

## الگوی ایزوزیم‌های سوپراکسید دیسموتاز، کاتالاز و پراکسیداز در گیاهچه‌های لوبیا سفید (*Phaseolus vulgaris* L.) در تنش شوری

سجاد محرم نژاد<sup>۱</sup>، مصطفی ولیزاده<sup>۲\*</sup> و ابراهیم دورانی<sup>۲</sup>  
۱، ۲، ۳. دانشجوی کارشناسی ارشد اصلاح نباتات، استاد و استادیار، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تبریز  
(تاریخ دریافت: ۱۳۹۱/۸/۳ - تاریخ تصویب: ۱۳۹۲/۹/۱۳)

### چکیده

هدف این مطالعه ارزیابی اثر تنش شوری بر فعالیت ایزوزیم‌های آنتی‌اکسیدان سوپراکسید دیسموتاز (SOD)، کاتالاز (CAT) و پراکسیداز (POX) در ۱۸ ژنوتیپ لوبیا سفید (*Phaseolus vulgaris* L.) و مقایسه با شرایط طبیعی در قالب فاکتوریل با طرح پایه کاملاً تصادفی است. برای هر نوار ژل فعالیت ایزوزیمی با نرم‌افزار MCID به صورت میزان "مساحت × شدت" محاسبه شد. سه ایزوزیم برای SOD، یک ایزوزیم برای CAT و سه ایزوزیم برای POX به دست آمد. براساس تجزیه واریانس داده‌ها، فعالیت همه ایزوزیم‌ها جز POX2 بین ژنوتیپ‌ها و سطوح شوری و "اثر متقابل بین ژنوتیپ × سطوح شوری" برای SOD1، SOD2، SOD3 و POX3 در سطح احتمال یک درصد معنادار شد. در حالی که برای اثر متقابل برای SOD3، POX1، CAT، POX2 بی‌معنا بود. فعالیت ایزوزیمی در حالت شوری بیشتر از حالت عادی بود. مقایسه میانگین ژنوتیپ‌ها نشان داد که در SOD3 ژنوتیپ‌های ۱، ۳ و ۵، CAT ژنوتیپ‌های ۸، ۹ و ۱۸ و برای POX1 ژنوتیپ‌های ۶، ۷ و ۱۰ بیشترین فعالیت ایزوزیمی را داشتند. با مقایسه میانگین ترکیب‌های تیماری ژنوتیپ و سطوح شوری، ژنوتیپ‌های ۷، ۸، ۹ و ۱۲ بیشترین فعالیت ایزوزیمی SOD1 را در شرایط شوری و ژنوتیپ‌های ۱، ۲ و ۴ بیشترین فعالیت را برای ایزوزیم POX3 در شرایط شوری نشان دادند. ژنوتیپ‌های ۴، ۷، ۸، ۹ و ۱۳ بیشترین فعالیت SOD2 را در شرایط شوری داشتند. محاسبه همبستگی بین گونه‌های ایزوزیم در شرایط عادی، شوری و کل دو محیط نشان داد که فقط دو ایزوزیم CAT و POX3 در تنش شوری، همبستگی مثبت و معنادار دارند. علاوه بر تأثیر ژنوتیپ در میزان فعالیت آنزیم، تنش شوری فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان را افزایش می‌دهد.

**واژه‌های کلیدی:** الکتروفورز، ایزوزیم، آنتی‌اکسیدان، لوبیا سفید، شوری.

### مقدمه

بودن عناصر غذایی در بخش هوایی با برهم‌زدن جذب عناصر غذایی از عوامل مهم کاهش رشد گیاهان در این شرایط به‌شمار می‌روند (Gama et al., 2007). شوری از مهمترین عوامل ایجاد تنش اکسیداتیو و افزایش گونه‌های فعال اکسیژن<sup>۱</sup> (ROS)، از جمله سوپراکسید (O<sub>2</sub>) ( و پراکسید هیدروژن (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) است که تجمع آنها سبب پراکسیداسیون چربی‌ها، انفعال آنزیم‌ها، خسارت به اسیدهای نوکلئیک و تخریب غشاءهای سلول می‌شود (Bailly, 2004). در مجموع گیاهان در مقابله با تنش

لوبیا (*Phaseolus vulgaris* L.) از لگوم‌های دانه‌ای است که با توجه به پروتئین بالا و مناسب، مصرف غذایی فراوان دارد. تولید سالانه این گیاه در جهان ۲۳ میلیون تن و یکی از ده محصول مهم است؛ و بین حبوبات رتبه اول را دارد (Emeterio et al., 2004). شوری خاک از محدودیت‌های تولید پایدار در مناطق خشک و نیمه‌خشک است. کم‌شدن پتانسیل آب در محیط ریشه، سمیت برخی از یون‌ها مانند Na<sup>+</sup> و Cl<sup>-</sup> و نیز نامتعادل

ماکرو و میکرو آبیاری شدند (Allen, 1968). گیاهچه‌ها در شرایط رشد ۲۶ درجه سانتی‌گراد، ۱۶ ساعت نور و هشت ساعت تاریکی قرار داده شدند. پس از یک هفته با استفاده از محلول نیم‌هولند حاوی ۴۰۰ میلی‌مولار سدیم کلراید به مدت ۴۸ ساعت تنش شوری بر ژنوتیپ‌های لوبیا سفید در کنار نمونه‌های عادی (Nagesh & Devaraj, 2008) اجرا شد. این پژوهش سال ۱۳۹۰ در آزمایشگاه سیتوژنتیک دانشکده کشاورزی دانشگاه تبریز انجام شد.

جدول ۱. ژنوتیپ‌های لوبیا سفید در این پژوهش

ژنوتیپ	کد	ژنوتیپ	کد
۴۱۱۶۵	۱۰	۴۱۱۲۸	۱*
۴۱۱۶۶	۱۱	۴۱۱۳۶	۲
۴۱۱۶۷	۱۲	۴۱۱۵۰	۳
۴۱۱۷۶	۱۳	۴۱۱۵۴	۴
۴۱۱۸۰	۱۴	۴۱۱۵۷	۵
۴۱۲۱۴	۱۵	۴۱۱۵۸	۶
۴۱۲۱۶	۱۶	۴۱۱۵۹	۷
۴۱۲۱۷	۱۷	۴۱۱۶۲	۸
۴۱۲۱۸	۱۸	۴۱۱۶۴	۹

\* کد ژنوتیپ‌ها برای شماره‌های موجود در مرکز تحقیقات برورد و خمین تعیین شده‌است.

### استخراج آنزیمی الکتروفورز

نمونه‌های برگ‌ی تازه در بافر استخراج (تریس ۵۰ میلی‌مولار، ۵ درصد ساکاروز، ۵۰ میلی‌مولار اسکوربیک اسید، ۲۰ میلی‌مولار متابی‌سولفیت سدیم و ۲ درصد پلی‌اتیلن‌گلیکول) با pH برابر ۷/۵ حاوی ۰/۱ درصد ۲-مرکاپتواتانول با نسبت وزنی یک از برگ و یک از بافر استخراج، به‌خوبی هموژنیزه و سپس محلول حاصل به مدت ۱۰ دقیقه در ۱۰۰۰۰ دور (rpm) و دمای ۴ درجه سانتی‌گراد سانتریفوژ شد. عصاره آنزیمی با قطعات بریده‌شده کاغذ واتمن شماره ۳ و مناسب با ابعاد چاهک، جذب و در ژل پلی‌آکرلامید ۷/۵ درصد با ابعاد ۱۵×۱۲×۰/۶ سانتی‌متر بارگذاری شد. برای خنک‌کردن ژل و نگاه‌داشتن دمای پایین هنگام الکتروفورز، از ظرف واجد استفاده شد. حدود چهار ساعت پس از راه‌اندازی دستگاه الکتروفورز با آمپراژ کمتر از ۳۰ میلی‌آمپر، آبی‌بروموفنول با حرکت ۱۰-۸ سانتی‌متری به انتهای ژل رسید و ژل برای برش و

اکسیداتیو از دو روش آنزیمی و غیرآنزیمی استفاده می‌کنند (Gupta *et al.*, 2005). روش آنزیمی شامل سوپراکسید دیسموتاز<sup>۱</sup> (SOD)، کاتالاز<sup>۲</sup> (CAT)، پراکسیداز<sup>۳</sup> (POX) و آنتی‌اکسیدان‌های دیگر و روش غیرآنزیمی شامل گلوکاتینون، اسکوربیک اسید، ویتامین E و برخی آنتی‌اکسیدان دیگر است (Gupta *et al.*, 2005). آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان سبب حذف و غیرفعال شدن برخی ROS ها می‌شوند (Bailly, 2004). آنزیم CAT مستقیماً سبب تجزیه H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> و آنزیم POX با استفاده از ترکیبات فنولیک دهنده الکترون، سبب تجزیه H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> می‌شود و آنزیم SOD، O<sub>2</sub><sup>-</sup> تولید می‌کند (Gaber, 2010). ژنوتیپ‌های مقاوم به شوری نسبت به ژنوتیپ‌های حساس، سطح آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان بالایی دارند (Logan, 2005). در موتان‌های حاصل از آرابیدوپسیس مشاهده شد که آنزیم اسکوربات پراکسیداز<sup>۴</sup> (APX) در مقاومت به تنش شوری نقش مهمی دارد (Miller *et al.*, 2007). Wang *et al.* (2009) براساس آزمایش برگ‌های گیاهچه یونجه در تنش شوری ۲۰۰ میلی‌مولار سدیم کلراید، میزان فعالیت آنزیم‌های SOD، APX و CAT به اندازه معناداری افزایش یافت در حالی‌که هیچ اختلاف معناداری در فعالیت POX وجود نداشت. Dionisio-Sese & Tobita (1998) همچنین نتیجه شد که بین افزایش فعالیت POX و SOD در ژنوتیپ‌های حساس برنج ارتباط معناداری وجود دارد. این پژوهش با هدف ارزیابی اثر تنش شوری بر فعالیت ایزوزیم‌های SOD، CAT و POX و ارتباط احتمالی آنها در گیاهچه لوبیا سفید انجام شد.

### مواد و روش‌ها

#### مواد گیاهی و تیمار تنش

دانه ۱۸ ژنوتیپ لوبیا سفید (جدول ۱) با هیپوکلریت سدیم (۲/۵ درصد) ضدعفونی و پنج روز پس از جوانه‌زنی، گیاهچه‌ها به پلاستیک‌های خاص پرلیت منتقل شدند. گیاهچه‌ها با محلول نیم‌هولند حاوی عناصر

1. Superoxide dismutase
2. Catalase
3. Peroxidase
4. Ascorbate peroxidase

روی ژل استفاده شد. پس از آزمون طبیعی بودن داده‌ها و یکنواختی واریانس‌ها به صورت آزمایش فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی تجزیه آماری داده‌های ایزوزیم در دو تکرار با استفاده از نرم‌افزار SPSS 16.0 انجام شد.

### نتایج و بحث

شکل ۱ نمونه‌ای از رشد گیاهچه‌ها در تنش شوری و شرایط طبیعی را نشان می‌دهد. بر مبنای این شکل، تنش شوری سبب کاهش رشد گیاهچه‌ها شده است. با توجه به شکل‌های ۲، ۳ و ۴، برای SOD، CAT و POX به ترتیب سه، یک و سه ایزوزیم به دست آمد. وجود SODها و POXهای زیاد در اندامک‌های مختلف و سیتوپلاسم و CAT منفرد و مستقر در پراکسی‌زوم‌ها در اکثر گیاهان گزارش شده است (Gaber, 2010). در این شکل‌ها اکثر ایزوزیم‌ها فعالیت بیشتر در شرایط تنش شوری نسبت به حالت طبیعی، در ژنوتیپ‌های گوناگون لوبیا سفید دیده می‌شود.

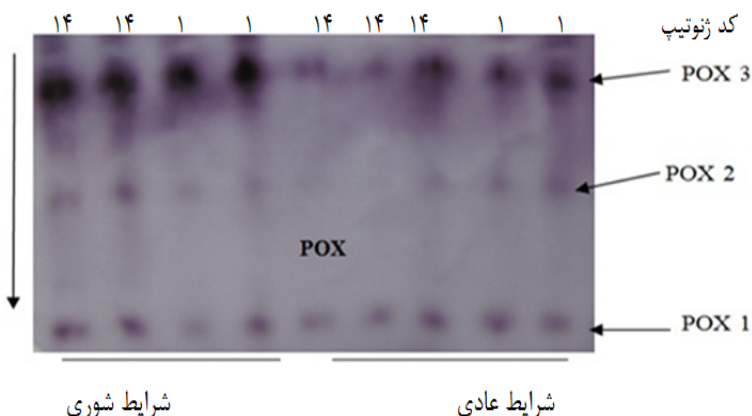
رنگ‌آمیزی آماده شد (Valizadeh *et al.*, 2011). نوارهای ایزوزیمی در هر روش آنزیمی با نام مخفف آنزیم و اندیس‌های ۱، ۲، ۳... نامگذاری شد. برای نمونه ایزوزیم با بیشترین حرکت در روش پراکسیداز (POX) با اندیس ۱ (نام POX1) و بقیه آنزیم‌ها به ترتیب سرعت با اندیس ۲ و ۳ و... (POX2، POX3) نامگذاری شدند (شکل ۲). ژل‌ها پس از الکتروفورز به صورت افقی برش داده شدند. برای رنگ‌آمیزی POX و CAT از روش Olson & Varner (1993) و برای رنگ‌آمیزی SOD از روش Soltis & Soltis (1990) استفاده شد. دست‌کم دو تکرار از هر ژنوتیپ و شرایط رشدی (طبیعی و شوری) بررسی شد. ژل‌ها بعد از رنگ‌آمیزی تثبیت و از آنها عکس‌برداری شد.

### تجزیه آماری

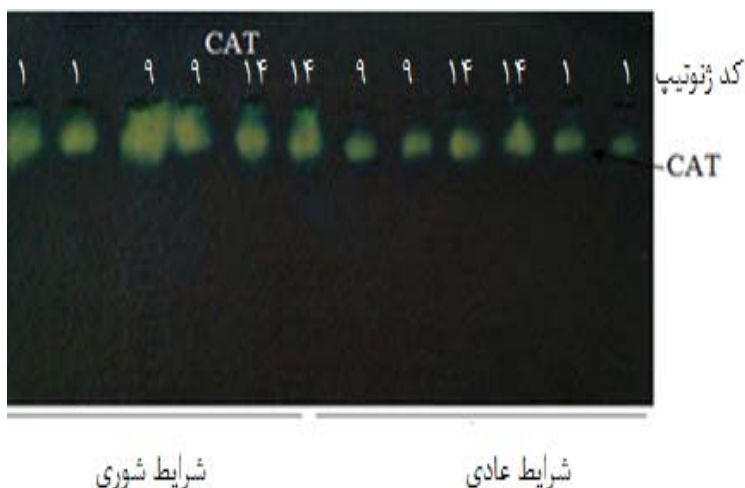
از نرم‌افزار MCID برای کمی "مساحت × شدت" هر نوار ایزوزیمی بعنوان ارزیابی فعالیت دنسیومتریکی آنزیمی



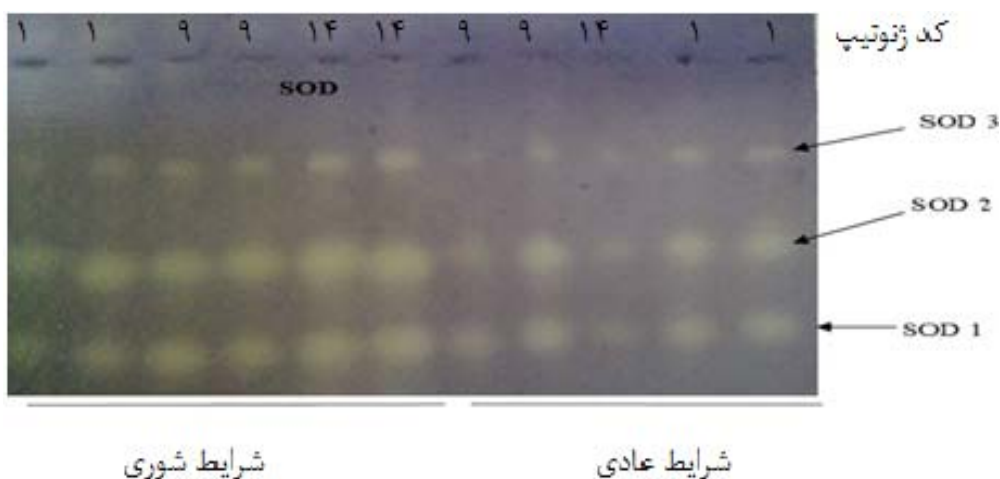
شکل ۱. اثر تنش شوری بر رشد گیاهچه‌های لوبیا سفید.



شکل ۲. نمونه‌ای از الگوی ایزوزیمی POX در گیاهچه‌های لوبیا سفید در شرایط طبیعی و شوری



شکل ۳. نمونه‌ای از الگوی ایزوزیمی CAT در گیاهچه‌های لوبیا سفید در شرایط طبیعی و شوری.



شکل ۴. نمونه‌ای از الگوی ایزوزیمی SOD در گیاهچه‌های لوبیا سفید در شرایط طبیعی و شوری.

اثر متقابل ژنوتیپ×شوری برای SOD1 و SOD2 در سطح احتمال یک درصد اختلاف معنادار داشت (جدول ۲).

بر اساس تجزیه واریانس داده‌ها، فعالیت سایر ایزوزیم‌ها (به جز POX2) بین ژنوتیپ‌ها و سطح شوری در سطح احتمال یک درصد اختلاف معناداری داشتند.

جدول ۲. تجزیه واریانس فعالیت ایزوزیم‌های موجود در ژنوتیپ‌های لوبیا سفید در دو شرایط طبیعی و تنش شوری

میانگین مربعات							درجه‌های آزادی	منابع تغییر
SOD <sub>3</sub>	SOD <sub>2</sub>	SOD <sub>1</sub>	CAT	POX <sub>3</sub>	POX <sub>2</sub>	POX <sub>1</sub>		
۰/۵۸۵۰ <sup>ns</sup>	۰/۰۰۱۰ <sup>ns</sup>	۰/۰۰۱۰ <sup>ns</sup>	۰/۲۴۱۰ <sup>ns</sup>	۰/۰۱۰۰ <sup>ns</sup>	۰/۰۰۱۰ <sup>ns</sup>	۰/۰۰۸۰ <sup>ns</sup>	۱۷	ژنوتیپ
۱/۷۷۲ <sup>ns</sup>	۰/۰۰۲۰ <sup>ns</sup>	۰/۰۰۳۰ <sup>ns</sup>	۱/۳۹۰۰ <sup>ns</sup>	۰/۰۱۴۰ <sup>ns</sup>	۰/۰۰۰۵ <sup>ns</sup>	۰/۰۳۳۰ <sup>ns</sup>	۱	شوری
۰/۰۲۳ <sup>ns</sup>	۰/۰۰۰۰۹ <sup>ns</sup>	۰/۰۰۰۱ <sup>ns</sup>	۰/۰۰۷ <sup>ns</sup>	۰/۰۰۲۰ <sup>ns</sup>	۰/۰۰۳ <sup>ns</sup>	۰/۰۰۱ <sup>ns</sup>	۱۷	شوری ژنوتیپ×
۰/۰۱۳۰	۰/۰۰۰۰۱	۰/۰۰۰۰۴	۰/۰۱۰	۰/۰۰۰۴	۰/۰۰۴۰	۰/۰۰۱۰	۳۶	خطا

ns و \*\* به ترتیب بی‌معنا و معنادار در سطح احتمال یک درصد.

ژنوتیپ‌های ۶، ۷ و ۱۰، در CAT ژنوتیپ‌های ۸، ۹ و ۱۸ و در SOD3 ژنوتیپ‌های ۱، ۳ و ۵ بیشترین فعالیت ایزوزیمی را نشان دادند (جدول ۳).

بر مبنای نتایج مقایسه میانگین ایزوزیم‌ها در سطح شوری، بیشترین فعالیت آنزیمی مربوط به حالت شوری بود. با مقایسه میانگین‌ها در ژنوتیپ‌ها، در POX1

ژنوتیپ ۷ در هر دو حالت بیشترین فعالیت ایزوزیمی (SOD2) را داشت (شکل ۷). شوری و خشکی از مهمترین عوامل اکولوژیکی کاهش‌دهنده محصولات زراعی هستند و گیاهان از حداکثر توان ژنتیکی برای مقابله با آنها استفاده می‌کند (Sairam & Tyagi, 2004). تجمع ROS تولیدشده در تنش شوری، سبب افزایش فعالیت POX، CAT و SOD در گیاهچه‌های خردل شدند (Dat *et al.*, 1998) که با نتایج ما مطابقت دارد.

با مقایسه ترکیب‌های تیماری ژنوتیپ و تنش شوری برای POX3، اثر متقابل ژنوتیپ × شوری از ژنوتیپ‌های ۱، ۲ و ۴ بیشترین فعالیت ایزوزیمی را در این شرایط دارند؛ در حالی که ژنوتیپ ۱۴ در هر دو شرایط شوری و طبیعی بیشترین فعالیت را دارد (شکل ۵). برای SOD1 بیشترین فعالیت در ژنوتیپ‌های ۷، ۸، ۹ و ۱۲ دیده شد و ژنوتیپ ۹ در هر دو حالت بیشترین فعالیت ایزوزیمی (SOD1) را داشت (شکل ۶). برای SOD2 بیشترین فعالیت در ژنوتیپ‌های ۴، ۷، ۸، ۹ و ۱۳ دیده شد و

جدول ۳. مقایسه میانگین فعالیت ایزوزیم‌های آنتی‌اکسیدان با اثر متقابل معنادار بر ژنوتیپ‌های لوبیا سفید

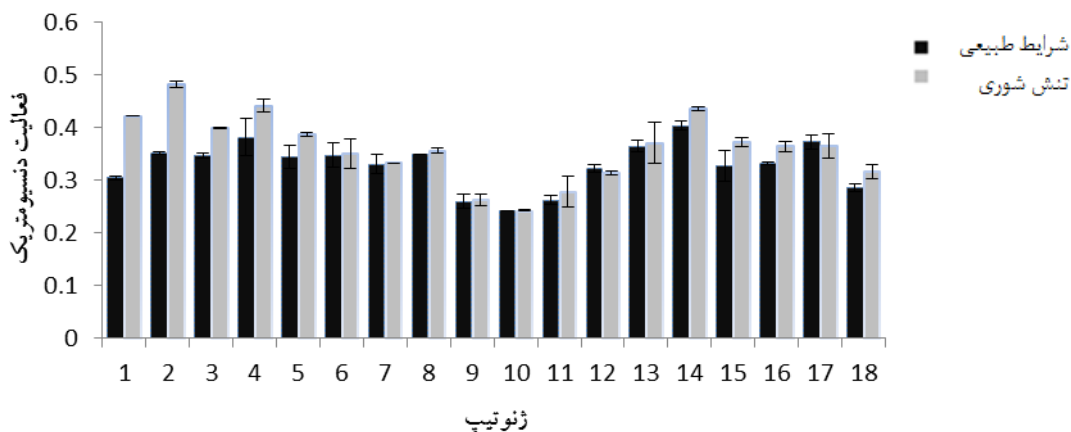
OD3	CAT	POX1	کد ژنوتیپ
۰/۰۳۷۵	۰/۰۰۷۲	۰/۳۴۱۳	۱
۰/۰۰۴۲	۰/۰۰۳۵	۰/۰۲۱۰	۲
۰/۰۳۱۲	۰/۰۰۶۷	۰/۳۰۴۰	۳
۰/۰۱۲۵	۰/۰۰۵۷	۰/۳۶۴۲	۴
۰/۰۳۴۷	۰/۰۰۶۷	۰/۳۴۵۱	۵
۰/۰۰۴۰	۰/۰۰۵۰	۰/۴۲۳۰	۶
۰/۰۱۴۷	۰/۰۰۴۲	۰/۴۰۷۵	۷
۰/۰۱۱۲	۰/۰۰۷۷	۰/۳۴۵۰	۸
۰/۰۰۳۵	۰/۰۰۸۷	۰/۳۷۵۰	۹
۰/۰۰۵۵	۰/۰۰۴۷	۰/۴۱۶۹	۱۰
۰/۰۱۴۷	۰/۰۰۷۲	۰/۳۹۷۲	۱۱
۰/۰۱۲۵	۰/۰۰۶۷	۰/۲۸۲۹	۱۲
۰/۰۰۸۲	۰/۰۰۵۰	۰/۲۹۸۳	۱۳
۰/۰۱۷۰	۰/۰۰۷۲	۰/۳۲۳۶	۱۴
۰/۰۰۴۷	۰/۰۰۴۷	۰/۴۰۵۱	۱۵
۰/۰۰۳۵	۰/۰۰۳۷	۰/۳۴۳۴	۱۶
۰/۰۰۳۵	۰/۰۰۴۰	۰/۳۷۴۹	۱۷
۰/۰۰۳۵	۰/۰۵۰۰	۰/۳۹۰۳	۱۸
۰/۰۰۲۲	۰/۰۰۲۰	۰/۰۶۰۸	LSD1%

آنتی‌اکسیدان در اندام‌های مختلف لوبیا متفاوت بود؛ همچنین فعالیت CAT در اندام‌های مختلف پاسخ گوناگون نشان داد. ولی فعالیت POX در اندام‌های مختلف آزمایش‌شده افزایش یافت. افزایش سطح H2O2 در برگ ممکن است از دلایل افزایش فعالیت SOD در مطالعات خود بیان کردند که در گیاه نخود فعالیت CAT در تنش شوری کاهش می‌یابد ولی فعالیت POX و SOD افزایش نشان می‌دهد. Nagesh & Devaraj (2008) نشان دادند که فعالیت ایزوزیم‌های CAT و

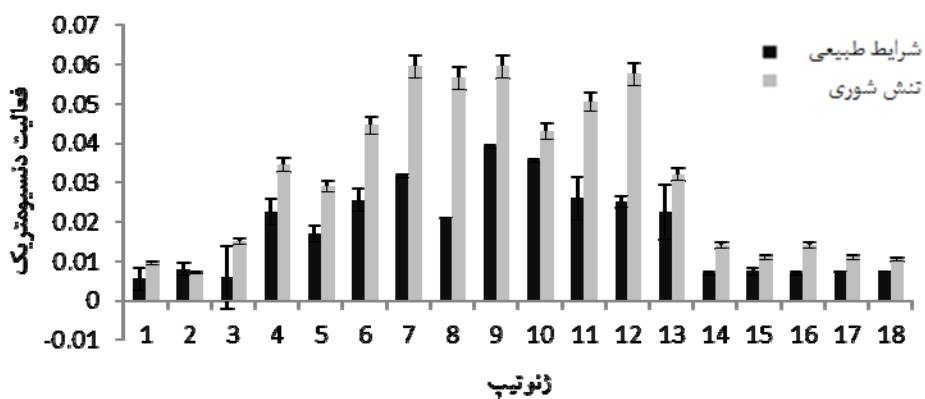
Agarwal & Pandey (2004) گزارش کردند که در تنش شوری فعالیت POX و CAT برای کاهش H2O2 افزایش می‌یابد. Aydin *et al.* (2011) نشان دادند که در تنش شوری فعالیت POX و SOD در لوبیا (سدیم کلراید) افزایش می‌یابد و فعالیت CAT در دوزها و نمک‌های مختلف در لوبیا نتایج گوناگون می‌شود. Hernandez *et al.* (1999) گزارش کردند که در سطح بالای تنش شوری، فعالیت ایزوزیم‌های مختلف SOD نخود افزایش می‌یابد. براساس پژوهش‌های Souza & Devaraj (2010) در تنش، فعالیت آنزیم‌های

هنگام تنش شوری، معنادار گزارش کردند؛ که با نتایج این پژوهش مطابقت دارد.

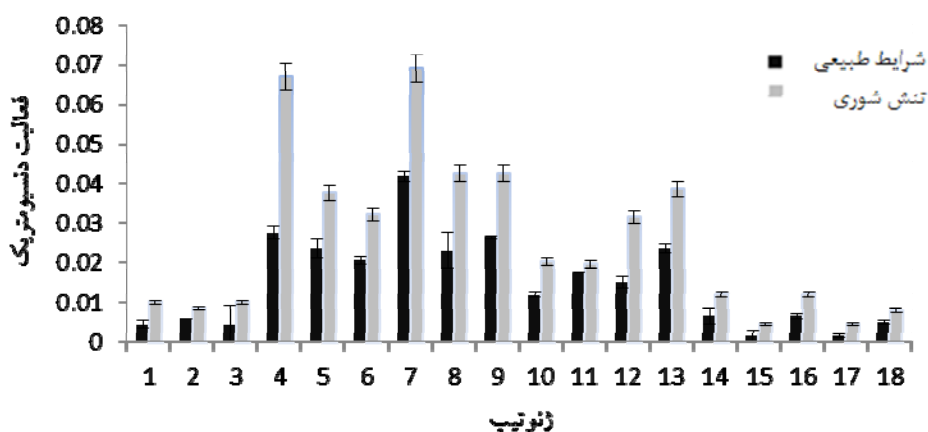
POX در گیاهچه‌های لوبیا با تنش شوری (۴۰۰ میلی‌مولار سدیم کلراید) افزایش می‌یابد. Hernandez *et al.* (1999) افزایش فعالیت ایزوزیم‌های SOD در نخود را



شکل ۵. فعالیت POX3 در شرایط طبیعی و تنش شوری در گیاهچه‌های لوبیا سفید.



شکل ۶. فعالیت SOD1 در شرایط طبیعی و تنش شوری در گیاهچه‌های لوبیا سفید.



شکل ۷. فعالیت SOD2 در شرایط طبیعی و تنش شوری در گیاهچه‌های لوبیا سفید.

یکسو و ایزوزیم‌های SOD از سوی دیگر همبستگی مثبت معناداری وجود دارد. Noreen & Ashraf (2009) در بررسی تنش شوری بر نخود بیان کردند که در مدل

با توجه به نتایج جدول‌های ۴، ۵ و ۶، فقط دو ایزوزیم CAT و POX3 در تنش شوری همبستگی مثبت و معنادار نشان دادند. در ایزوزیم‌های POX از

همبستگی بین کاهش فعالیت CAT و SOD در گیاهان حساس به شوری نیز گزارش کردند (Cavalcanti *et al.*, 2004).

رگرسیون چندگانه بین آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان به ترتیب SOD، POX و CAT بیشترین تأثیر مثبت را بر تحمل گیاهچه‌ها در شرایط تنش شوری دارند. همچنین وجود

جدول ۴. همبستگی بین ایزوزیم‌های آنتی‌اکسیدان در شرایط طبیعی

SOD3	SOD2	SOD1	CAT	POX3	POX2	POX1	
						۱	POX <sub>1</sub>
					۱	۰/۶۳**	POX <sub>2</sub>
				۱	۰/۷۴**	۰/۷۹**	POX <sub>3</sub>
			۱	۰/۰۹ <sup>ns</sup>	-۰/۰۵ <sup>ns</sup>	-۰/۱۰ <sup>ns</sup>	CAT
		۱	-۰/۱۰ <sup>ns</sup>	۰/۰۹ <sup>ns</sup>	۰/۲۸ <sup>ns</sup>	-۰/۰۸ <sup>ns</sup>	SOD <sub>1</sub>
	۱	۰/۷۶**	-۰/۰۹ <sup>ns</sup>	-۰/۰۲ <sup>ns</sup>	۰/۰۳ <sup>ns</sup>	-۰/۱۲ <sup>ns</sup>	SOD <sub>2</sub>
۱	۰/۴۱ <sup>ns</sup>	۰/۷۳**	-۰/۰۴ <sup>ns</sup>	۰/۰۵ <sup>ns</sup>	۰/۲۷ <sup>ns</sup>	-۰/۰۶ <sup>ns</sup>	SOD <sub>3</sub>

ns و \*\* به ترتیب بی‌معنا و معنادار در سطح احتمال یک درصد.

جدول ۵. همبستگی بین ایزوزیم‌های آنتی‌اکسیدان در تنش شوری

SOD <sub>3</sub>	SOD <sub>2</sub>	SOD <sub>1</sub>	CAT	POX <sub>3</sub>	POX <sub>2</sub>	POX <sub>1</sub>	
						۱	POX <sub>1</sub>
					۱	۰/۸۳**	POX <sub>2</sub>
				۱	۰/۸۱**	۰/۸۵**	POX <sub>3</sub>
			۱	۰/۵۶*	۰/۲۴ <sup>ns</sup>	۰/۲۱ <sup>ns</sup>	CAT
		۱	-۰/۱۵ <sup>ns</sup>	-۰/۲۵ <sup>ns</sup>	-۰/۴۶ <sup>ns</sup>	-۰/۴۱ <sup>ns</sup>	SOD <sub>1</sub>
	۱	۰/۷۲**	-۰/۱۳ <sup>ns</sup>	-۰/۳۰ <sup>ns</sup>	-۰/۴۴ <sup>ns</sup>	-۰/۴۲ <sup>ns</sup>	SOD <sub>2</sub>
۱	۰/۴۲ <sup>ns</sup>	۰/۸۰**	-۰/۱۷ <sup>ns</sup>	-۰/۲۰ <sup>ns</sup>	-۰/۴۶ <sup>ns</sup>	-۰/۳۶ <sup>ns</sup>	SOD <sub>3</sub>

ns، \* و \*\* به ترتیب بی‌معنا و معنادار در سطح احتمال پنج و یک درصد.

جدول ۶. همبستگی بین ایزوزیم‌های آنتی‌اکسیدان کل (شرایط طبیعی و تنش شوری)

SOD <sub>3</sub>	SOD <sub>2</sub>	SOD <sub>1</sub>	CAT	POX <sub>3</sub>	POX <sub>2</sub>	POX <sub>1</sub>	
						۱	POX <sub>1</sub>
					۱	۰/۸۷**	POX <sub>2</sub>
				۱	۰/۸۶**	۰/۸۵**	POX <sub>3</sub>
			۱	۰/۴۵ <sup>ns</sup>	۰/۱۶ <sup>ns</sup>	۰/۱۵ <sup>ns</sup>	CAT
		۱	-۰/۱۵ <sup>ns</sup>	-۰/۱۸ <sup>ns</sup>	-۰/۳۱ <sup>ns</sup>	-۰/۳۹ <sup>ns</sup>	SOD <sub>1</sub>
	۱	۰/۷۶**	-۰/۱۳ <sup>ns</sup>	-۰/۲۳ <sup>ns</sup>	-۰/۳۷ <sup>ns</sup>	-۰/۳۹ <sup>ns</sup>	SOD <sub>2</sub>
۱	۰/۴۲ <sup>ns</sup>	۰/۷۹**	-۰/۱۳ <sup>ns</sup>	-۰/۱۲ <sup>ns</sup>	-۰/۲۸ <sup>ns</sup>	-۰/۳۰ <sup>ns</sup>	SOD <sub>3</sub>

ns و \*\* به ترتیب بی‌معنا و معنادار در سطح احتمال یک درصد.

همچنین هیچ‌یک از آنها کاهش یا ثبات فعالیت نشان نداد. با توجه به امکان مشاهده فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان بر روی ژل پلی‌آکریلامید، تجزیه الکتروفورزی نیز ابزاری مفید و مکمل داده‌های حاصل از اسپکتروفتومتری خواهد بود.

### نتیجه‌گیری کلی

بر مبنای این پژوهش و ارزیابی تأثیر تنش شوری بر فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان در ژل پلی‌آکریلامید، فعالیت دنسیومتری سه ایزوزیم سوپراکسید دیسموتاز، یک کاتالاز و دو ایزوزیم پراکسیداز در تنش شوری (۴۰۰ میلی‌مولار NaCl) بیشتر از شرایط طبیعی بود؛

### REFERENCES

1. Agarwal, S. & Pandey, V. (2004). Antioxidant enzyme response to NaCl stress in *Cassia angustifolia*. *Brazil Journal of Plant Physiology*, 48, 555-560.

2. Allen, M. M. (1968). Simple conditions for growth of unicellular blue-green algae on plates. *Journal of Plant Physiology*, 4, 1-4.
3. Ashraf, M. (2009). Biotechnological approach of improving plant salt tolerance using antioxidants as markers. *Biotechnology Advance*, 27, 84-93.
4. Aydin, A., Kant, C. & Turan, M. (2011). Hydrogel substrate alleviates salt stress with increase antioxidant enzymes activity of bean (*Phaseolus vulgaris* L.) under salinity stress. *African Journal of Agricultural Research*, 6, 715-724.
5. Bailly, C. (2004). Active oxygen species and antioxidants in seed biology. *Seed Science Research*, 14, 93-107.
6. Brou, Y. C., Adolphe, Z., Omar, D. & Murielle, E. (2007). Water stress induces over expression of SOD that contribute to the production of cowpea plants. *African Journal of Biotechnology*, 6, 1982-1986.
7. Cavalcanti, F. R., Oliveira, J. T. A., Martins-Miranda, A. S., Viégas, R. A. & Silveira, J. A. G. (2004). Superoxide dismutase, catalase and peroxidase activities do not confer protection against oxidative damage in salt-stressed cowpea leaves. *New Phytology*, 163, 563-71.
8. Dat, J. F., Foyer, C. H. & Scott, I. M. (1998). Changes in salicylic acid and antioxidants during induction of thermotolerance in mustard seedlings. *Plant Physiological*, 118, 1455-1461.
9. Dionisio-Sese, M. L. & Tobita, S. (1998). Antioxidant responses of rice seedlings to salinity stress. *Plant Science*, 135, 1-9.
10. Emeterio-Payro, D. L. C., Gepts, P., Garciamarin, P. C. & Villareal, D. Z. (2004). Spatial distribution of genetic diversity in the wild population of (*Phaseolus vulgaris* L.) from Guanajuato and Michoacan, Mexico. *Genetic Crop Research*, 9, 1-11.
11. Gaber, M. A. (2010). Antioxidative defense under salt stress. *Review Plant Signaling & Behavior*, 5, 369-374.
12. Gama, P. B. S., Lnanaga, S., Tanaka, K. & Nakazawa, R. (2007). Physiological response of common bean (*Phaseolus vulgaris* L.) seedling to salinity stress. *African Journal of Agricultural Research*, 6, 79-88.
13. Gupta, K. J., Stoimenova, M. & Kaiser, W. M. (2005). In higher plants, only root mitochondria, but not leaf mitochondria reduce nitrite to NO, *in vitro* and *in situ*. *Journal Experimental Botany*, 56, 2601-2609.
14. Hernandez, J. A., Campillo, A., Jimenez, A., Alarcon, J. J. & Sevilla, F. (1999). Response of antioxidant systems and leaf water relations to NaCl stress in pea plants. *New Phytology*, 141, 241-251.
15. Logan, B. A. (2005). Reactive oxygen species and photosynthesis, In, Smirnoff (Ed), Antioxidants and reactive oxygen species in plants, Blackwell, Oxford, pp. 250-267.
16. Miller, N., Suzuki, L., Rizhsky, A., Hegie, S. & Mittler, R. (2007). Double mutants deficient in cytosolic and thylakoid ascorbate peroxidase reveal a complex mode of interaction between reactive oxygen species, plant development, and response to abiotic stresses. *Plant Physiology*, 44, 777-785.
17. Nagesh Babu, R. & Devaraj, V. R. (2008). High temperature and salt stress response in French bean (*Phaseolus vulgaris*). *Australian Journal of Crop Science*, 2, 40-48.
18. Noreen, Z. & Ashraf, M. (2009). Assessment of variation in antioxidative defense system in salt-treated pea (*Pisum sativum*) cultivars and its putative use as salinity tolerance markers. *Journal of Plant Physiology*, 166, 1764-1774.
19. Olson, P. D. & Varner, J. E. (1993). Hydrogen peroxides and lignifications. *Plant Journal*, 4, 887-892.
20. Sairam, R. K. & Tyagi, A. (2004). Physiological and molecular biology of salinity stress tolerance in plants. *Current Science*, 86, 407-420.
21. Soltis, D. E. & Soltis, P. S. (1990). Isozymes in Plant Biology. Chapman and Hall, London. pp. 259.
22. Souza, M. R. D. & Devaraj, V. R. (2010). Biochemical responses of Hyacinth bean (*Lablab purpureus*) to salinity stress. *Acta Physiology Plant*, 32, 341-353.
23. Valizadeh, M., Mohayjeji, M., Yasinzadeh, N., Nasrullazadeh, S. & Moghaddam, M. (2011). Genetic diversity of synthetic alfalfa generations and cultivars using tetrasomic inherited allozyme markers. *Journal of Agriculture Science Technology*, 13, 425-430.
24. Wang, W., Kim, Y.H., Lee, H.S., Kim, K.Y., Deng, X.P. & Kwak, S.S. Analysis of antioxidant enzyme activity during germination of alfalfa under salt and drought stresses. *Plant Physiology and Biochemistry*, 47, 570-577.