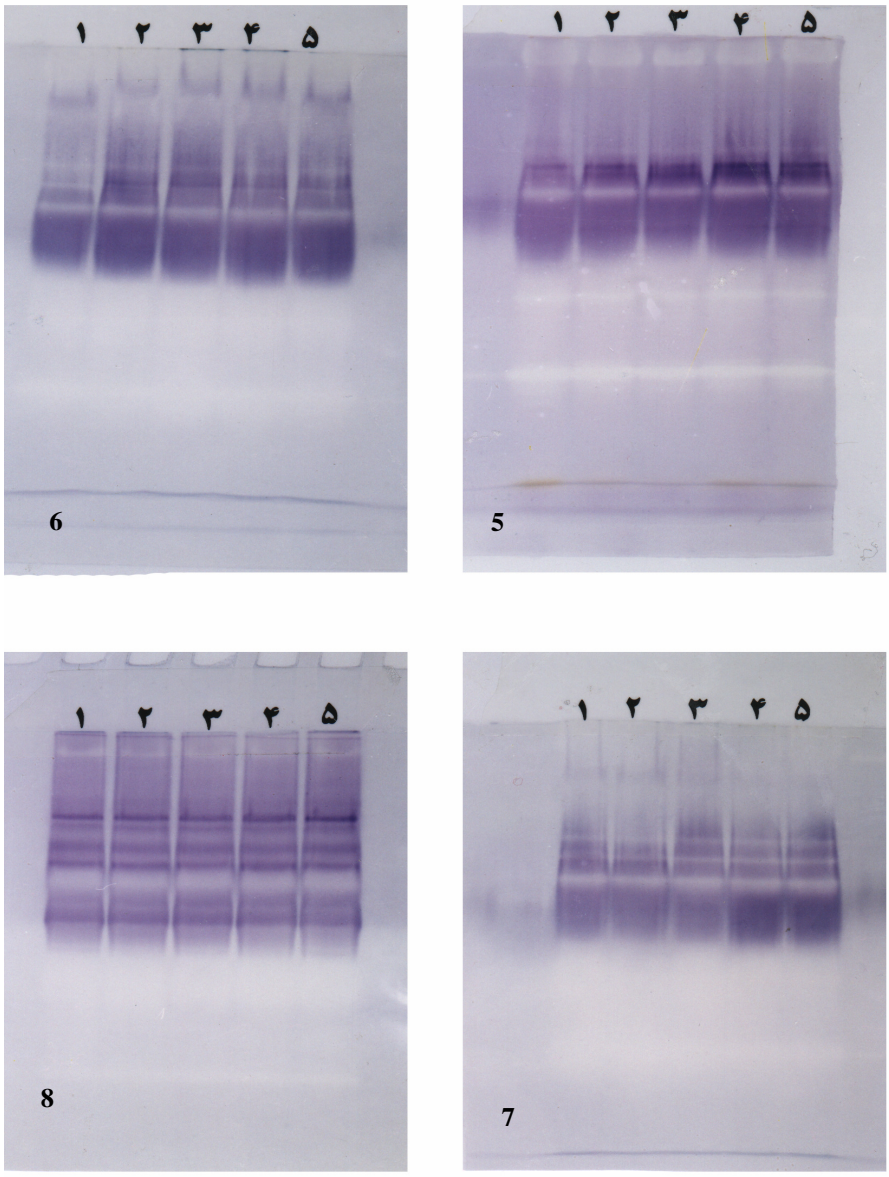
ت) مرحله گرده افشانی

تعداد باندهای ایزوزیمی مالات دهیدروژناز برگ پرچم قدس و بولانی در این مرحله، افزایش قابل توجهی را نشان دادند. این باندها در برگ پرچم قدس شامل ایزوزیم های 1، 2، 6، 8،12، 16، 20، 22، 26 و 28 بود (شکل 3- زیموگرام 4) و در برگ پرچم بولانی باندهای5، 7، 9، 12، 13، 15، 21، 23، 25 و 27 مشاهده شدند (شکل 4- زیموگرام 8). به طورکلی دراین مرحله، الگوهای اخیر تغییرات کمی و کیفی قابل توجهی را به تنش شوری نشان ندادند.



شکل1- الگوی الکتروفورزی آنزیم مالات دهیدروژناز برگ قدس در پاسخ به تنش شوری به‌ترتیب طی پنجه زنی، تورم غلاف، گلدهی و گرده افشانی (زیموگرام‌های4-1).

Fig. 1. Electrophoretic patterns of malate dehydrogenase of Ghods leaf in response to salinity during tillering, booting, flowering and anthesis (Zimograms 1-4).



شکل2- الگوی الکتروفورزی آنزیم مالات دهیدروژناز برگ بولانی در پاسخ بـه تـنش شـوری به‌ترتیب طی پنجه زنی، تورم غلاف، گلدهی و گرده افشانی (زیموگرام‌های 8-5).

Fig. 2. Electrophoretic pattern of malate dehydrogenase of Boolani leaf in response to salinty duting tillering, booting, flowering and anthesis (Zimograms 5-8).

بحث

گرین وی و *اسموند* (Greenway & Osmond 1972) مالات دهیدروژناز را به عنوان یک آنزیم حساس به نمک معرفی می‌کنند. نتایج پژوهش حاضر نشان داد که طی پنجه زنی و تورم غلاف، فعالیت سینتیکی آنزیم مالات دهیدروژناز برگ قدس و بولانی در پاسخ به شوری افزایش می یابد. پاسخ قدس و بولانی از این نظر تفاوت معنی داری نداشت. البته، تغییر فعالیت این آنزیم در برگ پرچم قدس و بولانی در مراحل گلدهی و گرده افشانی از نظر آماری معنی دار نبود. بدین ترتیب، فعالیت آنزیم مالات دهیدروژناز برگ قدس و بولانی تنها در مراحل اولیه زندگی (یعنی پنجه زنی و تورم غلاف) تحت تاثیر تیمارهای شوری قرار گرفت. بنا به نظر *پورات* و *پولیاکوف میبر* (Porath & Poljakoff-Mayber 1969)، تغییر فعالیت آنزیم مالات دهیدروژناز در پاسخ به شوری نشان می‌دهد که نمک ها متابولیسم سلول گیاهی را تحت تاثیر قرار می‌دهند. سدیم کلرید احتمالاً ساختار دوم یا سوم این پروتیین آنزیمی راتغییر می‌دهد. بر اساس پژوهش *ویمبرگ* (Weimberg 1975) و *گرین وی* و *اسموند* (1972) فعالیت مالات دهیدروژناز در برگ، ساقه و ریشه نخود در پاسخ به تنش نمکی، تغییری نشان نمی‌دهد که هماهنگ با نتایج حاضر در طی گلدهی و گرده افشانی است. بنابر گزارش *پورات* و *پولیاکوف میبر* (1969)، افزایش غلظت سدیم کلرید در محیط رشد سبب کاهش فعالیت ویژه آنزیم مالات دهیدروژناز در ریشه نخود می‌شود. در گندم، شوری فعالیت مالات دهیدروژناز را در حضور NADP افزایش اما در حضور NAD کاهش می‌دهد. در صورتی که در نتایج ما، کاهش فعالیت این آنزیم در حضور NAD مشاهده نشد. بنابه اعتقاد *کالیر* و *پولیاکوف مایر* (Kalir & Poljakoff-Mayber 1975)، وجود نمک در سلول می‌تواند بر ساختار آنزیم اثر گذاشته باعث تغییر پیکربندی (configuration) شود و بنابراین، فعالیت کاتابولیسمی و توانایی اتصال گهرمایه یا کوآنزیم و یا هر دو را تحت تاثیر قرار دهد. به نظر می‌رسد اثر سدیم کلرید بر فعالیت مالات دهیدروژناز به غلظت گهرمایه بستگی دارد. بنابر پژوهش *آنتونی* و آنتونی (Anthony & Anthony 1977) فعالیت مالات دهیدروژناز برگ با سدیم کلرید بالای 50 میلی مولار کاهش و با غلظت های کمتر افزایش می‌یابد . بنا به اعتقاد *ویمبرگ* (Weimberg 1970) نتایج متفاوت ارایه شده درباره اثر شوری بر فعالیت آنزیم مالات دهیدروژناز، بیانگر تضاد نیست، بلکه ناشی از تکنیک ها و روش های متنوع به کار برده شده است. به نظر وی شوری اثری بر فعالیت آنزیم مالات دهیدروژناز ندارد. *گرین وی* و *اسموند* (1972) نیز مشاهده کردند که طی رشد رویشی و زایشی لوبیا و آتریپلکس در محیط شور، فعالیت مالات دهیدروژناز تغییر چمشگیری نشان نداد، زیرا سازمان سیتوپلاسم طوری است که

آنزیم ها به یون‌های معدنی پاسخ نمی‌دهند. به عبارت دیگر، سلول ها قادرند محیط یونی سیتوپلاسم را طوری تنظیم کنند که آنزیم ها در معرض غلظت های بالای سدیم کلرید قرار نگیرند . نتیجه این پژوهشگران، با نتایج پژوهش حاضر در مرحله گلدهی و گرده افشانی در توافق است. بنابراین، شاید بتوان گفت که با توجه به اینکه در طی پنجه زنی و تورم غلاف، بیشترین انباشتگی یون سدیم را در پاسخ به شوری مشاهده کردیم *ابراهیم زاده* و همکاران (2000) نمک جذب شده در این مراحل قادر به تغییر فعالیت آنزیم مالات دهیدروژناز گردیده است.

به اعتقاد *پورات* و *پولیاکوف میبر* (1969)، بررسی اثر تنش شوری بر الگوی الکتروفورزی پروتیین های آنزیمی مورد توجه پژوهشگران بسیاری بوده است. مشاهده گردید که الگوی الکتروفورزی (PAGE) آنزیم مالات دهیدروژناز برگ در پاسخ به شوری تنها طی پنجه زنی و تورم غلاف، تغییرات کمی و کیفی نشان می‌دهد. در قدس در هر دو مرحله مذکور اما در بولانی تنها در طی پنجه زنی، ظهور ایزوزیم جدید مالات دهیدروژنازی مشاهده شد. به اعتقاد *آنتونی* و *آنتونی* (1977)، مالات دهیدروژناز به صورت ایزوزیم هایی در چند کده سلولی از جمله میتوکندری و سیتوسل وجود دارد که به طور متفاوتی به سدیم کلرید پاسخ می‌دهند. *گرین وی* و *اسموند* (1972) و *ویمبرگ* (1970) گزارش داده‌اند که شوری نمی‌تواند الگوی ایزوزیمی مالات دهیدروژناز را تغییر دهد. ما نیز طی گلدهی و گرده افشانی تغییری را در الگوی الکتروفورزی آنزیم فوق در برگ قدس و بولانی در پاسخ به شوری مشاهده نکردیم.

در مجموع، نتایج حاصل از بررسی تغییر فعالیت مالات دهیدروژناز و تغییر الگوی الکتروفورزی این آنزیم در پاسخ به شوری با یکدیگر توافق دارند، زیرا هر دو طی پنجه زنی و تورم غلاف قابل توجه می باشند، اما در مراحل گلدهی و گرده افشانی، چشمگیر نیستند. به طورکلی، از نظر تغییر فعالیت و الگوی الکتروفورزی آنزیم مالات دهیدروژناز در پاسخ به شوری بین رقم‌های قدس و بولانی، تفاوت چشمگیری ملاحظه نمی‌گردد. بنابراین، به نظر نمی‌رسد که آنزیم مالات دهددروژناز قادر به القای مقاومت به شوری، حداقل در رقم‌های مورد بررسی حاضر باشد.

منابع

جهت ملاحظه منابع به صفحات 27-26 متن انگلیسی مراجعه شود.

نشانی نگارندگان: دکتر فریبا میقانی، بخش تحقیقات علف‌های هرز، موسسه تحقیقات آفات و بیماری‌های گیاهی و دکتر حسن ابراهیم زاده، گروه زیست شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه تهران، تهران.

THE EFFECT OF SALT STRESS ON MALATE DEHYDROGENASE IN WHEAT

F. MAIGHANY* and H. EBRAHIMZADEH

Department of Weed Research, Plant Pests & Diseases Research Institute
and Faculty of Science, Tehran University

Received 04.02.2003 Accepted 29.06.2003

Effect of various NaCI treatments (0, 50, 100, 200 and 300 mM) at different growth and development stages (tillering, boot swollen, flowering and anthesis) of two wheat cultivars on the kinetic activity and PAGE electrophoretic pattern of leaf malate dehydrogenase was studied under greenhouse conditions. Ghods was salt-sensitive and Boolani was salt-tolerant. In general, in response to salintiy treatments, the increase in malate dehydrogenase was only significant during tillering and boot swollen and there was no significant differences between these cultivars. In addition, the electrophoretic patterns of leaf malate dehydrogenase showed significant changes during tillering and booting and these differences were not significant between Ghods and Boolani. Thus, it seemed that salt stress could induce significant changes in the kinetic activity and PAGE electrophoretic pattern of leaf malate dehydrogenase only during early growth stages in these cultivars.

Key words: salt stress, nitrate reductase, wheat

To look at the figures and tables, please refer to the Farsi text (pages: 27-36).

---

* Corresponding author

References

AEBI, H. E. 1983. Catalase. Methods of enzymatic analysis. Vol. 3: 273-286.

AHMAD, R. and SAN PIETRO, A. 1986. Prospects for biosaline research, Shamim Printing Press, Karachi.

ANTHONY, J. C. and ANTHONY, H. C. H. 1977. Effect of NaCl on the *in vitro* activity of malate dehydrogenase in salt marsh halophytes of the U.S. Physiol. Plant. 41: 79-84.

BOTELLA, M. A., CRUZ, C., MARTINS- LOUCAO, M. A. and CERDA, A. 1993. Nitrate reductase activity in wheat seedlings as affected by NO^-_3/NH^+_4 ratio and salinity. J. Plant Physiol. 142: 531-536.

EBRAHIMZADEH, H., MAIGHANY, F. and RAHIMIAN, H. 2000. Role of mineral ions in salt tolerance of two wheat cultivars. Pak. J. Bot. 32 (2): 265-271.

GOMORI, G. 1995. Preparation of buffers for use in enzyme studies. Methods in enzymology, Vol. 1: 138-146.

GREENWAY, H. and OSMOND, C. B. 1972. Salt responses of enzymes from species differing in salt tolerance. Plant Physiol. 49: 256-259.

HUANG, L., MURRAY, F. and YANG, X. 1993. Responses of nitrogen metabolism parameters to sublethal SO_2 pollution in wheat under mild NaCl sterss. Environ. Exp. Bot. 33 (4): 479-493.

KALIR, A. and POLIAKOFF-MAYBER, A. 1975. Malic dehydrogenase from Tamarix roots. Plant Physiol. 55: 155-162.

MAIGHANY, F. 2000. Physiological study of salt resistance in wheat (*Triticum aestivum* L.). Ph. D. Thesis. Faculty of Science, Tehran Univ., Tehran.

MORPURGO, R. 1991. Correlation between potato clones grown *in vivo* and *in vitro* under sodium chloride stress conditions. Plant Breed. 107: 80-82.

PORATH, E. H. and POLJAKOFF-MAYBER, A. 1969. The effect of salinity on the malic dehydrogenase of pea roots. Plant Physiol. 44: 1031-1034.

RASCIO, A., PLANTANI, C., DI FONZO, N. and WITTMER, G. 1992. Bound water in durum wheat under drought sterss. Plant Physiol. 98: 906-912.

SABOORA, A. 1994. Elementary study of phylogeny and ontogeny of *Crucus*

sativus in Iran. M. Sc. Thesis, Faculty of Science, Tehran.

WEIMBERG, R. 1970. Enzyme levels in pea seedlings grown on highly salinized media. Plant Physiol. 46: 466-470.

WEIMBERG, R. 1975. Effect of growth in highly salinized media on the enzymes of the photosynthetic apparatus in pea seedlings. Plant Physiol. 56: 8-12.

ZADOKS, J. C., CHANG, T. T., and KONZAK, C. F. 1974. A decimal code for the growth stages of cereals. Weed Res. 14: 415-421.

Addresses of the authors: Dr. F. MEIGHANY, Department of Weed Research, Plant Pests & Diseases Research Institute, Tehran and Dr. H. EBRAHIMZADEH, Department of Biology, Facutlty of Science, Tehran University, Tehran, Iran.