

تأثیر نقش شوری ناشی از کلرورسدیم بر پروفیل الکتروفورزی  
پروتئین ها و آنزیم های گندم\*  
Effect of Salt Stress (Na Cl) on Electrophoretic Pattern  
of Wheat Proteins and Enzymes

محمد رحمانی و اسلام مجیدی هروان

مؤسسه تحقیقات اصلاح و تهیه نهال و بذر و دانشکده علوم کشاورزی دانشگاه گیلان

تاریخ دریافت: ۷۷/۱۰/۱

چکیده

رحمانی، م. و مجیدی هروان، ا. ۱۳۸۱. تأثیر نقش شوری ناشی از کلرورسدیم بر پروفیل الکتروفورزی پروتئین ها و آنزیم های گندم. نهال و بذر ۱۸: ۲۵۱-۲۶۱.

به منظور بررسی تغییرات پروفیل الکتروفورزی پروتئین های محلول و آنزیم های آنتی اکسیدانت گندم در تنش شوری و یافتن ارتباط تغییرات آن ها با تحمل و حساسیت ارقام به تنش شوری، شش رقم و لاین گندم با درجات مقاومت متفاوت، در محیط هیدروپونیک در چهار تیمار شوری صفر (شاهد)، ۵۰، ۱۰۰ و ۱۵۰ میلی مول نمک طعام قرار گرفتند. عصاره برگ و ریشه گیاهچه های جوان روی ژل پلی آکریل آمید با روش الکتروفورز جداسازی گردید. با توجه به نتایج آزمایش های انجام شده، شواهد قانع کننده ای برای وجود یک نشانگر پروتئینی مرتبط با تنش شوری مشاهده نشد و تنها تراکم باند پلی پپتیدی ۳۲ و ۵۶ کیلودالتن در ارقام مهدوی و چناب افزایش نشان داد. در مطالعات آنزیمی، افزایش فعالیت آنزیم های پراکسیداز و کاتالاز ریشه، احتمال دخالت سیستم دفاع آنتی اکسیدانت را به خاطر حضور رادیکال های فعال اکسیژن در گیاهان تحت تنش شوری تقویت می کند.

واژه های کلیدی: گندم، تنش شوری، پروتئین ها، آنزیم ها، پروفیل الکتروفورزی.

فرآیندهای بیولوژیکی و بیوشیمیایی سلول ها و بافت های گیاه نیز قرار دارد. با این دانش که اعمال کنترل رفتارهای گیاه از طریق پروتئین ها و آنزیم ها صورت می گیرد و این فرض که

مقدمه

تحمل گیاهان به تنش شوری پدیده پیچیده ای است و همانطور که ناشی از ساختار مورفولوژیکی گیاه است، تحت تأثیر

\* قسمتی از پایان نامه کارشناسی ارشد نگارنده اول که به گروه زراعت دانشکده علوم کشاورزی دانشگاه گیلان ارائه شده است.

گزارش نمودند. در مطالعات کک مک و مارشمر (Cakmak and Marschner, 1992) تنش خشکی و مواد غذایی موجب تولید رادیکال‌های واکنش‌گر اکسیژن شده‌اند. با توجه به اینکه تنش شوری هر دو وجه تنش خشکی و کمبود عناصر غذایی را دارند، این سؤال مطرح می‌شود که آیا در تنش شوری نیز رادیکال‌های واکنش‌گر اکسیژن عامل ایجاد بخشی از آسیب‌های نمک زیاد هستند و آیا گیاه در برابر آن‌ها از سیستم دفاع آنتی‌اکسیدانت سود می‌برد؟ هرناندز و همکاران (Hernandez *et al.*, 1993) تغییر در فعالیت ایزوآنزیم‌های پراکسیداز در گیاه نخود در تنش شوری مشاهده نکرده‌اند. لیکن در تکرار آزمایش‌هایشان افزایش فعالیت ایزوآنزیم‌های پراکسیداز (Peroxidase) و سوپراکسید دیسموتاز (Dismutase Superoxide) دو آنزیم شرکت‌کننده در سیستم دفاع آنتی‌اکسیدانت، را در بوته‌های نخود در تنش شوری گزارش کرده‌اند. گوست و همکاران (Gosset *et al.*, 1996) حضور آنتی‌اکسیدانت‌های دفاعی را در گیاه پنبه تحت تنش شوری، تأیید کرده‌اند. گوت و همکاران (Gutea-Dahan *et al.*, 1997) در آزمایشی روی مرکبات به افزایش آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانت در تنش شوری پی برده و پیشنهاد کردند که شوری علاوه بر اثرات شناخته شده آن در ایجاد تنش اسمزی و

سازگاری به تنش می‌تواند نتیجه توانایی تولید و بروز پروتئین‌ها و آنزیم‌های خاص سنتز شده به هنگام وقوع تنش باشد، بررسی و تحلیل تغییرات پروتئینی و آنزیمی گیاهان قرار گرفته در تنش شوری، کمک مؤثری به شناخت مکانیزم تحمل و تولید لاین‌های متحمل به شوری خواهد کرد.

Ericson and Alfinito (1994) افزایش تولید دو باند پلی‌پپتید ۳۲ و ۲۰ کیلودالتنی را در سلول‌های توتون در تنش شوری گزارش کرده‌اند. سینگ و همکاران (Singh *et al.*, 1985) سنتز پلی‌پپتید جدیدی با وزن ملکولی ۲۶ کیلودالتن را در سلول‌های توتون در تنش شوری مشاهده کردند. Hurkman and Tanka (1987) باندهای پلی‌پپتیدی ۲۶ و ۲۷ کیلودالتنی را در جوهای تحت تنش نمک طعام با غلظت بالاتر از ۱۰۰ میلی‌مول را گزارش نمودند. در حالی که هورکمن و همکاران (Hurkman *et al.*, 1989) در آزمایشی روی دو رقم جو متحمل و حساس به شوری، مدعی شدند شوری باعث سنتز هیچ پلی‌پپتید خاصی نمی‌شود. در آزمایش‌های لوپز و همکاران (Lopez *et al.*, 1994) باند پلی‌پپتیدی ۲۲ کیلو دالتن تشدید شده است. ناتو و میرشاهی (Nato and Mirshahi, 1995) نیز پروتئین ۲۹ کیلودالتنی را به عنوان مارکر پروتئین تحمل به شوری در گندم چاینس اسپرینگ (Chinese Spring)

۱۰۰ و ۱۵۰ میلی مول نمک کلرور سدیم و شاهد صفر میلی مول در ۳ تکرار، قرار گرفتند. ریشه‌ها و جوان‌ترین برگ کامل گیاهچه‌های ۳۰ روزه جدا شدند، رگبرگ اصلی برگ‌ها حذف گردید و از آن‌ها نمونه‌های ۰/۵ گرمی تهیه شد. نمونه برداری در ۴ درجه سانتی گراد انجام شد و نمونه‌ها بلافاصله در ۷۰- درجه سانتی گراد منجمد و نگهداری شدند.

#### استخراج پروتئین‌های محلول برگ

یک گرم از نمونه‌های برگ گندم تهیه شده به نسبت ۱ به ۸ با بافر Tris-HCL ۵۰ میلی مول حاوی ۲۰ میلی مول (DTE), 1,4-Dithierithrol, ۰/۷ میکرومول (PMSF) Phenyl methyl sulfonil flourid دارای  $\text{pH} = 7/4$  در دمای ۴ درجه سانتی گراد هموژنیزه و به مدت ۲۰ دقیقه در ۱۴۰۰۰ دور سانتریفیوژ و بخش روئی حاوی پروتئین‌های محلول گندم جدا شد (Nato and Mirshahi, 1995).

#### استخراج آنزیم‌های ریشه

۰/۵ گرم نمونه‌های بافت ریشه با نسبت ۱ به ۲ با بافر استخراج tris-HCL ۵۰ میلی مول حاوی ۰/۰۱ مول DTE دارای  $\text{pH} = 7$  در ۴ درجه سانتی گراد هموژنیزه و ۱۵ دقیقه در ۱۴۰۰۰ دور سانتریفیوژ شد. بخش روئی عصاره جهت مطالعات آنزیمی جدا گردید. (Wendel and Weeden, 1989)

سمیت یونی، عامل ایجاد تنش اکسیداتیو نیز هست. اگرچه تغییرات آنزیم کاتالاز در تنش شوری مورد بررسی قرار نگرفته است، لیکن حضور فعال این آنزیم در تنش‌های اکسیداتیو ازن و سایر گازها در آزمایش‌های رائو و همکاران (Rao et al., 1995) و ویلکنز و همکاران (Willekens et al., 1995) گزارش شده است.

علیرغم بررسی‌های متعددی که روی گیاهان مختلف انجام شده است، هنوز نمی‌توان پلی پپتید خاصی را به عنوان نشانگر تحمل به تنش شوری معرفی کرد. بررسی حاضر به منظور مطالعه تغییرات الگوی پروتئینی و آنزیمی ارقام گندم متحمل به شوری انجام شده است.

#### مواد و روش‌ها

با توجه به مطالعات حسنی شاهسوند (۱۳۷۵) در طبقه‌بندی عده‌ای از ارقام گندم ایرانی، رقم‌های گندم مهدوی، چناب و کراس سرخ تخم به عنوان ارقام متحمل به شوری و ارقام طبسی، شاه‌پسند و لاین HYS به عنوان ارقام حساس به شوری از بین ارقام گندم موجود در بانک ژن مؤسسه تحقیقات اصلاح و تهیه نهال و بذر کرج انتخاب و در محیط غذایی هوگلند و شرایط کنترل شده در فیتوترون‌هایی با دمای ۲۵-۲۰ درجه سانتی گراد، رطوبت نسبی ۷۰٪ و شدت نور ۵۰۰۰ لوکس به عنوان تیمارهای شوری ۵۰،

## اسپکتروفتومتری

سنجش کمی پروتئین عصاره‌ها با استفاده از معرف کوماسی بریلینت (Comasi Brilliant Blue G-250) انجام شد (Bradford, 1976).

## الکتروفورز

عصاره پروتئین‌های محلول برگ با روش SDS-PAGE و عصاره آنزیم‌های ریشه با روش A-PAGE روی ژل پلی‌اکریل آمید رانده شد (Nato and Mirshahi, 1995). پس از انجام آزمایش‌های مقدماتی، مناسب‌ترین غلظت ژل برای پروتئین‌های برگ ۱۵٪، آنزیم کاتالاز ۱۰٪ و آنزیم پراکسیداز ۱۲/۵٪ تشخیص داده شد. میزان تزریق نمونه‌ها در چاهک‌های ژل برای هر رقم بر اساس میزان غنای پروتئینی عصاره بین ۵۰ تا ۱۰۰ میکرولیتر تعیین گردید. برای تعیین وزن ملکولی پلی‌پپتیدهای تغییر یافته در روش SDS-PAGE، ۵ میکرولیتر مارکر وزن ملکولی پائین (فارماسیا) در کنار نمونه‌ها در ژل تزریق شد. رنگ‌آمیزی ژل‌های پروتئینی با استفاده از کوماسی بریلیانت بلو (آر-۲۵۰)، رنگ‌آمیزی منفی آنزیم کاتالاز و رنگ‌آمیزی آنزیم پراکسیداز به روش وندل و ویدون (Wendel and Weedon, 1989) انجام شد.

## نتایج

پروپیل پروتئین‌های محلول برگ‌های ارقام مختلف گندم، نشان داد که در همه ارقام و

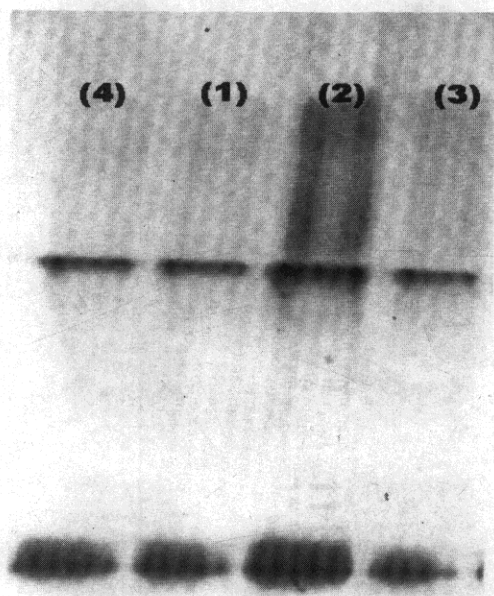
لاین مورد آزمایش، طیفی از ۱۷ تا ۲۲ باندهای پلی‌پپتیدی بروز نموده است. از نظر تعداد باندهای پروتئینی در ارقام و تیمارهای مختلف شوری، یکنواختی قابل توجهی وجود داشت و تنها تغییر مشاهده شده مربوط به باندهای پلی‌پپتیدی ۳۲ و ۵۶ کیلودالتن بود. شکل ۱ تغییر در باندهای ۳۲ و ۵۶ کیلودالتن را در رقم متحمل به شوری مهدوی در تیمارهای ۱۰۰ و ۱۵۰ میلی‌مول نمک کلرید سدیم و عدم تغییر باندهای پروتئینی را در لاین حساس HYS نشان می‌دهد. تراکم یک باندهای پلی‌پپتیدی با وزن ملکولی ۵۶ کیلودالتن در تیمارهای ۱۰۰ و ۱۵۰ میلی‌مول نمک ارقام مقاوم مهدوی و چناب افزایش یافته بود ولی در رقم مقاوم کراس سرخ تخم و ارقام حساس به شوری مورد آزمایش تفاوتی در تراکم این باندهای پروتئینی بین تیمارهای شوری و شاهد دیده نشد.

میزان فعالیت آنزیم‌های پراکسیداز در ارقام حساس به شوری مورد مطالعه حتی در غلظت‌های بالای نمک تغییر قابل توجهی پیدا نکرد (شکل ۲). لیکن در پروپیل ایزوآنزیمی پراکسیداز ارقام مقاوم، ۹ باندهای متفاوت پراکسیداز بر اساس حرکت نسبی باندهای ایزوآنزیمی مشاهده شد که با شماره‌های صفر تا هشت نامگذاری شدند. از میان ۹ باندهای مذکور ایزوآنزیم‌های ۷ و ۸ در همه ارقام و همه تیمارها وجود داشت. میزان فعالیت ایزوآنزیم شماره صفر در تیمارهای شوری ۱۰۰ و ۱۵۰

آنها و نوع تأثیر تنش شوری، در ارقام مختلف متفاوت بود.

شوری فعالیت آنزیم کاتالاز ارقام مقاوم مهدوی، چناب و کراس سرخ تخم ولاین حساس HYS را زیاد کرده بود ولی به نظر می‌رسد تأثیری بر فعالیت آنزیم کاتالاز ریشه ارقام حساس طبسی و شاه‌پسند نداشته است. شکل ۵ این تأثیرات را در رقم مهدوی و ولاین HYS نشان می‌دهد.

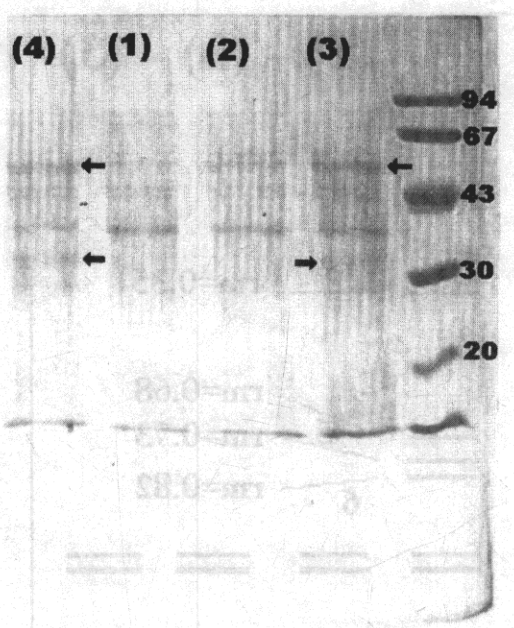
شدت فعالیت کاتالاز با توجه به شدت تنش شوری افزایش یافته بود و قابل توجه این که برخلاف آنزیم پراکسیداز و پروتئین‌های محلول برگ، تیمار ۵۰ میلی‌مول نمک نیز بر میزان فعالیت آن تأثیر گذاشته بود.



شکل ۲- پروفیل آیزوآنزیمی پراکسیدازهای ریشه ولاین HYS

Fig. 2. Electrophoretic patterns of peroxidase isozyme of line HYS

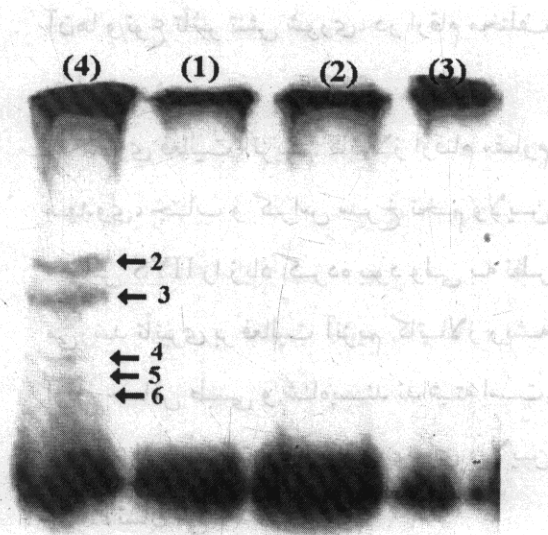
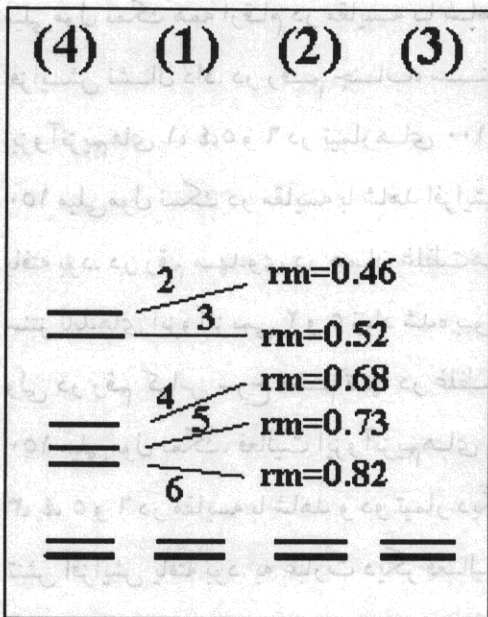
میلی‌مول نمک همه ارقام در مقایسه با شاهد افزایش نشان داد. در رقم چناب، سنتز ایزوآنزیم‌های ۱، ۴، ۵ و ۶ در تیمارهای ۱۰۰ و ۱۵۰ میلی‌مول نمک در مقایسه با شاهد افزایش یافته بود. در رقم مهدوی در همان غلظت‌ها، سنتز باندهای ایزوآنزیمی ۲ و ۵ زیاد شده بود، ولی در رقم کراس سرخ تخم تنها در غلظت ۱۵۰ میلی‌مول نمک، فعالیت ایزوآنزیم‌های ۲، ۳، ۴، ۵ و ۶ در مقایسه با شاهد و دو تیمار دیگر تنش افزایش یافته بود. به عبارت دیگر فعالیت آنزیم پراکسیداز در هر سه رقم متحمل مورد آزمایش به وضوح افزایش یافته بود (شکل‌های ۳ و ۴)، لیکن آستانه تأثیر تنش شوری بر سنتز



شکل ۱- پروفیل الکتروفوری پروتئین‌های محلول برگ گندم مهدوی و HYS

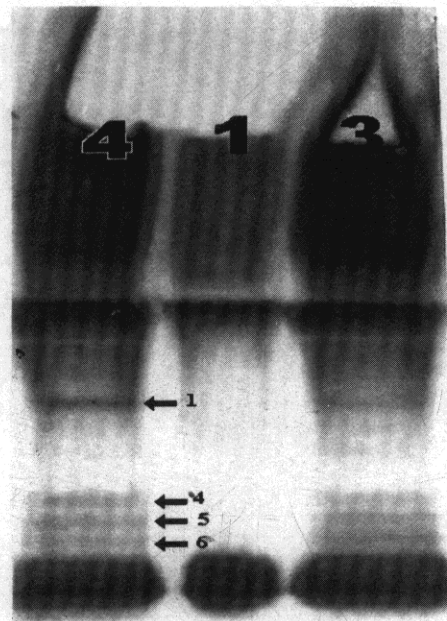
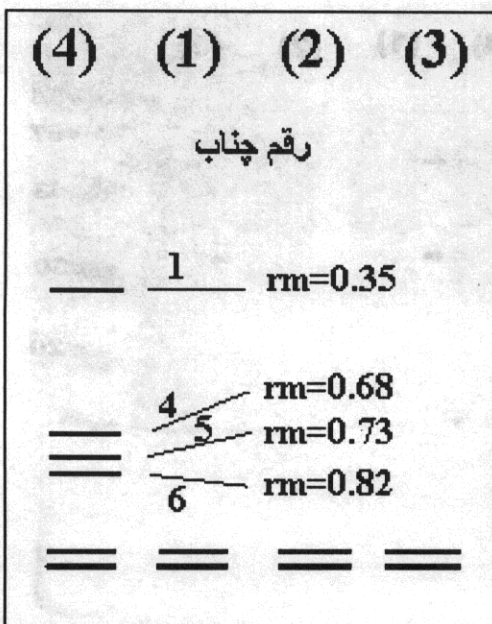
Fig. 1. Electrophoretic patterns of soluble proteins in leaves Mahdavi and line HYS

تیمارها عبارتند از شاهد (۱)، ۵۰ میلی‌مول نمک (۲)، ۱۰۰ میلی‌مول نمک (۳) و ۱۵۰ میلی‌مول نمک (۴). باندهای تغییر یافته با فلش مشخص شده‌اند



شکل ۳- پروفیل ایزوآنزیم‌های پراکسیداز ریشه گندم کراس سرخ تخم (تیمارها مانند شکل ۱)

Fig.3. Electrophoretic patterns of root peroxidase isoenzymes in cross - sorkh tokhm

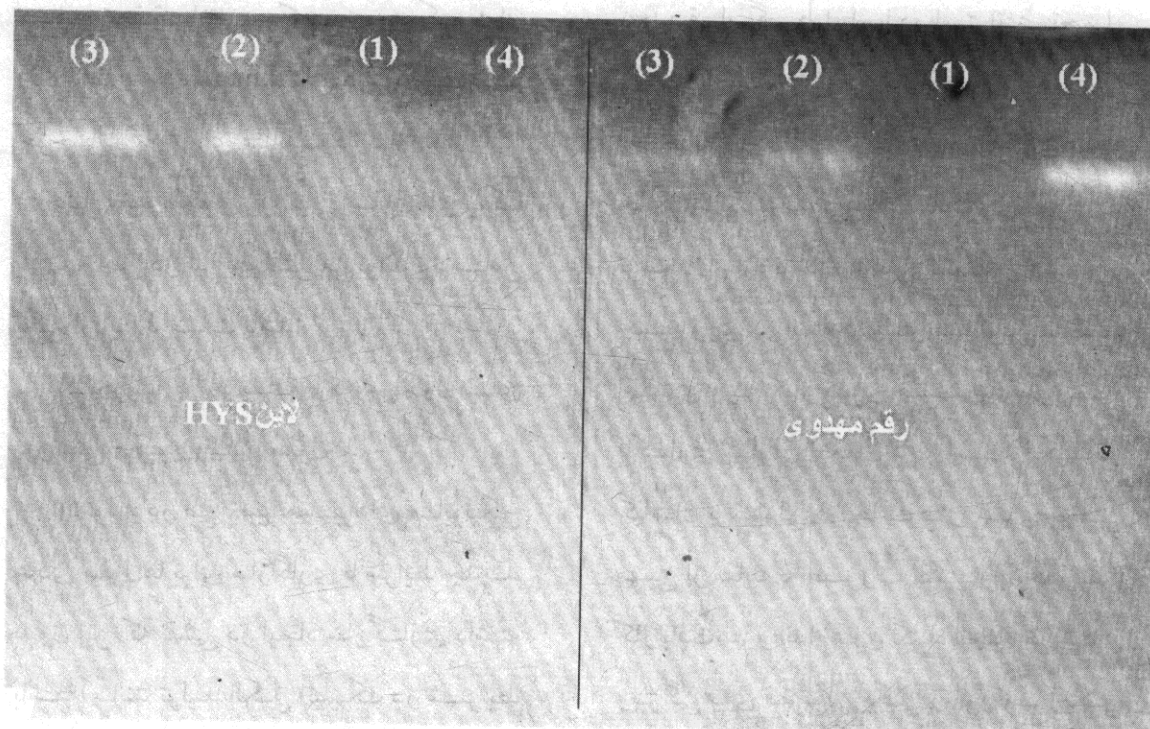


شکل ۴- پروفیل آیزوزایمی پراکسیداز ریشه چناب

Fig.4. Electrophoretic patterns of proxidase isozyme of Chenab

شاهد (۱) تیمار ۱۰۰ (۳) و تیمار ۱۵۰ میلی مول نمک (۴)





شکل ۵- فعالیت آنزیم کاتالاز ریشه گندم‌های مهدوی و HYS در تیمارهای شوری

Fig. 5. Catalase enzyme of roots of Mahdavi and HYS in different salt treatments

متفاوت ارقام مورد بررسی در بروز نتایج متفاوت و متناقض مؤثر بوده است.

تشدید باند پلی‌پپتیدی ۳۲ کیلودالتن در رقم مهدوی با نتایج اریکسون و آلفینیتو (Ericson and Alfinito, 1994) روی سلول‌های لاین مقاوم به شوری توتون با استفاده از الکتروفورز یک بعدی مطابقت می‌نماید. سونیتا (Sunita, 1993) نیز سنتر باند پلی‌پپتیدی جدیدی ۵۶ کیلودالتن را در نخود گزارش دادند.

افزایش تراکم این باند در تیمارهای ۱۰۰ و ۱۵۰ میلی‌مول ارقام مهدوی و چناب مشاهده شد. عدم تغییر پلی‌پپتیدی در ارقام حساس طبسی، شاه‌پسند و لاین HYS با

#### بحث

تا کنون در بررسی‌های نسبتاً زیاد سعی در یافتن نشانگرهای پروتئینی اعطاکننده تحمل به شوری در گیاهان شده است. حاصل این پژوهش‌ها، معرفی بیش از ۲۰ پلی‌پپتید با وزن‌های ملکولی ۱۵، ۱۶، ۱۸، ۲۰، ۲۱، ۲۲، ۲۶، ۲۷، ۳۰، ۳۲، ۳۴، ۴۷، ۴۹، ۵۶، ۷۰، ۷۶، ۷۸، ۹۸، ۱۰۰ و ۱۰۵ کیلودالتن بوده است. به این تعداد باید نتیجه آزمایش‌هایی که در آن‌ها تغییری در الگوی پروتئینی گیاهان در شرایط تنش مشاهده نگردیده را نیز اضافه نمود. تقریباً در تمام این آزمایش‌ها یک رقم خاص بدون توجه به درجه مقاومت به شوری آن مطالعه شده و به نظر می‌رسد درجه تحمل

مجدد قرار گیرد. اساسا دو استراتژی تحمل شوری در سلسله گیاهی شناخته شده است. به لحاظ تئوری‌های موجود، در باکتری‌ها و جلبک‌های کم‌سلولی مقابله با شوری محیط با ترشح و اجازه ندادن به عبور نمک از غشاء یا جمع‌آوری در اندامک‌های سلولی، تنظیم اسمزی و به کارگیری سیستم‌های آنزیمی پاکسازی سلولی امکان‌پذیر است. لیکن در گیاهان پرسلولی در خاک‌های شور، بخش مهمی از مقابله به صورت تقسیم و تخصیص کار بافت‌ها و اندام‌های گیاه انجام می‌شود. ویژگی‌های فیزیولوژیکی و مورفولوژیکی مانند کاهش وسعت منطقه سلول‌های اپیدرمی ریشه، نسبت بزرگی عرض نوار کاسپارین به تمام سطح دیواره، قابلیت انتخاب پمپ پروتون غشاء‌های پلاسمایی ریشه، واکوئل‌ها و یزیکول‌ها، میزان دخالت مسیر سیمپلاستی مواد به سمت استوانه مرکزی ریشه، رفتار تنظیفی واکوئل‌های ریشه در گردآوری یون‌های کلر و سدیم، اثر تصفیه‌ای سلول‌های ناقل پارانثیم (Transfer cells) آوند چوبی، میزان گسترش ساختارهای خارج‌کننده نمک سیتوپلاسم، کنترل ثانویه شیره آوندی در ساقه، توزیع نمک در اندام‌های پیرتر و غده‌ها و پرزها از جمله مکانیزم‌هایی هستند که باعث جلوگیری از افزایش بیش از حد نمک در سیتوسل می‌شوند. تا زمانی که پارامترهای فوق در یک گیاه فعالیت مؤثری داشته باشند، تحریک شیمیایی ژن‌ها اتفاق نمی‌افتد. لذا

نتایج تحقیقات هورکمن و همکاران (Hurkman *et al.*, 1989) در دو رقم جوحساس به شوری مطابقت دارد.

دلیل تغییر الگوی پروتئینی سلول‌های یک بافت خاص در شرایط تنش می‌تواند بر اساس یکی از این فرضیات باشد:

۱- تجزیه و تخریب ماکرومولکول‌های پروتئینی و لیپوپروتئینی سلول‌ها.

۲- تولید در طی تغییر مسیرهای متابولیکی عادی سلول‌ها برای سازگاری با شرایط جدید بدون این که نقشی در ایجاد سازگاری داشته باشد (مانند تولید الکل اتیلیک در شرایط بی‌هوایی به عنوان ماده جنبی تغییر مسیر تنفسی از پنتوزفسفات به اسید گلیکولیک).

۳- تغییر بیان ژنی برای افزایش توانایی تحمل تنش.

تجزیه و تخریب ماکرومولکول‌ها و یا تولید در اثر تغییر مسیرهای متابولیکی (دلایل اول و دوم) در صورتی قابل قبول به نظر می‌رسد که تغییر الگوی پروتئینی در همه ارقام اعم از حساس یا مقاوم مشاهده شود. از آنجا که هیچگونه تغییری در ارقام حساس دیده نشده است، لذا به نظر نمی‌رسد دلایل اول و دوم در این بررسی صادق باشند. در عین حال به دلیل عدم تغییر این دو باند در رقم مقاوم کراس سرخ تخم نمی‌توان افزایش سنتز باندهای ۵۶ و ۳۲ کیلودالتنی را به سهولت ناشی از بیان ژن‌های مقاومت دانست بلکه لازم است فرضیات مطرح شده در این باره مورد بازنگری



انتظار می‌رود در گیاهان مقاومی که از مکانیزم‌های فیزیولوژیک و مورفولوژیک فوق بیشتر منتفع هستند تحریک شیمیایی ژن‌ها دیرتر یا در غلظت‌های شوری بالاتری اتفاق بیفتد. در این حالت عکس‌العمل شیمیایی گیاه مقاوم همانند رقم حساسی است که از مکانیزم‌های بیوشیمیایی سلولی بی‌بهره است. با توجه به مطالب فوق و پاسخ‌های متفاوت ارقام مورد آزمایش این حدس پدید می‌آید که نشانگرهای پروتئینی، بدون در نظر گرفتن مکانیزم‌های مورفولوژیک و فیزیولوژیک مقاومت به شوری اعتبار کافی نخواهند داشت. عدم موفقیت محققین در تولید گیاهان متحمل به شوری از طریق کشت سلول‌هایی که در محیط رشد حاوی نمک انتخاب شده‌اند، این نظر را تأیید می‌کند.

تناقض در نتایج به دست آمده از آزمایش‌هایی که اثر شوری بر سیستم آنزیمی گیاهان را مورد بررسی قرار داده‌اند، شناخت مکانیزم‌های تحمل شوری را پیچیده‌تر می‌نماید. هرناندز و همکاران (Hernandez *et al.*, 1993) تغییر در فعالیت آنزیم پراکسیداز در گونه‌های نخود در تنش شوری مشاهده نکردند که با نتایج آزمایش‌های ارقام حساس در این تحقیق منطبق است. هرناندز و همکاران (Hernandez *et al.*, 1994, 1995)، گوست و همکاران (Gosset *et al.*, 1996)، گوت‌دهان و همکاران (Gutea-Dahan

به نتایج مشابهی همانند آنچه در این تحقیق روی ارقام متحمل چناب، مهدوی و کراس سرخ تخم به دست آمده است، اشاره نموده‌اند. در این آزمایش‌ها فعالیت آنزیم پراکسیداز سلولی در گیاهان نخود و پنبه مورد آزمایش افزایش یافته است. افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانت پراکسیداز و کاتالاز در اثر شوری این احتمال را تقویت می‌کند که در تنش شوری علاوه بر جنبه‌های تنش اسمزی، مواد غذایی و سمیت یونی، تولید رادیکال‌های واکنش‌گر اکسیژن و فعالیت آن‌ها در گیاه، عامل ایجاد قسمتی از آسیب‌های ناشی از تنش شوری می‌باشد. در برخی از ارقام پاکسازی سیتوسل از رادیکال‌های مخرب اکسیژن با افزایش سنتز و فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانت انجام می‌شود. بهر حال آن قسمت از عکس‌العمل‌های توجیه نشده شوری نیز ممکن است در این حیطه پاسخ بهتری بیابند، به عنوان مثال، علت نشت غشائی در تنش شوری را می‌توان ناشی از اثر رادیکال‌های مخرب اکسیژن در اکسید کردن و تخریب لیپیدها و پروتئین‌های غشاء دانست که در عین حال، توضیح کامل‌تری نسبت به اثر حضور یون‌های یک ظرفیتی در سیتوسل به نظر می‌رسد. علائم نکروتیک روی برگ‌های گیاهان در محیط تنش شوری نیز می‌تواند به دلیل تخریب و نابودی ملکول‌های کلروفیل در اثر فعالیت رادیکال‌های واکنش‌گر اکسیژن باشد. در هر

انتظار می‌رود در گیاهان مقاومی که از مکانیزم‌های فیزیولوژیک و مورفولوژیک فوق بیشتر منتفع هستند تحریک شیمیایی ژن‌ها دیرتر یا در غلظت‌های شوری بالاتری اتفاق بیفتد. در این حالت عکس‌العمل شیمیایی گیاه مقاوم همانند رقم حساسی است که از مکانیزم‌های بیوشیمیایی سلولی بی‌بهره است. با توجه به مطالب فوق و پاسخ‌های متفاوت ارقام مورد آزمایش این حدس پدید می‌آید که نشانگرهای پروتئینی، بدون در نظر گرفتن مکانیزم‌های مورفولوژیک و فیزیولوژیک مقاومت به شوری اعتبار کافی نخواهند داشت. عدم موفقیت محققین در تولید گیاهان متحمل به شوری از طریق کشت سلول‌هایی که در محیط رشد حاوی نمک انتخاب شده‌اند، این نظر را تأیید می‌کند.

تناقض در نتایج به دست آمده از آزمایش‌هایی که اثر شوری بر سیستم آنزیمی گیاهان را مورد بررسی قرار داده‌اند، شناخت مکانیزم‌های تحمل شوری را پیچیده‌تر می‌نماید. هرناندز و همکاران (Hernandez *et al.*, 1993) تغییر در فعالیت آنزیم پراکسیداز در گونه‌های نخود در تنش شوری مشاهده نکردند که با نتایج آزمایش‌های ارقام حساس در این تحقیق منطبق است. هرناندز و همکاران (Hernandez *et al.*, 1994, 1995)، گوست و همکاران (Gosset *et al.*, 1996)، گوت‌دهان و همکاران (Gutea-Dahan

در گندم‌های مقاوم، می‌تواند به این دلیل باشد که مسیر تحریک ژن‌های آنتی‌اکسیدانت مختلف، متفاوت و تابع ژنتیک رقم است و پیام واحدی برای تحریک کل سیستم دفاع آنتی‌اکسیدانت صادر نمی‌شود. در غیر این صورت انتظار می‌رفت فعالیت این دو آنزیم در یک رقم به طور مشابهی رخ داده باشد.

صورت تنش اکسیداتیو می‌تواند همراه با سمیت یونی و اثرات اسمزی موجب تشدید برخی از آسیب‌های شوری شود. گیاهان مقاوم، توانایی پاکسازی سیتوسسل از رادیکال‌های اکسیژن را مدیون تحریک سیستم دفاع آنتی‌اکسیدانت می‌باشند.

نتیجه قابل بحث دیگر این است که فعالیت زیاد آنزیم کاتالاز در تیمار ۵۰ میلی‌مول نمک و عدم واکنش آنزیم پراکسیداز به این غلظت

## References

منابع مورد استفاده

حسینی شاهسون، م. ۱۳۷۵. ارزیابی ارقام گندم ایرانی از نظر تحمل به شوری. پایان‌نامه کارشناسی ارشد. دانشگاه تهران. دانشکده کشاورزی.

**Brodford, M.M. 1976.** A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Annu. Bioc.* 72: 247-254.

**Cakmak, J., and Marschner, H. 1992.** Magnesium and high light intensity enhance activities of superoxide dismutase, ascorbate peroxidase and glutathione reductase in bean leaves. *Plant Physiology* 98: 1222-1227.

**Ericson, M.C., and Alfinito, S.H. 1994.** Protein production during salt stress in tobacco cell culture. *Plant Physiology* 74: 506-509.

**Gosset, D.R., Banks, S., Millholon, E.P., and Lucase, M.C. 1996.** Antioxidant responses to NaCl stress in a control and NaCl-tolerant cotton cell line growth in the presence of Paeaqueate, Buthinonesulfoxine and exogenous Glutathione. *Plant Physiology* 112: 803-809.

**Gutea-Dahan Y., Yaniv, Z., Zillinskase, B.A., and Benthym, G. 1997.** Salt and oxidative stress: Similar and specific responses and their relation to salt tolerance in citrus. *Planta* 203: 406-469.

**Hernandez J.A., Corpase, F.J., Gomez, M., Delrio, L.A., and Sevilla, F. 1993.** Salt induced oxidative stress mediated by activated oxygen species in pea leaf mitochondria. *Plantarum* 89: 103-110.

- Hernandez J.A., Delrio, L.A., and Sevilla, F. 1994.** Salt stress-induced changes in superoxide dismutase isozymes in leaves and mesophyll protoplasts from *vigna unguiculata* Walp. *New Phytologist* 126: 37-44.
- Hernandez, J.A., Olmose, F., Corpas, F.J., Delrio, L.A., and Sevilla, F. 1995.** Salt induced oxidative stress in chloroplasts of pea plants. *Plant Science* 105: 161-167.
- Hurkman, W.J., and Tanka, C.K. 1987.** The effect of salt on the protein synthesis in barley roots. *Plant Physiology* 83: 517-524.
- Hurkman W.J., Fornari, C.S., and Tanka, C.K. 1989.** A comparison of effect of salt on polypeptides and translatable m-RNA in roots of a salt tolerant and salt sensitive cultivars of barley. *Plant Physiology* 90: 1444-1450.
- Lopez F., Francios, L.E., and Clark, R.A. 1994.** Accumulation of 22 Kda protein and it's mRNA in the leaves of *Raphanus sativus* in response to salt stress. *Physiol. Plantarum* 91: 605-614.
- Nato, M., and Mirshahi, A. 1995.** Are Arestin like proteins involve in plant signal transduction pathway. *Plant Molecular Cell Biol.:* 519-524.
- Rao M.V., Hale, B.A., and Ormond, O.P. 1995.** Amelloration of ozone induced oxidatve damege in wheat plants grown under high carbondioxide: Role of antioxidant enzymes. *Plant Physiology* 109: 421-432.
- Singh N.K., Handa, A.K., Hasegava, P.M., and Bressan, R.A. 1985.** Proteins associated with adaptation of cultured tobacco cells to NaCl. *Plant Physiology* 79: 126-137.
- Sunita, J. 1993.** Salt tolerance in *Brassica juncea*. *Euphytica* 65: 107-112.
- Wendel, J.F., and Weeden, N.F. 1989.** Visualization and interpretation of plant isozymes. pp.5-45. In: Soltic, D.E, and Soltic, P.S. (eds.) *Isozyme in Plant Biology*. Washington State University. Dioscorides Press.
- Willekens, H., Van Camp, W., Montageu, M.V., Langebartels, C., and Sandermann, H. 1994.** Ozone, SO<sub>2</sub> and UV-B have similar effects on mRNA accumulation of antioxidant genes in *Nicotiana plumbaginifolia* L. *Plant Physiology* 106: 1007-1014.