

نقش آنزیم‌های حذف‌کننده پراکسید هیدروژن و گلوکاتایون S-ترانسفراز در کاهش آثار شوری در گندم

عزت‌اله اسفندیاری * و عادل جوادی

گروه زراعت و اصلاح نباتات، دانشکده کشاورزی، دانشگاه مراغه، مراغه، ایران

چکیده

به منظور بررسی آثار تنش شوری بر فعالیت آنزیم‌های حذف‌کننده پراکسید هیدروژن، گلوکاتایون S-ترانسفراز، برخی از نشانگرهای تنش اکسیداتیو و الگوی توزیع سدیم و پتاسیم در ارقام حساس و مقاوم به شوری ارقام کوهدشت (حساس) و گاسکوژن (مقاوم) انتخاب و با روش هواکشت پرورش یافتند. با رسیدن گیاهچه‌ها به مرحله سه تا چهار برگگی، ۲۰۰ میلی مولار کلرید سدیم به محلول غذایی افزوده شد و به مدت ۱۴ روز در این شرایط رشد یافتند. نتایج نشان داد که ماده خشک اندام هوایی رقم گاسکوژن بیشتر از کوهدشت بود. در رقم کوهدشت اگرچه شوری سبب کاهش معنی‌دار فعالیت آنزیم‌های کاتالاز، آسکوربات پراکسیداز و گلوکاتایون S-ترانسفراز نسبت به شاهد شد، اما بر فعالیت گایاکول پراکسیداز تأثیری نداشت. در رقم گاسکوژن تنش شوری موجب افزایش معنی‌دار فعالیت آنزیم‌های گایاکول پراکسیداز و گلوکاتایون S-ترانسفراز گردید. اما بر فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز و کاتالاز تأثیر گذار نبود. به علاوه، به دلیل جذب و انتقال آسان سدیم به اندام‌های هوایی در هر دو رقم گندم، بین بخش‌های مختلف آنها میزان سدیم انباشته شده یکسان بود که سبب کاهش نسبت پتاسیم به سدیم در بخش‌های مختلف گیاهچه‌ها شد. همچنین، شوری سبب افزایش شایان توجه پراکسید هیدروژن و پراکسیداسیون لیپیدی در رقم کوهدشت شد. به عنوان نتیجه نهایی می‌توان گفت که آنزیم‌های حذف‌کننده پراکسید هیدروژن و گلوکاتایون S-ترانسفراز در سم‌زدایی ترکیبات سمی نقش ویژه‌ای ایفا می‌نمایند که نتیجه آن حفظ شرایط پایدار در داخل سلول‌های گیاهی و حفظ توان رشدی گیاهچه‌ها در محیط‌های شور است. همچنین، پیشنهاد می‌گردد که برای ارزیابی بهتر ژنوتیپ‌ها یا ارقام گندم از نظر تحمل به شوری و نیز استفاده بهینه از ذخایر ژنتیکی علاوه بر میزان سدیم و تسهیم آن در بخش‌های مختلف گیاه، مکانیسم‌های دفاعی گیاه برای مقابله با بروز تنش اکسیداتیو ناشی از شوری مورد توجه قرار گیرد.

واژه‌های کلیدی: تنش اکسیداتیو، سدیم، شوری، گندم، مکانیسم‌های دفاعی

مقدمه

در دنیا بیش از ۹۳۰ میلیون هکتار از اراضی کشاورزی جزو زمین‌های شور محسوب می‌شود که هر ساله نیز این میزان در حال افزایش است (Munns and Kafi, 2008). در ایران نیز طبق گزارش Kafi (۲۰۰۸)، ۵۰ درصد اراضی کشاورزی فاریاب تحت تأثیر انواع آثار شوری قرار دارند. همچنین طبق این گزارش، کشور ایران پس از چین، هند و پاکستان بیشترین اراضی شور را در سطح جهانی داراست. لذا، پژوهشگران معتقدند که شوری یکی از مهم‌ترین تنش‌های محیطی است که جوانه‌زنی، رشد، تولید و کیفیت گیاهان زراعی از جمله گندم را تحت تأثیر قرار می‌دهد (Chinnusamy and Sairam *et al.*, 2002). در اکثر خاک‌های شور عامل اصلی ایجاد شوری مقدار بالای کلرید سدیم است (Zörb *et al.*, 2004). وجود مقادیر بالای این ترکیب در خاک سبب بروز تنش‌های یونی و اسمزی در گیاهان می‌شود (Munns and Tester, 2008). تنش یونی در گیاهان در نتیجه تجمع یون‌های سدیم و کلر است. مقادیر بالای سدیم جذب عناصر ضروری مورد نیاز گیاه نظیر: پتاسیم، کلسیم و منیزیم را کاهش می‌دهد (Murillo- Mansour *et al.*, 2005). به علاوه، میزان بالای کلر به کاهش جذب نیتрат منجر می‌گردد (Azizpour *et al.*, 2010).

تنش اسمزی از تنش‌های ثانویه حاصل از شوری است که سبب کاهش جذب آب، تبادلات گازی، فتوسنتز و تولید در گیاهان می‌شود (Munns and

Tester, 2008). تنش یونی و اسمزی حاصل از شوری سبب وقوع تنش اکسیداتیو در سلول‌های گیاهی خواهد شد که ناشی از افزایش تولید انواع اکسیژن فعال است (Hussain *et al.*, 2008؛ Katsuhara *et al.*, 2005). انواع اکسیژن فعال از احیای ناقص اکسیژن اتمسفری در فرآیندهای حیاتی سلول نظیر: فتوسنتز، تنفس و تنفس نوری تولید می‌شود (Mittler *et al.*, 2004). از جمله مهم‌ترین انواع اکسیژن فعال می‌توان به رادیکال سوپراکسید، پراکسید هیدروژن، رادیکال هیدروکسیل و اکسیژن نوزاد اشاره نمود که فوق‌العاده برای سلول سمی و خطرناک هستند (Mittler *et al.*, 2004؛ Edreva, 2005). انواع اکسیژن فعال به دلیل میل الکترون‌خواهی بالا، به مولکول‌های زیستی اساسی سلول نظیر: لیپیدها، پروتئین‌ها و نوکلئیک اسیدها صدمه وارد می‌کنند (Katsuhara *et al.*, 2005؛ Esfandiari and Vahdati Rad, *et al.*, 2007a,b). برآیند این صدمات بروز اختلالات متابولیسمی است که نشان‌دهنده اهمیت ویژه مولکول‌های زیستی در متابولیسم سلول است (Karamian and Ataei, 2013). Barazandeh, 2013). برای مثال، لیپیدها در تشکیل ساختار غشاها، به عنوان یکی از عوامل کلیدی تنظیم متابولیسم، شرکت می‌کنند (Gupta, 2002). در اثر اکسیداسیون لیپیدهای غشایی، ضمن ایجاد اختلال در نفوذپذیری انتخابی غشاها، متابولیت سمی 4-hydroxynonenal تولید می‌گردد (Schneider *et al.*, 2008). این متابولیت حتی در مقادیر اندک (حدود ۱۰ تا ۲۰ میکرومولار) برای سلول سمی بوده، سبب فعال شدن یک سری مسیرهای متابولیسمی مخرب

نمود. آنزیم آسکوربات پراکسیداز در اغلب اندامک‌های سلول حضور داشته، در چرخه‌های مهلر (Asada, 2000) و گلوکاتایون-آسکوربات (Halliwell, 2006) نقش ویژه‌ای ایفا می‌کند. آنزیم گلوکاتایون S-ترانسفراز نقش مهمی در سم‌زدایی ترکیبات سمی نظیر 4-hydroxynonenal ایفا می‌کند (Schneider *et al.*, 2008). افزایش فعالیت این آنزیم سبب کاهش آسیب به سلول و بروز تنش اکسیداتیو می‌شود که در نهایت افزایش تحمل به تنش‌های محیطی را در پی خواهد داشت (Roxas *et al.*, 1997; Ezaki *et al.*, 2000; Katsuhara *et al.*, 2005). تنش شوری در بخش شایان توجهی از اراضی کشاورزی کشور اتفاق می‌افتد که با توجه به آثار منفی آن بر رشد و نمو، کاهش عملکرد گندم را در پی دارد. در حالی که پژوهشگران تلاش می‌نمایند که با افزایش عملکرد، بین رشد جمعیت و تولید آن تعادل برقرار کنند و سبب پایداری در امنیت غذایی شوند. بنابراین، شناخت وقایع درون سلولی از بُعد فیزیولوژیک و بیوشیمیایی در زمان وقوع تنش‌های محیطی دارای اهمیت است. به همین منظور، دو رقم حساس (کوه‌دشت) و مقاوم (گاسکوژن) گندم نان که توسط Esfandiari و همکاران (۲۰۱۱) بر اساس میزان ماده خشک تولیدی در شرایط شور تعیین و گزینش شده بودند انتخاب شد و الگوی رفتاری آنها با هدف بررسی نحوه توزیع یون‌های سمی کلر و سدیم در بخش‌های مختلف گیاه، ارتباط بین آنزیم‌های حذف‌کننده پراکسید هیدروژن و گلوکاتایون S-ترانسفراز با میزان آسیب به غشاها و تجمع پراکسید هیدروژن و همچنین، نقش آنها در تحمل شوری بررسی و مطالعه شد.

دیگر می‌شود (Marrs, 1996). از جمله آنها می‌توان به افزایش فعالیت آنزیم اندونوکلئاز و رهاسازی آنزیم سیتوکروم C-اکسیداز اشاره نمود. در پی فعالیت آنزیم اندونوکلئاز عمل خرد شدن DNA اتفاق می‌افتد. به علاوه، رهاسازی آنزیم سیتوکروم C-اکسیداز موجب کاهش تولید انرژی در سلول‌های گیاهی می‌شود (Zarkovic, 2003).

تجمع آسیب‌های حاصل از انواع اکسیژن فعال و دیگر ترکیبات سمی ناشی از اکسیداسیون مواد زیستی در نهایت به اجرای مرگ برنامه ریزی شده درون سلولی منجر خواهد شد (Esfandiari *et al.*, 2007b). این ترکیبات سمی حتی در شرایط مطلوب محیطی نیز تولید می‌گردند (Edreva, 2005). بنابراین، لازم است که سلول‌های گیاهی از سازوکارهای دفاعی ویژه‌ای برای مقابله با آثار مخرب آنها، چه در شرایط مطلوب و چه در شرایط تنش برخوردار باشند (Asada, 2000). آنزیم‌های کاتالاز و پراکسیداز از مهم‌ترین آنزیم‌های سازوکار دفاعی سلول و حذف‌کننده پراکسید هیدروژن به‌شمار می‌آیند که با فعالیت آنها این ترکیب سمی به آب تبدیل می‌گردد (Edreva, 2005). کاتالاز در پراکسی‌زوم حضور دارد و پراکسید هیدروژن حاصل از اجرای تنفس نوری و β -اکسیداسیون اسیدهای چرب را حذف می‌کند (Mittler, 2002). پراکسیدازها دسته‌ای از آنزیم‌ها هستند که هیدروژن لازم برای احیا و حذف پراکسید هیدروژن را از متابولیت‌های دیگر نظیر آسکوربات و گلوکاتایون به دست می‌آورند و بسته به کوفاکتور خود نامگذاری شده‌اند. از جمله آنها می‌توان به آسکوربات پراکسیداز و گلوکاتایون پراکسیداز اشاره

مواد و روش‌ها

ارقام کوه‌دشت و گاسکوژن به ترتیب به عنوان ارقام حساس و مقاوم به شوری از بین ۵۶ رقم گندم نان مورد ارزیابی انتخاب و گزینش شده‌اند (Esfandiari *et al.*, 2011). بذور یکنواخت ارقام یاد شده انتخاب شد، پس از ضد عفونی، در دمای ۲۵ درجه سانتیگراد و تاریکی روی کاغذ صافی جوانه‌دار شدند. گیاهچه‌های حاصل با روش هواکشت در قالب طرح کرت‌های خُرد شده بر پایه طرح کاملاً تصادفی در اتاقک رشد گروه زراعت و اصلاح نباتات دانشکده کشاورزی دانشگاه مراغه در شرایط محیطی ۱۶ ساعت روشنایی، ۸ ساعت تاریکی، دمای ۲۵ درجه سانتیگراد، رطوبت نسبی ۶۵ درصد و شدت نور ۶۰۰۰ لوکس پرورش یافتند. پس از گذشت ۷ و ۱۴ روز از جوانه‌زنی، گیاهچه‌های گندم حاصل به ترتیب با محلول غذایی با غلظت ۵۰ درصد و کامل تغذیه شدند.

تغذیه گیاهچه‌های حاصل با در نظر گرفتن میزان ذخایر بذر و مصرف آنها صورت گرفت. به طوری که از زمان جوانه‌زنی تا هفت روز پس از آن، فقط آب روی ریشه گیاهچه‌ها افشانه شد. پس از سپری شدن زمان یاد شده برای پیشگیری از بروز کمبود عناصر غذایی و نیز کمک به رشد سریع‌تر گیاهچه‌ها، محلول غذایی ۵۰ درصد و کامل به ترتیب پس از گذشت ۷ و ۱۴ روز پس از جوانه‌زنی برای تغذیه گیاهچه‌های گندم استفاده گردید. ترکیب عناصر غذایی استفاده شده در طول دوره رشد شامل عناصر پُر مصرف $(Ca(NO_3)_2, KNO_3, MgSO_4, KH_2PO_4)$ به ترتیب در مقادیر ۲/۵، ۳، ۱/۵ و ۰/۱۷ میلی‌مولار) و کم مصرف $(FeSO_4, H_3BO_3)$

$MnSO_4, ZnSO_4, CuSO_4$ و H_2MoO_4 به ترتیب در مقادیر ۵۰، ۲۳، ۵، ۰/۴، ۰/۲ و ۰/۱ میکرومولار) بود (Esfandiari *et al.*, 2010). شایان ذکر است که در طول دوره رشد گیاهچه‌ها آب و محلول غذایی به طور خودکار در هر ۱۵ دقیقه پنج ثانیه بر روی ریشه‌ها مه‌پاشی شد و ریشه‌ها در محیط کاملاً اشباع از رطوبت در هوا معلق بود.

پس از رسیدن گیاهچه‌های گندم به مرحله ۴-۵ برگگی با اضافه نمودن تدریجی کلرید سدیم به محلول غذایی تنش شوری ۲۰۰ میلی‌مولار اعمال شد. شایان ذکر است که از محلول غذایی به عنوان شاهد استفاده گردید. گیاهچه‌ها به مدت ۱۴ روز در این شرایط نگهداری و سپس از برگ‌های بالغ و کاملاً توسعه یافته (برگ سوم بوته‌های ارقام مطالعه شده) نمونه برگگی تهیه و بلافاصله در ازت مایع غوطه‌ور شد. نمونه‌ها تا زمان اندازه‌گیری شاخص‌های فیزیولوژیک مورد نظر در دمای ۲۰- درجه سانتیگراد نگهداری شدند. برای ارزیابی اثر تنش شوری روی رشد و نمو گیاه و تولید ماده خشک، در زمان‌های ۰، ۳، ۶، ۹ و ۱۲ روز پس از اعمال تیمار شوری، نمونه‌های گیاهی برداشت و وزن خشک اندام‌های هوایی و وزن خشک کل بوته پس از قرار دادن آن در دمای ۷۵ درجه سانتیگراد به مدت ۴۸ ساعت اندازه‌گیری شد.

استخراج و سنجش فعالیت آنزیم‌های

حذف‌کننده پراکسید هیدروژن: برای استخراج آنزیم‌های حذف‌کننده پراکسید هیدروژن، ۰/۲ گرم از نمونه‌های فریز شده برگگی توزین و در ۲ میلی‌لیتر از بافر فسفات پتاسیم سرد ۱۰۰ میلی‌مولار (اسیدیته=۷/۵)

میلی لیتر بافر فسفات ۱۰۰ میلی مولار (اسیدیته=۷)، ۲۵۰ میکرولیتر EDTA ۰/۱ میلی مولار، یک میلی لیتر گایاکول ۵ میلی مولار، یک میلی لیتر پراکسید هیدروژن ۱۵ میلی مولار و ۵۰ میکرولیتر از محلول آنزیمی استخراج شده است. تغییرات جذب نمونه‌ها در طول موج ۴۷۰ نانومتر در مدت یک دقیقه ثبت و میزان فعالیت آنزیم با استفاده از ضریب خاموشی $26/6 \text{ cm}^{-1} \text{ mmol}^{-1}$ محاسبه شد (Panda *et al.*, 2003).

استخراج و سنجش فعالیت آنزیم گلوکاتایون

S- ترانسفراز: به منظور استخراج آنزیم گلوکاتایون S- ترانسفراز، ۰/۲ گرم از نمونه‌های برگ‌گی توزین و در ۲ میلی لیتر از بافر فسفات پتاسیم سرد ۱۰۰ میلی مولار (اسیدیته=۶/۸) که محتوی EDTA ۰/۴ میلی مولار، پلی وینیل پیرولیدین ۰/۵ درصد (وزنی-حجمی) و سدیم متا بی سولفیت یک میلی مولار بود همگن شد. نمونه‌های همگن شده در ۲۱۰۰۰g و دمای ۴ درجه سانتیگراد به مدت ۱۵ دقیقه سانتریفیوژ شدند. محلول روشناور حاصل برای اندازه‌گیری فعالیت آنزیم یاد شده استفاده گردید (Carmagnol *et al.*, 1981). کمپلکس واکنشی شامل ۹۰۰ میکرولیتر بافر فسفات ۱۰۰ میلی مولار (اسیدیته=۷/۴)، ۴۵۰ میکرولیتر گلوکاتایون احیا ۳/۵ میلی مولار، ۱۰۰ میکرولیتر ۱-کلرو، ۲ و ۴-دی نیتروبنزن ۳۰ میلی مولار و ۱۰۰ میکرولیتر از محلول آنزیمی استخراج شده بود. تغییرات جذب نمونه‌ها در طول موج ۳۴۰ نانومتر در مدت یک دقیقه ثبت و میزان فعالیت آنزیم با استفاده از ضریب خاموشی $0/0096 \text{ cm}^{-1} \text{ mmol}^{-1}$ محاسبه شد (Carmagnol *et al.*, 1981).

محتوی EDTA ۰/۴ میلی مولار، آسکوربات ۳ میلی مولار، پلی وینیل پیرولیدین ۵ درصد (وزنی-حجمی) اضافه شد. نمونه‌های همگن شده در ۱۶۰۰۰g و دمای ۴ درجه سانتیگراد به مدت ۱۵ دقیقه سانتریفیوژ شدند. محلول روشناور حاصل برای اندازه‌گیری فعالیت آنزیم‌های حذف‌کننده پراکسید هیدروژن استفاده شد.

کاتالاز: کمپلکس واکنشی برای سنجش فعالیت

آنزیم کاتالاز شامل ۱/۵ میلی لیتر بافر فسفات پتاسیم ۱۰۰ میلی مولار (اسیدیته=۷)، ۰/۵ میلی لیتر پراکسید هیدروژن ۱/۲۵ میلی مولار و ۵۰ میکرولیتر از محلول آنزیمی است که حجم نمونه‌ها با اضافه کردن آب مقطر به ۳ میلی لیتر رسانده شد. تغییرات در جذب نمونه‌ها در طول موج ۲۴۰ نانومتر در مدت یک دقیقه ثبت گردید. فعالیت آنزیمی با استفاده از ضریب خاموشی $36/6 \text{ cm}^{-1} \text{ mmol}^{-1}$ محاسبه شد (Aebi, 1984).

آسکوربات پراکسیداز: کمپلکس واکنشی شامل

۲۵۰ میکرولیتر محلول بافر فسفات ۱۰۰ میلی مولار (اسیدیته=۷)، ۲۵۰ میکرولیتر آسکوربات یک میلی مولار، ۲۵۰ میکرولیتر EDTA ۰/۴ میلی مولار، ۱۹۰ میکرولیتر آب دو بار تقطیر، ۱۰ میکرولیتر پراکسید هیدروژن ۱۰ میلی مولار و ۵۰ میکرولیتر محلول آنزیمی استخراج بود. تغییرات جذب نمونه‌ها در طول موج ۲۹۰ نانومتر در مدت یک دقیقه ثبت و میزان فعالیت آنزیم با استفاده از ضریب خاموشی $2/8 \text{ cm}^{-1} \text{ mmol}^{-1}$ محاسبه شد (Sairam *et al.*, 2002).

گایاکول پراکسیداز: کمپلکس واکنشی شامل یک

به دست آمد (Sergiv *et al.*, 1997).

اندازه‌گیری سدیم و پتاسیم: نمونه‌های گیاهی برداشت شده در دمای ۷۵ درجه سانتیگراد خشک و به بخش‌های مختلف گیاهچه شامل ریشه، طوقه و برگ تقسیم شد. سپس، هر بخش گیاه پودر و یک گرم از آن در دمای ۵۶۰ درجه سانتیگراد به مدت ۴ ساعت قرار گرفته و به خاکستر تبدیل شد. خاکسترهای حاصل در ۲۰ میلی لیتر کلریدریک اسید یک نرمال حل شد. محلول حاصل در دمای ۹۰ درجه سانتیگراد تا تبخیر کامل اسید نگهداری گردید. بقایای حاصل در ۱۰۰ میلی لیتر آب دوبار تقطیر حل و با استفاده از کاغذ واتمن صاف شد. مقدار سدیم و پتاسیم نمونه‌ها با استفاده از دستگاه فلیم فومتر (مدل Jenway PFP7، شرکت Bibby Scientific، ساخت انگلستان) اندازه‌گیری شد. غلظت عناصر با استفاده از رابطه ۱ محاسبه شد:

$$\text{رابطه ۱: } E = [(C \times V \times D) / (M \times 10^6)] \times 100$$

در این رابطه، E: مقدار عنصر مورد نظر بر حسب درصد، C: غلظت عنصر بر حسب میلی گرم بر لیتر، D: درجه رقت، V: حجم نهایی عصاره تهیه شده بر حسب میلی لیتر، M: وزن خشک نمونه بر حسب گرم است (Azizpour *et al.*, 2010).

تحلیل آماری: برای انجام تحلیل‌های آماری، از هر تیمار حدود ۱۰ بوته نمونه برداری شد. تجزیه واریانس بر اساس طرح کرت‌های خرد شده انجام شد. همچنین، بررسی روند تغییرات صفات مورفولوژیک طی روزهای مورد مطالعه، از طریق رگرسیون خطی صورت گرفت. در این ارتباط از نرم‌افزارهای SPSS نسخه ۱۶ و Excel 2003 استفاده گردید.

میزان پروتئین محلول کل با روش Bradford (۱۹۷۶) اندازه‌گیری شد. از سرم آلبومین گاوی به عنوان استاندارد استفاده شد.

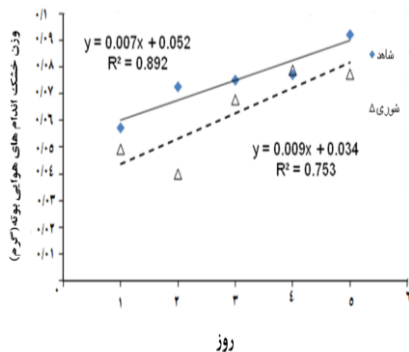
اندازه‌گیری میزان پراکسیداسیون لیپیدی و

پراکسید هیدروژن: میزان پراکسیداسیون لیپیدی بر اساس روش Stewart و Bewley (۱۹۸۰) اندازه‌گیری شد. در حدود ۰/۵ گرم از برگ‌های گندم در ۱۰ میلی لیتر از محلول ۰/۱ درصد تری کلرواستیک اسید همگن و به مدت ۱۰ دقیقه در ۱۵۰۰۰ g سانتیفریوژ گردید. ۲ میلی لیتر از روشناور حاصل با ۴ میلی لیتر از محلول ۲۰ درصد تری کلرواستیک اسید محتوی ۰/۵ درصد تیوباریتوریک اسید مخلوط شد. کمپلکس حاصل به مدت ۳۰ دقیقه در دمای ۹۵ درجه سانتیگراد نگهداری و سپس به حمام آب سرد منتقل گردید. نمونه‌ها دوباره به مدت ۱۰ دقیقه در ۱۰۰۰۰ سانتیفریوژ شدند. جذب نمونه‌ها در طول موج ۵۳۲ و ۶۰۰ نانومتر ثبت گردید. میزان پراکسید شدن لیپیدها با استفاده از اختلاف بین طول موج‌های جذبی و ضریب خاموشی $1 \text{ mmol}^{-1} \text{ cm}^{-1} 155$ به دست آمد.

برای اندازه‌گیری میزان پراکسید هیدروژن ۰/۵ گرم نمونه برگی در ۵ میلی لیتر از محلول ۰/۱ درصد تری کلرواستیک اسید (وزنی-حجمی) همگن شده و در ۱۲۰۰۰ g به مدت ۱۵ دقیقه سانتیفریوژ گردید. سپس کمپلکس واکنش با ترکیب ۰/۵ میلی لیتر روشناور، ۰/۵ میلی لیتر بافر فسفات ۱۰ میلی مولار (اسیدیته=۷)، و یک میلی لیتر یدید پتاسیم یک مولار به دست آمد. میزان جذب نمونه‌ها در طول موج ۳۹۰ نانومتر ثبت گردید. میزان پراکسید هیدروژن با استفاده از منحنی استاندارد

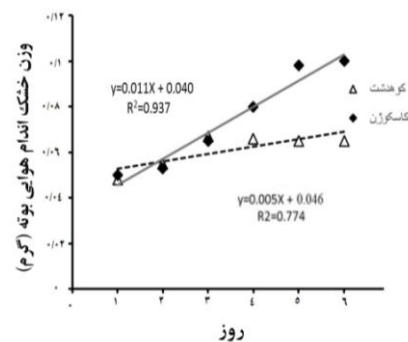
نتایج و بحث

گذشت زمان، میزان وزن خشک کل بوته در هر دو شرایط شاهد و شوری افزایش داشت (شکل ۴). اما میزان تولید ماده خشک کل تک بوته در شاهد بیشتر از شوری بود که ضریب رگرسیونی بزرگ تر و شیب تند رابطه حاصل گویای آن است. همچنین، نتایج نشان داد که تنش شوری تأثیری بر طول ریشه در ارقام مطالعه شده نداشته است (نتایج نشان داده نشده است). شوری سبب کاهش جذب آب توسط ریشه گیاه، افت تبادلات گازی و فتوسنتز می‌گردد که برآیند آنها کاهش تولید ماده خشک است. تولید ماده خشک در شرایط شوری به عنوان یک شاخص ارزیابی تحمل به شوری استفاده می‌گردد (Azevedo et al., 2004؛ Munns and Tester, 2008؛ Eker et al., 2006). در همین راستا، Azevedo و همکاران (۲۰۰۴) و Eker و همکاران (۲۰۰۶) گزارش کردند که ارقام حساس به شوری ذرت میزان ماده خشک کمتری نسبت به ارقام مقاوم در شرایط تنش شوری تولید می‌نمایند. بر این اساس نیز رقم کوهدشت نسبت به رقم گاسکوژن از تنش شوری بیشتر متأثر شده، میزان تولید ماده خشک آن کمتر بود.

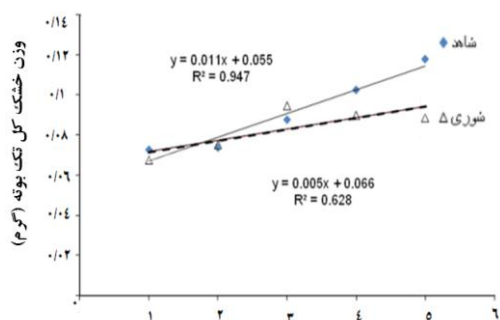


شکل ۲- رابطه وزن خشک اندام‌های هوایی و تعداد روز پس از اعمال شوری در سطوح تنش شوری

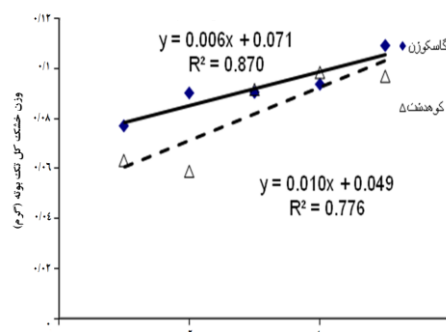
رابطه رگرسیونی ارقام با تعداد روز مشخص نمود که با گذشت زمان، وزن خشک اندام‌های هوایی به طور معنی‌داری در ارقام کوهدشت و گاسکوژن افزایش می‌یابد (شکل ۱). اما رقم گاسکوژن از سرعت بالاتری در افزایش وزن خشک اندام‌های هوایی در مدت زمان مطالعه شده برخوردار بود که شیب تغییرات و ضریب رگرسیون بزرگ تر تأیید کننده آن است. به علاوه، رابطه رگرسیونی سطوح شوری (شاهد و ۲۰۰ میلی مولار کلرید سدیم) با تعداد روز نشان داد که با گذشت زمان، وزن خشک اندام‌های هوایی در هر دو شرایط شاهد و شوری افزایش یافت (شکل ۲). اما میزان تولید ماده خشک اندام‌های هوایی در زمان‌های مختلف مطالعه شده در شاهد همواره بیشتر از شوری بود (شکل ۲) که ضریب رگرسیون بزرگ تر و شیب تند رابطه حاصل گویای آن است. شایان ذکر است که نتایج حاصل از رابطه رگرسیونی ارقام مطالعه شده با تعداد روز نشان داد که با گذشت زمان و گاسکوژن به طور معنی‌داری افزایش یافت (شکل ۳). همچنین، رابطه رگرسیونی تیمارهای شوری با تعداد روز نشان داد که با



شکل ۱- رابطه وزن خشک اندام‌های هوایی و تعداد روز پس از اعمال شوری در ارقام کوهدشت و گاسکوژن گندم



شکل ۴- رابطه وزن خشک کل بوته و تعداد روز پس از اعمال شوری در سطوح تنش شوری



شکل ۳- رابطه وزن خشک کل بوته و تعداد روز پس از اعمال شوری در ارقام کوهدشت و گاسکوژن گندم

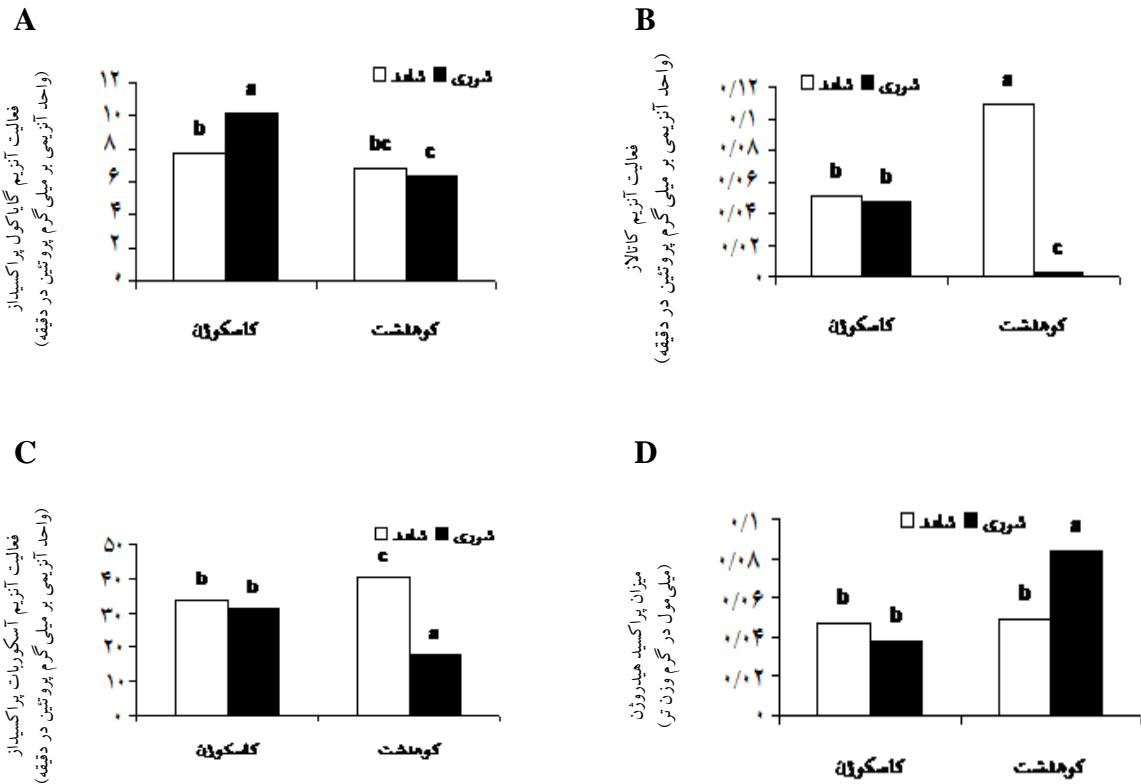
مطالعه شد (شکل ۶- A). اما میزان افزایش مالون دی آلدهید در اثر شوری در رقم کوهدشت تقریباً دو برابر گاسکوژن بود. فعالیت آنزیم گلوکاتاتیون S-ترانسفراز در رقم گاسکوژن در اثر شوری به طور معنی داری در مقایسه با شاهد افزایش داشت. اما در رقم کوهدشت نتیجه عکس مشاهده گردید. بدین معنی که تنش شوری سبب کاهش قابل ملاحظه فعالیت این آنزیم در رقم کوهدشت شد (شکل ۶- B).

نتایج نشان داد که شوری سبب افزایش میزان سدیم و کاهش پتاسیم در بخش‌های ریشه، طوقه و برگ ارقام مورد مطالعه گردید. برآیند این تغییرات سبب افت نسبت پتاسیم به سدیم در بخش‌های مختلف ارقام کوهدشت و گاسکوژن شد (جدول ۱). به علاوه، بین ارقام یاد شده از نظر میزان سدیم موجود در ریشه در اثر شوری تفاوت معنی داری مشاهده نشد. اما میزان سدیم تجمع یافته در طوقه و برگ در رقم کوهدشت بیشتر بود و با رقم گاسکوژن اختلاف معنی داری نشان داد (جدول ۱). همچنین، بین ارقام کوهدشت و گاسکوژن از نظر میزان پتاسیم موجود در برگ و طوقه اختلاف

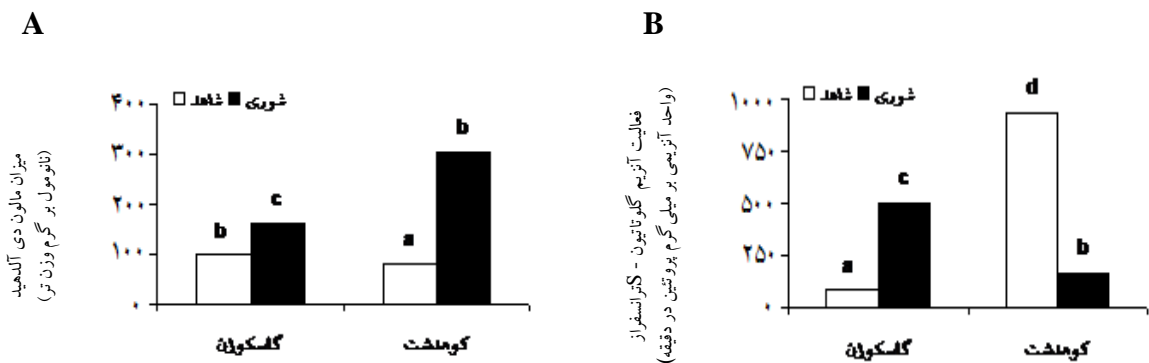
در پژوهش حاضر، فعالیت آنزیم‌های کاتالاز، گایاکول پراکسیداز و آسکوربات پراکسیداز به عنوان مهم‌ترین آنزیم‌های حذف کننده پراکسید هیدروژن بررسی شد. نتایج حاصل نشان داد که در رقم کوهدشت تنها تغییرات فعالیت گایاکول پراکسیداز در اثر شوری نسبت به شاهد معنی دار نبود (شکل ۵- A). اما در این رقم فعالیت آنزیم‌های آسکوربات پراکسیداز و کاتالاز در اثر شوری به طور معنی داری نسبت به شاهد کاهش داشت (شکل ۵- B و C). در حالی که در رقم گاسکوژن فعالیت آنزیم گایاکول پراکسیداز در اثر شوری به شکل معنی داری در مقایسه با شاهد افزایش یافت (شکل ۵- A). اما فعالیت دو آنزیم دیگر، کاتالاز و آسکوربات پراکسیداز، در این رقم از شوری متأثر نشد (شکل ۵- B و C). میزان پراکسید هیدروژن در رقم گاسکوژن تحت تأثیر شوری قرار نگرفت اما در رقم کوهدشت میزان این ترکیب سمی در اثر شوری به طور معنی داری نسبت به شاهد افزایش یافت (شکل ۵- D). شایان ذکر است که شوری سبب افزایش معنی دار میزان مالون دی آلدهید در هر دو رقم گندم مورد

مطالعه شده از نظر نسبت پتاسیم به سدیم در اندام‌های برگ و طوقه اختلاف معنی‌داری وجود داشت و کمترین میزان به رقم کوهدشت متعلق بود (جدول ۱).

معنی‌داری وجود داشت و در هر دو اندام کمترین مقدار این عنصر در رقم کوهدشت مشاهده شد (جدول ۱). شایان ذکر است که در تیمار شوری بین ارقام



شکل ۵- اثر تنش شوری بر فعالیت آنزیم گایاکول پراکسیداز (A)، کاتالاز (B)، آسکوربات پراکسیداز (C) و میزان پراکسید هیدروژن (D) در ارقام کوهدشت و گاسکوژن گندم. مقادیر، میانگین پنج تکرار است. حروف یکسان بیانگر عدم اختلاف معنی‌دار در سطح $P < 0.05$ است.



شکل ۶- اثر تنش شوری بر میزان مالون دی‌آلدهید (A) و فعالیت آنزیم گلوکاتیون S-ترانسفراز (B) در ارقام کوهدشت و گاسکوژن گندم. مقادیر، میانگین پنج تکرار است. حروف یکسان بیانگر عدم اختلاف معنی‌دار در سطح $P < 0.05$ است.

جدول ۱- میزان سدیم، پتاسیم و نسبت پتاسیم به سدیم در ریشه، طوقه و برگ ارقام کوهدشت و گاسکوژن گندم. مقادیر، میانگین پنج تکرار است. حروف یکسان بیانگر عدم اختلاف معنی دار در سطح $P < 0.05$ است.

اندام	ارقام	سدیم (درصد)		پتاسیم (درصد)		نسبت پتاسیم به سدیم	
		شاهد	شوری	شاهد	شوری	شاهد	شوری
برگ	گاسکوژن	۰/۰۷۲۶c	۰/۵۷۱b	۰/۳۶۲a	۰/۲۷۸b	۵/۰۳۹a	۰/۴۸۷a
	کوهدشت	۰/۰۵۹۵c	۰/۷۰۲a	۰/۲۹۰b	۰/۲۵۳c	۴/۸۸a	۰/۳۶۱b
طوقه	گاسکوژن	۰/۰۷۹c	۰/۵۵۸b	۰/۵۳۷b	۰/۳۲۷c	۶/۸۷۲b	۰/۵۸۶c
	کوهدشت	۰/۰۶۰c	۰/۷۲۶a	۰/۵۶۹a	۰/۲۵۴d	۹/۵۳a	۰/۳۵۳d
ریشه	گاسکوژن	۰/۳۲۱۵b	۰/۵۷۲a	۰/۱۹۰a	۰/۰۵۲c	۰/۵۹۱a	۰/۰۹۰۴c
	کوهدشت	۰/۳۱۲۷b	۰/۵۹۰a	۰/۱۰۲b	۰/۰۵۰c	۰/۳۲۶b	۰/۰۸۲۶c

دارد. به طوری که با افزایش فعالیت آنزیم کاتالاز تحمل گیاه به شوری نیز افزایش یافت و برعکس. در پژوهش حاضر نیز در رقم حساس به شوری، کوهدشت، فعالیت آنزیم‌های آسکوربات پراکسیداز و کاتالاز، از مهم‌ترین آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان، به طور معنی‌داری کاهش یافت (شکل ۵-B و C). از سوی دیگر، فعالیت آنزیم گایاکول پراکسیداز نیز بدون تغییر در این رقم ماند (شکل ۵-A) که برآیند آن تجمع پراکسید هیدروژن در اثر شوری در رقم کوهدشت بود (شکل ۵-D) که ناشی از غلبه تولید پراکسید هیدروژن بر فعالیت آنزیم‌های جمع‌آوری کننده آن است. کاهش فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز در رقم کوهدشت می‌تواند یکی از مهم‌ترین عوامل حساسیت این رقم به شوری به شمار آید. زیرا این آنزیم در چرخه‌های گلوتاتیون-آسکوربات (Halliwell, 2006) و مهلر (Asada, 2000) فعالیت می‌کند که کاهش فعالیت آن افت کارآیی چرخه‌های یاد شده را در رقم کوهدشت در پی دارد. از مهم‌ترین محل‌های فعالیت چرخه‌های مذکور، کلروپلاست است و افت فعالیت آسکوربات پراکسیداز به دلیل عدم تعدیل نسبت

بسیاری از پژوهشگران معتقدند که افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان سبب افزایش تحمل گیاهان به تنش شوری می‌شود (Costa et al., 2003; Srivalli et al., 2005; Esfandiari et al., 2006; Koca et al., 2007a; Mahmoud et al., 2007a; Gapinska et al., 2008; 2009). زیرا با افزایش فعالیت این آنزیم‌ها بین تولید و جمع‌آوری انواع اکسیژن فعال در سلول‌های گیاهی تعادل ایجاد شده، از شدت خسارت به مولکول‌های زیستی و اختلالات متابولیسمی ذکر شده کاسته می‌شود. به این ترتیب، سلول در وضعیت مطلوب‌تری قرار گرفته، از وقوع تنش اکسیداتیو پیشگیری می‌گردد. پژوهشگران متعددی از جمله: Dalton و همکاران (۱۹۹۴)، Srivalli و همکاران (۲۰۰۳)، Costa و همکاران (۲۰۰۶)، Koca و همکاران (۲۰۰۵)، Gapinska و همکاران (۲۰۰۸) و Mahmoud و همکاران (۲۰۰۹) افزایش فعالیت پراکسیدازها و کاتالاز را از جمله عوامل مقاومت به تنش شوری اعلام نموده‌اند. در همین راستا، Mahmoud و همکاران (۲۰۰۹) با مطالعه روی گیاه سیب‌زمینی تراریخته نشان داد که آنزیم کاتالاز در تحمل به شوری نقش ویژه‌ای

اکسیژن فعال از جمله پراکسید هیدروژن است. چنان که قبلاً نیز اشاره شد اجرای این واکنش ضمن اثر منفی بر نفوذپذیری انتخابی غشا، متابولیت سمی دیگری به نام 4-hydroxynonenal تولید می‌کند. آثار سمی و تخریبی این متابولیت پیش‌تر بحث شده است. نتایج بررسی‌های Katsuhara و همکاران (۲۰۰۵) نشان داد که با افزایش فعالیت آنزیم گلوکاتایون S-ترانسفراز کاهش پراکسیداسیون لیپیدی اتفاق می‌افتد. آنها علت این امر را تجزیه ترکیبات سمی آسیب‌رسان حاصل از اکسیداسیون اسیدهای چرب ذکر می‌کنند. افزایش فعالیت گلوکاتایون S-ترانسفراز در شرایط شوری توسط Roxas و همکاران (۱۹۹۷) و Gapinska و همکاران (۲۰۰۸) نیز گزارش شده است. به علاوه، این پژوهشگران نیز کاهش میزان پراکسیداسیون لیپیدی را با افزایش فعالیت آنزیم گلوکاتایون S-ترانسفراز گزارش کرده‌اند. آنها معتقدند که افزایش فعالیت آنزیم گلوکاتایون S-ترانسفراز نه تنها سبب زدودن ترکیبات سمی حاصل از پراکسیداسیون لیپیدی می‌گردد بلکه عمل ترکیب گلوکاتایون با دیگر مشتقات سمی حاصل از اکسیداسیون سایر مولکول‌های زیستی نظیر نوکلئیک اسیدها را کاتالیز می‌کند. برخی از پژوهشگران از جمله Ezaki و همکاران (۲۰۰۰) با استفاده از آراییدوبسیس ترا ریخته که توانایی بالایی در بیان آنزیم گلوکاتایون S-ترانسفراز داشت، نشان دادند که افزایش بیان و فعالیت این آنزیم سبب تحمل به سمیت آلومینیوم، مس و تنش شوری گردید. همچنین، Roxas و همکاران (۱۹۹۷) کاهش پراکسیداسیون لیپیدی ناشی از انواع اکسیژن فعال را همراه با افزایش فعالیت گلوکاتایون S-ترانسفراز گزارش نموده‌اند. همچنین، آنها ژن مربوط

$NADP^+/NADPH, H^+$ و پتانسیل احیای کلروپلاست، سبب افزایش تولید انواع اکسیژن فعال و بروز تنش اکسیداتیو شدیدتر می‌گردد. کاتالاز نیز پراکسید هیدروژن حاصل از β -اکسیداسیون اسیدهای چرب و تنفس نوری را در پراکسی‌زوم حذف می‌کند (Mittler, 2002). اما در رقم گاسکوژن افزایش فعالیت گایاکول پراکسیداز به همراه عدم تغییر معنی‌دار آسکوربات پراکسیداز و کاتالاز در اثر شوری توانست بین تولید پراکسید هیدروژن و جمع‌آوری آن تعادل ایجاد نماید که حاصل تنظیم و عدم افزایش پراکسید هیدروژن در سلول‌های برگ است.

همان‌طور که قبلاً اشاره شد میزان پراکسیداسیون لیپیدی در اثر شوری در هر دو رقم افزایش یافت (شکل ۶-۱). آسیب به غشاها در رقم کوه‌دشت ناشی از کاهش فعالیت آنزیم‌های حذف‌کننده پراکسید هیدروژن و تجمع این متابولیت سمی است. اما افزایش پراکسیداسیون لیپیدی در رقم گاسکوژن علی‌رغم افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان، گویای غلبه متابولیت‌های سمی و آسیب‌رسان بر مکانیسم‌های دفاعی آن است. افزایش میزان پراکسیداسیون لیپیدی توسط پژوهشگران متعدد در تنش شوری و در گیاهان مختلف گزارش شده است. از جمله آنها می‌توان به مطالعه بر برنج (Dionisio and Tobita, 1998)، گندم (Esfandiari *et al.*, Sairam and Srivastava, 2002)، نخود (Gomez *et al.*, 1999) و چغندر قند (Bor *et al.*, 2003) اشاره نمود. نتایج حاصل از پژوهش حاضر نیز با یافته‌های پژوهشگران یاد شده همسو است.

پراکسیداسیون لیپیدهای غشا از آثار منفی انواع

این بخش‌ها بود (جدول ۱). بر این اساس می‌توان هر دو رقم گندم را جزو ارقام حساس به شوری به شمار آورد. در حالی که بررسی فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان، شاخص‌های تنش اکسیداتیو و میزان ماده خشک تولیدی نتایج متفاوتی را در مورد رقم کوهدشت و گاسکوژن نشان داد (شکل‌های ۴ و ۵). در رقم کوهدشت به علت عملکرد ضعیف مکانیسم‌های دفاعی و احتمالاً عدم توانایی جداسازی و انباشته‌سازی سدیم در بخش‌هایی از سلول (غیر از سیتوسول)، سبب آسیب به نقاط کلیدی سلول، بروز تنش اکسیداتیو، کاهش تولید ماده خشک و حساسیت آن به شوری شده است. در همین راستا، Kafi (۲۰۰۸) گزارش می‌کند که میزان سدیم موجود در برگ معیار مناسبی برای ارزیابی تحمل به شوری محسوب نمی‌شود. وی معتقد است گیاهان می‌توانند با جداسازی سدیم در نواحی ای به غیر از سیتوسول نظیر: واکوئول و آپوپلاست سمیت این عنصر را کاهش داده، توان رشدی خود را در محیط‌های شور حفظ نمایند.

نتیجه‌گیری کلی

پژوهشگران متعددی معتقدند که ارقامی که از توانایی عدم جذب سدیم، انتقال دوباره آن به بیرون از ریشه، جلوگیری از انتقال آن به بخش‌های هوایی و نظایر آن برخوردارند سبب کاهش میزان سدیم موجود در اندام‌های هوایی می‌شوند و به همین دلیل نیز میزان این عنصر را معیاری برای گزینش ارقام متحمل به شوری معرفی نموده‌اند. در مقابل نیز پژوهش‌های متعددی نشان می‌دهد که اگر گیاه توانایی جداسازی و ذخیره سدیم را در بخش‌هایی مانند واکوئول را داشته باشد می‌تواند از

به این آنزیم را کاندید خوبی برای ایجاد تحمل به انواع تنش‌ها اعلام کرده‌اند. در پژوهش حاضر نیز افزایش آنزیم گلوکاتایون S-ترانسفراز سبب کاهش میزان مالون دی‌آلدئید در رقم گاسکوژن گردید (شکل ۶-B). به علاوه، در رقم کوهدشت میزان فعالیت این آنزیم در شرایط شوری نسبت به شاهد کاهش معنی‌داری داشت (شکل ۶-B). از طرفی، میزان پراکسیداسیون لیپیدی حدوداً دو برابر گاسکوژن در شرایط شوری بود (شکل ۶-A). این نتایج نشان می‌دهد که علاوه بر پراکسید هی‌دروژن، 4-hydroxynonenal حاصل از پراکسیداسیون لیپیدی نیز سمی است و سبب افزایش آسیب به غشاها و حساسیت رقم به تنش شوری می‌گردد.

سدیم عنصری سمی برای سلول‌های گیاه به ویژه برگ به‌شمار می‌آید. بر همین اساس برخی از پژوهشگران معتقدند که ارقام یا ژنوتیپ‌هایی که از سازوکارهایی نظیر: ممانعت از جذب، انتقال دوباره سدیم به بیرون ریشه، جلوگیری از انتقال سدیم به بخش‌های هوایی برخوردارند قادرند سدیم اندکی را در برگ انباشته نموده، به شوری مقاوم باشند (Davenport *et al.*, 2005). در پژوهش حاضر، هر دو رقم کوهدشت و گاسکوژن سدیم موجود در محیط را جذب و در ریشه خود انباشته نمودند (جدول ۱) که با توجه به رقابت بین جذب سدیم و پتاسیم و برنده شدن سدیم در این مورد، میزان پتاسیم و نسبت پتاسیم به سدیم در ریشه ارقام یاد شده کاهش نشان داد (جدول ۱). اما در ارقام کوهدشت و گاسکوژن سدیم جذب شده به طوقه و سپس برگ‌ها انتقال یافته است که برآیند آن کاهش پتاسیم و نسبت پتاسیم به سدیم در

پراکسید هیدروژن به همراه گلوکاتایون S-ترانسفراز، سبب کاهش شدت تنش اکسیداتیو، افزایش تحمل به شوری و حفظ توان تولید ماده خشک گردید.

سپاسگزاری

نگارندگان از معاونت پژوهشی دانشگاه مراغه به خاطر حمایت مالی پژوهش حاضر نهایت تشکر و قدردانی را دارند.

آثار سمی این عنصر بکاهد. بر همین اساس پیشنهاد می‌گردد که برای ارزیابی بهتر ژنوتیپ‌ها یا ارقام گندم از نظر تحمل به شوری و نیز استفاده بهینه از ذخایر ژنتیکی علاوه بر میزان سدیم و تسهیم آن در بخش‌های مختلف گیاه مکانیسم‌های دفاعی گیاه برای مقابله با بروز تنش اکسیداتیو ناشی از شوری مورد توجه قرار گیرد. به طوری که در رقم گاسکوژن علی‌رغم تجمع سدیم در برگ، عملکرد مطلوب آنزیم‌های جمع‌آوری‌کننده

منابع

- Aebi, H. (1984) Catalase *in vitro*. Method of enzymology 105(1): 121-126.
- Asada, K. (2000) The water-water cycle as alternative photon and electron sinks. Philosophical Transactions of the Royal Society 355(1402): 1419-1431.
- Azevedo, N., Prisco, J., Enéas-Filho, J., Lacerda, C., Silva, J., Costa, P. and Gomes-Filho, E. (2004) Effects of salt stress on plant growth, stomatal response and solute accumulation of different maize genotypes. Brazilian Journal of Plant Physiology 16(1): 31-38.
- Azizpour, K., Shakiba, M., Khosh Kholgh Sima, N., Alyari, H., Moghaddam, M., Esfandiari, E. and Pesarakli, M. (2010) Physiological response of spring durum wheat genotypes to salinity. Journal of Plant Nutrition 33(6): 859-873.
- Bor, M., Özdemir, F. and Türkan, I. (2003) The effect of salt stress on lipid peroxidation and antioxidants in leaves of sugar beet *Beta vulgaris* L. and wild beet *Beta maritima* L. Plant Science 164(1): 77-84.
- Bradford, M. (1976) A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. Analytical Biochemistry 72(1-2): 248-254.
- Carmagnol, F., Sinet, P. M., Rapin, J. and Jerome, H. (1981) Glutathione S-transferase of human red blood cells assay, values in normal subjects and in two pathological circumstances: Hiperbilirubinemia and impaired renal function. Clinica Chimica Acta 117(2): 209-217.
- Chinnusamy, V. and Zhu, J. (2003) Plant salt tolerance. Topics in Current Genetics 4(2): 241-270.
- Costa P., Neto, A., Bezerra, M., Prisco, J. and Filho, F. (2005) Antioxidant enzymatic system of two sorghum genotypes differing in salt tolerance. Brazilian Journal of Plant Physiology 17(4): 353-361.
- Dalton, R., Gossett, E., Millhollon, M., Carn, L., Banks, S. and Marney, M. (1994) The effects of NaCl on antioxidant enzyme activities in callus tissue of salt-tolerant and salt-sensitive cotton cultivars (*Gossypium hirsutum* L.). Plant Cell Report 13(9): 498-503.
- Davenport, R., James, R., Zakrisson, A., Tester M. and Munns, R. (2005) Control of sodium transport in durum wheat. Plant Physiology 137(3): 807-818.
- Dionisio, M. L. and Tobita, S. (1998) Antioxidant response of rice seedling to salinity stress. Plant Science 135(1): 1-9.

- Edreva, A. (2005) Generation and scavenging of reactive oxygen species in chloroplasts: a submolecular approach. *Agriculture, Ecosystems and Environment* 106(2): 119-133.
- Eker, S., Comertpay, G., Konuskan, O., Ulger, A., Ozturk, L. and Cakmak, I. (2006) Effect of salinity stress on dry matter production and ion accumulation in hybrid maize varieties. *Turkish Journal of Agriculture and Forestry* 30(5): 365-373.
- Esfandiari, E. and Vahdati Rad, A. (2012) Decline of tolerance in leaf photooxidative-stress with age in sunflower. *Journal of Plant Biology* 4(4): 1-14 (in Persian).
- Esfandiari, E., Javadi, A., Shokrpour, M. and Shekari, F. (2011) The effect of salt stress on the antioxidant defense mechanisms on wheat seedling. *Fresenius Environmental Bulletin* 20(8): 2021-2036.
- Esfandiari, E., Shakiba, M., Mahboob, S., Alyari, H. and Toorchi, M. (2007a) Water stress, antioxidant enzyme activity and lipid peroxidation in wheat seedling. *Journal of Food Agriculture and Environment* 5(1): 48-53.
- Esfandiari, E., Shekari, F., Shekari, F. and Esfandiari, M. (2007b) The effect of salt stress on antioxidant enzymes activity and lipid peroxidation on the wheat seedling. *Notulae Botanicae Horti Agrobotanici Cluj-Napoca* 35(1): 48-56.
- Esfandiari, E., Shokrpour, M. and Alavikia, S. S. (2010) Effect of Mg deficiency on antioxidant enzymes activities and lipid peroxidation. *Journal of Agricultural Science* 2(3): 131-136.
- Ezaki, B., Gardner, R., Ezaki, Y. and Matsumoto, H. (2000) Expression of aluminum-induced genes in transgenic Arabidopsis plant can ameliorate aluminum stress and/or oxidative stress. *Plant Physiology* 122(3): 657-665.
- Gapinska, M., Sklodowska, M. and Gabara, B. (2008) Effect of short and long term salinity on the activities of antioxidative enzymes and lipid peroxidation in tomato roots. *Acta Physiology Plant* 30(1): 11-18.
- Gomez, J. M., Hernandez, J. A., Jimenez, A., del Rio, L. A. and Sevilla, F. (1999) Differential response of antioxidative enzymes of chloroplasts and mitochondria to long term NaCl stress of pea plants. *Free Radical Research* 31(1): 11-18.
- Gupta, P. K. (2002) *Cell and molecular biology*. 1st edition, Rastagi Publication. India.
- Halliwell, B. (2006) Reactive species and antioxidants: Redox biology is a fundamental theme of aerobic life. *Plant Physiology* 141(2): 312-322.
- Hussain, T., Chandrasekhar, T., Hazara, M., Sultan, Z., Saleh, B. and Gopal, G. (2008) Recent advances in salt stress biology. *Biotechnology and Molecular Biology Review* 3(1): 8-13.
- Kafi, M. (2008) Saline agriculture and its necessity in Iran. In: *Proceeding of 10th Iranian Crop Sciences Congress, Karaj, Iran* (in Persian).
- Karamian, R. and Ataei Barazandeh, S. (2013) Effect of salinity on some growth parameters in three *Onobrychis* species (Fabaceae) in Iran. *Journal of Plant Biology* 5(15): 69-82 (in Persian).
- Katsuhara, M., Otsuka, T. and Ezaki, B. (2005) Salt stress induced lipid peroxidation is reduced by glutathione S-transferase, but this reduction of lipid peroxidase is not enough for a recovery of root growth in Arabidopsis. *Plant Science* 169(2): 369-373.
- Koca, H., Ozdemir, F. and Turkan, I. (2006) Effect of salt stress on lipid peroxidation and superoxide dismutase and peroxidase activities of *Lycopersicon esculentum* and *L. pennellii*. *Biologia Plantarum* 50(4): 745-748.

- Mahmoud, M., Bettaieb, T., Harbaoui, Y., Mougou, A. and Jardin, P. (2009) Insight into the role of catalases in salt stress in potato (*Solanum tuberosum* L.). *Biotechnologie, Agronomie, Société et Environnement* 13(3): 373-379.
- Mansour, M. M. F., Salama, K. H. A., Ali, F. Z. M. and Hadid, A. F. A. (2005) Cell and plant responses to NaCl in *Zea mays* L. cultivars differing in salt tolerance. *General and Applied Plant Physiology* 31(1-2): 29-41.
- Marrs, K. (1996) The functions and regulation of glutathione S-transferase in plants. *Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology* 47(1): 127-158.
- Mittler, R. (2002) Oxidative stress, antioxidants and stress tolerance. *Trends in Plant Science* 7(9): 405-410.
- Mittler, R., Vanderauwera, S., Gollery, M. and Breusegem, F. V. (2004) Reactive oxygen gene network of plants. *Trend Plant Science* 9(10): 490-498.
- Munns, R. and Tester, M. (2008) Mechanism of salinity tolerance. *The Annual Review of Plant Biology* 59(2): 651-681.
- Murillo-Amador, B., Jones, H. G., Kaya, C., Aguilar, R. L., Garc'ia-Hern'andez, J. L., Troyo-Di'eguez, E., Avila-Serrano, N. Y. and Rueda-Puente, E. (2006) Effects of foliar application of calcium nitrate on growth and physiological attributes of cowpea (*Vigna unguiculata* L. Walp.) grown under salt stress. *Environmental and Experimental Botany* 58(1-3): 188-196.
- Panda, S. K., Singha, L. B. and Khan, M. H. (2003) Does aluminum phytotoxicity induce oxidative stress in greengram (*Vigna radiate*). *Bulgarian Journal Plant Physiology* 29(1-2): 77-86.
- Roxas, V. P., Wang, J., Lohdi, S. and Allen, R. D. (1997) Engineering stress tolerance in transgenic plants. *Acta Physiologiae Plantarum* 19(4): 591-594.
- Sairam, R. K. and Srivastava, G. C. (2002) Changes in antioxidant activity in sub-cellular fractions of tolerant and susceptible wheat genotypes in response to long term salt stress. *Plant Science* 162(6): 897-904.
- Sairam, R. K., Rao, K. V. and Srivastava, G. C. (2002) Differential response of wheat genotypes to long term salinity stress in relation to oxidative stress, antioxidant activity and osmolyte concentration. *Plant Science* 163(5): 1037-1046.
- Schneider, C., Porter, N. and Brash, A. (2008) Routes to 4-hydroxynonenal: fundamental issues in the mechanisms of lipid peroxidation. *Journal of Biological Chemistry* 283(23): 15539-15543.
- Sergiv, I., Alexieva, V. and Karanov, E. (1997) Effect of spermine, atrazine and combination between them on some endogenous protective systems and stress markers in plants. *Comptes Rendus de l'Academie Bulgare Des Sciences* 51(4): 121-124.
- Srivalli, B., Sharma, G. and Khanna-Chopra, R. (2003) Antioxidant defense system in an upland rice cultivar subjected to increasing intensity of water stress followed by recovery. *Physiologia Plantarum* 119(4): 503-512.
- Stewart, R. R. C. and Bewley, J. D. (1980) Lipid peroxidation associated aging of soybean axes. *Plant Physiology* 65(2): 245-248.
- Tejera, N. A., Soussi, M. and Lluch, C. (2006) Physiological and nutritional indicators of tolerance to salinity in chickpea plants growing under symbiotic conditions. *Environmental and Experimental Botany* 58(1-3): 17-24.
- Zarkovic, N. (2003) 4-Hydroxynonenal as a bioactive marker of pathophysiological processes. *Molecular Aspects of Medicine* 24(4-5): 281-291.

Zörb, C., Schmitt, S., Neeb, A., Karl, S., Linder, M. and Schubert, S. (2004) The biochemical reaction of maize (*Zea mays* L.) to salt stress is characterized by a mitigation of symptoms and not by a specie adaptation. *Plant Science* 167(1): 91-100.

Role of scavenging enzymes and hydrogen peroxide and glutathione S-transferase in mitigating the salinity effects on wheat

Ezatollah Esfandiari * and Adel Javadi

Department of Agronomy and Plant Breeding, Faculty of Agriculture, University of Maragheh, Maragheh, Iran

Abstract

In order to study effects of salt stress on activities of hydrogen peroxide scavenging enzymes, glutathione S-transferase, some oxidative stress markers and Na⁺ and K⁺ distribution patterns in sensitive (Koohdasht) and tolerant (Gaskogen) wheat varieties were selected and grown in aeroponics culture. The seedlings were fed by nutrition solution till 3-4 leaf stage then the medium was added 200 mM NaCl. The plants were hold at this condition for 14 days. The results indicated that Gaskogen had always more shoot dry matter than Koohdasht. Also, dry matter production rate in control condition was higher than salinity. The enzyme activity of catalase, ascorbate peroxidase and glutathione S-transferase, was significantly decreased under salinity condition compared to the control condition in Koohdasht variety. However guaiacol peroxidase activity in this variety did not change significantly compared to the control. The activities of guaiacol peroxidase and glutathione S-transferase in Gaskogen significantly was increased under salinity whereas ascorbate peroxidase and catalase did not have any significant variation. Further results showed that sodium was readily absorbed and transported to the shoot in both varieties. Among various parts of cultivars there was no difference regarding the level of accumulated sodium. As a result, the ratio of potassium and sodium in various parts of the seedlings was decreased. Results obtained from this study showed that activity of scavenging enzyme like hydrogen peroxide together with glutathione S-transferase caused controlling of toxic compounds in the Gaskogen variety and suppressed oxidative stress affects in compared to Koohdasht that could refer to lower rate of hydrogen peroxidase and less lipid peroxidation in Koohdasht. As a final result, it could be stated that H₂O₂-scavenging enzymes and glutathione S-transferase had special roles in detoxification of toxic compounds leading to keep stable conditions inside the plant cells in salinity conditions. In addition, it is suggested that for better evaluation of salt tolerance in wheat genotypes or varieties and optimum utilization of genetic resources, addition to sodium rate and its allocation in various parts of the plant, defense mechanisms should be considered against oxidative stress induced salinity.

Key words: Oxidative stress, Sodium, Salinity, Wheat, Defenses mechanism

* Corresponding Author: esfandiari@maragheh.ac.ir