



## فعالیت آنزیم آنتی اکسیدان پراکسیداز ارقام جو در مرحله گیاهچه‌ای تحت تنش شوری و تیمار با پرولین

محمد بهروزی ورجوی<sup>۱</sup>، مصطفی ولیزاده<sup>۲</sup>، محمد مقدم واحد<sup>۲</sup>

<sup>۱</sup> کارشناسی ارشد گروه به‌نژادی و بیوتکنولوژی گیاهی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تبریز، تبریز، ایران

<sup>۲</sup> عضو هیات علمی گروه به‌نژادی و بیوتکنولوژی گیاهی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تبریز، تبریز، ایران

[behrouzi.m6880@gmail.com](mailto:behrouzi.m6880@gmail.com)

### چکیده

شوری خاک یکی از چالش‌های مهم در محدود کردن پایداری تولیدات کشاورزی در مناطق خشک و نیمه خشک محسوب می‌شود. در شرایط تنش شوری، تغییر در فعالیت برخی از آنزیم‌های آنتی اکسیدان برای سازگاری و تحمل تنش ها توسط گیاهان اتفاق می‌افتد. در این پژوهش فعالیت آنزیم پراکسیداز برگ در گیاهچه‌های ۱۰ رقم جو پس از تیمار شوری NaCl در سه سطح (۰، ۱۰۰ و ۲۰۰ میلی مولار) و تیمار خارجی پرولین در سه سطح (۰، ۵ و ۱۰ میلی مولار) مورد مطالعه قرار گرفت. آزمایش به صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار پیاده و تجزیه‌های آنزیمی با الکتروفورز در ژل آکریل آمید افقی ۸٪ انجام شد. در برگ گیاهچه‌های جو سه ایزوزیم  $POX_1$ ،  $POX_2$  و  $POX_3$  مشاهده شد. ارزیابی کمی فعالیت این ایزوزیم‌ها و تجزیه‌های آماری داده‌ها نشان داد که بین ارقام مورد مطالعه ( $P < 0,01$ )، سطوح مختلف شوری ( $P < 0,01$ ) و نیز اثر متقابل این دو  $P < 0,05$  برای  $POX_1$  و  $P < 0,01$  برای  $POX_2$  و  $POX_3$  از نظر میزان فعالیت این ایزوزیم‌ها اختلاف معنی‌دار وجود داشت لیکن بین سطوح مختلف پرولین اختلاف معنی‌دار مشاهده نشد ( $P > 0,05$ ). همچنین در ایزوزیم  $POX_2$  اثر متقابل پرولین × رقم ( $P < 0,05$ ) و در ایزوزیم  $POX_3$  اثر متقابل شوری × پرولین ( $P < 0,01$ ) نیز معنی‌دار شد.

واژه‌های کلیدی: پراکسیداز، پرولین، تنش شوری، جو

### مقدمه

گیاهان برای مقابله با تنش اکسیداتیو ایجاد شده دارای یکسری سیستم‌های آنزیمی و غیر آنزیمی هستند که می‌توانند گونه‌های فعال اکسیژن را از بین برده و یا خنثی نمایند (۴). محققین تاثیر شوری بر میزان فعالیت و ایزوزیم‌های آنزیم پراکسیداز را در دو ژنوتیپ مقاوم و حساس جو بررسی کرده و اظهار کردند که در هر دو ژنوتیپ تیمار شوری منجر به افزایش معنی‌داری در فعالیت این آنزیم نسبت به شاهد شد لیکن این افزایش در ژنوتیپ مقاوم بیشتر از حساس بود. همچنین این محققین اظهار کردند که میزان فعالیت ایزوزیم‌های پراکسیداز به هر دو فاکتور ژنوتیپ و سطوح شوری بستگی دارد (۱). در پژوهشی دیگر محققین نقش اسید آمینه پرولین را در سیستم آنتی اکسیدانی مریم گلی در حضور NaCl و پاراکوات بررسی و گزارش کردند که اثر آنتی اکسیدانی پرولین فقط بعد از ۱۲ ساعت ظاهر می‌شود در حالی که آنزیم‌های آنتی اکسیدان در پاک سازی گونه‌های فعال اکسیژن در طول مراحل اولیه خسارت، وارد عمل می‌شوند (۳). در این پژوهش میزان تغییر فعالیت آنتی اکسیدان پراکسیداز در شرایط مختلف شوری و میزان سطوح مختلف پرولین در مرحله گیاهچه‌ای جو مورد ارزیابی قرار گرفت.



اولین کنگره بین المللی  
و سیزدهمین کنگره ملی علوم زراعت و اصلاح نباتات  
و سومین همایش علوم و تکنولوژی بذر  
1<sup>st</sup> International and  
13<sup>th</sup> Iranian Crop Science Congress  
3<sup>rd</sup> Iranian Seed science and Technology Conference

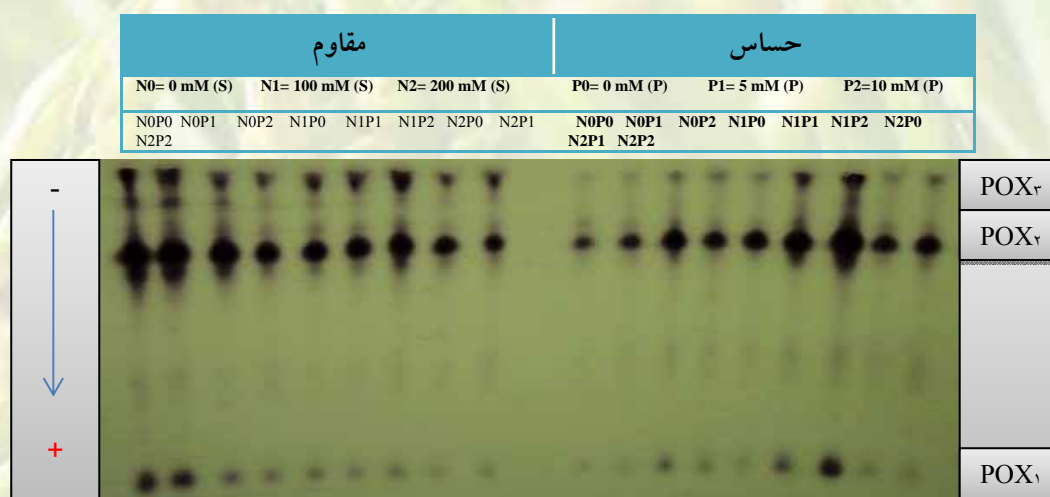


مواد و روش ها

در این پژوهش مواد گیاهی مورد استفاده شامل پنج رقم متحمل به خشکی (ارس، بهمن، یوسف، جنوب، صحرا) و پنج رقم حساس (کارون، ماکویی، کویر، ترش، نصرت) جو بود. آزمایش در قالب فاکتوریل با طرح پایه کاملاً تصادفی در آزمایشگاه پیاده شد. اعمال تیمارها در واحدهای آزمایشی (ظروف کشت) و استخراج آنزیمی بر اساس روش های استاندارد مورد استفاده قرار گرفت (۳ و ۵). آنزیم پراکسیداز (POX) پس از الکتروفورز در ژل پلی آکرلامید افقی ۸ درصد مورد رنگ آمیزی قرار گرفت (۲). فعالیت آنزیمی با استفاده از نرم افزار MCID مورد ارزیابی کمی قرار گرفت و به عنوان فعالیت دنسیتومتریک آنزیم در نظر گرفته شد. داده های به دست آمده با استفاده از نرم افزار SPSS بر اساس طرح آزمایشی مربوطه مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت.

نتایج و بحث

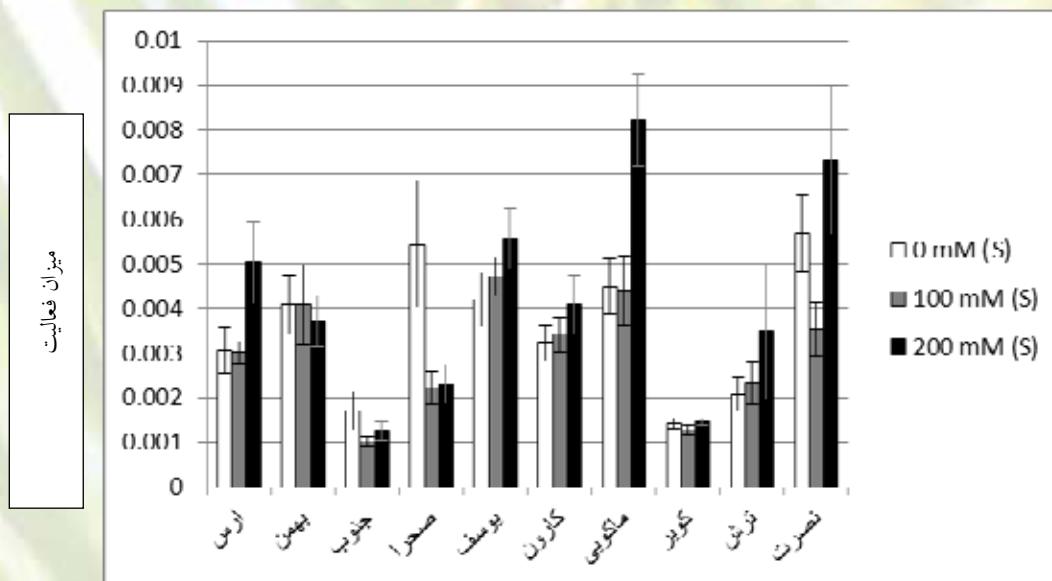
فعالیت آنزیم پراکسیداز در ارقام جو و در شرایط مختلف آزمایش در شکل ۱ نشان داده شده است. برای این آنزیم سه ایزوزیم با اسامی  $POX_1$ ،  $POX_2$  و  $POX_3$  مشاهده شد.



شکل ۱. نمونه های از فعالیت پراکسیداز در ارقام جو تحت ترکیبات مختلف شوری و پرولین

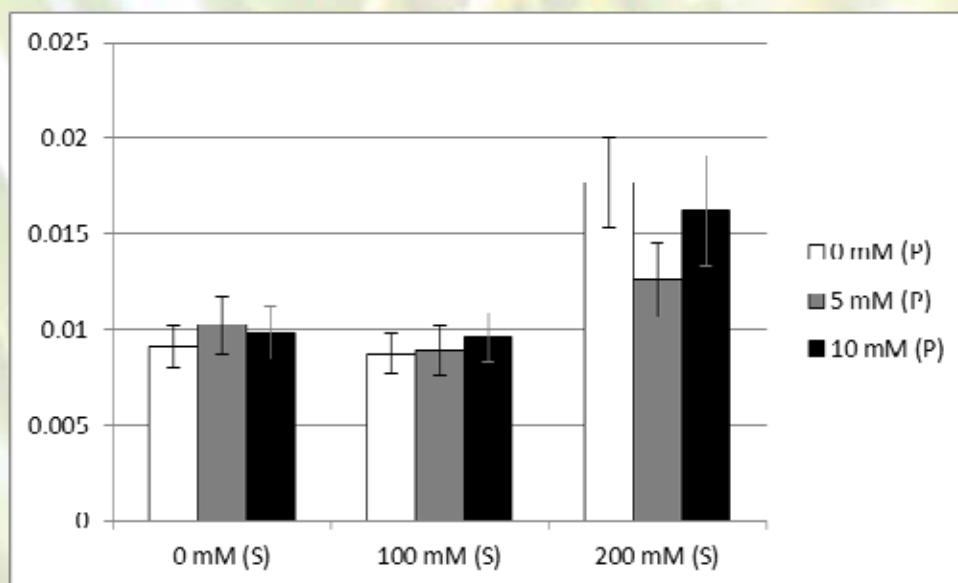
تجزیه آماری داده ها نشان داد که بین ارقام مورد مطالعه ( $P < 0,01$ )، سطوح مختلف شوری ( $P < 0,01$ ) و نیز اثر متقابل این دو (در  $POX_1$  با سطح احتمال  $P < 0,05$  و در  $POX_2$  و  $POX_3$  با سطح احتمال  $P < 0,01$ ) از نظر میزان فعالیت این ایزوزیم ها اختلاف معنی دار وجود داشت لیکن بین سطوح مختلف پرولین اختلاف معنی دار مشاهده نشد ( $P > 0,05$ ). همچنین در ایزوزیم  $POX_2$  اثر متقابل پرولین × رقم ( $P < 0,05$ ) و در ایزوزیم  $POX_3$  اثر متقابل شوری × پرولین ( $P < 0,01$ ) نیز معنی دار شد. شکل ۲ میانگین فعالیت این آنزیم در ارقام جو و سطوح مختلف شوری را در ایزوزیم  $POX_1$  نشان می دهد که حاکی از اثر متقابل از نوع تغییر در ترتیب است. همان طور که مشاهده می شود شوری ۱۰۰ میلی مولار در ارقام جنوب صحرا و نصرت منجر به کاهش معنی دار فعالیت این ایزوزیم نسبت به شرایط بدون تنش شد. شوری ۲۰۰ میلی مولار نیز در ارقام ارس، یوسف، ماکویی و نصرت منجر به افزایش معنی دار فعالیت این ایزوزیم نسبت به شاهد، شوری ۱۰۰ میلی مولار و یا نسبت به هر دو شد لیکن در رقم صحرا منجر به کاهش معنی دار فعالیت این ایزوزیم نسبت به شاهد و نیز شوری ۱۰۰ میلی مولار شد.





شکل ۲. میانگین فعالیت آنزیم پراکسیداز برای ارقام جو مورد مطالعه در سطوح مختلف شوری NaCl در ایزوزیم POX<sub>۱</sub>

میانگین فعالیت این آنزیم در ارقام جو و سطوح مختلف شوری در POX<sub>۲</sub> نیز نشان داد که شوری ۱۰۰ میلی مولار در ارقام آرس، صحرا، یوسف، کارون و نصرت منجر به کاهش معنی دار فعالیت این ایزوزیم نسبت به شرایط بدون تنش شد. شوری ۲۰۰ میلی مولار نیز در ارقام آرس، بهمن، یوسف، ماکویی و نصرت منجر به افزایش معنی دار فعالیت این ایزوزیم نسبت به شاهد، شوری ۱۰۰ میلی مولار و یا نسبت به هر دو شد لیکن در رقم صحرا منجر به کاهش معنی دار فعالیت این ایزوزیم نسبت به شاهد و نیز شوری ۱۰۰ میلی مولار شد. همچنین میانگین فعالیت این آنزیم در ارقام جو و سطوح مختلف پرولین در POX<sub>۲</sub> نیز نشان داد که پرولین ۵ میلی مولار در ارقام ماکویی و نصرت منجر به افزایش معنی دار فعالیت این ایزوزیم نسبت به شرایط بدون تنش شد. پرولین ۱۰ میلی مولار نیز در ارقام آرس، کارون و نصرت منجر به کاهش معنی دار فعالیت نسبت به شاهد و یا نسبت به پرولین ۵ میلی مولار شد لیکن در رقم ترش منجر به افزایش معنی دار فعالیت این ایزوزیم نسبت به پرولین ۱۰ میلی مولار شد. میانگین فعالیت این آنزیم در ارقام جو و سطوح مختلف شوری در POX<sub>۲</sub> نیز نشان داد که شوری ۱۰۰ میلی مولار در ارقام صحرا، کارون و نصرت منجر به افزایش معنی دار فعالیت این ایزوزیم نسبت به شاهد شد لیکن شوری ۲۰۰ میلی مولار در اکثر ارقام شامل آرس، بهمن، یوسف، کارون، ماکویی، ترش و نصرت منجر به افزایش معنی دار فعالیت این ایزوزیم نسبت به شاهد، شوری ۱۰۰ میلی مولار و یا نسبت به هر دو شد. شکل ۳ نیز میانگین فعالیت این آنزیم در سطوح مختلف پرولین و سطوح مختلف شوری را در POX<sub>۲</sub> نشان می دهد. همان طور که مشاهده می شود فقط پرولین ۵ میلی مولار منجر به کاهش معنی دار فعالیت این ایزوزیم در شوری ۲۰۰ میلی مولار شد.



شکل ۳. میانگین فعالیت آنزیم پراکسیداز برای سطوح مختلف پرولین × سطوح مختلف شوری NaCl در ایزوزیم POX<sub>۲</sub>

نتایج حاصل از این پژوهش می تواند در شناسایی رقم یا ارقام برخوردار از توانایی تحمل بیشتر به تنش شوری در مرحله گیاهچه‌ای مورد استفاده قرار گیرد.

منابع مورد استفاده

- Jin, X., Huang, Y., Zeng, F., Zhou, M. and Zang, G. (2009). Genotypic difference in response of peroxidase and superoxide dismutase isozymes and activities to salt stress in barley. *Acta Physiol Plant.*, 31: 1103-1109.
- Olson, P.D. and Varner, J.E. 1993. Hydrogen peroxides and lignifications. *Plant J.*, 4: 887-892.
- Radyukina N.L., Shashukova, A.V., Shevyakova, N.I. and Kuznetsov, V.V. (2008). Proline involvement in the common sage antioxidant system in the presence of NaCl and paraquat. *Russ. J. Plant Physiol.*, 5: 649-656.
- Sairam, R.K. and Tyagi, A. 2004. Physiological and molecular biology of salinity stress tolerance in plant. *Curr. Sci.*, 86: 407-420.
- Valizadeh, M., Mohayjeji, M., Yasinzadeh, N., Nasrullazadeh, S. and Moghaddam, M. (2011). Genetic diversity of synthetic alfalfa generations and cultivars using tetrasomic inherited allozyme markers. *J. Agric. Sci. Techn.*, 13: 425-430.

### Activity of peroxidase antioxidant enzyme in seedling stage of barley cultivars under salt stress and proline treatment

Mohammad Behrouzi <sup>1</sup>, Mostafa Valizadeh <sup>2</sup>, Mohammad Moghaddam Vahed <sup>2</sup>

#### Abstract

The soil salt stress is one of the important challenges of limiting of plant production stability, specially in arid and semi-arid regions. The change of activity of some antioxidant enzymes occur in plant to adaptation against environmental stresses. In this research, activity of peroxidase was studied in ten cultivars of barley seedlings. A factorial experiment was conducted with three NaCl levels (0, 100 and 200 mM) and three levels of proline (0, 5 and 10 mM) based on completely randomized design with three replications. Enzyme analyses were performed with electrophoresis in 8% horizontal polyacrylamide gels. Three isozymes named POX<sub>1</sub>, POX<sub>2</sub> and POX<sub>3</sub> were observed in the barley seedlings. The activity of these isozymes were significant between barley cultivars ( $P < 0.01$ ), effect of NaCl salinity ( $P < 0.01$ ) and salinity \* cultivar interaction ( $P < 0.05$  for POX<sub>1</sub> and  $P < 0.01$  for POX<sub>2</sub> and POX<sub>3</sub>). But proline treatments had no significant effect ( $P > 0.05$ ). Both interaction effect of proline \* cultivar in POX<sub>2</sub> ( $P < 0.05$ ) and salt \* proline in POX<sub>3</sub> ( $P < 0.01$ ) were also significant.

Key words: Barley, Peroxidase, Proline, Salt stress