



بررسی پارامترهای بیوشیمیایی و فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی برنج تحت تاثیر تنش شوری

علی اصغر باقری^۱* و فریبا خسروی نژاد^۱

^۱ گروه زیست شناسی، واحد رودهن، دانشگاه آزاد اسلامی، روهن، ایران

* Email: bagheri-ali@riau.ac.ir

تاریخ پذیرش: ۹۵/۰۹/۲۰

تاریخ دریافت: ۹۵/۰۷/۰۳

چکیده

تنش های غیر زیستی از جمله شوری، مهم ترین عوامل محدود کننده رشد و عملکرد گیاهان زراعی در مناطق خشک و نیمه خشک هستند. بسیاری از اثرات تنش شوری در سطوح سلولی اعمال می‌گردد. به منظور درک پاسخ برنج به تنش شوری، فعالیت بعضی آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان، پراکسیداسیون لیپید و محتوای پرولین مورد بررسی قرار گرفت. گیاه برنج به مدت ۱۴ روز تحت تاثیر غلظت‌های ۰، ۱۰۰، ۲۰۰ و ۳۰۰ میلی مولار کلرید سدیم (NaCl) قرار گرفت. بدین منظور، آزمایش گلخانه ای در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی با ۳ تکرار انجام گرفت. نتایج نشان داد که با افزایش کلرید سدیم پارامترهای رشد برای مثال وزن تر و خشک و اندازه گیاه کاهش نشان داد. فعالیت آنزیم‌های کاتالاز (CAT) و آسکوربات پراکسیداز (POD) با افزایش غلظت کلرید سدیم افزایش یافت اما فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز (SOD) با افزایش غلظت کلرید سدیم تا غلظت ۲۰۰ میلی مولار افزایش و سپس در غلظت ۳۰۰ میلی مولار کاهش نشان داد. محتوای پرولین (Pro) و مالون دی آلدئید (MDA) در غلظت ۳۰۰ میلی مولار به ترتیب به میزان ۲ و ۳/۶ برابر نسبت به غلظت صفر میلی مولار کلرید سدیم افزایش نشان داد. نتایج ما نشان داد که افزایش فعالیت آنزیم‌های کاتالاز، سوپراکسید دیسموتاز و آسکوربات پراکسیداز همراه با افزایش میزان پرولین در تحمل برنج به تنش شوری تاثیر مثبتی داشته است.

کلیدواژه‌ها: آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان، پرولین، تنش شوری، مالون دی آلدئید، *Oryza sativa*

مقدمه

شوری قرار دارد که ۸/۵ میلیون هکتار آن شدیداً تحت تاثیر شوری است [۱،۱۶]. رشد گیاه برنج تحت تاثیر شوری آب و خاک، به دلیل سمیت و جلوگیری از جذب آب و مواد غذایی محدود می‌شود [۵]. این گیاه به شوری حساس بوده و بیشترین حساسیت آن در

شوری موجود در خاک و یا آب یکی از مهم ترین تنش های غیر زیستی، بخصوص در زمین های خشک و نیمه خشک می‌باشد [۳۳]. در حدود ۲۰ درصد از اراضی ایران (حدود ۳۴ میلیون هکتار) تحت تاثیر

اکسید ($O_2^{\cdot-}$)، پر اکسید هیدروژن (H_2O_2) و رادیکال هیدروکسیل (OH^{\cdot}) می‌شوند. این انواع فعال اکسیژن ممکن است منجر به آسیب سلولی از طریق اکسیداسیون لیپیدها، پروتئین‌ها و اسیدهای نوکلئیک شده و بنابراین می‌توانند به طور شدیدی متابولیسم و در نهایت رشد و محصول دهی گیاهان را تحت تاثیر قرار دهند [۱۳، ۱۹، ۲۵، ۲۷، ۲۸].

برای غلبه بر آثار اکسیداتیو القای شده از شوری، گیاهان از یک سیستم آنتی‌اکسیدانی پیچیده استفاده می‌کنند که شامل آنتی‌اکسیدان‌های غیرآنزیمی مثل کاروتنوئیدها و آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی شامل سوپراکسید دیسموتاز (SOD)، آسکوربات پراکسیداز (AXP)، گلوکاتیون ردوکتاز (GR)، کاتالاز (CAT) و غیره می‌باشند. تحقیقات نشان می‌دهد گیاهانی که توانایی سیستم آنتی‌اکسیدان بالاتری نسبت به گیاهان دیگر دارند بهتر می‌توانند در محیط‌های شور زندگی کنند [۸، ۱۷، ۱۸، ۳۰] با توجه به اهمیت کشت گیاه برنج به عنوان یک گیاه استراتژیک، شناخت مکانیسم‌های دفاعی موثر گیاه برنج به تنش‌های محیطی مانند شوری از اهداف اصلی این تحقیق می‌باشد.

۱- جوانه‌زنی بذر، اعمال تیمار شوری و نمونه‌گیری

در این تحقیق آزمایش گلخانه‌ای در گلدان‌های ۲ کیلوگرمی با استفاده از مخلوطی مساوی از ماسه و پرلیت استریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با ۳ تکرار انجام شد. فاکتورهای آزمایش شامل ۴ سطح ۰، ۱۰۰، ۲۰۰ و ۳۰۰ میلی مولار کلرید سدیم بودند. جهت جوانه زنی بذرهای برنج (*O. sativa*) رقم طارم (تهیه شده از موسسه تحقیقات برنج کشور) ابتدا آنها را به مدت ۱ دقیقه در اتانول ۷۶ درصد قرار دادیم، سپس بذرها به مدت ۱۰ دقیقه در محلول ۱۵٪

مرحله گیاهچه‌ای و گل دهی گزارش شده است [۶]. تبخیر و تعرق زیاد نیز در فصل کشت برنج سبب افزایش خسارت شوری می‌شود [۷]. تاکنون اثرات مخرب تنش شوری بر فرایندهای فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی گیاهان به اثبات رسیده است که بیشتر این اثرات مخرب در سطوح سلولی اعمال می‌شود. بدین منظور شناخت مکانیسم‌های تحمل به شوری و فاکتورهای بیوشیمیایی و فیزیولوژیکی دخیل در این فرایندها در انتخاب گونه‌های گیاهی مقاوم به شوری بسیار اهمیت دارد [۱۵]. القای شرایط تنش شوری سبب تخریب غشاهای لیپیدی می‌شود که در این رابطه میزان محتوای مالون دی‌آلدئید که در نتیجه تخریب غشاهای لیپیدی تولید می‌شود، می‌تواند به عنوان شاخصی از میزان آسیب اکسیداتیو تحت شرایط تنشی مورد توجه قرار گیرد [۲۳، ۲۴، ۳۶، ۳۷]. بنابراین مقاومت و استحکام غشاهای سلولی به طور وسیعی در تمایز و انتخاب ژنوتیپ‌های گیاهی مقاوم و حساس به تنش شوری موثر می‌باشد. از جمله مکانیسم‌های مهم برای تحمل به شوری توسط گیاهان عالی، برای سازش با تنش اسمزی اعمال شده توسط غلظت‌های بالای نمک، تجمع و انباشتگی برخی محلول‌های سازگار از قبیل پرولین، گلیسین بتائین و پلی‌اول‌ها و ... می‌باشد. در این بین پرولین نقش عمده‌ای در میزان تحمل به شوری داشته و بعنوان یک محافظ اسمزی در حفظ ساختار، پتانسیل و فشار اسمزی بخش‌های مختلف سلول ایفای نقش می‌کند، بطوری که میزان تجمع پرولین در گیاهان تحت شرایط تنش شوری رابطه مستقیم با میزان تحمل به شوری دارد [۲۹، ۳۴، ۳۶، ۳۷]. قرار گرفتن گیاهان در معرض شرایط محیطی نامطلوب مانند تنش شوری سبب افزایش تولید انواع فعال اکسیژن از قبیل رادیکال سوپر

میلی لیتر محلول ۰/۱ درصد TCA استخراج شد. سپس عصاره بدست آمده بمدت ۵ دقیقه در ۱۰۰۰۰ rpm سانتریفیوژ شد. در مرحله بعدی به یک میلی لیتر از محلول حاصل از سانتریفیوژ مقدار ۴ میلی لیتر محلول ۲۰ درصد TCA حاوی ۰/۵ درصد تیو باربیتوریک اسید اضافه شد. سپس مخلوط حاصل را به مدت ۳۰ دقیقه در دمای ۹۵ درجه سانتی گراد حمام آب گرم حرارت می دهیم و سپس نمونه ها را به سرعت سرد می کنیم. بعد از این مراحل مخلوط حاصل را به مدت ۱۰ دقیقه در دمای محیط و دور ۱۰۰۰۰ rpm سانتریفیوژ می کنیم. در نهایت جذب محلول رویی حاصل از سانتریفیوژ در طول موج ۵۳۲ نانومتر خوانده شد و در نهایت مقدار مالون دی آلدئید (با ضریب خاموشی $155 \text{ mM}^{-1} \text{ cm}^{-1}$) که محصول پراکسیداسیون لیپیدهاست، بر اساس میکرو مول در گرم وزن تر محاسبه گردید. به منظور استخراج و سنجش مقدار پرولین آزاد موجود در نمونه ها، از روش Bates و همکاران [۱۱] استفاده گردید. بدین منظور میزان ۱ گرم از نمونه برداشته شد و توسط ۵ میلی لیتر محلول ۰/۳٪ سولفوسالیسیلیک اسید به مدت ۵ دقیقه هموژنیزه گردید. به منظور برداشت مواد اضافه، محلول حاصل به مدت ۱۵ دقیقه در ۳۰۰۰ rpm سانتریفیوژ شد. سپس ۲۰۰ میکرو لیتر از روشناور حاصل با ۲ میلی لیتر استیک اسید گلاسیال و ۲ میلی لیتر اسید نین هیدرین (شامل ۱/۲۵ میلی گرم نین هیدرین حل شده در ۲۰ میلی لیتر اسید فسفریک ۶ مولار و ۳۰ میلی لیتر استیک اسید گلاسیال) بمدت ۱ ساعت در دمای ۱۰۰ درجه سانتی گراد قرار داده شد و بلافاصله به حمام یخ منتقل شد. در نهایت به محلول واکنش ۴ میلی لیتر تولوئن اضافه شد و جذب آن در ۵۲۰ نانومتر خوانده شد. در نهایت میزان پرولین بر

آب ژاول نگهداری شد و نهایتاً چندین مرتبه با آب مقطر سترون شده شستشو دادیم. بذرها حاصل بر روی سطح کاغذ واتمن در پتری دیش ها به مدت ۳ روز در تاریکی قرار گرفته و در طی این دوره، رطوبت لازم جهت جوانه زنی توسط آب مقطر فراهم شد. بعد از جوانه زنی بذرها انتقال به گلدان ها انجام گرفت. گلدان ها پس از کشت، به اتاق رشد با طول دوره روشنایی ۱۶ ساعته و با بیشینه دمای روزانه ۲۲ تا ۲۵ درجه سانتی گراد، دمای شبانه کمینه ۱۸ درجه سانتی گراد و رطوبت نسبی حدود ۷۰ درصد منتقل شدند و با محلول غذایی یوشیدا آبیاری شدند. پس از گذشت سه هفته از کاشت گیاه برنج جهت اعمال هر یک از تیمارهای شوری، مقدار کلرید سدیم محاسبه شده به مدت ۱۴ روز همراه با آب آبیاری (محلول یوشیدا) به گلدان هایی که کف آنها مسدود شده بود و امکان خروج نمک همراه با آب آبیاری وجود نداشت، اضافه گردید. پس از گذشت ۱۴ روز از اعمال تنش، گیاه برنج از گلدان خارج شد و به دو بخش ریشه ای و اندام هوایی تقسیم گردید. در نهایت نمونه ها در دمای ۷۰- درجه سانتی گراد برای انجام مراحل بعدی آزمایش نگهداری شدند.

۲- اندازه گیری شاخص های رشد:

وزن تر و خشک (بر حسب گرم) و طول اندام هوایی (بر حسب سانتی متر) در گروه های تیماری مختلف اندازه گیری شد.

۳- سنجش میزان پراکسیداسیون لیپیدها و پرولین

به منظور سنجش میزان پراکسیداسیون لیپیدهای غشاء بر اساس میزان مالون دی آلدئید (MDA) تولید شده، از روش Heath و Packer [۲۰] استفاده شد. بدین منظور مقدار ۱ گرم بافت تر گیاهی توسط ۵

حسب میکرومول پرولین به ازای گرم وزن تر محاسبه گردید.

۴- سنجش فعالیت آنزیم‌های سوپر اکسید دیسموتاز، کاتالاز و آسکوربات پراکسیداز

جهت سنجش میزان فعالیت آنزیم سوپر اکسید دیسموتاز از روش Beauchamp و Fridovich استفاده گردید [۱۲].

محلول‌های مورد نیاز برای سنجش فعالیت این آنزیم عبارتند از:

بافر فسفات پتاسیم (pH = 7.8)	۵۰ میلی مولار
متیونین	۱۳ میلی مولار
نیترولو بلو تترازولیوم (NBT)	۷۵ میکرو مولار
EDTA	۰/۱ میلی مولار
ریبوفلاوین	۲ میکرومولار

ابتدا نمونه کنترل که شامل موارد ذکر شده در بالا به غیر عصاره آنزیمی بود تهیه شد. سپس تحت تابش دو لامپ فلورسنت ۲۰ وات به مدت ۱۵ دقیقه قرار گرفت. سپس جذب نمونه‌ها در ۵۶۰ نانومتر توسط دستگاه اسپکتروفتومتر خوانده شد. از محلول نور ندیده به عنوان بلانک برای صفر کردن دستگاه استفاده شد. همچنین محلول تحت نور و فاقد آنزیم بعنوان شاهد استفاده شد و از جذب نمونه‌ها کسر شد. در نهایت مقدار فعالیت آنزیمی سوپر اکسید دیسموتاز بر حسب تغییرات جذب به ازای میلی‌گرم پروتئین محاسبه گردید.

سنجش فعالیت آنزیم کاتالاز با استفاده از محاسبه کاهش جذب H_2O_2 در ۲۴۰ نانومتر و با روش Aebi [۲] انجام شد واکتس مورد نیاز برای سنجش فعالیت این آنزیم شامل بافر فسفات پتاسیم ۵۰ میلی مولار با

(pH = 7) حاوی پراکسید هیدروژن ۱۵ میلی مولار می‌باشد که مقدار ۲۰ میکرو لیتر عصاره آنزیمی بدان اضافه شد و کاهش جذب محلول در ۲۴۰ نانومتر خوانده شد. واکنش با افزودن پراکسید هیدروژن آغاز شد و کاهش جذب به مدت ۳۰ ثانیه اندازه‌گیری شد. در نهایت میزان فعالیت آنزیمی بر حسب میکرو مول پراکسید هیدروژن مصرف شده (با ضریب خاموشی $39/4 \text{ mM}^{-1} \text{ cm}^{-1}$) در دقیقه به ازای گرم پروتئین محاسبه گردید.

اندازه‌گیری میزان فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز بر اساس روش Jebara و همکاران انجام گرفت [۲۲]. محلول واکنش مورد نیاز برای سنجش فعالیت این آنزیم شامل بافر فسفات پتاسیم ۵۰ میلی مولار با (pH 7) حاوی پراکسید هیدروژن ۰/۱ میلی مولار و ۰/۵ میلی مولار آسکوربات می‌باشد که مقدار ۱۵ میکرو لیتر عصاره آنزیم بدان اضافه شد و کاهش جذب محلول، مادامی‌که آسکوربات (با ضریب خاموشی $2/8 \text{ mM}^{-1} \text{ cm}^{-1}$) اکسید می‌شود، به مدت ۱ دقیقه در ۲۹۰ نانومتر خوانده شد. در نهایت میزان فعالیت آنزیم بر حسب میکرو مول آسکوربات اکسید شده به ازای گرم پروتئین در ۱ دقیقه محاسبه شد.

۵- تحلیل داده‌ها:

کلیه آزمایش‌ها در سه تکرار مستقل و هریک با سه نمونه انجام گرفت. از نرم‌افزار اکسل برای محاسبه میانگین، انحراف معیار و رسم نمودارها استفاده شد. تحلیل داده‌ها و معنی‌دار بودن اختلاف بین آنها با آزمون t (T-test) در سطح $P \leq 0/05$ انجام شد.

نتایج:

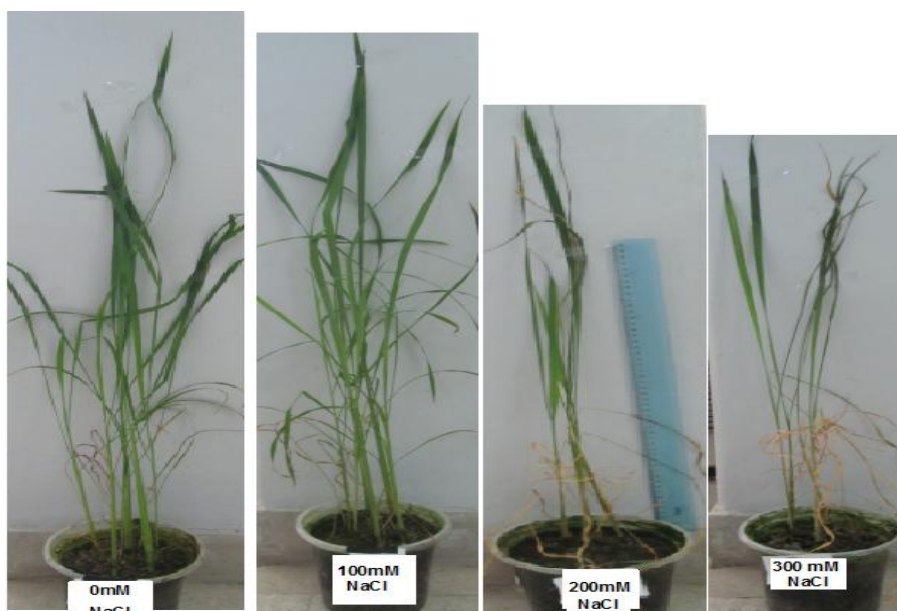
۱- پارامترهای رشد

کاهش نشان داد (جدول ۱).

۲- محتوای پرولین و مالون دی آلدئید:

با توجه به نتایج بدست آمده در این تحقیق، افزایش محتوای پرولین و مالون دی آلدئید با افزایش تنش شوری دیده شد (جدول ۲). در غلظت ۳۰۰ میلی مولار، میزان غلظت پرولین و مالون دی آلدئید به ترتیب افزایش ۲ و ۳/۶ برابری نسبت به غلظت صفر میلی مولار کلرید سدیم نشان داد.

بررسی نتایج در این تحقیق نشان داد که تنش شوری در تمام سطوح موجب کاهش رشد در گیاه برنج گردید. با افزایش تنش شوری زیتوده (بیومس) برگ های جوان به شدت کاهش یافت و در برگ های مسن تر نشانه‌هایی از رنگ پریدگی (Chlorosis) و متعاقباً بافت مردگی (Necrosis) دیده شد (شکل ۱). وزن تر، وزن خشک و ارتفاع اندام‌های هوایی در برنج در غلظت ۳۰۰ میلی مولار به به ترتیب ۷۴،۷۲ و ۴۴ درصد نسبت به تیمار صفر میلی مولار کلرید سدیم



شکل ۱: تغییرات ریخت‌شناسی برنج تحت تنش شوری

جدول ۱: اثر تنش شوری بر پارامترهای رشد برنج

وزن خشک (گرم)	وزن تر (گرم)	طول (سانتی متر)	NaCl (میلی مولار)
۴/۳±۰/۹ ^a	۱۳/۵±۱/۶ ^a	۷۲±۱/۶ ^a	۰
۳/۲±۰/۱ ^a	۱۰±۰/۸ ^a	۶۹/۳±۱/۲ ^a	۱۰۰
۱/۷±۰/۱ ^b	۶±۰/۵ ^b	۵۴±۲/۱ ^b	۲۰۰
۱/۲±۰/۴ ^b	۳/۵±۰/۲ ^c	۴۱±۰/۸ ^c	۳۰۰

گروه بندی میانگین‌ها بر اساس آزمون دانکن و در سطح خطای ۰.۵٪ صورت گرفته است.

اعدادی که دارای حروف مشابه هستند از نظر آماری تفاوت معنی داری ندارند. اعداد (±) بیانگر انحراف می باشند.

جدول ۲: افزایش غلظت پرولین و مالون دی آلدئید با افزایش غلظت کلرید سدیم

مالون دی آلدئید ($\mu\text{molg}^{-1}\text{FW}$)	پرولین ($\mu\text{molg}^{-1}\text{FW}$)	NaCl (میلی مولار)
53 ± 11^c	150 ± 9^c	۰
$77 \pm 15/7^c$	180 ± 37^{bc}	۱۰۰
$140 \pm 8/6^b$	$220 \pm 8/1^{abc}$	۲۰۰
190 ± 4^a	300 ± 57^{ab}	۳۰۰

گروه بندی میانگین ها بر اساس آزمون دانکن و در سطح خطای ۰.۵٪ صورت گرفته است.

اعدادی که دارای حروف مشابه هستند از نظر آماری تفاوت معنی داری ندارند. اعداد (\pm) بیانگر انحراف معیار می باشند.

داشت بطوریکه فعالیت این آنزیم در غلظت ۳۰۰ میلی مولار افزایش سه برابری نسبت به فعالیت آن در تیمار صفر میلی مولار نمک مشاهده گردید (نمودار ۱-ب).

آنزیم آسکوربات پراکسیداز (APX)

نتایج بدست آمده نشان داد، فعالیت این آنزیم با افزایش غلظت نمک از صفر تا ۳۰۰ میلی مولار، یک روند افزایشی داشت بطوریکه فعالیت آنزیم در غلظت ۳۰۰ میلی مولار، افزایش ۱/۶ برابری نسبت به تیمار صفر میلی مولار نمک از خود نشان داد (نمودار ۱-ج).

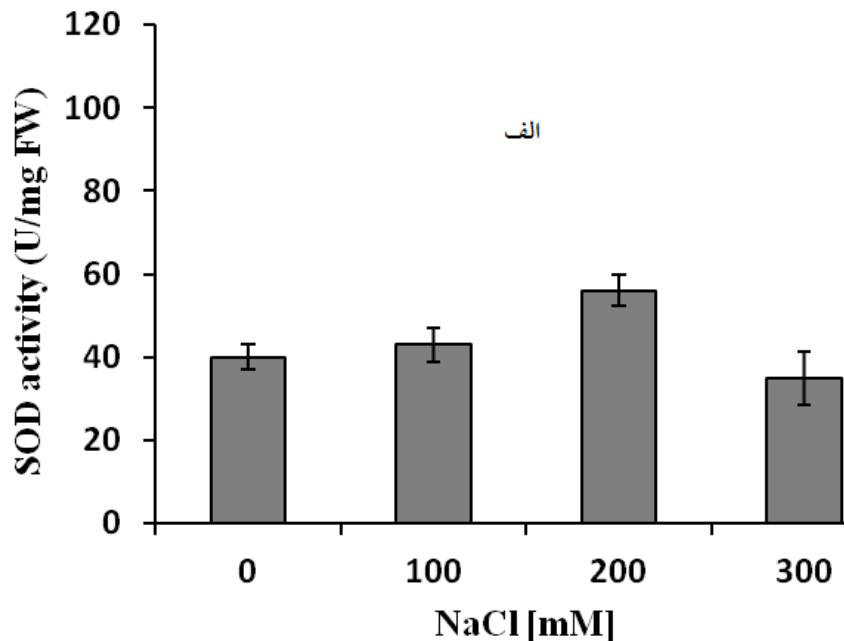
۳- سنجش فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدان:

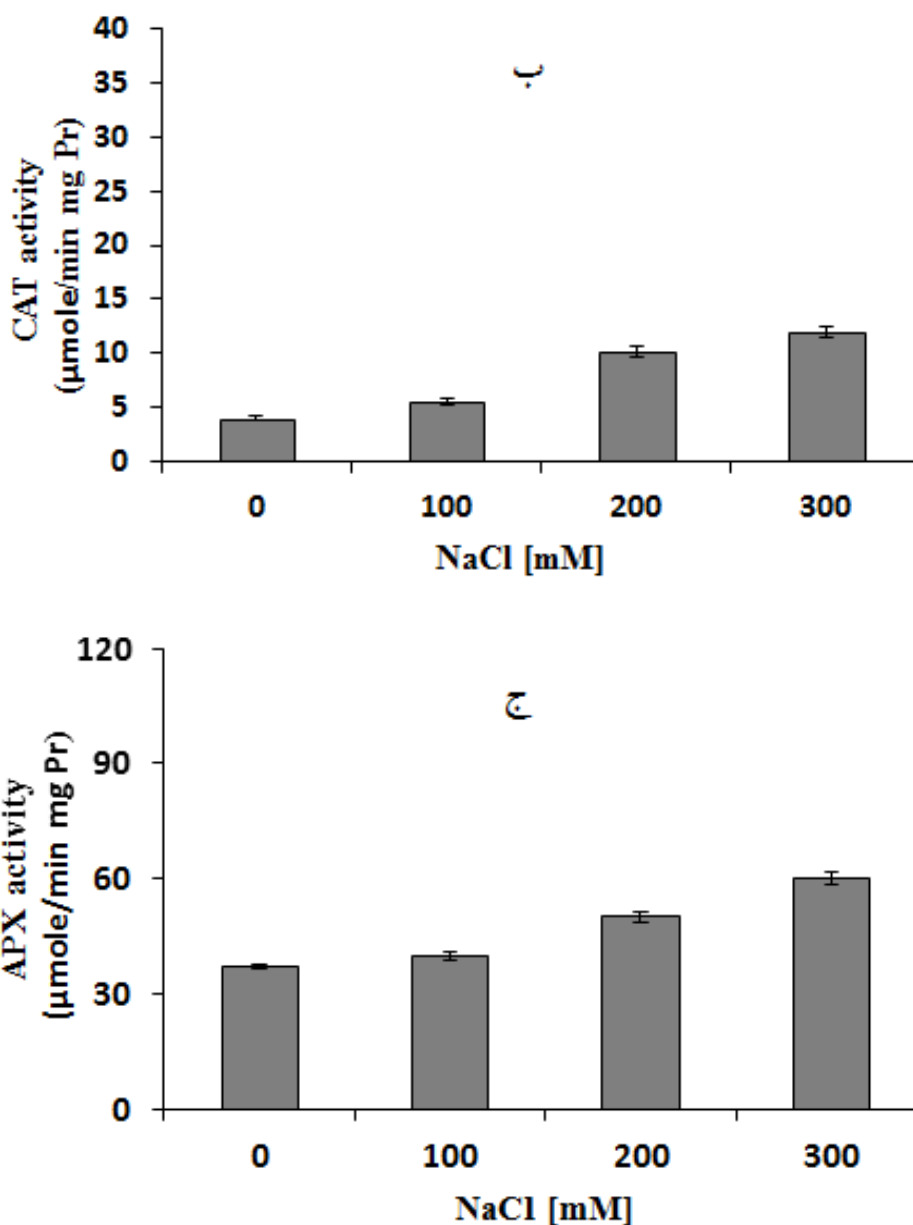
آنزیم سوپر اکسید دیسموتاز (SOD)

نتایج بدست آمده نشان داد که فعالیت این آنزیم از صفر تا غلظت ۲۰۰ میلی مولار نمک روند افزایشی و سپس در غلظت ۳۰۰ میلی مولار روند کاهشی نشان داد. فعالیت این آنزیم در غلظت ۲۰۰ میلی مولار ۱/۴ برابر نسبت به فعالیت آن در تیمار صفر میلی مولار نمک دیده شد (نمودار ۱-الف).

آنزیم کاتالاز (CAT)

نتایج بدست آمده نشان داد، که فعالیت این آنزیم از صفر تا ۳۰۰ میلی مولار نمک، یک روند افزایشی





نمودار ۱: فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدان در شرایط تنش شوری (الف- سوپراکسید دیسموتاز، ب- کاتالاز، ج- آسکوربات پراکسیداز).

بحث:

پرولین، گلایسین بتائین و پلی اولها و ... می‌باشد. در این بین پرولین نقش عمده‌ای در میزان تحمل به شوری داشته و بعنوان یک محافظ اسمزی در حفظ ساختار، پتانسیل و فشار اسمزی بخش‌های مختلف سلول ایفای نقش می‌کند، بطوری که میزان تجمع پرولین در گیاهان تحت شرایط تنش شوری رابطه مستقیم با میزان تحمل به شوری دارد [۹،۲۹،۳۴]. با توجه به نتایج بدست آمده در این تحقیق، افزایش

ایران از نظر اقلیمی در منطقه خشک و نیمه‌خشک دنیا قرار دارد، از اینرو شوری خاک و آب آبیاری یکی از مشکلات عمده پیش روی زراعت کشور است. شوری آب و خاک سبب بروز تغییرات مورفولوژیکی، فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی متعددی در گیاهان می‌شود [۴،۳۱]. از جمله مکانیسم‌های مهم تحمل به شوری، تجمع و انباشتگی برخی محلولهای سازگار از قبیل

کاتالاز، اصلی‌ترین آنزیم جاروبگر پراکسید هیدروژن و از مهمترین آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان در گیاهان محسوب می‌شود. تنش شوری در بسیاری از گیاهان، موجب افزایش فعالیت آنزیم کاتالاز گردیده است که این نتیجه در تحقیق حاضر در ارتباط با فعالیت آنزیم کاتالاز نیز مشاهده گردید.

سپاسگزاری:

بودجه این طرح تحقیقاتی توسط معاونت پژوهشی دانشگاه آزاد اسلامی واحد رودهن تامین شد. به این منظور جهت فراهم آوردن امکانات لازم جهت انجام این تحقیق تشکر و قدردانی می‌شود.

منابع

- [1] Abtahi A. 1992. The tolerance limitation of plant against to salinity. Technical journal, 16, Pedology group, Agricultural faculty, Shiraz University.
- [2] Aebi H. 1974. Catalases, in: H.U. Bergmeyer (Ed.), Methods of enzymatic analysis, vol. 2, Academic Press, NY, pp. 673-684.
- [3] Ahmad P., Jaleel CA., Sharma S. 2010. Antioxidant defense system, Lipid peroxidation, Proline- metabolizing enzymes, and Biochemical activities in two *Morus alba* genotypes subjected to NaCl stress. Russian Journal of Plant Physiology. 25: 509- 517
- [4] Ahmad P., Prasad MNV. 2012. Environmental adaptations and stress tolerance in plants in the era of climate change. Springer Science + Business Media, LLC, New York
- [5] Akbar M., Gunawardena I. E., Ponnampereuma F. N. 1986. Breeding for soil stresses. In: Progress in rainfed lowland rice. International Rice Research Institute, Philippines.
- [6] Akbar M., Yabuno T. 1974. Breeding for saline- resistant varieties of rice. Japanese Journal of Breeding 24 (4):176-181.
- [7] Asch F., Dingkuhn M., Dorffling K. 2000. Salinity increases CO₂ assimilation but reduces growth in field grown irrigated rice. Land and Soil 218: 1-10.
- [8] Asghari H., Marschner P., Smith S., Smith F. 2005 Growth response of *Atriplex nummularia* to inoculation with arbuscular mycorrhizal

محتوای پرولین با افزایش تنش شوری دیده شد که با نتایج احمد و همکاران (۲۰۱۰) مطابقت دارد [۳]. یکی از موارد آسیب اکسیداتیو حاصل از شرایط تنش شوری، پراکسیداسیون لیپیدهای غشایی می‌باشد که منجر به تولید مالون دی‌آلدئید شده و می‌تواند به عنوان شاخصی از میزان تاثیر تنش شوری مورد توجه قرار گیرد. نتایج تحقیق حاضر نیز روند افزایشی تولید مالون دی‌آلدئید را با افزایش تنش شوری نشان داد. نتایج یافته‌های این تحقیق با نتایج Sekmen و همکاران (۲۰۰۷) بر روی اثر تنش شوری در گیاه مقاوم *Plantago maritima* و حساس *Plantago media* مطابقت دارد [۳۲]. با افزایش میزان رادیکال‌های فعال اکسیژن در گیاه باعث می‌شود که برای کاهش اثرات سمی تنش اکسیداتیو ناشی از تنش شوری، مکانیسم‌های متنوعی در گیاه فعال شود. آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان به عنوان سریع‌ترین واحدهای مقابله کننده در برابر حمله اکسیژن‌های فعال به شمار می‌آید که در تحقیق حاضر افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان دیده شد که با نتایج پژوهش Hernandez و همکاران (۲۰۰۰) بر روی اثر تنش شوری بر روی نخود مطابقت دارد [۲۱، ۱۹، ۱۴].

با افزایش میزان شوری، سیستم آنتی‌اکسیدان گیاه برنج فعال شده و با افزایش فعالیت آنزیم سوپر اکسید دیسموتاز به عنوان اولین سد دفاعی در مقابل حمله رادیکال‌های اکسیژن، در مقابل خسارات ناشی از تنش شوری مقاومت می‌نماید [۱۰، ۲۶].

و تا زمانی که گیاه قادر به مهار حجم سوپراکسید تولید شده در گیاه باشد، این فرآیند ادامه دارد، بطوریکه در فعالیت آن تا غلظت ۲۰۰ میلی‌مولار نمک افزایش و سپس کاهش می‌یابد.

- Ashraf M., Harris P.J.C. 2004. Potential biochemical indicators of salinity tolerance in plants. *Plant Science*. 166: 3-16.
- [9] Badawi G.H., Kawano N., Yamauchi Y., Shimada E., Sasaki R., Kubo A., Tanaka K. 2004. Over-expression of ascorbate peroxidase in tobacco chloroplasts enhances the tolerance to salt stress and water deficit. *Physiologia Plantarum*. 121: 231-238.
- [10] Bates, L.S., Waldren R.P., Teare I.D. 1973. Rapid determination of free proline in water stress studies. *Plant and Soil*. 39: 205-207.
- [11] Beauchamp C.U., Fridovich I. 1971. Improved assays for superoxide dismutase and an assay applicable to polyacrylamide gels. *Analytical Biochemistry*. 44: 276-87.
- [12] Becana M., Moran J.F., Iturbe-Ormaetxe I. 1998. Iron dependent oxygen free radical generation in plants subjected to environmental stress: toxicity and antioxidant protection. *Plant and Soil*. 201: 137-147.
- [13] Bor M., Ozdemir F., Turkan 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: 77-84.
- [14] Cardinale M. R., Stefan S., Christian M., Ana M. Z., Rita G.P., Schnell S. 2015. Paradox of plant growth promotion potential of rhizobacteria and their actual promotion effect on growth of barley (*Hordeum vulgare* L.) under salt stress. *Microbiological Research*. Volume 181: Pages 22-32
- [15] Cheraghi S. A., Hasheminejad M. Y., Rahimian M. H. 2009. An overview of the salinity problem in Iran: Assessment and monitoring technology. In: *Advances in the assessment and monitoring of salinization and status of biosaline agriculture Reports of expert consultation held in Dubai, United Arab Emirates, 26-29 November 2007*. World Soil Resources Reports No. 104. FAO, Rome, p 21-22.
- [16] Colla G., Rouphael Y., Cardarelli M., Tullio M., Rivera C. M., Rea E. 2008. Alleviation of salt stress by arbuscular mycorrhizal in zucchini plants grown at low and high phosphorus concentration. *Biology of Fertilize Soils*. 44: 501-509.
- [17] Giri B., Kapoor R., Mukerji K.G. 2007. Improved tolerance of *Acacia nilotica* to salt stress by arbuscular mycorrhiza, *Glomus fasciculatum* may be partly related to elevated K/Na ratios in root and shoot tissues. *Microb Ecology*. 54:753-60.
- [18] Hasanuzzaman M., Nahar K., Fujita M. 2013. Plant response to salt stress and role of exogenous protectants to mitigate salt-induced damages. In: Ahmad P, Azooz MM, Prasad MNV (eds) *Ecophysiology and responses of plants under salt stress*. Springer, New York. pp 25-87
- [19] Heath R.L., Packer L. 1968. Photo peroxidation in isolated chloroplasts. kinetics and stoichiometry of fatty acid peroxidation. *Archives of Biochemistry and Biophysics*. 125: 189-198.
- [20] Hernandez J.A., Jimenez A., Mullineaux P., Sevilla F. 2000. Tolerance of pea (*Pisum sativum* L.) to long-term salt stress is associated with induction of antioxidant defenses. *Plant Cell & Environment*. 23: 853-862.
- [21] Jebara C., Jebara M., Limam F., Elarbi Aouani M. 2005. Changes in ascorbate peroxidase, catalase, guaiacol peroxidase and superoxide dismutase activities in common bean (*Phaseolus vulgaris*) nodules under salt stress. *J. Plant Physiol*. 162: 929-936.
- [22] Luna C., Seffino L.G., Arias C., Taleisnik E. 2000. Oxidative stress indicators as selection tools for salt tolerance in *Chloris gayana*. *Plant Breeding*. 119: 341-345.
- [23] Meloni D.A., Oliva M.A., Martinez C.A., Cambraia J. 2003. Photosynthesis and activity of superoxide dismutase, peroxidase and glutathione reductase in cotton under salt stress. *Environ. Exp. Bot*. 49: 69-76.
- [24] Mudgal V., Madaan N., Mudgal A. 2010. Biochemical Mechanisms of salt Tolerance in Plants: A Review. *International Journal of Botany*. 6: 136-143.
- [25] Nagamiya K., Motohashi T., Nakao K., Prodhan S.H., Hattori E., Hirose S., Ozawa K., Ohkawa Y., Takabe T. 2007. Enhancement of salt tolerance in transgenic rice expressing an *Escherichia coli* catalase gene, kat E. *Plant Biotechnology Reports*. 1: 49-55.
- [26] Noctor G., Foyer C.H. 1998. Ascorbate and glutathione: keeping active oxygen under control. *Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol*. 49: 249-279.
- [27] Parida A. K., Das A.B. 2005. Salt tolerance and salinity effects on plants: a review. *Ecotoxicology and Environmental Safety*. 60: 324-349.
- [28] S., Masood A., Hasanuzzaman M., Khan M. I.R., Anjum N.A. 2017. Approaches in modulating proline metabolism in plants for salt and drought stress tolerance: Phytohormones, mineral nutrients and transgenic. *Plant Physiology and Biochemistry*. 115: 126-140
- [29] Rabie G. H., Almadini A. M. 2005. Role of bioinoculants in development of salt-tolerance of *Vicia faba* plants under salinity stress. *African Journal of Biotechnology*. 4: 210-222.

- [30] Sairam R.K., Srivastava G.C. 2001. Water stress tolerance of wheat *Triticum aestivum* L.: Variation in hydrogen peroxide accumulation and antioxidant activity in tolerant and susceptible genotype. *Journal of Agronomy and Crop Science*. 186: 63-70.
- [31] Sekmen AH., Turkan I., Takio S. 2007. Differential responses of antioxidative enzymes and lipid peroxidation to salt stress in salt-tolerant *Plantago maritima* and salt-sensitive *Plantago media*. *Physiologia Plantarum*. 131: 399-411.
- [32] Shannon, MC. 1997. Adaptation of plants to salinity. *Advances in Agronomy*. 60: 75-120.
- [33] Sumithra K., Jutur PP., Carmel BD., Reddy AR. 2006. Salinity-induced changes in two cultivars of *Vigna radiata*: responses of antioxidative and proline metabolism. *Plant Growth Regul.* 50: 11-22.
- [34] Wi SJ., Kim WT., Park KY. 2006. Overexpression of carnation S-adenosylmethionine decarboxylase gene generates a broad-spectrum tolerance to abiotic stresses in transgenic tobacco plants. *Plant Cell Reports*. 25: 1111-1121.
- [35] Zhang H., Han B., Wang T., Chen S., Li H., Zhang Y., Dai S. 2012. Mechanisms of plant salt response: Insights from proteomics. *J Proteome Res.* 11:49-67.
- [36] Zhang ZH., Liu Q., Song HX., Rong XM., Ismail AM. 2012. Responses of different rice (*Oryza sativa* L.) genotypes to salt stress and relation to carbohydrate metabolism and chlorophyll content. *Afr J Agric. Res* 7:19-27.

