مهندسی ژنتیک و ایمنی زیستی
ISSN 2588-5073 چاپی
ISSN 2588-5081 الکترونیکی
دوره ٦، شماره ٢، پاییز و زمستان ٩٦
صفحه ٢٩٢-٢٨١

Genetic Engineering and Biosafety Journal
Volume 6, Number 2

اثر تنش شوری بر بیان نسبی ژن‌های کاتالاز و آسکوربات‌پراکسیداز و برخی صفات فیزیولوژیکی در دو رقم گوجه‌فرنگی

The effect of salt stress on the relative expression of *CAT1* and *APX1* genes and some physiological traits in two varieties of tomato

سمیرا صنمی[۱]، مقصود پژوهنده[۱*]، رعنا ولی زاده کامران[۱]، کامبیز عزیزپور[۲]

Sanami S.[1], Pazhouhandeh M.[*1], Valizadeh Kamran R.[1] ,Azizpour K.[2]

۱- گروه بیوتکنولوژی، ۲- گروه زراعت، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شهید مدنی آذربایجان، تبریز، ایران

[1]Biotechnology Dept., [2]Agronomy Dept., Faculty of Agriculture, Azarbaijan Shahid Madani University, Tabriz, Iran

* نویسنده مسئول، پست الکترونیکی: pazhouhandeh@gmail.com

(تاریخ دریافت: ۹۶/۵/۲۹ - تاریخ پذیرش: ۹۶/۹/۱۹)

چکیده

تنش شوری یکی از محدودیت کشت گوجه فرنگی است و شناسایی ارقام مقاوم آن نیازمند بررسی برخی صفات فیزیولوژیکی و مولکولی است. بررسی صفت مولکولی میزان بیان نسبی ژن کاتالاز (*Catalase: CAT1*) و آسکوربات‌پراکسیداز (*Ascorbate Peroxidase: APX1*) در دو رقم فلات سی‌اچ (CH-Falat) و ریوگرانداس (Rio Grande S) گیاه گوجه‌فرنگی (*Solanum lycopersicum* L.) تحت تیمارهای شوری در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی انجام شد. تنش شوری با غلظت‌های صفر، ۲۵، ۵۰، ۷۵ و ۱۰۰ میلی‌مولار NaCl در محیط کشت هیدروپونیک اعمال شد. RNA گیاهان استخراج و cDNA سنتز شد و Real – Time PCR انجام گرفت. نتایج نشان داد که بیان نسبی ژن *CAT1* در رقم Rio Grande S در همه سطوح تنش و در رقم CH-Falat فقط تا سطح شوری ۵۰ میلی‌مولار افزایش یافت. بیان نسبی ژن *APX1* در رقم Rio Grande S تا سطح شوری ۵۰ میلی‌مولار کاهش و در سطح شوری ۷۵ و ۱۰۰ میلی‌مولار افزایش یافت و در رقم CH-Falat فقط تا سطح شوری ۵۰ میلی‌مولار افزایش داشت. برخی صفات فیزیولوژیکی در تیمارهای شوری نیز موردبررسی قرار گرفت و نتایج نشان داد که در هر دو رقم با افزایش غلظت NaCl از صفر تا ۱۰۰ میلی‌مولار مقدار سدیم، پرولین و قندهای محلول افزایش و مقدار پتاسیم و K/Na کاهش یافت و میزان شاخص پایداری غشا در تیمارهای شوری نسبت به شاهد کاهش نشان داد. نتایج بررسی مولکولی و فیزیولوژیکی این دو رقم به ما نشان داد که رقم Rio Grande S نسبت به رقم CH-Falat در سطوح شوری بالا، رقم مقاوم‌تری است.

واژه‌های کلیدی

گوجه فرنگی،
تنش شوری،
qPCR،
CAT1،
APX1

[Downloaded from gebsj.ir on 2025-12-11]
[DOR: 20.1001.1.25885073.1396.6.2.15.9]

مقدمه

شوری در خاک و آب‌های آبیاری یک مشکل محیطی و جدی برای تولیدات گیاهی است، حدود ۲۰ درصد زمین‌های زراعی دنیا تحت تأثیر شوری قرار دارد که منجر به کاهش ۵۰ درصدی بازده محصولات کشاورزی شده است (Bartels and Sunkar, 2005). غلظت‌های زیاد نمک باعث عدم توازن یون و تنش اسمزی در گیاهان می‌شود، کمبود آب ناشی از تنش اسمزی ایجادشده، انواع فعال اکسیژن را تولید می‌کند که به سرعت در بافت‌هایی که پاسخ فوق‌حساسیت می‌دهند، تجمع می‌یابد (Allen, 1995). انواع فعال اکسیژن (Reactive Oxygen Species: ROS) تولیدشده در تمامی اندامک‌های سلول باعث اکسیداسیون مولکول‌های مهم زیستی سلول مانند لیپیدها، نوکلئیک‌اسیدها و پروتئین‌ها می‌شود که تجمع آسیب وارده درنهایت باعث مرگ سلول خواهد شد (Mittler, 2002). افزایش میزان انواع فعال اکسیژن در گیاه باعث می‌شود که برای کاهش اثرهای سمی تنش اکسیداتیو ناشی از تنش شوری، سازوکار متنوعی در گیاه فعال شود، در این شرایط میزان آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان و آنزیم‌های مهارکننده یونهای فعال اکسیژن در جهت کاهش اثرهای سمی ناشی از تنش اکسیداتیو حاصل از تنش شوری افزایش پیدا می‌کند. آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان به‌عنوان واحدهای مقابله‌کننده در برابر حمله یونهای فعال اکسیژن به شمار می‌آیند، بنابراین بررسی اثرهای تنش شوری به کمک آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان می‌تواند با سرعت بیشتری به شناسایی ارقام مقاوم یک گیاه منجر شود زیرا رابطه قوی در تحمل به تنش‌های محیطی و تغییرات غلظت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان در گیاهان فتوسنتزکننده وجود دارد، با شناسایی ژنهای آنتی اکسیدان موثر در مقاومت در گونه های گیاهی می توان با انتقال آن و افزایش بیان آن به تولید ارقام مقاوم به شوری پرداخت.

کاتالاز و آسکوربات‌پراکسیداز از آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان مهم در مقابله با انواع فعال اکسیژن هستند، تاکنون پژوهش‌های متعددی در خصوص بیان این دو ژن تحت تنش‌های مختلف انجام گرفته‌است. آسکوربات‌پراکسیداز در کلروپلاست، سیتوسول، واکوئل و همچنین فضاهای آپوپلاستی سلول‌های برگ در غلظت‌های بالا یافت می‌شوند (Cho and Seo, 2005). از نظر پژوهشگران مختلف این آنزیم به‌عنوان مهم‌ترین آنتی‌اکسیدان در گیاهان است، آسکوربات‌پراکسیداز دارای چندین نقش اساسی در فرایندهای فیزیولوژیکی گیاه است و همچنین به‌عنوان یک احیاکننده برای خیلی از انواع فعال اکسیژن بخصوص پراکسیدهیدروژن عمل می‌کند، بنابراین خسارت ناشی از تنش اکسیداتیو را به کمترین مقدار می‌رساند (Arora *et al.* 2002). آنزیم کاتالاز از دسته پروتئین‌های آهن‌دار محسوب می‌شود و هنگامی در سلول‌های گیاهی و جانوری وارد عمل می‌شود که مقدار پراکسیدهیدروژن در محیط زیاد باشد (Garratt *et al.* 2002). کاتالاز سلول‌ها را از اثرهای پراکسید-هیدروژن محافظت می‌کند، تحت شرایط عادی حضور کاتالاز در سلول‌ها می‌تواند نقش مهمی را در افزایش مقاومت به تنش اکسیداتیو بازی کند، این آنزیم در تمام سلول‌های یوکاریوت هوازی یافت می‌شود.

بیان ژن *CmAPX* در سطح شوری 250 mM در سه توده خربزه محلی سیستان بررسی شد و نسبت به نمونه کنترل افزایش بیان در شوری در هر سه توده مشاهده گردید (Montazerinezhad et al. 2013). در یک بررسی روی گل گاوزبان در سطوح شوری بالا با کلرید کلسیم، فعالیت آنزیمهای پراکسیداز و پلی فنل اکسیداز افزایش اما میزان پرولین کاهش یافت (Jahanbakhsh Godehkahriz et al. 2017). با افزایش سطح تنش میزان بیان ژنهای *CAT1* و *APX1* در رقم مقاوم به شوری گوجه فرنگی CaljN3 به ترتیب حدود دو و ده برابر رقم حساس آن SuperstrainB بود (Mahmoodi Jaraghili et al.2016).

افزایش مقدار آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان در گیاهان تحت تنش تنها سازوکار تحمل به شوری نیست بلکه این سازوکار می‌تواند در کنار ترکیبات سازگارکننده مانند پرولین و قندهای محلول بر میزان تحمل گیاه بیفزاید که افزایش آن‌ها در گیاهان مختلف تحت تأثیر تنش‌های محیطی گزارش شده‌است (Pessarakli, 1999). پرولین یک محافظت‌کننده اسمزی است که به پایداری غشا تحت تأثیر تنش کمک می‌کند به‌طوری‌که در برخی گزارش‌ها یک همبستگی بین تجمع پرولین و مقاومت گیاهان به تنش‌های محیطی نشان داده شده‌است (Ashraf and Foolad, 2007). قندهای محلول به‌عنوان اسمولیت‌های سازگار برای خنثی کردن اثرهای اسمزی ایجادشده در

[Downloaded from gebsj.ir on 2025-12-11]
[DOR: 20.1001.1.25885073.1396.6.2.15.9]

شرایط تنش تأثیر بسزایی دارند، همچنین قندهای محلول می‌توانند به‌عنوان مولکول‌های سیگنالینگ در شبکه علامت‌دهی گیاه تحت تنش عمل کنند (Azuma *et al*. 2010).

رابطه بین نسبت یون پتاسیم به یون سدیم و مقاومت به شوری در گیاهان نیز توسط برخی پژوهشگران بررسی و تائید شده به‌طوری‌که در بسیاری از گیاهان، عامل تعیین‌کننده میزان عملکرد در شرایط شوری بوده‌است (Gramer *et al*. 1994). افزایش غلظت یون سدیم و کاهش نسبت یون پتاسیم به یون سدیم در پاسخ به شوری در منابع متعددی گزارش شده‌است (Tester and Davenport, 2003).

در بین بخش‌های کلیدی سلول و اندامک‌ها، غشاها از اولین محل-های آسیب به شمار می‌آیند، در تنش شوری میزان اسیدهای چرب اشباع به‌کاررفته در ساختار غشاها افزایش می‌یابد، بعلاوه این تنش ضمن تغییر در ترکیب پروتئین‌های به‌کاررفته در غشاها، کاهش کارایی آن‌ها را نیز در پی دارد. تغییر در ساختار غشا و ترکیب آن منجر به افزایش نفوذپذیری غشا خواهد شد. برآیند این عوامل منجر به کاهش نفوذپذیری انتخابی غشا خواهد شد، به‌این‌ترتیب دو طرف غشا به تعادل رسیده و درنهایت به مرگ سلول منجر می‌شود (Mansour *et al.* 2005).

جهت استحصال عملکرد مطلوب در شرایط تنش شوری، به گیاهی با مقاومت مناسب نیاز است از سوی دیگر با توجه به تنوع گونه-های گیاهی که هرکدام دارای صفات وراثتی و سازوکارهای خاص حفظ و تداوم بقا می‌باشند، شناخت صفات مولکولی و فیزیولوژیکی و عوامل درون‌سلولی که عامل ایجاد مقاومت در مقابل تنش‌های محیطی است لازمه اصلاح و گزینش و یافتن ارقام مقاوم یک گیاه است، به این منظور در این پژوهش اثر سطوح مختلف شوری بر میزان بیان نسبی ژن‌های *APX1* و *CAT1* و برخی خصوصیات فیزیولوژیکی در دو رقم گوجه‌فرنگی مورد مطالعه قرار گرفت.

مواد و روش‌ها

کشت گیاه و اعمال تنش: بذرهای دو رقم گوجه‌فرنگی (*Solanum lycopersicum* L.) به نام‌های فلات سی اچ (CH-Falat) و ریوگراند اس (Rio Grande S) به‌منظور استریل سطحی به مدت ۲ دقیقه در اتانول ۷۰ درصد و سپس به مدت ۱۵ دقیقه در هیپوکلریت سدیم قرار داده شدند، بعد از آن بذور ۳ بار و هر بار به مدت ۱۰ دقیقه با آب مقطر استریل شستشو داده شدند. جهت جوانه‌زنی بذور، آن‌ها را بر روی کاغذ صافی مرطوب قرار داده، بعد از گذشت یک هفته بذور جوانه‌دار شده به محیط کشت هیدروپونیک شامل محلول هوگلند (Navarro *et al*. 2000) منتقل شدند، به‌منظور حفظ تعادل عناصر غذایی، محلول‌ها هفته‌ای دو بار عوض می‌شدند. در طول دوره رشد دمای محیط ۲±۲۵، طول دوره روشنایی ۱۶ ساعت و شدت نور ۲۵۰۰ لوکس بود. بعد از ۲۱ روز تیمارهای شوری شامل ۵ سطح صفر، ۲۵، ۵۰، ۷۵ و ۱۰۰ میلی‌مولار NaCl هرکدام با ۳ تکرار به‌صورت طرح بلوک‌های کامل تصادفی به گیاهان اعمال شد. برای جلوگیری از وارد شدن شوک ناگهانی به گیاه، افزودن تیمارهای شوری به‌صورت تدریجی و به فاصله ۳ روز بود، در تمامی مراحل رشد pH و EC اندازه‌گیری و کنترل شد. نمونه برداری از گیاهان جهت اندازه‌گیری صفات موردنظر انجام شد.

استخراج RNA و تیمار DNase: حدود ۲۰۰ میلی‌گرم از برگ‌های گیاهان هر تیمار درون هاون و در حضور ازت مایع به پودر تبدیل شدند، در ادامه ۷۰۰ میکرولیتر از بافر تریزول اضافه شد و به-طورکامل مخلوط شد تا محلول یکنواختی ایجاد شود، محتویات هاون به تیوب‌های استریل ۱/۵ میلی‌لیتری منتقل شده و بلافاصله روی یخ قرار گرفتند سپس به آن ۲۰۰ میکرولیتر کلروفرم اضافه شد و پس از ورتکس کردن، سانتریفیوز با سرعت ۱۴۰۰۰ rpm به مدت ۱۵ دقیقه در دمای ٤°C صورت گرفت، مایع رویی به تیوب جدید منتقل و به میزان دو حجم ایزوپروپانول سرد اضافه شد، تیوب‌ها به مدت یک شب در دمای ۲۰°C- نگهداری شدند و روز بعد سانتریفیوژ به مدت ۲۰ دقیقه در دمای ٤°C با سرعت ۱۴۰۰۰ rpm انجام شد، در ادامه شستشو با اتانول انجام شد و بعد از خشک شدن، به میزان ۵۰ میکرولیتر آب مقطر استریل عاری از RNase به آن اضافه شد.

بررسی کمی RNA استخراج‌شده با استفاده از دستگاه اسپکتروفوتومتر انجام گرفت، به این صورت که بخشی از RNA به

[Downloaded from gebsj.ir on 2025-12-11]
[DOR: 20.1001.1.25885073.1396.6.2.15.9]

نسبت ۱۰۰: ۱ رقیق شده و با دستگاه اسپکتروفوتومتر ارزیابی شد. همچنین جهت تعیین کیفیت RNA نیز مقدار یک میلی‌گرم از هر نمونه (بر اساس نتایج اسپکتروفوتومتری محاسبه شدند) روی ژل آگارز ۱٪ الکتروفورز شد تا کیفیت آن بررسی شود، پس از اطمینان از کیفیت RNA و مشاهده باندهای مربوط به RNA ریبوزومی تیمار DNase برای تمامی نمونه‌ها صورت گرفت، به‌این‌ترتیب که به ۳۰ میکرولیتر از RNA استخراج‌شده، ۱۰ میکرولیتر بافر DNase و یک میکرولیتر آنزیم DNase اضافه شد و حجم آن با آب مقطر استریل عاری از RNase به ۱۰۰ میکرولیتر رسید، مخلوط واکنش به مدت یک ساعت در دمای ۳۷°C نگهداری شد، در انتها خالص‌سازی به روش فنول/کلروفرم و رسوب‌دهی توسط اتانول انجام گرفت و رسوب در ۲۰ میکرولیتر آب مقطر استریل عاری از RNase حل شد.

سنتز cDNA و واکنش Real–Time PCR: سنتز cDNA با استفاده از کیت سنتز cDNA ساخت شرکت Invitrogen انجام گرفت، طراحی آغازگرها برای ژن‌های *APX1*، *CAT1* و ژن خانه‌دار *ACTIN* انجام شد، توالی و شماره دسترسی مورداستفاده در سایت NCBI در جدول ۱ ارائه شده‌است.

جدول ۱- توالی آغازگرهای استفاده‌شده در این پژوهش

Table1-Primers sequences for qPCR

شماره دسترسی	نام ژن	توالی آغازگر برای qPCR
NM-001247898.1	*CAT1*	Fq- GCGACCAAGGATCTTTACGA Rq- CAACACCAATCGACCAACTG
NM-001247853.1	*APX1*	Fq- CATTAGGGAGCAGTTTCCCA Rq- CTCTGGCTTGTCCTCTCTGC
AB199316.1	*ACTIN*	Fq- ATGCCTATGTTGGTGACGAG Rq- CTCTGGAGCCACACGAAGT

مقایسه بیان ژنها با qPCR: در این پژوهش الگوی بیان نسبی ژن-های موردنظر توسط روش Real–Time PCR با استفاده از دستگاه ترموسایکلر شرکت Qiagen بررسی شد. ۲۰ میکرولیتر مخلوط واکنش شامل ۱۰ میکرولیتر Master Mix SYBR Green و ۲ میکرولیتر از هریک از آغازگرهای پیشرو و پسرو اختصاصی هر ژن با غلظت ۱۰ میکرومول، ۲ میکرولیتر نمونه cDNA و ٤ میکرولیتر آب مقطر استریل بود، برای هر واکنش ۳ تکرار در نظر گرفته شد، پس از آماده کردن مخلوط واکنش، پلیت موردنظر به دستگاه منتقل شد و با شرایط زیر واکنش qPCR انجام شد: ۸ دقیقه در دمای ۹۵°C (برای فعال شدن آنزیم) و ٤۰ تکرار با چرخه‌های ۱۵ ثانیه در دمای ۹۵°C، ۱۵ ثانیه در دمای ٦۰°C و ۲۰ ثانیه در دمای ۷۲°C.

در ارزیابی مطلق تعداد دقیق رونوشت‌های هر ژن در تمامی تیمارها حتی تیمار کنترل نیز مشخص می‌شود ولی در ارزیابی نسبی میزان افزایش یا کاهش بیان ژن در هر تیمار نسبت به تیمار کنترل به‌صورت نسبی سنجیده می‌شود، تیمار کنترل در این پژوهش، ژن *ACTIN* است و میزان بیان نسبی با روش efficiency adjusted ΔΔCt (Pfaffl, 2001) محاسبه شد، در این روش همه داده‌ها با ژن *ACTIN* به‌عنوان کنترل، نرمال شدند و سپس میزان تغییرات بیان ژن در سطوح مختلف شوری نسبت به شاهد سنجیده شد.

اندازه‌گیری میزان پرولین: برای تعیین میزان پرولین، ۰/۵ گرم نمونه برگی در ۵ میلی‌لیتر اسید سولفوریک (۳ درصد) هموژنیزه شد. به حدود ۲ میلی‌لیتر از محلول حاصل، ۲ میلی‌لیتر اسید استیک گلاسیال و ۲ میلی‌لیتر معرف نین‌هیدرین اضافه شد. مخلوط واکنش در دمای ۱۰۰ °C به مدت ۳۰ دقیقه قرار داده شد و پس از سرد کردن در حمام یخ و افزودن ٦ میلی‌لیتر تولوئن به آن، به‌شدت به هم زده شد. با جدا شدن فازهای موجود از یکدیگر، میزان جذب فاز بالایی نمونه‌ها توسط اسپکتروفتومتر در ۵۲۰ نانومتر و در مقایسه با شاهد محتوی تولوئن ثبت شد. غلظت پرولین با استفاده از یک منحنی استاندارد تعیین شد (Fedina *et al.* 2006).

اندازه‌گیری میزان قندهای محلول: برای سنجش میزان قندهای محلول از ۰/۲ گرم نمونه برگی، بعد از ۱۰ دقیقه سانتریفوژ کردن با دستگاه سنتورین در ٦۰۰۰ دور در دقیقه، عصاره گیری شد. ۰/۰۵ میلی‌لیتر از این عصاره در لوله آزمایش ریخته شد و حجم آن توسط آب مقطر به یک میلی‌لیتر افزایش یافت. به محلول حاصل ٤ میلی-لیتر از معرف آنترون اضافه شد. نمونه‌ها به مدت ۸ دقیقه در آب ۱۰۰ درجه سانتی‌گراد نگهداری و بلافاصله به حمام آب سرد منتقل شدند، جذب نمونه‌ها در طول موج ٦۳۰ نانومتر ثبت شد. از D-گلوکز به‌عنوان استاندارد استفاده شد (Sairam *et al.* 2002).

اندازه‌گیری مقدار سدیم و پتاسیم: مقدار سدیم و پتاسیم با استفاده از روش فلایم فتومتری تعیین شد، نمونه‌های برگی پس از

[Downloaded from gebsj.ir on 2025-12-11]
[DOR: 20.1001.1.25885073.1396.6.2.15.9]

خشکاندن پودر شدند، یک گرم ماده پودری، در کوره الکتریکی در دمای ۵۶۰°C در مدت ٤ ساعت به خاکستر تبدیل شد. به هر نمونه خاکستر، ۲۰ میلی‌لیتر اسیدکلریدریک یک نرمال اضافه شد، سپس مخلوط حاصل به دمای ۹۰°C منتقل شد و تا تبخیر کامل اسید در این دما نگهداری شد. خاکستر هضم شده در ۱۰۰ میلی‌لیتر آب دو بار تقطیر حل شد و توسط کاغذ واتمن، صاف شد. مقدار سدیم و پتاسیم محلول صاف‌شده از طریق رسم منحنی استاندارد مربوط به هرکدام از این عناصر تعیین شد، در مواردی که غلظت عناصر در عصاره، از محدوده منحنی استاندارد بیشتر بود، ابتدا عصاره رقیق شد و سپس قرائت صورت گرفت. مقدار عناصر با استفاده از رابطه زیر محاسبه شد.

$$E = [(C \times V \times D) / (M \times 10^6)] \times 100$$

در این رابطه E مقدار عنصر موردنظر برحسب درصد، C غلظت عنصر در عصاره برحسب میلی‌گرم در لیتر، D درجه رقت، V حجم نهایی عصاره تهیه‌شده برحسب میلی‌لیتر و M وزن خشک نمونه برحسب گرم بود (Bandehhag *et al*. 2004).

اندازه‌گیری شاخص پایداری غشا (Membrane stability index): شاخص پایداری غشا (MSI) از طریق اندازه‌گیری هدایت الکتریکی مواد نشت کرده از نمونه‌های برگی به آب دو بار تقطیر، در دماهای ٤۰°C و ۱۰۰°C تعیین شد. ۰/۱ گرم نمونه برگی به‌صورت قطعاتی با اندازه‌های یکسان بریده شدند و در لوله‌های آزمایش محتوی ۱۰ میلی‌لیتر آب مقطر دو بار تقطیر قرار داده شدند. تعدادی از نمونه‌ها در آب ٤۰°C به مدت ۳۰ دقیقه و تعدادی دیگر در آب ۱۰۰°C به مدت ۱۵ دقیقه نگهداری شدند و هدایت الکتریکی آن‌ها (به ترتیب C_1 و C_2) با استفاده از EC متر اندازه‌گیری شد، شاخص پایداری غشا برحسب درصد با رابطه زیر تعیین شد (Sairam and Srivastava, 2002).

$$MSI = [1- (C_1 - C_2)] \times 100$$

در سطح ۷۵ و ۱۰۰ میلی‌مولار نسبت به شاهد کاهش یافت، دو رقم Rio Grand S و CH-Falat از نظر میزان بیان نسبی ژن *CAT1* فقط در سطح شوری ۷۵ و ۱۰۰ میلی‌مولار با هم اختلاف معنی‌دار داشتند و در هر دو سطح ذکرشده میزان بیان نسبی ژن *CAT1*

نرم‌افزارهای مورداستفاده در این پژوهش: این آزمایش بر اساس طرح بلوک‌های کامل تصادفی با ۳ تکرار بود، برای محاسبات آماری در این پژوهش از نرم‌افزارهای Mstat-c و Spss و Excel استفاده شد.

نتایج

منحنی استاندارد هر سه ژن *ACT*، *CAT1* و *APX1* با استفاده از رقت‌های ۱، ۰/۲، ۰/۰٤ و ۰/۰۰۸ جهت بررسی کارایی واکنش و شرایط حاکم بر آن رسم شد. برای این کار ما از cDNA نمونه شاهد رقم CH-Falat رقت‌های cDNA را تهیه کردیم و آزمایش qPCR برای هر سه ژن *ACT*، *APX1* و *CAT1* انجام و از C_T های حاصل و غلظت موجود جهت ترسیم منحنی استفاده شد. همان‌طور که در شکل ۱ می‌بینید a، منحنی استاندارد مربوط به ژن *ACT* با شیب منحنی برابر با ۳/۳۲۷- و $R^2= 1$ است پس با توجه به رابطه $E = 10^{(-1/slope)}$، کارایی واکنش یعنی E برای ژن *ACT* برابر با ۲ است؛ یعنی در هر سیکل واکنش مقدار ژن *ACT* دو برابر شده است. شکل ۱ قسمت b نیز نمودار منحنی استاندارد مربوط به ژن *CAT1* را نشان داده است که شیب منحنی در آن ۲/۹۹۲- و $R^2=1$ است، پس E برابر است با ۲/۱٦ است. نمودار منحنی استاندارد c، مربوط به ژن *APX1* است که شیب خط ۳/۱۲۲- و $R^2=1$ را نشان می‌دهد پس با توجه به شیب خط، E واکنش مربوط به این ژن *APX1* برابر با ۲/۰۹ است.

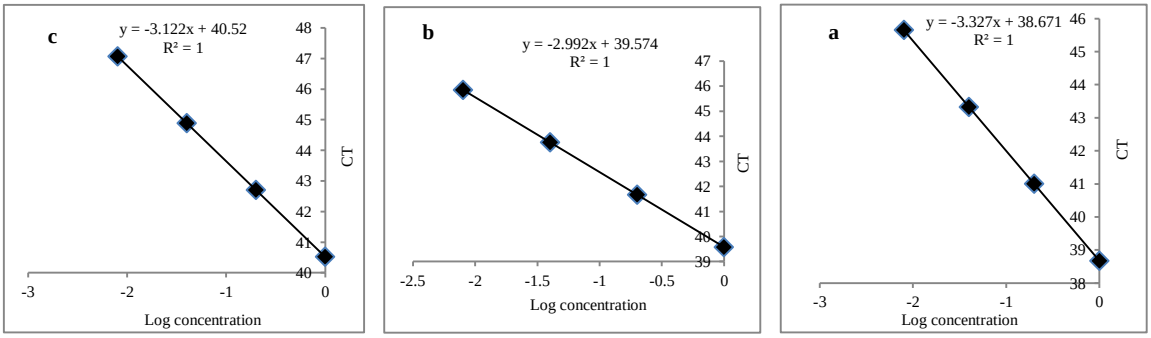
بیان نسبی ژن‌های *APX1* و *CAT1*

بیان نسبی ژن *CAT1* در رقم Rio Grand S در همه سطوح تنش، افزایش نشان داد، این افزایش از سطح ۲۵ تا ۷۵ میلی‌مولار به‌صورت صعودی بود ولی در سطح ۱۰۰ میلی‌مولار کمتر از سطح ۷۵ میلی‌مولار بود. در رقم CH-Falat بیان نسبی ژن *CAT1* در سطح ۲۵ و ۵۰ میلی‌مولار نسبت به شاهد افزایش یافت ولی نسبت به شاهد در رقم Rio Grand S بیشتر از رقم CH-Falat بود ولی دو رقم در سطح ۲۵ و ۵۰ میلی‌مولار از نظر میزان بیان نسبی ژن *CAT1* اختلاف معنی‌داری نشان ندادند، به‌طورکلی می‌توان

[Downloaded from gebsj.ir on 2025-12-11]
[DOR: 20.1001.1.25885073.1396.6.2.15.9]

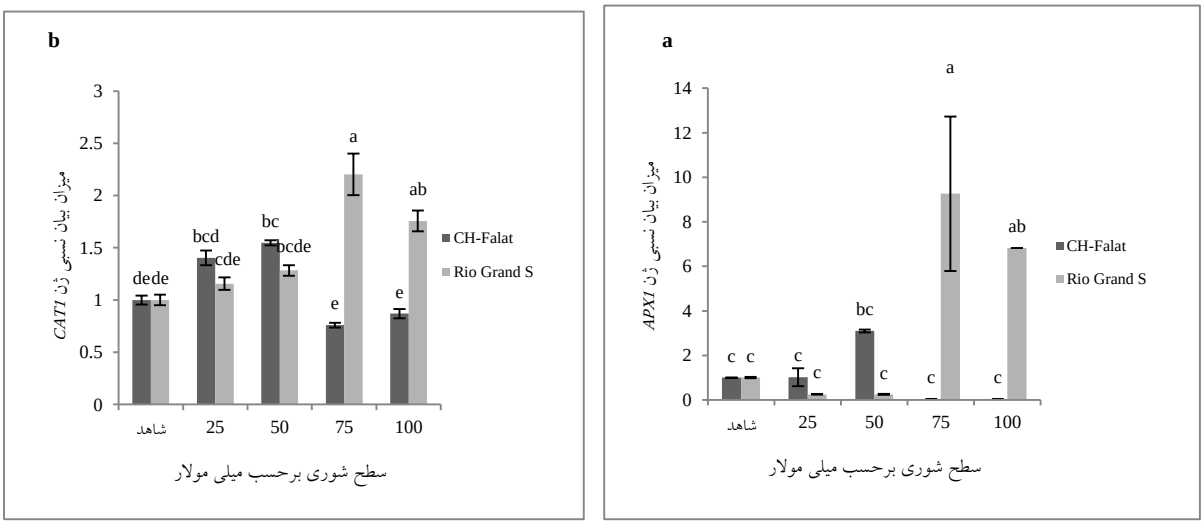
گفت که میزان بیان نسبی ژن *CAT1* در رقم Rio Grand S بیشتر از رقم CH-Falat بود (شکل ۲، a).

بیان نسبی ژن *APX1* در رقم Rio Grand S در سطح شوری ۲۵ و ۵۰ میلی‌مولار نسبت به شاهد کاهش یافت ولی در سطح ۷۵ و ۱۰۰ میلی‌مولار افزایش یافت. در رقم CH-Falat وضع برعکس بود، یعنی بیان نسبی ژن *APX1* در سطح شوری ۲۵ و ۵۰ میلی‌مولار نسبت به شاهد افزایش یافت ولی در سطح شوری ۷۵ و ۱۰۰ میلی-مولار کاهش یافت، دو رقم Rio Grand S و CH-Falat از نظر میزان بیان نسبی ژن *APX1* فقط در دو سطح شوری ۷۵ و ۱۰۰ میلی‌مولار با هم اختلاف معنی‌دار داشتند و در هر دو سطح ذکرشده میزان بیان نسبی ژن *APX1* نسبت به شاهد در رقم Rio Grand S بیشتر از رقم CH-Falat بود ولی در سطح شوری ۲۵ و ۵۰ میلی-مولار از نظر میزان بیان نسبی ژن *APX1* اختلاف معنی‌داری نشان ندادند (شکل ۲، b).



شکل ۱- نمودار منحنی استاندارد qPCR مربوط به a) ژن *ACT*، b) ژن *CAT1* و c) ژن *APX1*

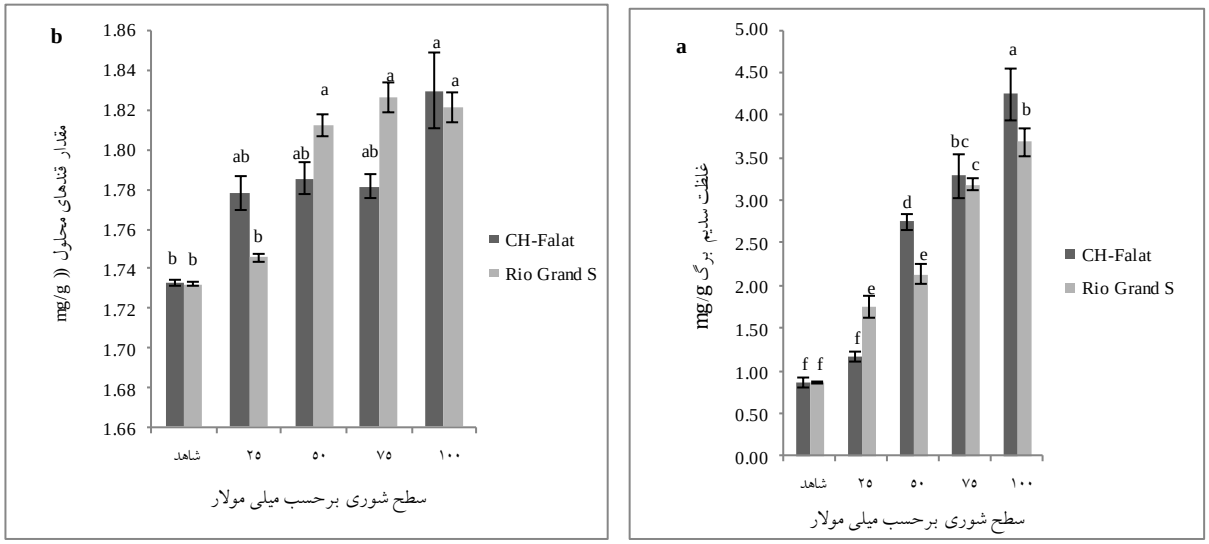
Fig 1- Standard Curves of ACT (a), CAT1 (b) and APX1 (c) Genes in qPCR



شکل ۲- اثر تنش شوری بر میزان بیان نسبی ژن *CAT1* (a) و *APX1* (b) در دو رقم Rio Grand S و CH-Falat، مقایسه میانگین‌ها با آزمون دانکن ($P \leq 0.05$)

Fig 2- Effect of Salinity on relative expression of *CAT1* (a) and *APX1* (b) in two varieties of tomato

[Downloaded from gebsj.ir on 2025-12-11]
[DOR: 20.1001.1.25885073.1396.6.2.15.9]



شکل ۳- اثر تنش شوری بر صفات فیزیولوژیکی در دو رقم Rio Grand S و CH-Falat a) اثر تنش شوری بر غلظت سدیم برگ b) اثر تنش شوری بر مقدار قندهای محلول، مقایسه میانگین‌ها با آزمون دانکن ($P \leq 0.05$) است.

Fig 3- Effect of Salinity on physiological traits in two varieties of tomato, a) Na concentration in leaves, (b) amount of soluble sugars.

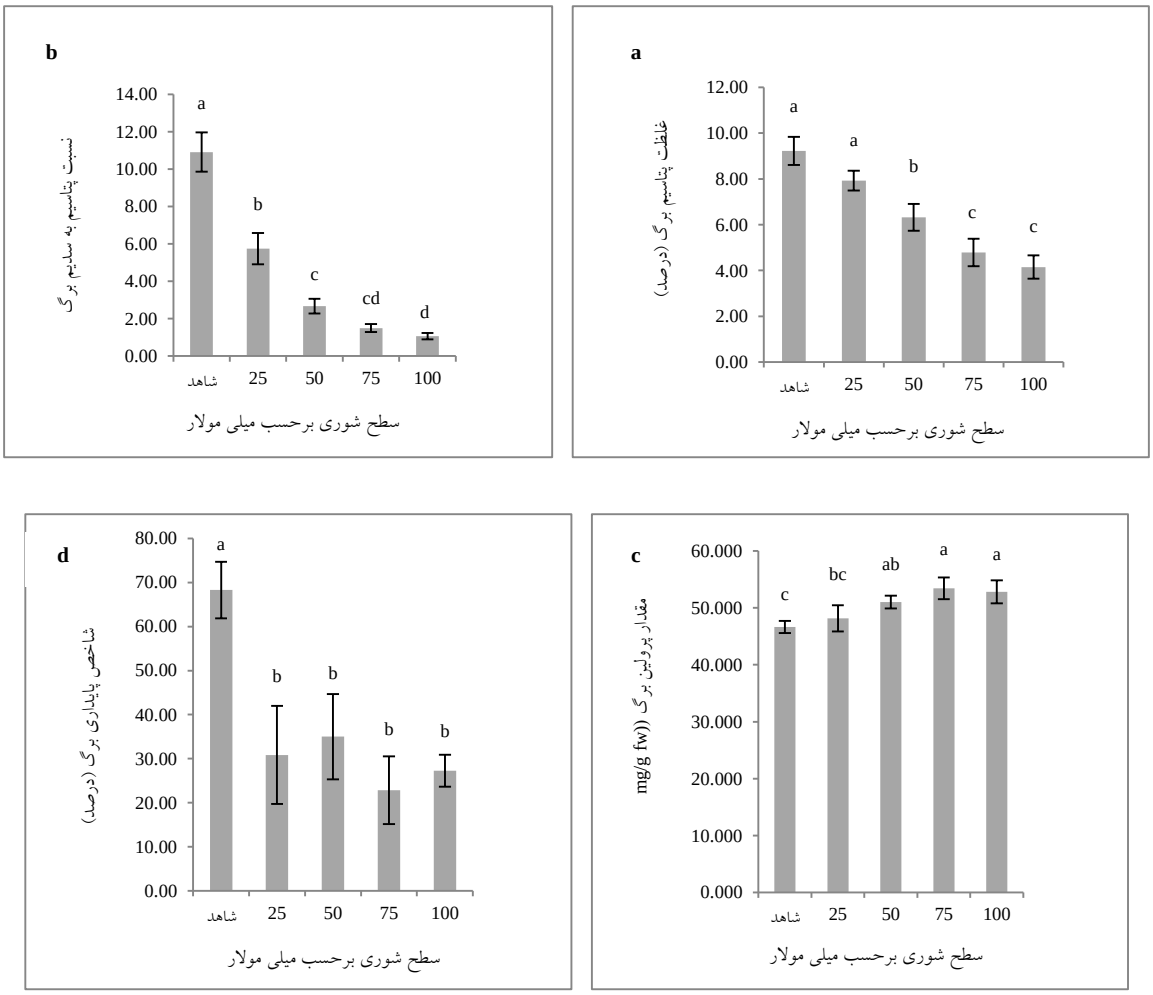
بررسی صفات فیزیولوژیکی

نتایج حاصل از تجزیه واریانس نشان داد که اثر متقابل شوری و رقم بر متغیرهای سدیم، قند محلول، در سطح احتمال ۵٪ معنی‌دار بود، تنش شوری بر روی همه صفات معنی‌دار و اثر رقم بر روی هیچ‌کدام از صفات معنی‌دار نبود.

دو رقم Rio Grand S و CH-Falat از نظر غلظت سدیم در سطح شوری ۲۵، ۵۰ و ۱۰۰ میلی‌مولار باهم اختلاف معنی‌دار داشتند. در رقم CH-Falat میزان سدیم در سطح شاهد با سطح شوری ۲۵ میلی‌مولار اختلاف معنی‌دار نداشت ولی به‌طورکلی از سطح شاهد تا غلظت ۱۰۰ میلی‌مولار با افزایش سطح شوری میزان سدیم افزایش یافت، در رقم Rio Grand S، میزان سدیم در سطح ۲۵ میلی‌مولار با ۵۰ میلی‌مولار اختلاف معنی‌دار نداشت ولی در این رقم نیز با افزایش غلظت نمک از سطح شاهد تا غلظت ۱۰۰ میلی‌مولار، بر میزان سدیم افزوده شد به‌طوری‌که کمترین غلظت سدیم به تیمار شاهد و بیشترین آن به سطح شوری ۱۰۰ میلی-مولار تعلق داشت (شکل ۳، a).

دو رقم Rio Grand S و CH-Falat از نظر میزان قندهای محلول در هیچ‌کدام از سطوح شوری با هم اختلاف معنی‌داری نداشتند. در رقم CH-Falat با افزایش سطوح شوری از شاهد تا ۱۰۰ میلی‌مولار، بر میزان قندهای محلول افزوده شد که در این راستا شاهد فقط با غلظت ۱۰۰ میلی‌مولار نمک اختلاف معنی‌دار نشان داد و تفاوت آن با سایر سطوح شوری معنی‌دار نبود. در رقم Rio Grand S نیز با بالا رفتن غلظت نمک، میزان قندهای محلول افزایش یافت هرچند بین شاهد با غلظت ۲۵ میلی‌مولار و همچنین بین سطوح شوری ۵۰، ۷۵ و ۱۰۰ میلی‌مولار اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد (شکل ۳، b).

[Downloaded from gebsj.ir on 2025-12-11]
[DOR: 20.1001.1.25885073.1396.6.2.15.9]



شکل ٤- اثر تنش شوری بر صفات فیزیولوژیکی، a) اثر تنش شوری بر غلظت پتاسیم برگ، b) اثر تنش شوری بر نسبت پتاسیم به سدیم برگ، c) اثر تنش شوری بر شاخص پایداری غشا در برگ و d) اثر تنش شوری بر مقدار پرولین برگ، مقایسه میانگین‌ها با آزمون دانکن ($P \leq 0.05$) است.

Fig 4- Effect of Salinity on physiological traits in two varieties of tomato, a) K concentration in leaves, (b) K/Na ratio in leaves, (c) membrane durability index in leaves, (d) Prolin amount in leaves.

با افزایش سطوح شوری از شاهد تا غلظت ۱۰۰ میلی‌مولار، در هر دو رقم کاهش قابل‌ملاحظه‌ای در مقدار پتاسیم مشاهده شد، اگرچه از این نظر بین تیمارهای شاهد با ۲۵ میلی‌مولار و ۷۵ با ۱۰۰ میلی‌مولار اختلاف معنی‌داری وجود نداشت، بیشترین و کمترین مقدار پتاسیم به ترتیب از شاهد و غلظت ۱۰۰ میلی‌مولار نمک به دست آمد (شکل ٤، a).

در هر دو رقم میزان K/Na با بالا رفتن غلظت نمک از شاهد تا ۱۰۰ میلی‌مولار کاهش یافت و سطح شوری ۵۰ با ۷۵ میلی‌مولار و سطح شوری ۷۵ میلی‌مولار با ۱۰۰ میلی‌مولار از نظر میزان K/Na تفاوت معنی‌داری با هم نداشتند (شکل٤، b).

از نظر شاخص پایداری غشا بین سطوح شوری ۲۵، ۵۰، ۷۵ و ۱۰۰ میلی‌مولار تفاوت معنی‌داری مشاهده نشد ولی اختلاف همه این سطوح با تیمار شاهد معنی‌دار بود. میزان شاخص پایداری غشا در سطوح مذکور به‌طور قابل‌ملاحظه‌ای کمتر از مقدار آن در نمونه شاهد بود (شکل ٤، c).

در این پژوهش در هر دو رقم مقدار پرولین با زیادشدن میزان شوری از شاهد به ۱۰۰ میلی‌مولار افزایش پیدا کرد. بین تیمارهای شاهد و ۲۵ میلی‌مولار، ۲۵ و ۵۰ میلی‌مولار و همچنین سطوح ۵۰، ۷۵ و ۱۰۰ میلی‌مولار اختلاف معنی‌داری وجود نداشت (شکل ٤، d).

[Downloaded from gebsj.ir on 2025-12-11]
[DOR: 20.1001.1.25885073.1396.6.2.15.9]

بحث

ماهیت اصلی فرایند تنش در ایجاد عدم تعادل بین تولید انواع فعال اکسیژن و پاک‌سازی آن‌ها در سلول است که در هر دو تنش زنده و غیرزنده رخ می‌دهد (Kar, 2011)، اگرچه غلظت بالای انواع فعال اکسیژن موجب بروز تنش اکسیداتیو و خسارت به مولکول‌های حیاتی می‌شود ولی غلظت متعادل آن‌ها از یک سو سبب سازگاری نسبی برای ایجاد مقاومت در گیاه شده و از سوی دیگر به‌عنوان عوامل انتقال پیام در روند تنظیم بیان ژن ایفای نقش می‌کند (Larkindale *et al.* 2005)، بنابراین ارزیابی تغییرات بیان برخی ژن‌ها و شاخص‌های بیوشیمیایی که نقش آن‌ها در پاسخ به تنش‌های زنده و غیرزنده در سایر گیاهان مشخص شده‌است می‌تواند در شناخت ارقام متحمل کمک شایانی کند (Abdel-Monaim *et al.* 2012).

در بررسی حاضر نیز بیان نسبی ژن‌های *CAT1* و *APX1* در دو رقم گوجه‌فرنگی تحت تأثیر تنش شوری موردبررسی قرار گرفت داده‌های این بررسی نشان داد که بیان نسبی ژن *CAT1* در رقم Rio Grand S در همه سطوح تنش شوری افزایش نشان داده‌است ولی در رقم CH-Falat فقط در سطح ۲۵ و ۵۰ میلی‌مولار نسبت به شاهد افزایش بیان مشاهده شد، بیان نسبی ژن *APX1* در رقم Rio Grand S در سطح شوری ۲۵ و ۵۰ میلی‌مولار کاهش و در سطح ۷۵ و ۱۰۰ میلی‌مولار افزایش یافت که این نتیجه با نتایج پژوهش‌هایی که بر روی اسفناج (Noctor and Foyer, 1998) و توت‌فرنگی (Yong *et al.* 2008) در این زمینه صورت گرفته‌است مطابقت دارد. در رقم CH-Falat بیان نسبی ژن *APX1* در سطح شوری ۲۵ و ۵۰ میلی‌مولار افزایش یافت ولی با افزایش شوری در سطح ۷۵ و ۱۰۰ میلی‌مولار کاهش یافت که این نتیجه هم با پژوهشی که بر روی سه توده خربزه بومی سیستان صورت گرفت همخوانی داشت (Montazerinezhad *et al.* 2013). با توجه به این‌که در رقم CH-Falat بیان نسبی هر دو ژن *CAT1* و *APX1* در سطح شوری ۷۵ و ۱۰۰ میلی‌مولار کاهش یافته‌است به نظر می‌رسد این موضوع به دلیل غیرفعال شدن یا تجزیه آنزیم‌های *CAT1* و *APX1* در شرایط خیلی شور در این رقم باشد که منجر به بروز تنش اکسیداتیو شده‌است و نشان‌دهنده حساسیت این رقم به شوری با درجات بالا است (Shim *et al.* 2003).

در کنار بررسی مولکولی میزان بیان نسبی دو ژن *CAT1* و *APX1* در دو رقم گوجه‌فرنگی تحت تیمارهای شوری برخی از صفات فیزیولوژیکی هم در این تیمارها موردبررسی قرار گرفت که جمع‌بندی نتایج آن‌ها نشان داد که در هر دو رقم با افزایش غلظت NaCl از صفر تا ۱۰۰ میلی‌مولار، مقدار سدیم، پرولین و قندهای محلول در برگ‌های گیاه افزایش و مقدار پتاسیم و نسبت پتاسیم به سدیم در برگ‌ها کاهش یافت و شاخص پایداری غشا در برگ‌ها در تیمارهای شوری نسبت به شاهد کاهش نشان داد.

فراوانی سدیم در خاک باعث کم شدن جذب پتاسیم توسط گیاه می‌شود (Turan *et al.* 2009)، افزایش جذب سدیم در مقایسه با پتاسیم در شرایط شور سبب بالا رفتن تجمع سدیم و کاهش میزان پتاسیم برگ‌های گیاه می‌شود، افت مقدار پتاسیم به علت بالا رفتن غلظت NaCl در پژوهش‌هایی که بر روی گندم (Turan *et al.* 2007) و یونجه (Al-Khateeb, 2007)انجام شده با نتایج آزمایش ما همسویی دارد.

تحت تنش شوری میزان قندهای محلول در گیاهان افزایش می‌یابد که نشان‌دهنده به کار افتادن سیستم مقاومتی گیاه از طریق تولید اسمولیت‌ها به‌منظور کم کردن آسیب‌های ناشی از این نوع تنش است. قندها علاوه بر نقش تعدیل اسموتیکی، در محافظت از ساختار پروتئین، حفظ سیالیت غشا و زدودن انواع فعال اکسیژن نقش دارند، در پژوهش حاضر نیز در هر دو رقم با افزایش سطح شوری از شاهد تا ۱۰۰ میلی‌مولار بر میزان قندهای محلول در برگ‌ها افزوده شد، افزایش قند محلول با افزایش شوری در گیاه *Atriplex halimus* (Bajii *et al.* 1998) و گندم (Ahmad Radi *et al.* 2013) گزارش شده‌است که با نتایج آزمایش ما همخوانی دارد.

تجمع پرولین در گیاهان و در شرایط تنش شوری بیش از سایر اسیدهای آمینه صورت می‌گیرد، این ماده می‌تواند در تنظیم اسمزی، حفظ فعالیت آنزیمی و جمع‌آوری انواع فعال اکسیژن ایفای نقش کند (Ashraf, 2004). پژوهشگران در مطالعات خود بر روی گیاهان مختلف مانند برنج (Mardaninezhad and

[Downloaded from gebsj.ir on 2025-12-11]
[DOR: 20.1001.1.25885073.1396.6.2.15.9]

Vazirpour, 2008)، گندم (Vendruscolo *et al*. 2007) و کلزا (Sairam and Tyagi, 2004) نشان دادند که تجمع پرولین با افزایش شوری به‌طور معنی‌داری افزایش یافت، در آزمایش ما نیز میزان پرولین با بالا رفتن غلظت NaCl از صفر تا ۱۰۰ میلی‌مولار افزایش یافت که بیانگر فعال شدن سوخت‌وساز سلولی برای حفاظت از انواع فعال اکسیژن است.

شاخص پایداری غشا معیاری برای ارزیابی آسیب به غشای سلولی است، هرچه میزان صدمه به غشا کمتر باشد به همان اندازه از نشت الکتریکی نیز کاسته می‌شود، ویژگی نفوذپذیری انتخابی غشا حفظ می‌شود و درنتیجه سلول کمتر تحت تأثیر تنش قرار می‌گیرد (Azizpour *et al*. 2010)، گزارش شده‌است که شاخص پایداری غشا در ارقام متحمل به شوری در مقایسه با ارقام حساس کمتر دچار تغییر می‌شود (Mansour and Salama 2004; Mansour and Stadelmann 1994) در پژوهش حاضر بین دو رقم ازنظر شاخص پایداری غشا تفاوت معنی‌داری مشاهده نشد، البته شاخص پایداری غشا در نمونه‌های تحت تنش شوری نسبت به نمونه شاهد کاهش چشم‌گیری نشان داد.

نتایج این پژوهش نشان داد که افزایش بیان نسبی ژن‌های آنتی-اکسیدان *CAT1* و *APX1* تحت تاثیر شوری رابطه مستقیم در حفاظت گیاه از اثرهای مضر شوری دارد و به این منظور می‌توان با مهندسی ژنتیک و بیوتکنولوژی در گیاه گوجه‌فرنگی در جهت تولید رقم متحمل‌تر به شوری به بیان بیشینه ژن‌های *CAT1* و *APX1* پرداخت و به نظر می‌رسد طبق نتایجی که از ارزیابی بیان نسبی ژن‌های *CAT1* و *APX1* و همچنین صفات فیزیولوژیکی به دست آوردیم، رقم Rio Grand S نسبت به رقم CH-Falat در سطوح شوری بالا رقم مقاوم‌تری است، هرچند مطالعات بیشتر ژنتیکی و فیزیولوژیکی در سطوح مختلف گلخانه و مزرعه در تکمیل این نتایج ضروری به نظر می‌رسد.

منابع

Abdel-Monaim MF, Abdel-Gaid MA, Armanious HA. (2012). Effect of chemical inducers on root rot and wilt diseases, yield and quality of tomato. Int. J. Agric. Sci 7: 211-220.

Ahmad Radi A, Ali Farghaly F, Mohamed Hamada A. (2013). Physiological and biochemical responses of salt-tolerant and salt-sensitive wheat and bean cultivars to salinity. Journal of Biology and Earth Sciences 3: 72-88.

Al-Khateeb SA. (2007). Effect of calcium/sodium ratio on growth and ion relations of Alfalfa (*Medicago sativa* L.) seedling grown under saline condition .Journal of Agronomy 5: 175-181.

Allen RD. (1995). Dissection of oxidative stress tolerance using transgenic plants. Plant Physiology 57: 1049-1054.

Arora A, Sairam RK, Srivastava GC. (2002). Oxidative stress and antioxidant system in plants. Annual Review of Plant Science 82: 1227-1238.

Ashraf M, Foolad MR. (2007). Roles of glycine betaine and proline in improving plant abiotic stress resistance. Environmental and Experimental Botany 59: 206-216.

Ashraf M. (2004). Some important physiological criteria for salt tolerance in plants. Flora 199: 361-376.

Azizpour K, Shakiba MR, Khosh Kholgh Sima NA, Alyari H, Moghaddam M, Esfandiari E, Pessarakli M. (2010). Physiological response of spring durum wheat genotypes to salinity. Journal of plant nutrition 33: 859-873.

Azuma R, Ito N, Nakayama N, Suwa R, Tran NN, Larrinaga-Mayoral JA, Esaka M, Fujiyama H, Saneoka H. (2010). Fruits are more sensitive to salinity than leaves and stems in pepper plants (*Capsicum annuum* L.). Scientia Horticulturae 125: 171-178.

Bajii M, Kinet JM, Lutts S. (1998). Salt stress effects on roots and leaves of *Atriplex halimus* L. and their corresponding callus cultures. Plant Science 137: 131–142.

Bandehhag A, Kazemi H, Valizadeh M, Javanshir A. (2004). Salt tolerance of spring wheat (*Triticum aestivum* L.) cultivars during vegetative and reproductive growth. Iranian Journal of Agriculture Science 35: 61-71.

Bartels D, Sunkar R. (2005). Drought and salt tolerance in plants. Critical Reviews in Plant Sciences 24: 23-58.

Cho U, Seo N. (2005). Oxidative stress in *Arabidopsis thaliana* exposed to cadmium is due to hydrogen peroxide accumulation. Plant Science 168: 113-120.

Fedina I, Georgieva K, Velitchkova M, Grigorova I. (2006). Effect of pretreatment of barley seedlings with different salt on the level of UV-B induced and UV-B

[Downloaded from gebsj.ir on 2025-12-11]
[DOR: 20.1001.1.25885073.1396.6.2.15.9]

absorbing compounds. Environmental and Experimental Botany 56: 247-249.

Garratt LC, Janagoudar BS, Lowe KC, Anthony P, Power BJ, Davey MR. (2002). Salinity tolerance and antioxidant status in cotton cultures. Free Radical Biology and Medicine 33: 502-511.

Gramer GR, Alberico GJ, Schmidt C. (1994). Salt tolerance is not associated with the sodium accumulation of two maize hybrids. Australian Journal of Plant Physiology 21: 675-682.

Jahanbakhsh Godehkahriz S, Khadem Sedighi S, Ebadi A, Tavakoli N, Davari M. (2017). Effect of calcium on salt tolerance protein expression and activity of antioxidants in borage under salinity condition. Genetic Engineering and Biosafety Journal. 6 (1) :117-129.

Kar RK. (2011). Plant responses to water stress: role of reactive oxygen species. Plant Signal Behav 6: 1741-1745.

Larkindale JD, Hall JR, Knight M, Vierling E. (2005). Heat stress phenotypes of Arabidopsis mutants implicate multiple signaling sathways in the acquisition of thermotolerance. Plant Physiol 138: 882-897.

Mahmoodi Jaraghili P, Mohajjel shoja H, Mohajjel kazemi E. (2016). Evaluation of the effect of salinity on the germination and expression of antioxidant genes in two cultivars of tomato plant. Genetic Engineering and Biosafety Journal. 5 (1) :51-59.

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

Mansour MMF, Salama K. (2004). Cellular basis of salinity tolerance in plants. Environmental and Experimental Botany 52: 113–122.

Mansour MMF, Stadelmann EJ. (1994). NaCl-induced changes in protoplasmic characteristics of Hordeum vulgare cultivars differing in salt tolerance. Physiolgia Plantarum 91: 389–394.

Mardaninezhad S, Vazirpour M. (2008). Potential changes in viability proline and chlorophyll race rice genotypes under salinity stress. Journal of Modern Agricultural Knowledge 8: 69-80.

Mittler R. (2002). Oxidative stress, antioxidants and stress tolerance. Trends in Plant Science 7: 405-410.

Montazerinezhad S, Solouki M, Fakheri B A. (2013). The activity of ascorbate peroxidase (Cm APX) enzyme and expression level of it's encoding gene in salt stress condition in three Sistan melon Landraces (*Cucumis malo* L.). Genetic Engineering and Biosafety Journal. 2 (2) :145-154.

Najami N, Janda T, Barriah W, Kayam G, Tal M, Guy M, Volokita M. (2008). Ascorbate peroxidase gene family in tomato: its identification and characterization. Mol Genet Genomics. 279(2):171-82.

Navarro JM, Martinez V, Carvajal M. (2000). Ammonium, bicarbonate and calcium effects on tomato plants grown under saline conditions. Plant Science 57: 89-96.

Noctor G, Foyer CH. (1998). Ascorbate and glutathione keeping active oxygen under control. Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology 49: 249-279.

Pessarakli M. (1999). Handbook of Plant and Crop Stress. Second Edition. Marcel Dekker, Inc.

Pfaffl, MW. (2001). A new mathematical model for relative quantification in realtime RT-PCR. Nucleic Acids Research 29: 2002-2007.

Sairam RK, Rao KV, Srivastava GC. (2002). Differential response of wheat genotypes to long term salinity stress in relation to oxidative stress, antioxidant activity and osmolyte concentration. Plant Science 163:1037–1046.

Sairam RK, Srivastava GC. (2002). Changes in antioxidant activity in sub-cellular fractions of tolerant and susceptible wheat genotypes in response to long term salt stress. Plant Science 162: 897–904.

Sairam RK, Tyagi A. (2004). Physiology and molecular biology of salinity stress tolerance in plants. Current Science 86: 407-421.

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 8: 285-292.

Tester M, Davenport R. (2003). Na^+ tolerance and Na^+ transport in higher plants. Annals of Botany 91: 503 – 527.

Turan MA, Elkiram AHA, Taban N, Tban S. (2009). Effect of salt stress on growth, stomatal resistance, proline and chlorophyll concentrations in maize plant. Afr. J. Agric. Res 4: 893- 897.

Turan MA, Katkat V, Taban S. (2007). Variations in proline, chlorophyll and mineral elements content of wheat plants grown under salinity stress. Journal of Agronomy 6: 137-141.

Vendruscolo ECG, Schuster I, Pilegg M, Scapim CA, Molinari HBC, Marur CJ, Vieira LGE. (2007). Stress-induced synthesis of proline confers tolerance to water deficit in transgenic wheat. Journal of Plant Physiology 164: 1367-1376.

Yong Z, Hao-Ru T, Ya L. (2008). Variation in Antioxidant Enzyme Activities of Two Strawberry Cultivars with Short-term Low Temperature Stress. World Journal of Agricultural Sciences 4: 458-462.

[Downloaded from gebsj.ir on 2025-12-11]
[DOR: 20.1001.1.25885073.1396.6.2.15.9]

Genetic Engineering and Biosafety Journal
Volume 6, Number 2

The effect of salt stress on the relative expression of *CAT1* and *ASX1* genes and some physiological traits in two varieties of tomato

Sanami S.[1], Pazhouhandeh M.[*1], Valizadeh Kamran R.[1], Azizpour K.[2]

[1]Biotechnology Dept., [2]Agronomy Dept., Faculty of Agriculture, Azarbaijan Shahid Madani University, Tabriz, Iran

*Corresponding Author: pazhouhandeh@gmail.com

Abstract

In this research, in order to study some physiological and molecular traits such as the expression level of *Catalase* (*CAT1*) and *Ascorbate Peroxidase* (APX*1*) genes in two, CH-Falat and Rio Grande-S, varieties of tomato plant (*Solanum lycopersicum* L.), an experiment was designed in randomized complete block design. Salinity with the concentration of 0, 25, 50, 75 and 100 mM NaCl was applied in hydroponic culture. Plants RNA was extracted and cDNA was synthesized, then Real–Time PCR was carried out. The results showed that the relative expression of *CAT1* has been increased in Rio Grande-S at all levels of salinity and in Falat-CH variety only up to 50 mM NaCl. The relative expression of *APX1* has been decreased in Rio Grande-S up to 50 mM of salinity level and has been increased in 75 and 100 mM salinity levels. The relative expression of *APX1* in Falat-CH variety has been increased up to 50 mM salinity level. Some physiological traits in salinity treatments were also studied and the results showed that in both varieties, by salinity increase from 0 to 100 mM NaCl, the amount of Na, Prolin, the soluble sugers were increased and the amount of K, and K/Na were decreased. The membrane stability index was decreased in salinity treatments comparing to control. The results of the molecular and physiological analysis showed that Rio Grande S variety in comparison to CH-Falat is more resistant under high level of salinity.

Key words: Salinity stress, Tomato, qPCR, *CAT1*, *APX1*

[Downloaded from gebsj.ir on 2025-12-11]

[DOR: 20.1001.1.25885073.1396.6.2.15.9]