

## بررسی اثر تنش کلرید سدیم بر فعالیت پراکسیدازها و پراکسیداسیون لیپید در ریشه‌های دو رقم حساس و متحمل گندم (*Triticum aestivum* L.)

الهام نیری ترشیزی<sup>۱</sup>، \*فائزه قناتی<sup>۲</sup>

۱. کارشناس ارشد فیزیولوژی گیاهی

۲. دانشیار بخش علوم گیاهی، دانشکده علوم زیستی، دانشگاه تربیت مدرس تهران

### چکیده

در این مقاله تاثیر تنش کلرید سدیم بر فعالیت پراکسیدازهای محلول (SPO) و متصل به دیواره (IPO, CPO) و همچنین پراکسیداسیون لیپیدهای غشا در تیمار 300mM کلرید سدیم در ریشه دو رقم حساس (الموت) و متحمل (ماهوتی) گندم پس از ۲۴، ۴۸ و ۹۶ ساعت مورد مطالعه قرار گرفت. همچنین درصد لیگنین دیواره و مقدار وزن خشک دیواره پس از ۹۶ ساعت مورد بررسی قرار گرفت. سمیت کلرید سدیم سبب افزایش پراکسیداسیون لیپیدهای غشا در زمان‌های مورد نظر در نمونه‌های تیمار شده نسبت به شاهد گردید. افزایش در پراکسیدازهای متصل به دیواره به ویژه در رقم ماهوتی همراه با افزایش درصد لیگنین دیواره نشان دهنده نقش این پراکسیدازها در لیگنینی کردن دیواره می‌باشد. پراکسیدازهای محلول نیز در هر دو رقم افزایش یافت. این پراکسیدازها در جاروب کردن رادیکال‌های آزاد ناشی از سمیت کلرید سدیم نقش دارند. نتایج نشان می‌دهد که تنش کلرید سدیم فعالیت آنزیم‌های پراکسیداز را به ویژه در رقم ماهوتی افزایش می‌دهد و پراکسیدازهای متصل به دیواره در افزایش درصد لیگنینی شدن دیواره و تسریع فرایند پیری نقش دارند.

**کلمات کلیدی:** پراکسیدازهای متصل به دیواره، پراکسیدازهای محلول، پراکسیداسیون لیپید، تنش شوری،

گندم، لیگنین.

### مقدمه

نوکلئیک مهار می‌کنند (Fridovich, 1989). لذا اکسیژن نوزاد به سرعت هم از طریق مسیر آنزیمی و هم غیرآنزیمی به هیدروژن پراکسید و مولکول اکسیژن تبدیل می‌شود. هیدروژن پراکسید می‌تواند در حضور برخی کلات‌های فلزی، رادیکال هیدروکسیل بسیار فعال را تولید نماید. بنابراین گیاهان با دارا بودن آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان می‌توانند انواع اکسیژن‌های سمی و فعال را حذف نمایند.

تنش شوری به سبب تاثیرات اسمزی باعث کمبود آب و تولید گونه‌های فعال اکسیژن مانند سوپراکسید ( $O_2^{\circ}$ )، هیدروژن پراکسید ( $H_2O_2$ )، رادیکال هیدروکسیل ( $OH^{\circ}$ ) و اکسیژن نوزاد<sup>۱</sup> ( $O_2^1$ ) می‌گردد (Elstner, 1987). انواع فعال اکسیژن به طور جدی متابولیسم طبیعی را در تخریب اکسیداتیو برای لیپیدها، پروتئین‌ها و اسیدهای

<sup>۱</sup>. Singlet oxygen

### مواد و روش‌ها

بذرهای اصلاح شده دو رقم گندم ماهوتی (متحمل به شوری) و الموت (حساس) از مؤسسه اصلاح نهال و بذر تهیه گردید. بذرهای پس از شستشو و استریل سطحی بوسیله وایتکس (۱:۲۰) و الکل ۷۰٪ بر روی سینی‌های دارای کاغذ صافی مرطوب و در دمای ۲۷ درجه در تاریکی کشت داده شدند. پس از حدود ۷ روز از زمان کشت بذرهای در مرحله‌ای که دانه رست‌ها ۷ الی ۸ سانتی‌متر داشتند، به ظرف‌های حاوی محیط هوگلند در دمای  $27 \pm 3$  درجه و شدت نور  $10.1/5 \mu\text{mol s}^{-1} \text{m}^{-2}$  منتقل شده و بوسیله پمپ، هوادهی شدند. محیط‌های کشت هر سه روز یکبار تعویض می‌شدند.

### آنالیزهای بیوشیمیایی

کلیه آنالیزهای بیوشیمیایی برای بررسی پراکسیدازهای محلول و متصل به دیواره، پراکسیداسیون لیپید و سنجش لیگنین دیواره روی ریشه‌های منجمد انجام شده، سنجش پروتئین به روش برادفورد (Bradford, 1976) با استفاده از آلبومین سرم گاوی (BSA) به عنوان استاندارد (در غلظت‌های ۲۵ تا ۱۰۰ میکروگرم در ۱۰۰ میکرو لیتر) انجام شده است.

### سنجش فعالیت آنزیم پراکسیداز (PO)

۰/۴ گرم از ساقه و یا ریشه نمونه‌های منجمد با ۳ میلی‌لیتر بافر سدیم فسفات ۶۰ میلی‌مولار با pH معادل ۶/۱ ساییده و عصاره‌گیری شد. محلول حاصل در دور ۱۰۰۰۰g در دقیقه و به مدت ۱۵ دقیقه در دمای ۴ درجه سانتی‌فریز گردید. از محلول رویی آن برای سنجش آنزیم پراکسیداز در بخش محلول استفاده شد و از رسوب حاصل از آن برای سنجش فعالیت پراکسیداز در دو فاز یونی و کووالانی استفاده گردید.

سنجش فعالیت بخش محلول آنزیم پراکسیداز (SPO) با استفاده از روش (Pandolfini et al., 1992) انجام شد و جذب مخلوط واکنش در طول موج ۴۷۰ nm و به مدت ۱ دقیقه اندازه‌گیری شد. فعالیت آنزیمی به

از مهمترین این آنزیم‌ها می‌توان به سوپراکسید دیسموتاز (SOD)، کاتالاز (CAT)، پراکسیداز (POX)، گلوکاتایون ردوکتاز (GR) و دی‌هیدروآسکوربات ردوکتاز (DHAR) که در کلروپلاست‌ها، سیتوزول، پراکسیزوم‌ها و میتوکندری‌ها یافت می‌شوند و در حذف هیدروژن پراکسید موثرند، اشاره نمود (Noctor and Foyer, 1998). پراکسیدازها از جمله گلیکوپروتئین‌های دارای گروه هم<sup>۱</sup> می‌باشند که به وسیله خانواده چندژنی (multigene) در گیاهان رمزگذاری می‌شوند (Atak et al., 2007). این آنزیم‌ها در شکستن هیدروژن پراکسید نقش دارند و دیواره سلولی، شبکه اندوپلاسمی، دستگاه گلزی و واکوئل یافت شده‌اند که این پراکنش با نقش‌های فیزیولوژیکی آن‌ها در ارتباط است (Scholoss et al., 1987). مطالعات نشان داده که پراکسیدازها در لیگنینی شدن و سوبرینی شدن دیواره، کاتابولیسم اکسین و مقاومت در برابر پاتوژن‌ها، تحمل شوری و پیری نقش کلیدی بازی می‌کنند (Atak et al., 2007). همچنین پراکسیدازها در سخت شدن دیواره با تشکیل اتصالات فنلی و در نتیجه کنترل رشد گیاه نقش دارند که این فرایند مشابه فرایند پلیمریزاسیون اکسیداتیو سینامیک الکل طی لیگنینی شدن دیواره سلولی می‌باشد.

Valero و همکاران (۱۹۹۱) نشان داده است که فعالیت پراکسیدازهای دیواره سلولی در اپی کوتیل نخود<sup>۲</sup> با سخت شدن دیواره سلولی ارتباط دارد (Saroop et al., 2002).

در این مقاله تغییرات میزان فعالیت پراکسیدازهای محلول و متصل به دیواره، همچنین مقدار پراکسیداسیون لیپیدهای غشا و ارتباط آنها با لیگنینی شدن دیواره در ریشه دو رقم ماهوتی و الموت مورد بررسی قرار گرفته است و نقش این آنزیم‌ها در تحمل به شوری در دو رقم مورد نظر مقایسه شده است.

<sup>1</sup>. Heme

<sup>2</sup>. *Cicer arietinum*

صورت افزایش جذب بر حسب میلی گرم پروتئین محاسبه گردید .

مخلوط واکنش متشکل از بافر سدیم فسفات ۶۰ میلی مولار با pH معادل ۶/۱، گایاکول ۲۸ میلی مولار، هیدروژن پراکسید ۵ میلی مولار و ۱۰۰ میکرولیتر عصاره آنزیم بود.

برای سنجش بخش یونی آنزیم پراکسیداز (IPO) به رسوب حاصل از سانتیفریژ در مرحله قبل ۲ میلی-لیتر محلول ۰/۲ مولار کلرید کلسیم (CaCl<sub>2</sub>) اضافه گردید و به مدت ۲ ساعت بر روی شیکر قرار داده شد. مخلوط حاصل در دور ۱۰۰۰g و به مدت ۱۵ دقیقه و دمای ۴ درجه سانتیفریژ گردید. از محلول رویی آن برای سنجش فعالیت بخش یونی آنزیم پراکسیداز استفاده شد.

مخلوط واکنش شامل بافر سدیم فسفات ۶۰ میلی مولار با pH معادل ۶/۱ Syringaldazine، ۴/۱۶×۱۰<sup>۲</sup> میلی مولار، هیدروژن پراکسید ۱/۶ میلی مولار و ۱۰۰ میکرولیتر عصاره آنزیم بود.

فعالیت آنزیمی به صورت افزایش در جذب در طول موج ۵۳۰nm و به مدت ۱ دقیقه و بر حسب میلی گرم پروتئین محاسبه گردید (Pandolfini et al., 1992).

به منظور سنجش فعالیت بخش کووالانی آنزیم پراکسیداز (CPO) به رسوب حاصل از مرحله قبلی ۲ میلی لیتر بافر سدیم فسفات ۶۰ میلی مولار با pH معادل ۶/۱ اضافه و مواد موجود در لوله ها کاملاً مخلوط و همگن شد. از این مخلوط به عنوان عصاره آنزیمی استفاده گردید. مخلوط واکنش از بافر سدیم فسفات ۶۰ میلی مولار با pH معادل ۶/۱ Syringaldazine، 4.16\*10<sup>-2</sup> میلی مولار، هیدروژن پراکسید ۱/۶ میلی مولار و ۱۰۰ میکرولیتر عصاره آنزیمی تشکیل شده بود.

فعالیت آنزیمی به صورت افزایش در جذب در طول موج ۵۳۰ nm و به مدت ۱ دقیقه و بر حسب

میلی گرم وزن خشک دیواره محاسبه گردید (Pandolfini et al., 1992).

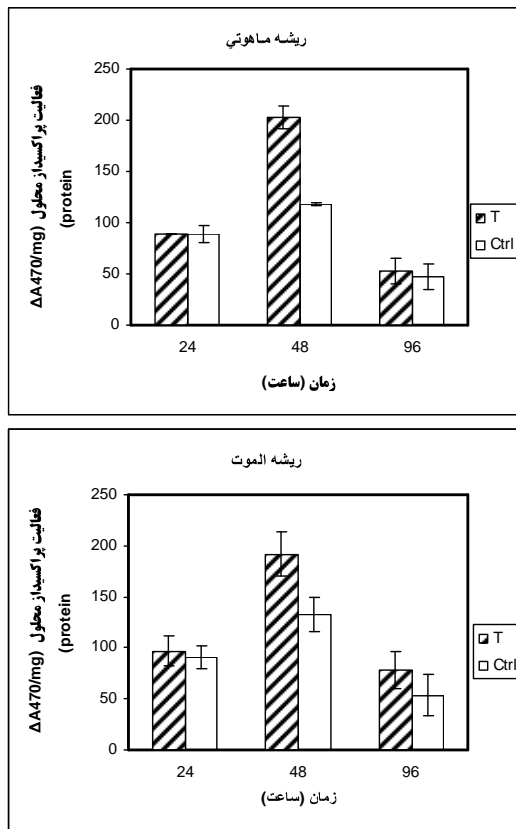
استخراج و سنجش مقدار دیواره و سنجش لیگنین آن ۲/۵ گرم ساقه و ریشه منجمد با بافر سدیم فسفات ۲۵ میلی مولار با pH معادل ۶/۸ ساییده و با قیف بوختر و کاغذ صافی رسوب و محلول از هم جدا گردید. رسوب مربوطه ۳۰ دقیقه با ۴ حجم اتانول مطلق شسته شد و این عمل ۲ بار تکرار شد. پس از صاف کردن، رسوبات حاصل با ۱۰ حجم مخلوط متانول - کلروفرم با نسبت ۲:۱ و به مدت یک شبانه روز نگهداری گردید. سپس رسوبات صاف شده ۱ ساعت در ۱۰ حجم استون نگهداری شد. رسوبات حاصل در معرض هوا خشک گردید. رسوبات خشک شده دیواره ساییده و از غربالهایی با منافذ ۱۵۰ میکرون عبور داده شد. پودر رسوبات حاصل به مقدار ۶ میلی گرم توزین شده و در لوله های آزمایش ریخته شد.

برای سنجش لیگنین ۶ میلی گرم پودر نرم دیواره با مخلوط حاوی ۲۵ درصد استیل پروماید در اسید استیک و ۴٪ پرکلریک اسید ۷۰ درصد ترکیب و در حمام ۷۰ درجه، به مدت ۳۰ دقیقه قرار داده شد. مخلوط حاصل هر ۱۰ دقیقه یکبار تکان داده شد. پس از ۳۰ دقیقه نمونه های حاصل در یخ قرار گرفت. محلول صاف شده به بالون ژوژه های ۲۵ میلی لیتری حاوی ۵ میلی لیتر محلول هیدروکسید سدیم ۲ مولار و ۶ میلی لیتر اسید استیک گلاسیال منتقل شد. سپس توسط اسید مذکور به حجم ۲۵ میلی مولار رسانده شد. محتوای لیگنین دیواره با اندازه گیری جذب در طول موج ۲۸۰ nm و با استفاده از ضریب جذب ویژه ۲۰g L<sup>-1</sup> cm<sup>-1</sup> محاسبه گردید (Iiyama and Wallis, 1990).

#### سنجش پراکسیداسیون لیپیدهای غشا (LPO)

پراکسیداسیون لیپیدهای غشا با اندازه گیری مقدار مالون دی آلدئید (MDA) تولید شده به عنوان فرآورده نهایی پراکسیداسیون غشا بوسیله واکنش تیوباربتوریک اسید سنجیده شد (Heath and Packer, 1968).

مقدار دیواره: شکل ۶ نسبت میزان وزن خشک دیواره به وزن تر گیاهان تحت تیمار را نشان می‌دهد. همان گونه که دیده می‌شود در ریشه هر دو رقم تفاوتی بین میزان وزن خشک دیواره قبل و بعد از تیمار با نمک وجود نداشت.



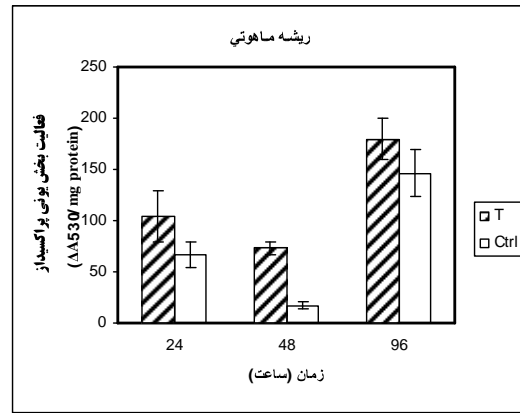
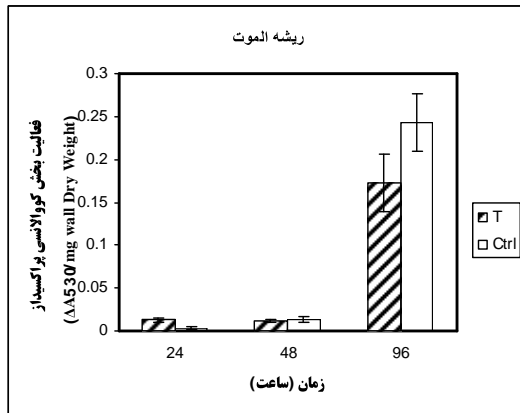
شکل ۱: فعالیت پراکسیداز محلول (SPO) ۲۴، ۴۸، و ۹۶ ساعت پس از تیمار با کلریک سدیم در دو گونه مورد مطالعه. شاهد (Ctrl) و تیمار (T). داده‌ها میانگین سه تکرار و میله‌های عمودی نشان دهنده انحراف معیار می‌باشد. در هر گروه حروف غیر یکسان نشان دهنده تفاوت معنی دار در سطح ۰/۰۵ است.

۰/۵ گرم از ساقه و ریشه منجمد با ۳ میلی‌لیتر از تری‌کلرواستیک اسید ۱۰ درصد ساییده و از کاغذ صافی عبور داده شد. به ۱ میلی‌لیتر از این عصاره ۱ میلی‌لیتر تیوباربتوریک اسید (TBA) ۰/۵ درصد در یک لوله آزمایش اضافه شده، ۳۰ دقیقه در حمام آب ۱۰۰ درجه قرار گرفت. پس از سرد شدن لوله‌ها در دمای محیط، جذب محلول در طول موج‌های ۵۳۲ nm و ۶۰۰ nm به وسیله دستگاه اسپکتروفتومتر خوانده شد و غلظت MDA با استفاده از ضریب جذب ثابت  $\epsilon=155\text{mM}^{-1}\text{cm}^{-1}$  محاسبه گردید (De Vos et al., 1991).

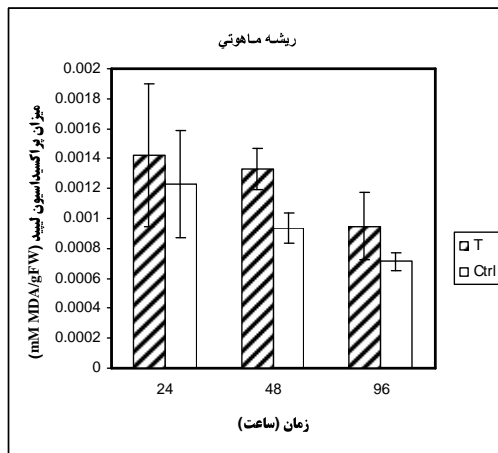
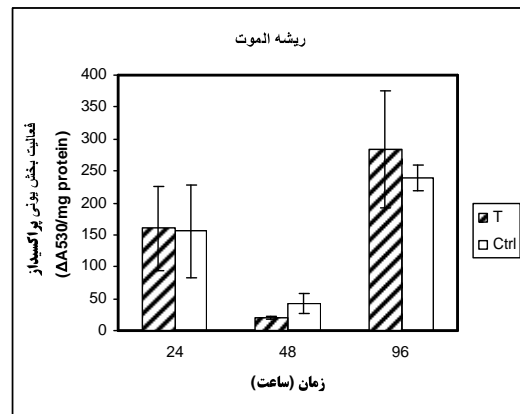
### نتایج

فعالیت آنزیم پراکسیداز: فعالیت آنزیمی پراکسیداز محلول در ریشه دو رقم ماهوتی و الموت پس از ۲۴، ۴۸ و ۹۶ ساعت تیمار با کلریک سدیم، نسبت به گیاهان شاهد افزایش نشان داد و این افزایش پس از ۴۸ ساعت تیمار در سطح  $(p<0/05)$  معنی دار بود (شکل ۱). فعالیت پراکسیداز یونی نیز در ریشه رقم ماهوتی ۴۸ ساعت پس از تیمار با نمک افزایش معنی دار و در رقم الموت کاهش معنی دار نشان داد (شکل ۲). فعالیت پراکسیداز کووالانی ریشه ماهوتی پس از ۲۴ ساعت تیمار، کاهش و پس از ۹۶ ساعت تیمار افزایش معنی داری داشت. اما در ریشه الموت تنها بعد از ۲۴ ساعت افزایش اندکی در فعالیت این آنزیم مشاهده شد و در دو زمان دیگر عمدتاً کاهش فعالیت آنزیمی وجود داشته است (شکل ۳). پراکسیداسیون لیپیدهای غشا در هر دو رقم ماهوتی و الموت بعد از ۲۴ و ۴۸ و ۹۶ ساعت تیمار افزایش یافت که نشان می‌دهد شدت تیمار وارده شدید بوده است و فعالیت این آنزیم‌ها نتوانسته میزان آسیب وارده را به طور کامل خنثی نماید (شکل ۴).

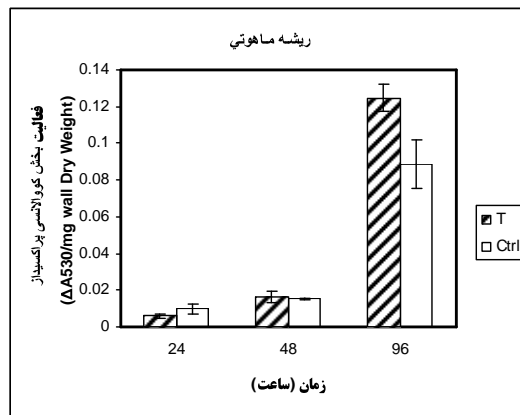
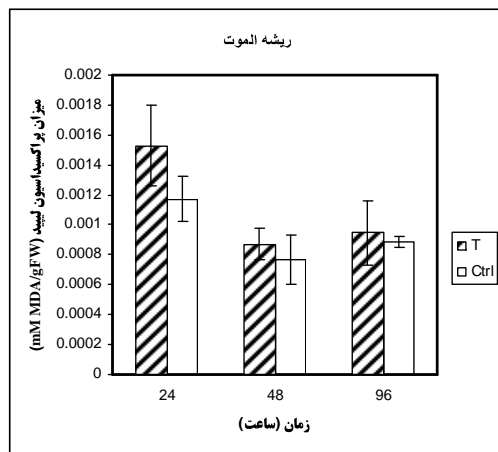
درصد لیگنینی شدن دیواره: در رقم ماهوتی افزایش معنی دار در سطح  $(p<0/05)$  و در رقم الموت کاهش نشان داده است (شکل ۵).



شکل ۳: فعالیت پراکسیداز کورالانی باند شده به دیواره (CPO) ۲۴، ۴۸ و ۹۶ ساعت پس از تیمار با کلریدسدم در دو گونه مورد مطالعه. شاهد (Ctrl) و تیمار (T). داده‌ها میانگین سه تکرار و میله‌های عمودی نشان دهنده انحراف معیار می‌باشد. در هر گروه حروف غیر یکسان نشان دهنده تفاوت معنی دار در سطح ۰/۰۵ است.

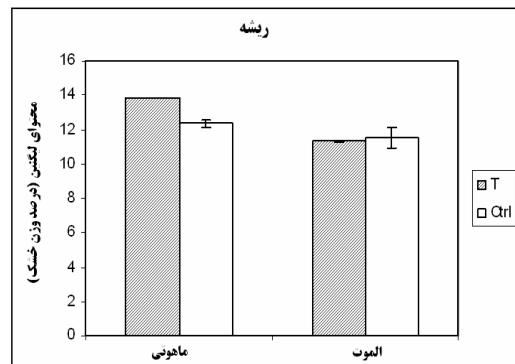


شکل ۲: فعالیت پراکسیداز یونی باند شده به دیواره (IPO) ۲۴، ۴۸ و ۹۶ ساعت تیمار با کلریدسدم در دو گونه مورد مطالعه. شاهد (Ctrl) و تیمار (T). داده‌ها میانگین سه تکرار و میله‌های عمودی نشان دهنده انحراف معیار می‌باشد. در هر گروه حروف غیریکسان نشان دهنده تفاوت معنی دار در سطح ۰/۰۵ است.

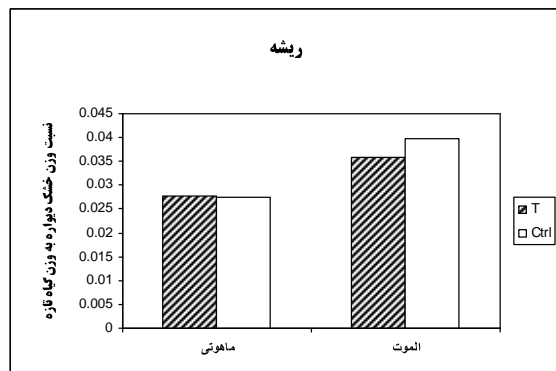


شکل ۴: میزان پراکسیداسیون لیپیدهای غشا ۲۴، ۴۸ و ۹۶ ساعت پس از تیمار با کلریدسدم در دو گونه مورد مطالعه. شاهد (Ctrl) و تیمار (T). داده‌ها میانگین سه تکرار و میله‌های عمودی نشان دهنده انحراف معیار می‌باشد. در هر گروه

حروف غیر یکسان نشان دهنده تفاوت معنی دار در سطح ۰/۰۵ است.



شکل ۵: درصد چوبی شدن دیواره در ریشه دو رقم ماهوتی و الموت ۹۶ ساعت پس از تیمار با کلریک سدیم در دو گونه مورد مطالعه. شاهد (Ctrl) و تیمار (T). داده‌ها میانگین سه تکرار و میله‌های عمودی نشان دهنده انحراف معیار می‌باشد. در هر گروه حروف غیر یکسان نشان دهنده تفاوت معنی دار در سطح ۰/۰۵ است.



شکل ۶: نسبت وزن دیواره به وزن تر گیاه ۹۶ ساعت پس از تیمار با کلریک سدیم در ریشه دو رقم ماهوتی و الموت در دو گونه مورد مطالعه. شاهد (Ctrl) و تیمار (T).

### بحث

افزایش فعالیت پراکسیدازهای محلول و متصل به دیواره از جمله اثرات ناشی از سمیت تیمار با کلریک سدیم می‌باشد. افزایش در میزان فعالیت پراکسیدازهای دیواره در شرایط مختلف تنش مانند تنش‌های آبی، آلودگی هوا و فلزات سنگین به اثبات رسیده است (Pandolfini et al., 1992). فعالیت پراکسیداز محلول سبب شکستن هیدروژن پراکسید می‌گردد که نقش موثری در کاهش اثرات سمی ناشی از سمیت  $Na^+$  بازی می‌کند

زیرا هیدروژن پراکسید خود بسیار فعال است و سبب تحریک تجمع سایر گونه‌های فعال اکسیژن می‌گردد. از طرفی هیدروژن پراکسید یک واسطه علامت‌دهی در مرگ برنامه‌ریزی شده سلول می‌باشد و عمدتاً سبب پراکسیداسیون لیپیدهای غشا می‌گردد (Ghanati et al., 2005). لذا افزایش میزان پراکسیداز محلول در ریشه گیاهان تیمار نسبت به گیاهان شاهد سبب جاروب کردن پراکسید هیدروژن می‌گردد. با توجه به شکل ۱ دیده می‌شود که در طی ۴۸ ساعت تیمار با کلریک سدیم میزان افزایش آنزیم پراکسیداز محلول بسیار قابل توجه می‌باشد. از طرفی افزایش پر اکسیداسیون لیپیدهای غشا در هر دو رقم ماهوتی و الموت نشان می‌دهد شدت تیمار وارده شدید بوده است و فعالیت این آنزیم‌ها نتوانسته میزان آسیب وارده را به طور کامل خنثی نماید (شکل ۴).

تاثیر تنش اسمزی در ویژگی‌های مکانیکی دیواره سلولی تایید شده است (Wakabayashi et al., 1997) و تاثیر آن بر انعطاف‌پذیری دیواره سلولی برای گونه‌های گیاهی، اندام‌ها و یا شرایط مختلف رشد متغیر است. در بافت‌های در حال رشد گیاهان، دیواره سلولی عمدتاً از سلولز و پلی ساکاریدهای زمینه‌ای تشکیل شده است. مقدار و ساختار پلی ساکاریدهای دیواره به عنوان عوامل تعیین‌کننده خواص مکانیکی دیواره سلولی در نظر گرفته شده است. پراکسیدازهای دیواره در تبدیل فرولیک اسید (FA) به دی‌فرولیک اسید (DFA) و در نتیجه اتصال آن به آرابینوزایلان‌های دیواره نقش دارند (Wakabayashi et al., 1997). پراکسیدازها با تشکیل پیوندهای کووالانسی مانند ایزودی‌تیروزین یا پل‌های دی‌فرولیک اسیدی و همچنین از طریق اکسیداسیون سینامیک الکل به رادیکال‌هایی که به صورت لیگنین پلیمریزه می‌شوند در انعطاف‌پذیری و کشش دیواره نقش دارند. بسیاری از این تغییرات با افزایش سختی دیواره نیز همراهند (Saroop et al., 2002). در گیاهان انواع مختلفی از پراکسیدازها وجود دارد از جمله پراکسیدازهای محلول (SPO) که به طور

همانطور که در شکل های ۵ و ۶ مشاهده می شود علی رغم افزایش میزان لیگنین، پس از تیمار در رقم ماهوتی، میزان ترکیبات دیواره تغییر قابل ملاحظه ای نداشته، که پیشنهاد می شود این امر احتمالاً ناشی از کاهش در سایر ترکیبات دیواره باشد.

در مجموع بر مبنای نتایج به دست آمده در تحقیق حاضر دیده شد که در رقم معرفی شده از طرف سازمان نهال و بذر به عنوان رقم متحمل، تفاوتی در میزان پراکسیدازهای محلول نسبت به رقم حساس مشاهده نگردید، اما پراکسیدازهای متصل به دیواره و در نتیجه میزان لیگنین دیواره به ویژه در ساعات پایانی تیمار در این رقم نسبت به رقم حساس، تا حد زیادی افزایش نشان داده است و می توان یکی از دلایل تحمل بالای این رقم را به تنش شوری در واقع میزان بالای پراکسیدازهای متصل به دیواره بیان نمود و احتمال می رود با افزایش مدت زمان تیمار این اختلاف بیشتر مشهود گردد.

#### نتیجه گیری نهایی

گرچه فیزیولوژی سمیت شوری و تحمل نسبت به آن در گیاهان به طور کامل مشخص نشده است، بر اساس داده های این پژوهش نتیجه می شود که فعالیت پراکسیدازهای مختلف در شرایط تنش شوری و در زمان های خاصی از فعالیت گیاه افزایش می یابد و این افزایش با میزان لیگنینی شدن دیواره و در نتیجه پیری گیاه در ارتباط است. به نظر می رسد مکانیسم تحمل در ارقام زراعی متحمل به شوری بیشتر در ارتباط با افزایش فعالیت پراکسیدازهای متصل به دیواره به ویژه در ساعات پایانی تیمار می باشد و افزایش این آنزیم ها با حذف گونه های فعال اکسیژن و افزایش لیگنین در دیواره در ارتباط است.

#### References

Atak, C., Celik, O., Olgun, A., Alikamanoglu, S., Rzakoulieva, A., (2007). Effect of magnetic field on peroxidase activities of soybean tissue

عمده در سیتوزول و واکوئل دیده می شوند و پراکسیدازهای متصل به دیواره که با پیوندهای یونی (IPO) و کووالانسی (CPO) به دیواره متصلند ( Ghanati et al., 2005). پراکسیدازهای متصل به دیواره نیز در جمع آوری رادیکال های آزاد نقش دارند و پراکسیدهیدروژن به عنوان پذیرنده الکترون برای این آنزیم ها عمل می کند و نقش اساسی در پلیمریزاسیون مونومرهای فنل در سنتز لیگنین و ایجاد پیوندهای کووالانسی بین لیگنین و کربوهیدرات های دیواره سلول دارد ( Ghanati et al., 2005). در بررسی های کنونی مشاهده شد که فعالیت پراکسیدازهای متصل به دیواره در رقم ماهوتی افزایش و در رقم الموت کاهش داشته یا چندان تغییر قابل ملاحظه ای نداشته است (شکل های ۲ و ۳)، از طرفی میزان لیگنین دیواره در رقم ماهوتی افزایش، اما در رقم الموت اندکی کاهش یافت (شکل ۵). این نتایج نقش موثر پراکسیدازهای متصل به دیواره در جمع آوری رادیکال های آزاد و لیگنینی شدن دیواره در رقم ماهوتی و نقش کمتر این آنزیم ها را در رقم الموت و در نتیجه حساس بودن این رقم، نشان می دهد. در همین راستا نکته قابل توجه این است که فعالیت پراکسیداز متصل به دیواره با پیوند کووالانسی (شکل ۳) در انتهای دوره تیمار با نمک هم در نمونه های تیمار و هم در نمونه های شاهد نسبت به ساعات قبلی بسیار شدیدتر بود. این امر نشان دهنده آن است که اولاً به علت اتصال این آنزیم به دیواره فعالیت آن با تاخیر انجام می شود ثانیاً این آنزیم چون در فرایند پیری گیاه نقش دارد بنابراین با گذشت زمان و افزایش عمر گیاه حتی در نمونه های شاهد نیز افزایش نشان می دهد. با توجه به شکل های ۱، ۲ و ۳ مشاهده می شود که هر یک از پراکسیدازهای محلول و متصل به دیواره در زمان خاصی حداکثر فعالیت را دارند که بیانگر نقش هر یک از این ایزوآنزیم ها در مرحله و زمان خاصی از فعالیت گیاه و همکاری این آنزیم ها با هم جهت حذف رادیکال های آزاد اکسیژن می باشد.

- Iiyama, K., Wallis, A. F., (1990).** Determination of lignin in herbaceous plants by an improved acetyle bromide procedure. *J. Sci. Food Agric.* 51: 145-161.
- Noctor, G., Foyer, C.H., (1998).** Ascorbate and glutathione: keeping active oxygen under control. *Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol Biol.* 49: 249–279.
- Pandolfini, F., Gabbrielli, R., Comparini, C., (1992).** Nickel toxicity and peroxidase activity in seedlings of *Triticum aestivum* L. *Plant Cell Environ.* 15: 719-725.
- Saroop, S., Chanda, S.V., Singh, Y.D., (2002).** Changes in soluble and ionically bound peroxidase activities during *Brassica juncea* seed development. *Bulg. J. Plant Physiol.* 28 (3-4): 26-34.
- Schloss, P., Walter, C., Mader M., (1987).** Basic peroxidases in isolated vacuoles of *Nicotiana tabacum* L. *Planta* 170: 225-229.
- Valero, P., Nicolas, G., Labrador, E., (1991).** Variations of cell wall peroxidases in epicotyls of *Cicer arietinum* during growth. *Plant Sci.*, 74: 171-178.
- Wakabayashi, K., Hoson, T., Kamisaka, S., (1997).** Osmotic stress suppresses cell wall stiffening and the increase in cell wall-bound ferulic and diferulic acids in Wheat coleoptiles. *Plant Physiol.* 113: 967-973.
- culture. *Biotechnol. & Biotechnol. Eq.* 21/2007/2.
- Bradford, M.M., (1976).** A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Anal. Biochem.* 72: 248-254.
- DeVos, C.H.R., Schat, H., De Waal, M.A.D., (1991).** Increased resistance to copper-induced damage of root plasma membrane in copper tolerant cilene cucubalus. *Physiol. Plant.* 82: 523-528.
- Elstner, E.F., (1987).** Metabolism of activated oxygen species. In: Davies, D.D. (Ed.), *The Biochemistry of Plants. vol. II, Biochemistry of Metabolism.* Academic Press, San Diego, CA, pp. 252–315.
- Fridovich, I., (1986).** Biological effects of the superoxide radical. *Arch. Biochem. Biophys.* 247: 1–11.
- Ghanati, F., Morita, A., Yokota, H., (2005).** Effects of aluminum on the growth of tea plant and activation of antioxidant system. *Plant and soil.* 276: 133-141.
- Heath, R. L., Packer, L., (1968).** Photoperoxidation in isolated chloroplasts. I. Kinetics and stoichiometry of fatty acid peroxidation. *Arch. Biochem. Biophys.* 125: 189-198.



## **Investigation on the effect of NaCl on the activity of peroxidase and peroxidation of lipids in roots of two sensitive and tolerant cultivars of wheat (*Triticum aestivum* L.)**

**Elham Nayyeri Torshizi, Faezeh Ghanati**

Dept. Plant Biol. Fac. Biol. Sci. Tarbiat Modares University, Tehran-Iran

### **Abstract**

In this paper, the effect of NaCl on the activity of soluble (SPO) and wall bound peroxidases (IPO, CPO) as well as the level of lipid peroxidation in roots of two cultivars of wheat (*Triticum aestivum* L.) were studied. Two wheat cultivars, Mahooti and Alamoot were selected as salt-tolerant and salt-sensitive cultivars, respectively. The plants were treated with 300mM NaCl for 24, 48 and 96 hours. The content of lignin and the ratio of CWP/FW were studied during 96 hours of treatment as well. Salt treatment increased the rate of lipid peroxidation and enhanced the activity of wall bound peroxidases, particularly in roots of Mahooti. These phenomena were also associated with an increase in the content of lignin in the walls. The activity of soluble peroxidase was also stimulated which helps to more scavenging of peroxide radicals produced by NaCl treatment. Meanwhile, the results suggest that in salt-tolerant wheat cultivar, NaCl treatment accelerated aging process.

**Key Words:** Wall bound proxidase, Soluble peroxidase, Lipid peroxidation, Salinity, Lignin, *Triticum aestivum*