مهندسی ژنتیک و ایمنی زیستی
دوره پنجم، شماره اول، بهار و تابستان ۱۳۹۵
صفحه ۵۹-۵۱

ارزیابی تاثیر شوری بر میزان جوانه‌زنی و بیان ژن‌های آنتی‌اکسیدان در دو رقم گیاه گوجه‌فرنگی

Evaluation of the effect of salinity on the germination and expression of antioxidant genes in two cultivars of tomato plant

پروانه محمودی جراغیلی[۱]، هانیه محجل شجاء[۲*] ، الهام محجل کاظمی[۲]

Parvaneh Mahmoodi Jaraghili[1], Hanieh Mohajjel Shoja[2*], Elham Mohajjel Kazemi[2]

۱- دانش آموخته کارشناسی ارشد سلولی- تکوین گیاهی،

۲- استادیار گروه زیست شناسی گیاهی، دانشکده علوم طبیعی، دانشگاه تبریز، ایران

1. MSc. in Plant Cell and Development,

2. Assistance Prof. in Department of Plant Biology, Faculty of Natural Sciences, University of Tabriz, Iran

* نویسنده مسئول مکاتبات، پست الکترونیکی: H_mohajjel@tabrizu.ac.ir

(تاریخ دریافت: ۱۳۹۵/۳/۱۶ - تاریخ پذیرش: ۹۵/۸/۲۱)

چکیده

شوری خاک به عنوان یکی از مهمترین تنش‌های محیطی گیاهان محسوب می‌شود که در تمام مراحل رشد بخصوص در مرحله جوانه‌زنی تاثیر گذار بوده و از عوامل محدود کننده تولید محصولات کشاورزی به شمار می‌رود. این تنش فرایندهای فیزیولوژیکی مختلفی را در گیاه تحت تاثیر قرار می‌دهد که از مهمترین آنها آسیب‌های اکسیداتیو به اجزای سلولی است که توسط گونه‌های فعال اکسیژن ایجاد می‌شوند. در مقابل، گیاهان نیز با تولید آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان همچون کاتالاز (CAT)، آسکوربات پراکسیداز (APX) و سوپراکسید دیسموتاز (SOD) آثار مخرب چنین آسیب‌هایی را به حداقل می‌رسانند. این پژوهش به منظور بررسی تاثیر تنش شوری بر میزان جوانه‌زنی و بیان ژن‌های آنتی‌اکسیدان *CAT1* و *APX1* در دو رقم گیاه گوجه‌فرنگی موسوم به $CaljN_3$ و SuperstrainB صورت گرفت. به منظور بررسی درصد و سرعت جوانه‌زنی، بذور در قالب یک طرح کاملا تصادفی در سه تکرار بر روی کاغذ صافی کشت شدند و پس از ۱۵ روز سرعت و درصد جوانه‌زنی، ، طول ریشه‌چه و طول ساقه‌چه مورد سنجش قرار گرفت. جهت مطالعات مولکولی نیز RNA از برگ گیاهان بالغ کاشته شده در خاک استخراج و بعد از سنتز cDNA واکنش qRT-PCR با استفاده از آغازگرهای ژن‌های *CAT1* و *APX1* بر روی آنها انجام گرفت. نتایج بدست آمده نشان داد که با افزایش تنش شوری، درصد و سرعت جوانه‌زنی و طول ریشه‌چه و ساقه‌چه در هر دو رقم $CaljN_3$ و SuperstrainB کاهش پیدا کرد و رقم $CaljN_3$ کمترین مقدار کاهش را از خود نشان داد. با افزایش سطح تنش میزان بیان ژن‌های *CAT1* و *APX1* در رقم CaljN3 به ترتیب حدود دو و ده برابر رقم حساس SuperstrainB بود. این نتایج می‌توانند یکی از دلایل رشد بهتر رقم $CaljN_3$ نسبت به رقم SuperstrainB و متحمل بودن آن به شرایط تحت تنش شوری باشند.

واژه‌های کلیدی

تنش شوری
جوانه‌زنی
ژن *APX1*
ژن *CAT1*
qRT-PCR

[Downloaded from gebsj.ir on 2026-06-01]

[DOR: 20.1001.1.25885073.1395.5.1.3.8]

مقدمه

محصولات زراعی تحت تاثیر انواع تنش‌های محیطی زنده و غیر زنده قرار می‌گیرند (Hameed *et al*. 2008). در میان تنش‌های غیر زنده، شوری یکی از عوامل کاهش تولید محصولات کشاورزی می‌باشد که در مناطق خشک و نیمه خشک مشکل عمده محسوب می‌شود. (Sangam *et al*. 2005). ایران نیز دارای اقلیم گرم و خشک است که از ویژگی‌های آن تبخیر زیاد و نزولات جوی اندک و پراکنده می‌باشد که این امر باعث تجمع انواع نمک‌ها در لایه سطحی خاک می‌گردد؛ به طوری‌که بیش از ۵۰٪ اراضی ایران تحت اثرات منفی شوری قرار دارند (Kafi, 2008). یکی از راه-های اصلاح خاک‌های شور آبشویی خاک‌ها جهت خروج نمک-های آن است که به دلیل کمبود آب در مناطق خشک این روش عملی نیست. شناسایی و انتخاب ارقام متحمل به شوری همراه با توان تولید زیاد، رویکرد مهم اصلاحی دیگر است (Rashid, 1986). نمک سدیم کلرید متشکل از دو یون سدیم و کلر می‌باشد که به عنوان آلوده‌کنندگان خاک شور هستند. وجود بیش از حد این ترکیب در خاک سبب بروز تنش‌های یونی و اسمزی در گیاهان می‌شود (Munns, 2002). تنش یونی جذب عناصر ضروری مورد نیاز گیاه را کاهش می‌دهد (Mansour *et al*. 2005; Murillo-Amador *et al*. 2006) و تنش اسمزی نیز سبب کاهش جذب آب و تبادلات گازی در گیاهان می‌شود (Munns, 2002). تنش شوری از طریق ایجاد تنش اسمزی موجب ایجاد رادیکال-های آزاد، عدم تعادل بین فرایند جذب انرژی و مصرف آن توسط اندام فتوسنتزی و تولید انواع اکسیژن فعال (ROS) می‌شود که ناتوانی گیاه در مهار آن منجر به بروز صدمات اکسیداتیو می‌شود (Blokhina *et al*. 2003). ROS ها دارای نقش دوگانه‌ای هستند به طوری‌که در غلظت پایین به عنوان سیگنال‌های مولکولی فعالیت می‌کنند و می‌توانند در تحریک بیان برخی ژن‌ها و در متابولیسم سلولی مفید باشند. در حالی‌که در غلظت بالا با بیومولکول‌های زیستی واکنش می‌دهند و باعث تخریب پروتئین-ها، اکسیداسیون لیپیدها، جهش در DNA و افزایش میزان نفوذپذیری غشا می‌شوند که تمامی موارد فوق منجر به بروز اختلالات در متابولیسم طبیعی گیاه شده و نهایتا باعث مرگ سلول‌ها می‌شود (Esfandiari *et al*. 2008; Kar, 2011). در همین راستا گیاهان نیز مکانیسم‌های حفاظتی مختلفی برای حذف یا کاهش ROS بکار می‌برند. سیستم‌های آنزیمی آنتی‌اکسیدانی مانند کاتالاز، آسکوربات پراکسیداز، سوپراکسیددیسموتاز، گلوتاتیون ردوکتاز، گلوتاتیون پراکسیداز و دهیدروآسکوربات پراکسیداز (Esfandiari *et al*. 2011; Gao *et al*. 2008) و نیز آنتی‌اکسیدان‌های غیرآنزیمی مانند کارتنوئید، گلوتاتیون، توکوفرول و آسکوربات از این مکانیسم‌های حفاظتی می‌باشند (Mittler *et al*. 2004; Ahmed *et al*. 2010). در گیاهان H_2O_2 نقش مهمی در تحریک پاسخ‌های دفاعی و مرگ سلولی بازی می‌کند. آنزیم کاتالاز (CAT) با حذف بخش عمده‌ای از H_2O_2 سلولی تغییراتی را در سطح و غلظت پراکسید هیدروژن ایجاد می‌کند (Vandenabeele *et al*. 2004) و آسکوربات پراکسیداز (APX) نیز یکی از آنزیم‌های آنتی‌اکسیداتیو کلیدی در سیستم دفاعی گیاهان و به عنوان یک احیا کننده برای رادیکال‌های آزاد و از جمله H_2O_2 محسوب شده و لذا خسارت ناشی از تنش اکسیداتیو را به حداقل می‌رساند (Arora *et al*. 2002). واکنش گیاهان نسبت به شوری مختلف و پیچیده بوده و تعیین یک معیار مناسب برای انتخاب ژنوتیپ‌های برتر برای مقابله با این تنش بسیار مشکل است (Ashraf and Haris, 2004). توسعه ارقام گیاهی متحمل به نمک، کشت محصولات زراعی را در مناطق وسیعی امکان پذیر ساخته و گامی در رسیدن به محصول هر چه بیشتر را میسر می‌سازد. اگرچه تنش شوری در تمام مراحل رشد گیاه می-تواند اتفاق بیافتد ولی با توجه به اهمیت استقرار اولیه گیاه در خاک این تنش در مرحله جوانه‌زنی برای گیاه بسیار مضر است (Rauf *et al*. 2007). بررسی تاثیر شوری بر پارامترهای مختلف جوانه‌زنی بسیاری از گیاهان زراعی نشان داده است که اعمال این تنش در مرحله جوانه‌زنی آزمون قابل اطمینانی در ارزیابی تحمل بسیاری از گونه‌ها است چرا که شوری باعث کاهش درصد و سرعت جوانه‌زنی و همچنین باعث کاهش رشد ساقه‌چه و ریشه-چه می‌شود. در بررسی‌هایی که بر روی ارقام مختلف گلرنگ و آفتابگردان با اعمال تنش شوری به عمل آمده مشاهده شد که

[Downloaded from gebsj.ir on 2026-06-01]

[DOR: 20.1001.1.25885073.1395.5.1.3.8]

درصد جوانه‌زنی و طول ریشه‌چه و ساقه‌چه و نیز وزن خشک آنها با افزایش سطح شوری کاهش یافت (Demir and Ozturk, 2003; Mohammed *et al*. 2002). با توجه به اهمیت مرحله جوانه‌زنی بذر در گیاهان و نقش آن در تعیین تراکم نهایی بوته در واحد سطح و ارتباط مستقیم این مرحله در سطح مولکولی با افزایش یا کاهش بیان برخی از ژن‌ها در شرایط اعمال تنش و همچنین با توجه به اهمیت ویژه اقتصادی گیاه گوجه‌فرنگی و بحران شوری خاک و کمبود آب در ایران، این تحقیق به منظور ارزیابی پتانسیل جوانه‌زنی و بررسی نحوه بیان ژن‌های کاتالاز و آسکوربات پراکسیداز در شرایط تحت تنش شوری در دو رقم این گیاه انجام شد.

مواد و روش‌ها

بذر ژنوتیپ‌های $CaljN_3$ و SuperstrainB گیاه گوجه‌فرنگی از موسسهٔ نهال و بذر کرج تهیه شدند. این آزمایش در شرایط گلخانه‌ای و در قالب طرحی کاملا تصادفی با سه تکرار در سطوح شوری ۰، ۵۰، ۱۰۰، ۱۵۰و ۲۰۰ میلی‌مولار سدیم کلرید انجام شد. بذور ابتدا در محلول ۱۰٪ آب ژاول به مدت ۳ دقیقه ضدعفونی و سپس با آب مقطر شستشو داده شدند. سپس به هر ظرف پتری-دیش ۵ میلی‌لیتر از محلول آب نمک (آب مقطر استریل برای تیمار شاهد) با غلظت مورد نظر اضافه شد و تعداد ۴۰ بذر در هر ظرف بر روی کاغذ صافی مستقر شده و در دمای ۲۰°C در داخل ژرمیناتور قرار داده شدند (ISTA, 2008). بذوری جوانه‌زده تلقی شدند که طول ریشه‌چه آن‌ها حداقل ۲ میلی‌متر بود. پس از ۱۵ روز صفاتی نظیر طول ریشه‌چه و ساقه‌چه اندازه‌گیری و درصد و سرعت جوانه‌زنی نیز با استفاده از روابط زیر محاسبه شدند:

$$GP = (Ni/S) \times 100$$ رابطه ۱

GP درصد جوانه‌زنی و Ni تعداد بذور جوانه زده در روز I ام و S تعداد کل بذور کشت شده است (Bajji *et al*. 2002).

$$GR = \Sigma Ni/Ti$$ رابطه ۲

GR سرعت جوانه‌زنی (بر حسب تعداد بذر جوانه زده در روز) و Ni تعداد بذور جوانه زده در روز I ام و Ti تعداد روز تا شمارش I ام است (Bajji *et al*. 2002).

داده‌ها با استفاده از نرم افزار SPSS بررسی و برای رسم نمودارها از نرم افزار EXCEL استفاده شد.

به منظور بررسی تاثیر تنش شوری بر بیان ژن‌های *CAT1* و *APX1* در مرحله گیاه کامل ابتدا بذور جهت جوانه‌زنی به محیط ماسه مرطوب منتقل شدند. آبیاری بذور کشت شده با آب مقطر به مدت ۲۰ روز انجام شد. پس از ظهور برگ‌های اولیه انتقال دانه‌رست‌های جوان به محیط پرلیت/ کوکوپیت با نسبت ۳ به ۱ به عنوان بستر کشت انجام گرفت. به منظور آبیاری گیاهان از محلول غذایی هوگلند (PH=۶-۷) به مدت دو هفته استفاده شد (Hoagland and Arnon, 1950). سپس تنش شوری در سطوح صفر و۲۰۰ میلی‌مولار سدیم کلرید اعمال شد. بعد از گذشت ۴ هفته اعمال تنش، استخراج RNA از برگ‌های جوان گیاهان با استفاده از بافر تریزول به منظور مطالعات مولکولی انجام شد. جهت حذف مولکول‌های DNA از RNA استخراج شده واکنش DNase توسط کیت Qiagen انجام گرفت و بررسی کمی RNA با استفاده از دستگاه اسپکتروفوتومتر صورت پذیرفت. سنتز cDNA با استفاده از کیت Superscript III (ساخت شرکت Invitrogen) و واکنش qRT-PCR با استفاده از آغازگرهای ژن‌های *CAT1* و *APX1* و ژن خانه‌دار اکتین که توالی آن‌ها در جدول (۱) آورده شده است انجام پذیرفت. رسم نمودارهای مربوط به داده‌های qRT-PCR در محیط EXCEL صورت گرفت.

[Downloaded from gebsj.ir on 2026-06-01]
[DOR: 20.1001.1.25885073.1395.5.1.3.8]

جدول ۱- توالی آغازگرهای استفاده شده در بررسی بیان ژن‌های APX_1، CAT_1 و *ACT* جهت qRT-PCR

Table 1- Primer sequences used to examine the gene expression of *APX1*, *CAT1* and *ACT* for qRT-PCR

Primer Name	Primer sequences
CAT F	GCGACCAAGGATCTTTACGA
CAT R	CAACACCAATCGACCAACTG
APX F	CATTAGGGAGCAGTTTCCC
APX R	CTCTGGCTTGTCCTCTCTGC
ACT F	ATGCCTATGTTGGTGACGAG
ACT R	CTCTGGAGCCACACGAAGT

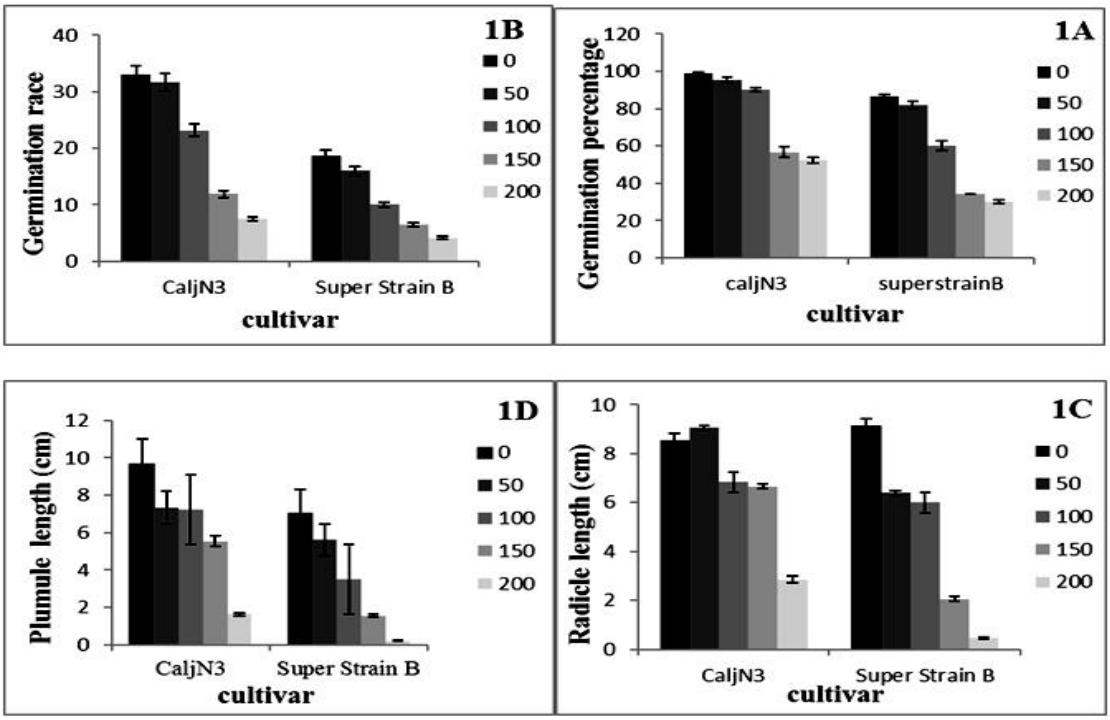
نتایج و بحث

درصد و سرعت جوانه‌زنی: نتایج بدست آمده نشان دادند که با افزایش سطح تنش شوری جوانه‌زنی بذور گوجه‌فرنگی به طور قابل توجهی تحت تاثیر قرار گرفته و در هر دو نوع ژنوتیپ یک روند کاهشی هم از لحاظ درصد و هم از لحاظ سرعت جوانه زنی مشاهده می‌شود که در این میان رقم SuperstrainB حساسیت بیشتری را نسبت به رقم $CaljN_3$ از خود نشان داد (شکل ۱A, B). در شرایط شاهد هر دو رقم درصد جوانه‌زنی نسبتا مشابهی داشته‌اند ($CaljN_3$ ۹۸/۸۹ درصد و SuperstrainB ۸۶/۶۷ درصد) در حالی‌که در شرایط تحت تنش و در غلظت شوری ۲۰۰ میلی‌مولار رقم $CaljN_3$ با درصد جوانه‌زنی ۵۲/۲۲ تحمل بیشتری را به شرایط تنش در مقایسه با رقم SuperstrainB با درصد جوانه زنی ۳۰/۱ نشان داد (شکل ۱A). همان‌گونه که از شکل ۱A, B بر می‌آید غلظت‌های ۵۰ و ۱۰۰ میلی‌مولار تاثیر مهاری کمتری را نسبت به غلظت‌های بالاتر بر درصد و سرعت جوانه زنی گذاشته‌اند. در شرایط شاهد سرعت جوانه‌زنی رقم SuperstrainB از سرعت جوانه‌زنی رقم $CaljN_3$ کمتر بود. بطور کلی سرعت جوانه‌زنی ارتباط معکوسی با غلظت نمک دارد و با افزایش غلظت نمک سرعت جوانه‌زنی کاهش پیدا می‌کند. رقم $CaljN_3$بطور معنی داری سرعت جوانه‌زنی بالایی در تمام سطوح شوری نسبت به رقم SuperstrainB داشت (شکل ۱B). نتایج بدست آمده تفاوت آشکار بین هر دو نوع ژنوتیپ را مشخص می‌سازند. از آنجا که مرحله جوانه‌زنی به عنوان یکی از دوره‌های حساس چرخهٔ زندگی گیاهان محسوب می‌شود در گیاهانی که جوانه‌زنی بهتر و بیشتری داشته باشند شانس بیشتری برای زنده ماندن و بقا خواهند داشت. سرعت جوانه‌زنی یکی از مهم‌ترین شاخص‌های ارزیابی ارقام در تحمل به تنش می‌باشد به گونه‌ای که ارقام با سرعت جوانه‌زنی بالا در شرایط تنش شوری امکان سبز شدن سریعی را نسبت به دیگر ارقام دارند (Kafi et al. 2005). نتایج حاصل از تحقیق حاضر، رقم $CaljN_3$ را به دلیل سرعت جوانه‌زنی بالا نسبت به رقم SuperstrainB به عنوان رقم متحمل به شوری تایید می‌کند. طبق نتایج حاصل بالاترین درصد و سرعت جوانه‌زنی در هر دو رقم در شرایط غیر تنش بوده و کاربرد نمک باعث کاهش جوانه‌زنی شده است. نتایج مشابهی نیز در گیاهان مختلف هم‌چون کلم، چغندرقند و لوبیا گزارش شده است که در آنها زمان لازم برای جوانه‌زنی با افزایش غلظت نمک بیشتر شده است (Jeannette et al. 2002; Jamil and Rha, 2004). شواهدی وجود دارد که نشان می‌دهد کاهش درصد و سرعت جوانه‌زنی با کاهش جذب آب توسط بذر در مرحله‌ی آبگیری و تورژسانس ارتباط مستقیم دارد (Bybordi and Tabatabaei, 2009). تنش شوری به دلیل کاهش آب مورد نیاز برای آبگیری و نیز تاثیر سمیت یون‌های سدیم و کلر باعث القای خواب اجباری و کاهش درصد جوانه‌زنی بذرها می‌شود (Ghars *et al*. 2009; Sosa *et al*. 2005).

[Downloaded from gebsj.ir on 2026-06-01]
[DOR: 20.1001.1.25885073.1395.5.1.3.8]

طول ریشه‌چه و ساقه‌چه: از شاخصه‌های مهمی هستند که در بررسی‌های مربوط به تنش شوری مورد ارزیابی قرار می‌گیرند. ریشه‌چه به سبب آن‌که گیاه را در ارتباط مستقیم با خاک قرار می‌دهد و جذب آب و املاح را در ابتدای زندگی گیاه میسر می‌سازد و ساقه‌چه به دلیل فراهم نمودن مواد مورد نیاز گیاه از ریشه‌چه و انجام فرایند فتوسنتز از اهمیت ویژه ای برخوردارند. نتایج بدست آمده از پژوهش حاضر نشان داد که با افزایش سطح تنش شوری یک روند کاهشی در طول ریشه‌چه و ساقه‌چه در هر دو رقم $CaljN_3$ و SuperstrainB مشاهده می‌شود (شکل ۱C، ۱D). بیشترین طول ریشه‌چه در شرایط تحت تنش شوری مربوط به ژنوتیپ $CaljN_3$ بود که تنها ۶۶/۵۸ درصد کاهش طول ریشه را در مقایسه با شرایط شاهد داشت و بنابراین متحمل به شوری محسوب شد (شکل ۱C). در حالی‌که رقم SuperstrainB با کاهش ۹۴/۸۵ درصدی طول ریشه در شرایط تنش شوری ۲۰۰ میلی مولار نسبت به شرایط شاهد به عنوان ژنوتیپ حساس معرفی شد. طول ساقه‌چه نسبت به ریشه‌چه حساسیت بیشتری را نسبت به شرایط تحت تنش از خود نشان داد و در هر دو نوع ژنوتیپ مورد بررسی از یک روند کاهشی بارزتری برخوردار بود (شکل۱D).

ژنوتیپ SuperstrainB با کاهش ۹۷ درصدی طول ساقه‌چه نسبت به رقم $CaljN_3$ با کاهش ۸۳/۱۳ درصدی حساسیت بیشتری را به افزایش غلظت نمک نشان داد. در بررسی‌هایی که روی گیاه نخود، فلفل و نخود فرنگی نیز انجام شده است مشاهده شده است که طول ریشه‌چه و ساقه‌چه با افزایش شوری در این گیاهان کاهش می‌یابد (Yildirim and Guvenc, 2006; Oksu *et al*. 2005; Tsegazeabe *et al*. 2012). از عوامل کاهش طول ساقه‌چه و ریشه‌چه در شرایط تحت تنش، می‌توان به کاهش جذب آب توسط بذر، کاهش انتقال مواد غذایی از لپه‌ها به جنین، کاهش ترشح هورمون‌ها و فعالیت آنزیم‌ها و در نتیجه اختلال در رشد ساقه‌چه و ریشه‌چه اشاره کرد (Kafi *et al*. 2005; Bagheri Kazemabad *et al*. 1988).



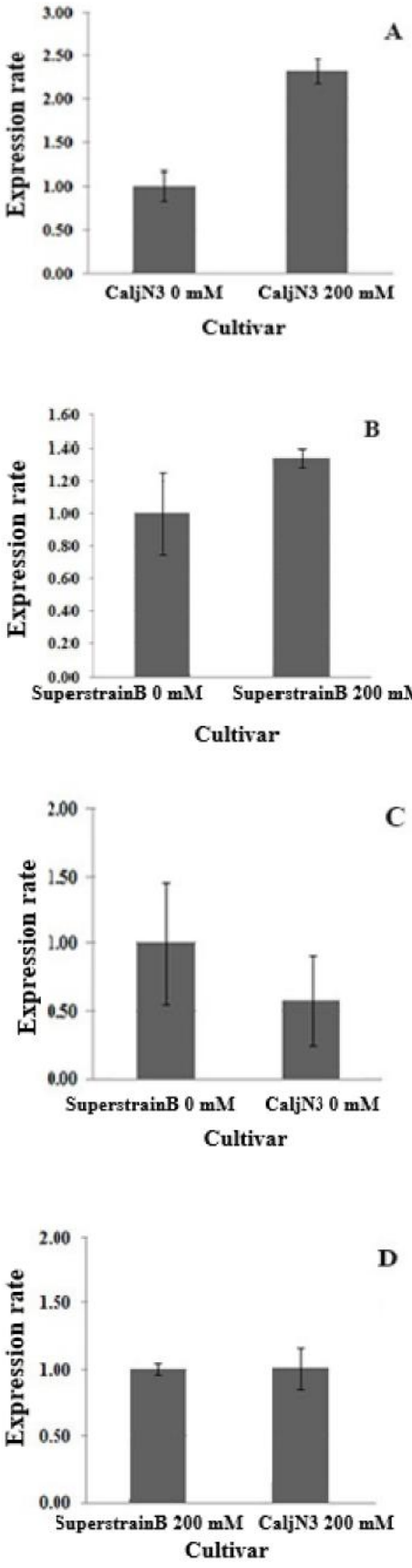
شکل ۱- اثر سطوح مختلف شوری در درصد جوانه‌زنی (A)، سرعت جوانه‌زنی (B)، طول ریشه‌چه (C) و طول ساقه‌چه (D) در دو رقم گوجه‌فرنگی.

Figure 1- Effects of different salinity levels on germination percentage (A), germination rate (B), radicle length (C) and plumule length (D) of two tomato cultivars.

[Downloaded from gebsj.ir on 2026-06-01]
[DOR: 20.1001.1.25885073.1395.5.1.3.8]

بررسی بیان ژن‌های CAT_1 و APX_1 : بذرهای هر دو رقم گوجه‌فرنگی طبق آنچه در بخش مواد و روش‌ها ذکر شد در یک طرح کاملا تصادفی در سه تکرار کاشته شدند و سپس تنش شوری در دو سطح ۰ و ۲۰۰ میلی‌مولار سدیم کلرید اعمال شد. بعد از گذشت ۴ هفته از اعمال تنش استخراج RNA از برگ‌های جوان گیاهان صورت گرفت و پس از سنتز cDNA واکنش-qRT PCR با استفاده از آغازگرهای ژن‌های APX_1 و CAT_1 و ژن خانه-دار اکتین انجام گرفت. نتایج حاصل از سنجش بیان ژن‌های CAT_1 و APX_1 نشان داد که میزان بیان ژن CAT_1در هر دو رقم $CaljN_3$ و SuperstrainB در غلظت ۲۰۰ میلی‌مولار سدیم کلرید نسبت به شرایط کنترل افزایش می‌یابد و این افزایش در رقم $CaljN_3$ بیشتر از رقم SuperstrainB بود (شکل ۲A, B). مقایسه‌ی بیان این ژن در رقم‌های مذکور نسبت به یکدیگر نشان داد که در شرایط کنترل در رقم $CaljN_3$ میزان بیان تقریبا نصف رقم SuperstrainB بوده و در شرایط تیمار بیان این ژن در هر دو رقم مساوی بود (شکل۲C, D). می‌توان این چنین نتیجه‌گیری کرد که در شرایط تنش رقم $CaljN_3$ با افزایش بیان ژن CAT_1 به میزان تقریبی دو برابر نسبت به رقم SuperstrainB باعث تحمل بیشتر خود در مقابل شوری خاک می‌شود.

در بررسی‌هایی نیز که روی بیان ژن کاتالاز در گیاه مرغ انجام شده است نشان داده شده که میزان بیان این ژن در برگ‌های جوان رقم متحمل تحت تنش شوری ۴۰۰ میلی‌مولار، نسبت به رقم حساس بیشتر بود (Hu *et al.* 2012). به گونه‌ای مشابه نشان داده شده که افزایش بیان ژن CAT_2 و APX در گیاه کلزا تحت تنش خشکی در رقم متحمل بیشتر از رقم حساس بود (Hosseini *et al.* 2015). با توجه به این که افزایش بیان ژن CAT_1 منجر به افزایش تحمل تحت تنش شوری در گیاه گوجه‌فرنگی می‌شود، انتقال این ژن می‌تواند در راستای افزایش تحمل به شوری در گیاهان زراعی موثر باشد.

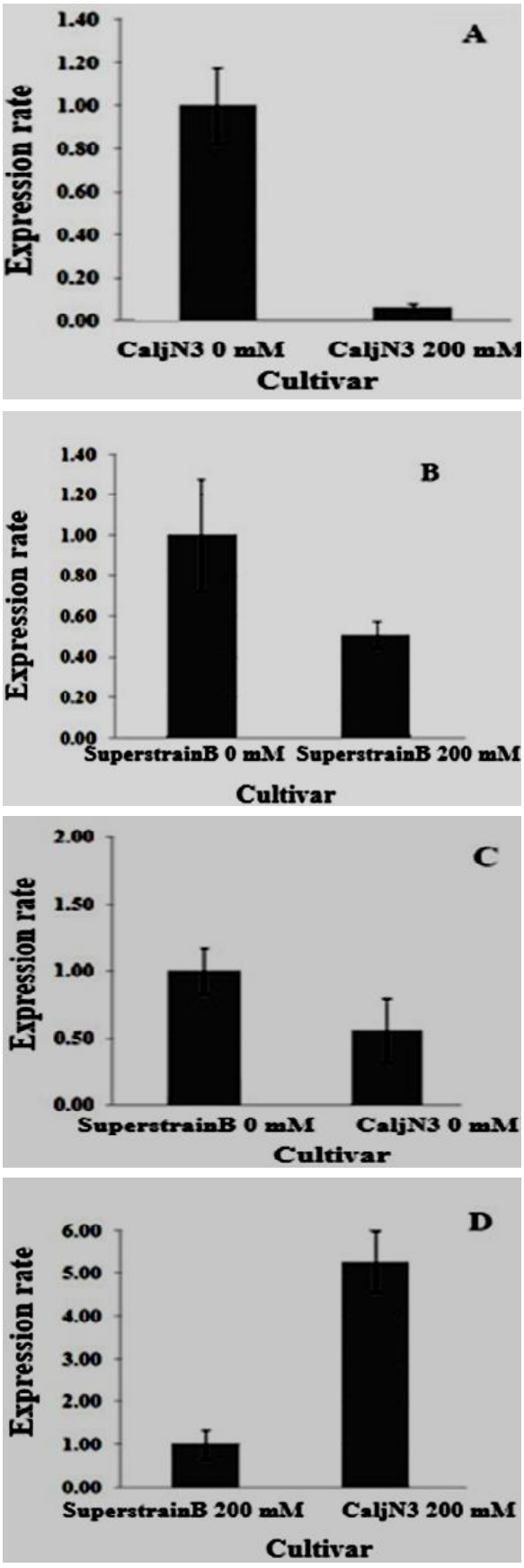


شکل ۲- میزان بیان نسبی ژنCAT_1 در دو رقم$CaljN_3$ و SuperstrainB

Figure 2- Relative expression of *CAT1* in CaljN3 and SuperstrainB plants

[Downloaded from gebsj.ir on 2026-06-01]
[DOR: 20.1001.1.25885073.1395.5.1.3.8]

در مورد ژن APX_1 نتایج بدست آمده نشان داد که در هر دو رقم $CaljN_3$و SuperstrainB میزان بیان این ژن در شرایط تحت تنش نسبت به شرایط شاهد کاهش می‌یابد و این کاهش برای رقم $CaljN_3$بسیار بیشتر از رقم SuperstrainB بود (شکل ۳A, B). مقایسهٔ بیان این ژن در رقم‌های مذکور نسبت به یکدیگر نشان داد که در شرایط کنترل میزان بیان این ژن در گیاهان $CaljN_3$ بطور تقریبی نصف گیاهان SuperstrainB است (شکل۳C)، در حالی‌که در شرایط تنش میزان بیان آن تا ۵ برابر گیاهان SuperstrainB می‌رسد (شکل۳D). به عبارت دیگر در شرایط تحت تنش رقم $CaljN_3$ با افزایش بیان ژن APX_1 به میزان تقریبی ده برابر نسبت به رقم SuperstrainB باعث تحمل بیشتر خود در مقابل شوری خاک شده است. کاهش بیان ژن‌های CAT_1 و APX_1 در رقم حساس SuperstrainB در شرایط تحت تنش می‌تواند عاملی برای غیر فعال شدن یا تخریب این آنزیم‌ها باشد که منجر به بروز تنش اکسیداتیو شده و در نتیجه حساسیت این رقم به شوری با درجات بالا را باعث گردد (Shim *et al.* 2003).گزارشات متعددی وجود دارد که نشان می‌دهند در گیاهان کلزا و چمن که به ترتیب تحت تنش سرما و خشکی قرار داشتند میزان بیان ژن *APX* در ارقام متحمل بسیار بیشتر از ارقام حساس می‌باشد (Xu *et al.* 2011; Zahri and Maleki, 2014). در پژوهش حاضر در گیاه متحمل میزان بیان ژن CAT_1 در شرایط تحت تنش بیشتر از بیان ژن *APX* نسبت به گیاه حساس بود. این نتایج هم‌راستا با نتایج پژوهشی است که بر روی گیاه بادمجان صورت گرفته و نشان می‌دهد که تاثیر شرایط تنشی (غلظت‌های بالای Zn^{2+} و Cu^{2+}) بر بیان ژن‌های کاتالاز و آسکوربات پراکسیداز به گونه‌ای است که ژن *CAT* در نمونه‌های در معرض آلودگی این فلزات بیشتر از ژن *APX* بیان می‌گردد (Soydam-Aydın *et al.* 2015). امید که با انجام پژوهش‌های آتی گامی فراتر در نیل به درک مکانیسم عمل گیاهان در تحمل به تنش شوری و یا سایر تنش‌های محیطی برداشته شود.



شکل ۳- میزان بیان نسبی ژنAPX_1دو رقم $CaljN_3$ و SuperstrainB

Figure 3- Relative expression of APX_1 in CaljN3 and SuperstrainB plants

[Downloaded from gebsj.ir on 2026-06-01]
[DOR: 20.1001.1.25885073.1395.5.1.3.8]

منابع

Ahmed P, Jaleel C, Azooz M, Gowher N. 2010. Generation of ROS and nonenzymatic antioxidants during abiotic stress in plants. Botany Research International 2(3):11-20.

Arora A, Sairam RK, Srivastava GC. 2002. Oxidative stress and antioxidant system in Plants. Current Science-Bangalore 82(10):1227-1238.

Ashraf M, Haris PJC. 2004. Potential biochemical indicators of salinity tolerance in plants. Plant Science 166:3-16.

Bagheri Kazemabad A, Sarmadnia G, Haj Rasouliha S. 1988. Study of sainfoin masses reaction to salinity and drought stresses in germination stage. Journal Agriculture Science Technology 2:41-55.

Bajji M, Kinet JM, Lutts S. 2002. Osmotic and ionic effects of NaCl on germination, early seedling growth, and ion content of *Atriplex halimus* (Chenopodiaceae). Canadian Journal of Botany 80: 297-304.

Blokhina O, Virolainen E, Fagestedt KV. 2003. Antioxidants, oxidative damage and oxygen deprivation stress: A review. Annals of Botany 91(2):179-194.

Demir M, Ozturk A. 2003. Effect of different soil salinity levels on germination and seedling growth of Safflower (*Carthamus tinctorius* L.). Turkish Journal of Agriculture 27:224-227.

Esfandiari E, Enayati V, Abbasi A. 2011. Biochemical and physiological changes in response to salinity in two durum wheat (*Triticum turgidum* L.) Genotypes. Notulae Botanicae Horti Agrobotanici Cluj-Napoca. 39(1):165-170.

Esfandiari E, Shekari F, Shekari F, Esfandiari M. 2007. The effect of salt stress on antioxidant enzymes activity and lipid peroxidation on the wheat seedling. Notulae Botanicae Horti Agrobotanici Cluj-Napoca 35(1):48-56.

Gao S, Ouyang C, Wang S, Xu Y, Tang L, Chen F. 2008. Effects of salt stress on growth, antioxidant enzyme and phenylalanine ammonia-lyase activities in *Jatropha curcas* L. seedlings. Plant, Soil and Environment 54(9):374-381.

Ghars MA, Debez A, AbdellyC. 2009. Interaction between salinity and original habitat during germination of the annual seashore halophyte *Cakile maritima*. Communications in soil science and plant analysis 40(19-20):3170-3180.

Haileselasie TH, Teferii G. 2012. The effect of salinity stress on germination of chickpea (*Cicer arietinum* L.) land race of Tigray. Current Research Journal of Biological Sciences 4(5):578-583.

Hameed A, Naseer S, Iqbal T, Syed H, Haq MA. 2008. Effects of NaCl salinity on seedling growth, senescence, catalase and protease activities in two wheat genotypes differing in salt tolerance. Pakistan Journal of Botany 40(3):1043-1051.

Hoagland DR, Arnon DI. 1950. The water-culture method for growing plants without soil. Circular. California Agricultural Experiment Station 347:1-32.

Hosseini SM, Hasanloo T, Mohammadi S. 2015. Physiological characteristics, antioxidant enzyme activities, and gene expression in 2 spring canola (*Brassica napus* L.) cultivars under drought stress conditions. Turkish Journal of Agriculture and Forestry 39:413-420.

Hu L, Huang Z, Liu S, Fu J. 2012. Growth response and gene expression in antioxidant-related enzymes in two bermudagrass genotypes differing in salt tolerance. Journal of the American Society for Horticultural Science 137(3):134-143.

ISTA. 2008. International Seed Testing Association. Handbook of Vigor test method, 2nd Edition. Zurich, Switzerland.

Jamil M, Rha ES. 2004. The effect of salinity (NaCl) on the germination and seedling of sugar beet (*Beta vulgaris* L.) and cabbage (*Brassica oleracea* L.). Plant resources 7(3):226-232.

Jeannette S, Jimenez B, Craig R, Lynch JP. 2002. Salinity tolerance of *phaseolus* species during germination and early seedling growth. Crop Science 42(5):1584-1594.

Kafi M, Nezami A, Hosseini H, Masoumi A. 2005. Physiological effects of drought stress by polyethylene glycol on germination of lentil (*Lens culinaris* Medik.) genotypes. Iranian Journal of Field Crops Research 3(1):69-80. (In Farsi with English abstract).

Kafi M. 2008. Bio-saline agriculture and conducting necessary in Iran. Key papers of tenth Iranian congress of agronomy and plant breeding 137 pp. (In Farsi with English abstract).

Kar RK. 2011. Plant responses to water stress: role of reactive oxygen species. Plant Signaling & Behavior 6(11):1741-1745.

Mansour MMF, Salama KHA, Ali FZM, Abou Hadid AF. 2005. Cell and plant responses to NaCl in *Zea mays* L. cultivars differing in salt tolerance. General and Applied Plant Physiology 31(1-2):29-41.

Mittler R, Vanderauwera S, Gollery M, Van Breusegem F. 2004. Reactive oxygen gene network of plants. Trends in plant science 9(10): 490-498.

[Downloaded from gebsj.ir on 2026-06-01]
[DOR: 20.1001.1.25885073.1395.5.1.3.8]

Mohammed EM, Mohamed B, Talouizete A. 2002. Effect of sodium chloride on sunflower (*Helianthus annuus* L.) seed germination. *Helia* 25(37):51-58.

Munns R. 2002. Comparative physiology of salt and water stress. Plant Cell and Environment 25(3): 239-250.

Murillo-Amador B, Jones HG, Kaya C, Aguilar RL, García-Hernández JL, Troyo-Diéguez E, Ávila-Serrano NY, Rueda-Puente E. 2006. Effects of foliar application of calcium nitrate on growth and physiological attributes of cowpea (*Vigna unguiculata* L. Walp.) grown under salt stress. Environmental and Experimental Botany 58(1):188-196.

Noor E, Azhar FM, Khan AL. 2001. Differences in responses of *gossypium hirsutum* L. varieties to NaCl salinity at seedling stage. International Journal of Agriculture and Biological 3(4):345-347.

Rashid A. 1986. Mechanism of salt tolerance in wheat (*Triticum aestivum* L.). PhD Thesis, Department of Soil Science, University of Agriculture, Faisalabad, Pakistan.

Rauf M, Munir M, Hassan MU, Ahmad M, Afzal M. 2007. Performance of wheat genotypes under osmotic stress at germination and early seedling growth stage. African Journal of Biotechnology 6(8):971-975.

Sangam S, Jayasree D, Reddy KJ, Chari PVB, Sreenivasulu N, Kavi Kishor PB. 2005. Salt tolerance in plants-transgenic approaches. Journal of Plant Biotechnology 7:1-15.

Shim IS, Momose Y, Yamamoto A, Kim DW, Usui K. 2003. Inhibition of catalase activity by oxidative stress and its relationship to salicylic acid accumulation in plants. Plant Growth Regulation 39(3):285-292.

Sosa L, Llanes A, Reinoso H, Reginato M, Luna V. 2005. Osmotic and specific ion effects on the germination of *Prosopis strombulifera*. Annals of Botany 96(2):261-267.

Soydam-Aydın S, Büyük İ, Cansaran-Duman D, Aras S. 2015. Roles of catalase (CAT) and ascorbate peroxidase (APX) genes in stress response of eggplant (*Solanum melongena* L.) against Cu+ 2 and Zn+ 2 heavy metal stresses. Environmental Monitoring and Assessment 187(12):1-6.

Vandenabeele S, Vanderauwera S, Vuylsteke M, Rombauts S, Langebartels C, Seidlitz HK, Zabeau M, Van Montagu M, Inzé D, Van Breusegem F. 2004. Catalase deficiency drastically affects gene expression induced by high light in *Arabidopsis thaliana*. The Plant Journal 39(1):45-58.

Xu L, Han L, Huang B. 2011. Antioxidant enzyme activities and gene expression patterns in leaves of *Kentucky bluegrass* in response to drought and post-drought recovery. Journal of the American Society for Horticultural Science 136(4): 247-255.

Yildirim E, Guvenc I. 2006. Salt tolerance of pepper cultivars during germination and seedling growth. Turkish Journal of Agriculture and Forestry 30:347-353.

Zahri S, Maleki F. 2014. Increment of Ascorbate peroxidase and metalothionin gene expressions by the cold stress in varieties of rape (*Brassica napus*). Iranian Journal of Plant Biology 6(20):47-54. (In Farsi with English abstract).

[Downloaded from gebsj.ir on 2026-06-01]
[DOR: 20.1001.1.25885073.1395.5.1.3.8]

Genetic Engineering and Biosafety Journal
Vol5, Number1, Spring and summer 2016, Bi-seasonal

Evaluation of the effect of salinity on the germination and expression of antioxidant genes in two cultivars of tomato plant

Parvaneh Mahmoodi Jaraghili[1], Hanieh Mohajjel Shoja[2*], Elham Mohajjel Kazemi[2]

1. MSc. in Plant Cell and Development,
2. Assistance Prof. in Department of Plant Biology, Faculty of Natural Sciences, University of Tabriz, Iran

* Corresponding Author, Email: H_mohajjel@tabrizu.ac.ir

ABSTRACT

Environmental stresses are considered among the most important factors limiting agricultural production. Tomato, an important agricultural product, is sensitive to high salinity levels in soil. During salinity stress, several physiological phenomena occur in plants, including oxidative damage to cellular components due to "reactive oxygen species" or ROS production. Plants produce antioxidant enzymes such as catalase, ascorbate peroxidase and superoxide dismutase to counter the destructive effects of ROS. This study was carried out to evaluate the rate of germination and the expression of *CAT1* and *APX1* genes in two tomato cultivars, caljN3 and superstrain B. To evaluate the rate and the percentage of the germination, the seeds were cultured on filter paper in a completely randomized design with three replications and the rate and percentage of germination, radicle length and plumule length were measured after 15 days. To perform the molecular study, total RNA was extracted from plants grown in control conditions and under salinity stress. The results demonstrated that by increasing the salinity, reductions in germination percentage, germination rate, radicle length and plumule length were observed in both CaljN3 and Superstrain B cultivars, although the CaljN3 cultivar showed the lowest decrease. Interestingly, upon increasing the stress level, the rates of expression of the *CAT1* and *APX1* genes in the caljN3 cultivar were nearly twice and 10 times, respectively, higher than for the Superstrain B cultivar. These results could be one of the reasons for the superior growth and salt stress tolerance of caljN3 cultivar compared to SuperstrainB cultivar.

[Downloaded from gebsj.ir on 2026-06-01]

[DOR: 20.1001.1.25885073.1395.5.1.3.8]

Key Words

APX1 gene, *CAT1* gene, Germination**,** qRT-PCR, Salt stress