

از پایه میزان تحمل برخی ژنوتیپ‌های لوبیا (*Phaseolus vulgaris* L.) به شوری^{۱۵}

شکوفه دست نشان^۱ و منیژه سیکدست^۲

- ۱- دانشجوی کارشناسی ارشد، گروه زراعت و اصلاح بناات، دانشکده پردیس کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه تهران
۲- استادیار، گروه زراعت و اصلاح بناات، دانشکده پردیس کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه تهران (نوبنده مسؤول: sabokdast@ut.ac.ir)
تاریخ دریافت: ۹۸/۷/۹ تاریخ پذیرش: ۹۸/۷/۱۰ صفحه: ۱۸۴ تا ۱۹۲

چکیده
مطالعه صفات فیزیولوژیک و بیوشیمیایی می‌توانند به شناخت راهکارهایی برای انتخاب ارقام متتحمل و افزایش عملکرد در شرایط متنوع محیطی از جمله شرایط تنفس شوری کمک کنند. بهمین منظور، آزمایشی به صورت فاکتوریل در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی با سه تکرار در گلخانه دانشکده کشاورزی دانشگاه تهران انجام شد. فاکتورهای آزمایشی شامل چهار سطح شوری (صفر (شاهد)، ۱۰۰ و ۲۰۰ میلی‌مولار نمک طعام) و شش ژنوتیپ لوبيا (جولس، ناز، ۹۶، ۲۰ و ۷۴) بود. سطح تنفس شوری پنج هفته پس از کاشت بذر اعمال شد و ده روز پس از اعمال تنفس از سه برچچه دوم نمونه‌گیری شد. بعضی صفات بیوشیمیایی و فیزیولوژیک از قبیل میزان نشت الکتروولیک، پروولین، مالون دی‌آلدئید، فعالیت آنزیمی‌های کاتالاز، گلیکاکول پراکسیداز و آسکوربات پراکسیداز، پلی فنل اکسیداز و پروتئین محلول کل اندازه‌گیری شد. نتایج نشان داد تمامی ژنوتیپ‌های مورد مطالعه با افزایش سطح نمک تحت تنفس شوری قرار گرفتند، اما پاسخ آن‌ها به تنفس متفاوت بود. در مجموع بیشترین و کمترین میزان پروولین، مالون دی‌آلدئید، فعالیت‌های آنزیمی کاتالاز، آسکوربات پراکسیداز، گلیکاکول پراکسیداز و پلی فنل اکسیداز در سطح ۲۰۰ میلی‌مولار نمک به ترتیب در ژنوتیپ جولس و ناز مشاهده شد. با برسی صفات اندازه‌گیری شده و با مدل نظر قرار دادن ویژگی‌های فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی ژنوتیپ جولس در قیاس با دیگر ژنوتیپ‌ها به تنفس شوری متتحمل بوده و بعد از نظر این پژوهش معرفی شد.

واژه‌های کلیدی: تنش غیرزنده، تحمل، تنش اکسیداتیو، کلرید سدیم، لوپیا

(۴). تنش اکسیداتیو در نتیجه از دیدار انواع فرمهای فعال اکسیژن (ROS) نظیر رادیکال سوپراکسید، پراکسیدهیدروژن و رادیکال هیدروکسیل بوجود می‌آید. فرمهای فعال اکسیژن باعث اختلالات متابولیکی مانند اکسیداسیون لبیدهای غشاء، پروتئین‌ها و اسددهای نه‌کلتشک می‌شود (۴۲).

گیاهان برای غلبه بر آثار اکسیداتیو القا شده از شوری، از یک سیستم آنتی اکسیدانتی پیچیده استفاده می کنند، که می تواند به دو گروه سیستم های غیر آنزیمی و آنزیمی طبقه بندی شود گروه اول (غیر آنزیمی) شامل مولکول های کوچک مانند ویتامین (A، C و E) و کاربونوتونیده است که می تواند به طور مستقیم با ROS ها واکنش نشان دهد. گروه دوم آنتی اکسیدانت های آنزیمی نظیر سوپراکسید دیسموتاز، پر اکسیداز و کاتالاز هستند که با اشکال فعال اکسیژن واکنش نشان می دهد و آنها را در سطح پایین فعالیت نگه می دارند. مطالعات متعدد نشان داده که مقاومت به تنفس اکسیداتیو تا حدود زیادی با مقاومت به شوری در گیاهان مرتب است (۲۴). به بیان دیگر ارقام متحمل به شوری از طریق افزایش فعالیت آنتی اکسیدان های مختلف سازو کار دفاعی بهتری در برابر تنفس اکسیداتیو نسبت به ارقام حساس نشان می دهند (۵۹).

مالون دی‌آلدئید (MDA) یکی از محصولات پایانی پراکسیداسیون اسیدهای چرب غیر اشباع در غشای سلولی است. افزایش رادیکال‌های آزاد موجب تولید بیش از حد MDA می‌شود که معمولاً به عنوان نشانگر استرس اکسیداتیو شناخته می‌شود (۴۴). همچنین وجود همبستگی مستقیم بین کاهش غلظت مالون دی‌آلدئید و افزایش تحمل به تنش شودی، در گندم (۳۸) و برنج (۶۱) گزارش شده است. مقاومت

مقدمة

شوری خاک و آب از عامل‌های محدودکننده رشد و کاهش محصولات کشاورزی در بیشتر نقاط جهان و ایران از جمله نواحی خشک و نیمه خشک است (۲۲، ۲۷). برآورد شده است که در سراسر جهان، ۸۰ میلیون هکتار زمین و ۳۲ میلیون هکتار، تصلیب کشاورزی، بحث تاثیر نمک‌قارا، داند (۲۱).

اصلاح ارقام مقاوم به شوری، یکی از مهمترین روش‌های موثر در بهره‌برداری از خاک و آب شور بهمنظور افزایش عملکرد محسوب می‌شود (۲). از آنجا که ارزیابی‌های معمول در شرایط مزرعه‌ای از یک سو زمان بر و از سوی دیگر تحت تأثیر عوامل غیرقابل کنترل متعددی از جمله عوامل خاکی، اقلیمی و عملیات زراعی قرار می‌گیرد (۵) بنابراین استفاده از صفات مورفو‌فولوژیک، بیوشیمیایی و فیزیولوژیک تحت شرایط کنترل شده، امکان ارزیابی سریع و نسبتاً دقیق عکس العمل گیاهان به تنش را فراهم می‌آورد (۴۰). شناخت سازوکارهای تحمل تنفس شوری در گیاهان به انتخاب ارقام مناسب برای کشت در مناطقی، که درمعرض این تنش، هستند کمک می‌کند (۵۰).

تنش شوری موجب تغییرات بیوشیمیایی، فیزیولوژیک و مورفولوژیک متعددی در گیاه شده و رشد، فتوستنتز، تنفس، سنتز پروتئین و تولید انرژی را تحت تاثیر قرار می‌دهد (۲۶) در مراحل اولیه مواجه گیاه با تنش شوری بهدلیل خشکی فیزیولوژیک، آب از دسترس گیاه خارج و پتانسیل اسمزی محیط اطراف ریشه بهدلیل افزایش یون‌های سدیم و کلسیم یافته و در نتیجه پتانسیل آب اطراف ریشه در مقایسه با گیاه کاهش می‌یابد و در نتیجه آب به جای جذب از دسترس خارج می‌شود. تنش اسمزی سبب بهم خوردن توازن متابولیک، شده و سیسر، تنش، اکسیدانتیه در گیاه ایجاد می‌گردد.

تدریجی شوری به میزان ۲۵ میلی‌مولار در هر سطح (برای سازگار شدن گیاهان) آبیاری شدند. بعد از یک هفته کل تیمار شوری مربوط به هر سطح اعمال گردید. برای آبیاری گلدان‌های شاهد از آب مقطر استفاده شد. اعمال تیمارهای شوری تا پایان مرحله رویشی و همزمان با نیاز آبی گیاه ادامه داشت. پس از اطمینان از اثر بخشی تیمارهای شوری نمونه‌برداری برای صفات مورد نظر آغاز شد.

برای اندازه‌گیری میزان نشت الکتروولیت غشاء پلاسمایی، از آخرين برگ توسعه یافته، تعداد پنج عدد پانچ تهیه و در ۲۵ سی سی آب مقطر دیونیزه قرار گرفت. نمونه‌ها به مدت سه ثانیه به هم زده شد و سپس هدایت الکتریکی (EC) آن با EC متر اندازه‌گیری شد و بعد از گذشت ۱۲ ساعت مجدداً هدایت الکتریکی قرائت و میزان نشت الکتروولیت‌ها گزارش گردید. استخراج پرولین بر مبنای روش بتس و همکاران (۱۱) و با توجه به منحنی استاندارد پرولین در دستگاه طیف‌سنج نوری در طول موج ۵۲۰ نانومتر تعیین شد. اندازه‌گیری پروتئین کل با روش برادفورد (۱۵) صورت گرفت. میزان فعالیت آنزیم کاتالاز (CAT) به روش آبی (۱) اندازه‌گیری شد. میزان فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز (APX) به روش جایرا و همکاران (۲۲) و بر اساس میزان اکسید شدن آسکوربات در دقیقه به ازای هر میلی‌گرم پروتئین در طول موج ۲۹۰ نانومتر تعیین گردید. میزان فعالیت آنزیم گایاکول پراکسیداز (GPOX) بر حسب روش شانس و همکاران (۱۶) در طول موج ۴۷۰ نانومتر در دمای اتاق سنجش شد. فعالیت ویژه این آنزیم توسط H_2O_2 تجزیه شده در دقیقه در میلی‌گرم پروتئین محاسبه شد. فعالیت آنزیم پلی فتل اکسیداز (PPO) بر اساس روش کار و میشرا (۳۵) در طول موج ۴۲۰ نانومتر اندازه‌گیری شد. میزان فعالیت ویژه آنزیم به صورت جذب در دقیقه در میلی‌گرم پروتئین گزارش شد. میزان مالون دی‌آلدهید (MDA) به عنوان شاخص پراکسیداسون لیپید بر اساس روش هیت (۳۰) در نظر گرفته شد. آنالیز واریانس، تجزیه به عامل‌ها و مقایسه میانگین‌ها به روش دانکن، به کمک نرم‌افزارهای SAS 9.2 و SPSS 19 انجام گرفت.

نتایج و بحث

نتایج تجزیه واریانس داده‌ها (جدول ۱) نشان داد که اثر شوری، ژنوتیپ و اثر متقابل آنها بر تمام صفات اندازه‌گیری شده در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار بود. مقایسه میانگین اثر شوری در جدول ۲ نمایش داده شده است.

شاخص نشت الکتروولیتی (Electrolyte Leakage Index) نتایج حاصل از تجزیه واریانس (جدول ۱) نشان داد که از نظر میزان خسارت به غشای سلولی بر اساس شاخص نشت الکتروولیتی تفاوت معنی‌داری بین ژنوتیپ‌ها، سطوح تنش و اثرات متقابل تنش وجود داشت. روند تغییرات نشت الکتروولیتی با افزایش تنش شوری افزایش یافت (جدول ۲). کمترین مقدار نشت الکتروولیتی در ۲۰۰ میلی‌مولار مربوط به ژنوتیپ جوسل (۷۵/۳۳) و بیشترین مربوط به ژنوتیپ ناز (۹۷/۶۰) بود (شکل ۱).

و استحکام غشاهای سلولی به طور وسیع در تمایز و انتخاب ژنوتیپ‌های مقاوم و حساس به تنش شوری موثر است.

از جمله مکانیسم‌های مهم برای تحمل به شوری توسط گیاهان عالی، برای سازش با تنفس اسمزی اعمال شده توسط غلظت‌های بالای نمک، تجمع و انباستگی برخی محلول‌های سازگار از قبیل پرولین، کالایسین بناشین و پلی اول‌ها و ... است (۶۱، ۱۰). پرولین تنها آسید آمینه‌ای (آسید آمینه‌ای با یک گروه آمین ثانویه) است که نه تنها به عنوان اسموولیت عالی، بلکه به عنوان یک مولکول دفاعی آنتی اکسیدانتیو و مولکول پیام‌آور عمل می‌کند. در نتیجه، تعادل اسمزی، یکپارچگی غشاء و غلظت ROS را در محدوده طبیعی حفظ می‌کند؛ بنابراین از انفجار اکسیدانتیو در گیاه جلوگیری می‌کند (۲۹).

در بین جبویات، لویای معمولی (*Phaseolus vulgaris* L.) بهجهت داشتن بیشترین سطح زیرکشت و تولید، اهمیت ویژه‌ای دارد (۲۰). ۳۰-۲۰ درصد تولیدات لویای در خاورمیانه بهدلیل شوری به هدر می‌رود (۱۳) در چنین شرایطی بهدلیل اینکه لویای سیبار به شوری حساس است عملکرد افت پیدا می‌کند (۴۱). لویای و سایر لگومهای گیاهان نه تنها یک علوفه مغذی بهشمار می‌رond و میوه غنی از پروتئین تولید کرده، گیاهان مناسبی برای بهبود حاصلخیزی خاک‌های ضعیف نیز می‌باشند، زیرا خاک را از طریق همزیستی با باکتری‌های ریزوبیوم حاصلخیز می‌کند (۳). از این‌رو شناسایی و تولید گیاهان مقاوم به تنش شوری با عملکرد مناسب باستفاده از روش‌های مثل بررسی فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانتیو جهت مدیریت گیاه زراعی در شرایط شوری امری ضروری بهنظر می‌رسد. برای تحقق این امر آگاهی از وضعیت دفاعی گیاه در رویارویی با تنش‌های غیرزیستی و بهویژه تنش شوری ضروری است تا بتوان در مراحل بعدی، ژنوتیپ‌های متتحمل به تنش شوری را شناسایی کرد. لذا این پژوهش بهمنظور بررسی مکانیسم و شناسایی صفات فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی موثر در تنش شوری جهت کمک به توسعه کشت این گیاه در مواجه با شرایط شور انجام شد.

مواد و روش‌ها

این آزمایش در گلخانه پژوهشی گروه زراعت و اصلاح نباتات پردیس کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه تهران به صورت فاکتوریل در قالب طرح کامل تصادفی با سه تکرار انجام گرفت. عامل اول شامل ۴ سطح شوری صفر (شاهد)، ۵۰، ۱۰۰ و ۲۰۰ میلی‌مولار و عامل دوم شامل شش ژنوتیپ لویای معمولی شامل (جوسل، ناز، ۹۶، ۹۶، ۲، ۲۰) بر اساس آزمایشات مزرعه‌ای انتخاب گردیدند (۴۹). واحدهای آزمایشی شامل گلدان‌های با ابعاد ۴۰×۴۰ سانتی‌متر و ارتفاع ۳۵ سانتی‌متر و محتوی مخلوطی از خاک، ماسه و کود برگ بود. بذور پس از ضد عفنونی در عمق ۳ سانتی‌متری گلدان‌ها کشت شدند. از مرحله کشت تا مرحله جوانه‌زنی آبیاری با آب صورت گرفت. در مرحله ۶ برگی اعمال تنش شوری آغاز گردید. بهنحوی که همه گلدان‌ها به جز سطح شاهد با اضافه کردن

کمترین میزان پایداری غشاء در شرایط تنفس شدید مشاهده گردید. پژوهش به عمل آمده بر روی گندم نیز نشان داد ارقامی که نشت یونی کمتری دارند، به شوری متحمل ترند.^(۳۲)

پرولین

تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد که بین ژنوتیپ‌ها، سطوح تنش و اثرات متقابل بر روی مقدار پروولین در سطح یک درصد اختلاف معنی‌داری وجود دارد (جدول ۱). در بین ژنوتیپ‌ها بیشترین مقدار پروولین به ترتیب در جویلس و ناز مشاهده شد (جدول ۲). با افزایش شدت تنش میزان پروولین افزایش یافت به طوری که میزان پروولین از ۷/۱ میلی‌گرم در گرم وزن تر برگ در شاهد (سطح صفر) به ۲۸/۶ میلی‌گرم در وزن تر برگ در سطح ۲۰۰ میلی‌مولار رسید (جدول ۲). مقایسه میانگین‌ها نشان داد که با افزایش شدت تنش میزان پروولین در ژنوتیپ‌های مختلف افزایش یافت اما این میزان افزایش در ژنوتیپ‌ها متفاوت بود. در سطح ۲۰۰ میلی‌مولار بیشترین مقدار پروولین در ژنوتیپ جویلس مشاهده شد که مقدار پروولین از ۷/۴ میلی‌گرم در گرم وزن تر برگ در شاهد به ۳۱/۶۶ میلی‌گرم در گرم وزن تر برگ در سطح ۲۰۰ میلی‌مولار افزایش یافت و کمترین مقدار پروولین در این سطح تنش به ژنوتیپ ناز اختصاص داشت که مقدار پروولین از ۳/۷۹ میلی‌گرم در گرم وزن تر برگ در شاهد به ۱۱/۳ میلی‌گرم در گرم وزن تر برگ در سطح ۲۰۰ میلی‌مولار افزایش داشت (شکل ۱).

از آنجا که غشای پلاسمایی از اولین بخش‌های گیاهی است که تحت تنفس آسیب می‌بیند، حفظ انسجام غشا و جلوگیری از واپاشیدگی آن یکی از راهکارهای مهم در اصلاح برای افزایش تحمل به تنفس محسوب می‌شود. در شرایط تنفس شوری، تولید و تجمع گونه‌های فعال اکسیژن نظیر سوپراکسید، هیدروژن پراکسید و رادیکال‌های اکسیژن افزایش می‌یابدکه به بسیاری از ترکیبات سلولی نظریه چربی‌ها، پروتئین‌ها، کربوهیدرات‌ها و اسیدهای نوکلئیک صدمه می‌زنند با تغییر ساختمان غشا، در اثر پراکسیداسیون چربی‌ها و پروتئین‌ها، تراوایی غشای سلولی را افزایش می‌دهند که منجر به نشت الکتروولیت‌های موجود از داخل سلول به سمت بیرون می‌شود و در نتیجه رشد گیاه تحت تأثیر قرار می‌گیرد (۵۴). به همین علت، محققین ثبات غشای سلولی تحت شرایط تنفس رطوبتی را به عنوان یک جزء اصلی تحمل به تنفس در ژنوتیپ‌های متحمل مطرح کردند (۳۲). افزایش نشت یونی غشاء و کاهش محتوای آب نسبی با افزایش سطح سوری و در نتیجه خشکی فیزیولوژیک حاصل از آن در برخی آزمایش‌ها روی ارقام آفتتابگردان، نخود و کلزا نیز گزارش شده است (۵۱،۳۴،۹). این گزارشات با نتایج حاصل از این آزمایش هم‌خوانی دارد. همچنین عسکری و همکاران (۸) گزارش کردند سوری بر میزان تراوش یونی غشاء در برگ ذرت اثر معنی‌داری داشت به‌طوری که نشت یونی با افزایش سوری افزایش پیدا کرد و شاخص پایداری غشاء نیز تحت تأثیر شوری قرار گرفت. در این آزمایش بیشترین میزان پایداری غشاء مربوط به کمترین سطح شوری بود و

جدول ۱- نتایج تجزیه واریانس صفات اندازه‌گیری شده در شرایط تنش و بدون تنش شوری
Table 1. Analysis of variance on studied traits common bean under salt stress

منابع تغیرات	درجه آزادی	میانگین مربوط									
		نشت الکتروولت (ELI)	پروولین	مالون دی آلدید (MDA)	پروتئین	کاتالاز (CAT)	اسکوربات پراکسیداز (APX)	گایاکول پراکسیداز (GPX)	پلی فنل اکسیداز (PPO)		
نکار	۲	۰/۰۷ ^{ns}	۰/۱۴ ^{ns}	۰/۰۰۰۰۰ ^{ns}	۰/۰۰۰۰۰ ^{ns}	۰/۰۰۰۰۰ ^{ns}	۰/۰۰۰۰۰ ^{ns}	۰/۰۰۰۰۰ ^{ns}	۰/۰۰۰۰۰ ^{ns}	۰/۰۰۰۰۰ ^{ns}	۰/۰۰۰۰۰ ^{ns}
زنوتیپ	۵	۵۳۷/۶۲ ^{**}	۹۴/۴۰ ^{**}	۰/۰۰۰۰۰ ^{ns}	۰/۰۰۰۰۰ ^{ns}	۰/۰۰۰۰۰ ^{ns}	۰/۰۰۰۰۰ ^{ns}	۰/۰۰۰۰۰ ^{ns}	۰/۰۰۰۰۰ ^{ns}	۰/۰۰۰۰۰ ^{ns}	۰/۵۹۱ ^{**}
شوی	۳	۳۱۹۹/۹۳ ^{**}	۱۱۷۱/۱۳۲۸ ^{**}	۰/۰۰۰۰۰ ^{ns}	۰/۰۰۰۰۰ ^{ns}	۰/۰۰۰۰۰ ^{ns}	۰/۰۰۰۰۰ ^{ns}	۰/۰۰۰۰۰ ^{ns}	۰/۰۰۰۰۰ ^{ns}	۰/۰۰۰۰۰ ^{ns}	۰/۶۰۷ ^{**}
شوری ^X زنوتیپ	۱۵	۳۱/۲۷ ^{**}	۵/۲۳۹ ^{**}	۰/۰۰۰۰۰ ^{ns}	۰/۰۰۰۰۰ ^{ns}	۰/۰۰۰۰۰ ^{ns}	۰/۰۰۰۰۰ ^{ns}	۰/۰۰۰۰۰ ^{ns}	۰/۰۰۰۰۰ ^{ns}	۰/۰۰۰۰۰ ^{ns}	۰/۰۲۲ ^{**}
خطا	۴۶	۰/۲۲	۰/۲۱۰	۰/۰۰۰۰۴	۰/۰۰۰۱	۰/۰۰۰۰۷	۰/۰۰۰۰۴	۰/۰۰۰۰۴	۰/۰۰۰۰۴	۰/۰۰۰۰۴	۰/۰۰۰۳
ضریب تغیرات		۴/۶۹	۲/۵۶	۸/۳۳	۴/۷۴	۲/۹۹	۷/۳۰	۶/۹۲	۵/۹۵		

**، * و ns: به ترتیب معنی دار در سطح احتمال، یک و پنج درصد و غیر معنی دار

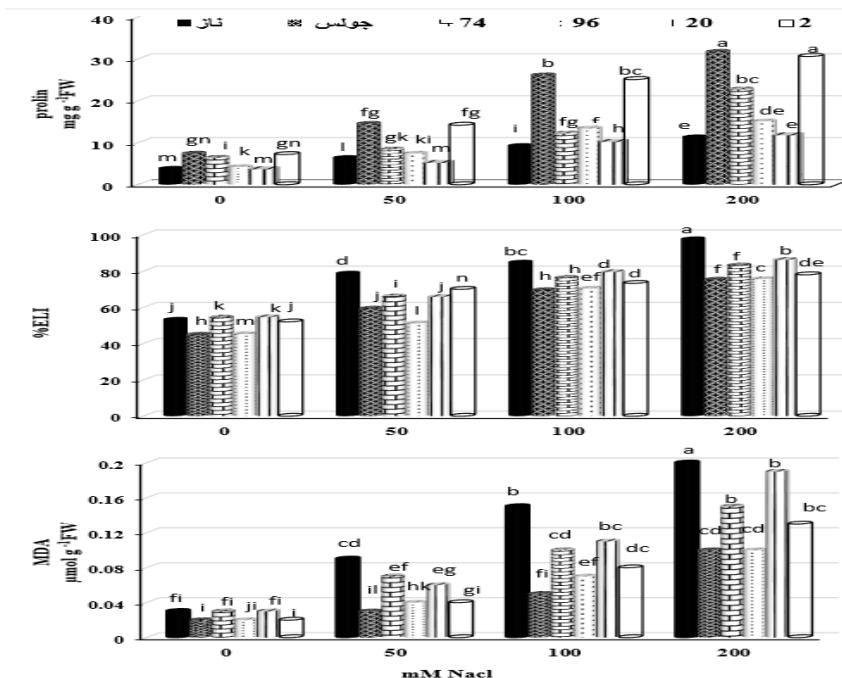
جدول ۲- مقایسه میانگین اثر متقابل تنش شوری و ژنوتیپ بر صفات موردسنجش در ۶ ژنوتیپ لوبیا
Table 2. Comparison of the average effect of salt stress and genotype on traits measured in six beans genotypes

تیمار	کاتالاز unit mg ⁻¹ protein	اسکوربات پراکسیداز unit mg ⁻¹ protein	پلی فل اسکیداز unit mg ⁻¹ protein	کایاکول پراکسیداز unit mg ⁻¹ protein	بروتئین mg g ⁻¹ FW	پروولین mg g ⁻¹ FW	مالون دی آلدئید μmol g ⁻¹ FW	نشت کلکتوولیک (%)
ژنوتیپ								
جولس	۰/۴۰ ^a	۰/۱۳۵ ^a	۱/۲۲۴ ^a	۰/۱۴۷ ^a	۰/۳۵۶ ^a	۲۱/۲۳۳ ^a	۰/۰۴۹ ^d	۶۰/۶۰۰ ⁱ
ناز	۰/۱۸۴ ^e	۰/۰۶۰ ^d	۰/۶۲۰ ^d	۰/۰۸۳ ^c	۰/۲۱۴ ^d	۱۴/۱۰۰ ⁱ	۰/۱۱۵ ^d	۸۱/۰۵۸ ^a
۷۴	۰/۲۳۱ ^d	۰/۰۸۳ ^c	۰/۸۴۳ ^c	۰/۰۷۳ ^d	۰/۲۵۶ ^c	۱۷/۶۰۸ ^d	۰/۰۸۳ ^b	۷۰/۰۰۸ ^c
۹۶	۰/۰۳۸ ^b	۰/۰۶ ^b	۱/۰۵۵ ^b	۰/۰۲۱ ^b	۰/۳۱۸ ^b	۱۹/۱۵۰ ^c	۰/۰۵۰ ^{cd}	۶۲/۵۳۳ ^c
۲۰	۰/۱۸۷ ^e	۰/۰۷۳ ^c	۰/۱۸۹ ^c	۰/۰۶۴ ^d	۰/۲۶ ^c	۱۵/۲۳۳ ^e	۰/۰۸۹ ^b	۷۱/۵۴۱ ^b
۲	۰/۰۳۰ ^c	۰/۱۱۰ ^d	۱/۱۱۰ ^d	۰/۰۸۹ ^c	۰/۳۱۱ ^d	۲۰/۱۴۱ ^d	۰/۰۶۳ ^c	۶۸/۳۵۰ ^d
سطح تنش								
۰	۰/۲۸۵ ^b	۰/۰۷۴ ^c	۰/۷۳۵ ^d	۰/۱۰۳ ^b	۰/۳۵۶ ^a	۷/۱ ^d	۰/۰۳۳ ^d	۵۱/۹ ^d
۵۰	۰/۳۳۵ ^a	۰/۰۹۱ ^b	۰/۸۶۲ ^c	۰/۱۱۹ ^a	۰/۳۱۱ ^b	۱۲/۲ ^c	۰/۰۵۶ ^c	۶۵/۸ ^c
۱۰۰	۰/۲۷۷ ^c	۰/۱۰۸ ^a	۱/۰۴ ^b	۰/۰۹۳ ^c	۰/۲۶۴ ^c	۲۲/۷ ^b	۰/۰۹۱ ^b	۷۵/۷ ^b
۲۰۰	۰/۲۲۸ ^d	۰/۱۰۶ ^a	۱/۱۴ ^a	۰/۰۶۹ ^d	۰/۲۱۲ ^d	۲۸/۲ ^a	۰/۱۲۲ ^a	۸۲/۷ ^a

در هر ستون میانگین‌های دارای حروف مشابه، در سطح احتمال ۵ درصد معنی دار نیستند (آزمون چند دامنه دانکن)

برای میزان تنش واردہ در گیاه است و با افزایش شدت تنش بر میزان پروولین افزوده می‌شود و گزارشات نشان داده است که تجمع پروولین تحت شرایط تنش با تحمل به تنش در بسیاری از گونه‌های گیاهی مرتبط است و غلظت آن در گیاهان متتحمل نسبت به گیاهان حساس بالاتر است (۱۷) با توجه به میزان پروولین ژنوتیپ جولس و ناز بهترین ترتیب به نظر متتحمل‌ترین و حساس‌ترین ژنوتیپ به تنش شوری می‌باشند.

بنابراین ژنوتیپ‌ها از نظر توانایی تجمع پروولین تحت شرایط تنش با هم اختلاف دارند و ژنوتیپ با سازوکار کاراتر قادر به افزایش میزان تجمع پروولین گردید و از طریق تنظیم اسمزی مقاومت خود را نسبت به شوری افزایش داد (۲۵). علاوه بر این گزارش‌های اخیر نشان می‌دهد که پروولین می‌تواند نقش یک ثابتیت کننده آنزیم را ایفا کند و پراکسیداسیون لیپید را در تنش‌های محیطی کاهش دهد (۵۵). از آنجا که میزان پروولین در اندام‌های گیاه شاخصی



شکل ۱- مقایسه میانگین اثرات متقابل تنش در ژنوتیپ برای میزان پروولین، نشت یونی و مالون دی آلدئید (میانگین‌های دارای حروف مشابه اختلاف معنی داری در سطح احتمال پنج درصد ندارند)

Figure 1. Mean comparison of the interactions of stress in genotype for prolin, malondialdehyde and ELI ((Means with the same letters in each figure have not significant difference at 5% probability level)

می‌دهد که فرآیند انهدام H_2O_2 تولید شده در اثر تنش سوری در این ژنوتیپ‌ها از کارامدی کمتری برخوردار است. ری و همکاران (۳۶) نشان دادند که تحت تنش شوری میزان فعالیت آنزیم کاتالاز در رقم حساس به شوری گلنگ کاهش یافت در حالیکه در رقم متحمل افزایش داشت. در سطوح بالای تنش (۲۰۰ میلی‌مولار) در تمام ژنوتیپ‌ها کاهش فعالیت آنزیم مشاهده شد. اثرات متفاوت تنش بر فعالیت کاتالاز در این مطالعه می‌تواند به این علت باشد که ژنوتیپ‌های مختلف از سیستم‌های متفاوتی برای کاهش مقدار هیدروژن پراکسید استفاده می‌کند. همچنین از آن جایی که آنزیم کاتالاز در پراکسیزوم‌ها سلول‌های برگی واقع شده است و در کلروپلاست یافت نمی‌شود. پر اکسید هیدروژن تولید شده در کلروپلاست بیشتر توسط ایزوم‌های مختلف اسکوربایت پراکسیداز از محیط حذف می‌گردد (۲۴). به همین دلیل می‌توان عنوان نمود که آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی مختلفی جهت هموستازی مناسب در غلظت‌های بالای H_2O_2 با هم‌دیگر هماهنگ می‌شوند. به این معنی که در گستره‌های مختلف تنش شوری، دسته‌های متفاوتی از آنزیم‌ها فعال می‌شوند (۲۴).

فعالیت آنزیم اسکوربایت پراکسیداز

نتایج حاصل از تجزیه واریانس داده‌های فعالیت آنزیم اسکوربایت پراکسیداز نشان داد که بین سطوح شوری، ژنوتیپ و بر هم‌کنش شوری و ژنوتیپ در سطح ۱ درصد اختلاف معنی دار وجود دارد (جدول ۱). نتایج مقایسه میانگین فعالیت آنزیم سورب اکسید دی‌سوموتاز تحت تیمارهای مختلف شوری در ژنوتیپ‌های مختلف لوبيا نشان داد که ژنوتیپ جولس با میزان 10^3 ٪ تغییرات جذب در میلی‌گرم پروتئین دارای بیشترین و ژنوتیپ ناز با 10^4 ٪ تغییرات جذب در میلی‌گرم پروتئین کمترین میزان فعالیت آسکوربایت پراکسیداز را در شرایط نرمال داشتند (جدول ۲ و شکل ۲). افزایش سطح تنش شوری موجب افزایش میزان فعالیت آنزیم اسکوربایت پراکسیداز در تمام ژنوتیپ‌های مورد مطالعه گردید. اما روند افزایش در ژنوتیپ‌های موردنظر مطالعه متفاوت بود بهطوریکه در سطح شوری 200 میلی‌مولار ژنوتیپ جولس با 52 درصد دارای بیشترین و ژنوتیپ ناز با 37 درصد دارای کمترین افزایش فعالیت این آنزیم در مقایسه با شاهد بود (شکل ۲). بهطور متوسط میزان فعالیت آنزیم سمزدایی H_2O_2 با کمک آسکوربیک اسید است (۵۶). افزایش فعالیت آنزیم آسکوربایت پراکسیداز در شرایط تنش شوری در مطالعات متعددی گزارش شده است (۱۸). نتایج این آزمایش با یافته‌های مرادی و عبدالباقي (۴۳) در برج، اشرف و علی (۸) در کلزا مشابهت دارد. افزایش فعالیت این آنزیم در ژنوتیپ‌های متحمل آن‌ها را قادر می‌سازد تا خودشان را در برابر تنش اکسیداتیو محافظت نمایند (۴۶). بنابراین افزایش فعالیت این آنزیم تحت تنش شوری می‌تواند نقش کلیدی در حذف H_2O_2 تولید شده در خلال تنش شوری بازی کند و منجر به تحمل بیشتر تنش

مالون دی‌آلدئید

تجزیه واریانس نشان داد که غلظت مالون دی‌آلدئید برگ ژنوتیپ‌های لوبيا تحت تاثیر شوری، ژنوتیپ و اثر متقابل شوری و ژنوتیپ قرار گرفتند (جدول ۱). با افزایش شدت تنش میزان مالون دی‌آلدئید افزایش یافت بهطوری که میزان مالون دی‌آلدئید از 0.033 میکرومول در گرم وزن تر برگ در شاهد (سطح صفر) به 0.124 میکرومول در گرم وزن تر برگ در سطح 200 میلی‌مولار رسید (جدول ۲). مقایسه میانگین‌ها نشان داد که با افزایش شدت تنش میزان مالون دی‌آلدئید در ژنوتیپ‌های مختلف افزایش یافت اما این میزان افزایش در ژنوتیپ‌ها متفاوت بود. در سطح 200 میلی‌مولار بیشترین مقدار مالون دی‌آلدئید در ژنوتیپ ناز مشاهده شد که مقدار مالون دی‌آلدئید از 0.030 میکرومول در گرم وزن تر برگ در شاهد به 0.020 میکرومول در گرم وزن تر برگ در سطح 200 میلی‌مولار افزایش یافت و کمترین مقدار پرولین در این سطح تشن به ژنوتیپ جولس اختصاص داشت که مقدار مالون دی‌آلدئید از 0.020 میکرومول در گرم وزن تر برگ در شاهد به 0.010 میکرومول در گرم وزن تر برگ در سطح 200 میلی‌مولار افزایش داشت (شکل ۱). پراکسیداسیون غشاء‌یی که نتیجه اثرات رادیکال‌های آزاد هستند نشان دهنده آسیب در سطح سلول می‌باشد (۱۹، ۵۲). بنابراین سطح مالون دی‌آلدئید حاصل از پراکسیداسیون لیپیدی غشاء اغلب به عنوان یک شاخص برای آسیب‌های اکسیداتیو به کار می‌رود (۶، ۳۷). در بسیاری از گیاهان زراعی مانند گندم، عدس همراه با افزایش تولید ROS، افزایش در پراکسیداسیون لیپیدی غشاء‌یی زیستی نیز مشاهده شده است (۱۲، ۴۵). تجمع مالون دی‌آلدئید در شرایط تنش سبب افزایش نفوذپذیری غشاء پلاسمایی شده و نشت یونی افزایش می‌باشد (۱۹). لذا هر چه میزان تولید مالون دی‌آلدئید تحت شوری کمتر باشد، تحمل آن ژنوتیپ به شرایط تنش شوری بیشتر بوده است. در این تحقیق نیز میزان تولید مالون دی‌آلدئید و نشت یونی در ژنوتیپ جولس در سطح شوری 200 میلی‌مولار کمتر از ژنوتیپ‌های دیگر بود.

آنزیم کاتالاز

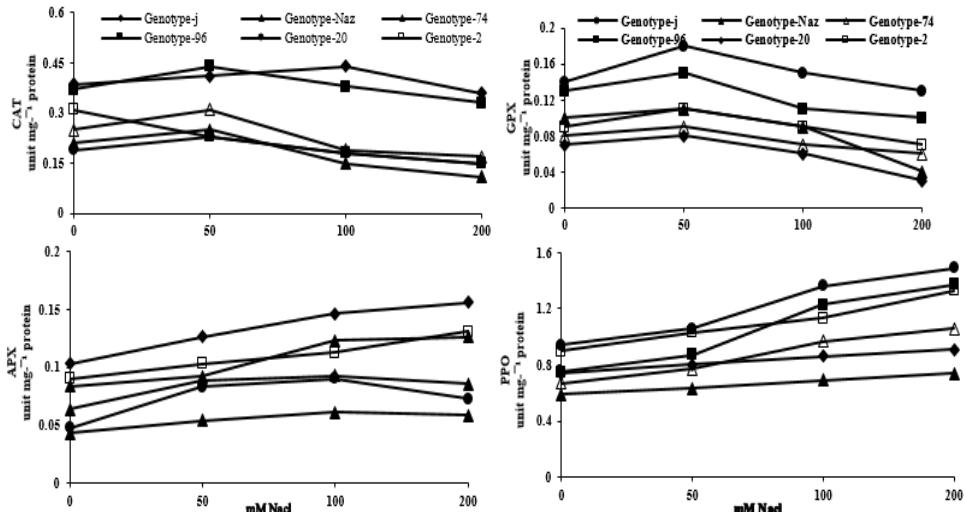
نتایج تجزیه واریانس نشان داد که سطح شوری، ژنوتیپ‌های لوبيا و برهم کنش شوری و ژنوتیپ تاثیر معنی‌داری بر میزان فعالیت کاتالاز داشت (جدول ۱). نتایج مقایسه میانگین فعالیت آنزیم کاتالاز تحت تیمارهای مختلف شوری در ژنوتیپ‌های مختلف لوبيا در شکل ۲ نشان داده شده است. با افزایش سطح شوری به 50 میلی‌مولار نمک طعام میزان آنزیم کاتالاز در همه ژنوتیپ‌ها نسبت به شاهد افزایش داشت (شکل ۲ و جدول ۲). بیشترین افزایش در ژنوتیپ جولس (۳۲ درصد) و کمترین آن در ژنوتیپ ناز (۱۰ درصد) مشاهده گردید (شکل ۲) با افزایش سطح شوری از 50 به 100 میلی‌مولار نمک طعام میزان فعالیت آنزیم کاتالاز در ژنوتیپ جولس افزایش یافت و بیشترین فعالیت کاتالاز در ژنوتیپ جولس برابر با 0.044 در تیمار 100 میلی‌مولار به دست آمد. در حالیکه افزایش مقدار نمک از 50 به 100 میلی‌مولار باعث کاهش معنی‌دار فعالیت کاتالاز در سایر ژنوتیپ‌ها گردید. کاهش فعالیت آنزیم در این ژنوتیپ‌ها احتمالاً نشان

به طوریکه در سطح شوری ۲۰۰ میلی مولار ژنوتیپ جولس با ۵۸ درصد دارای بیشترین و ژنوتیپ ناز با ۲۵ درصد دارای کمترین افزایش فعالیت این آنزیم در مقایسه با شاهد بودند (شکل ۲). به طور متوسط میزان فعالیت آنزیم پلی فنل اکسیداز در ژنوتیپ ناز نسبت به سایر ژنوتیپ‌ها کمتر بود. سیرام و همکاران (۵۰) افزایش فعالیت آنزیم‌های کاتالاز و پلی فنل اکسیداز را در ارقام مقاوم گندم گزارش نموده اند. رکzas و همکاران (۴۷) نیز افزایش پلی فنل اکسیداز را در شرایط شور تأیید نموده‌اند. سایر گزارشات نیز در همانگی با نتایج حاضر حاکی از این است که فعالیت پلی فنل اکسیداز تحت شرایط تنش شوری در ژنوتیپ‌های متحمل به شوری گیاهان زراعی افزایش یافته است (۳۱، ۴۸).

شوری توسط گیاه شود (۲۴). افزایش فعالیت این آنزیم در ارقام متحمل به شوری (۴۳) و کاهش و یا عدم تغییر (۱۸) فعالیت آن در ارقام حساس نیز گزارش شده است.

آنزیم پلی فنل اکسیداز

نتایج حاصل از تجزیه واریانس حاکی از تاثیر معنی‌دار سطوح شوری، ژنوتیپ و بر هم‌کنش شوری و ژنوتیپ بر میزان فعالیت آنزیم پلی فنل اکسیداز بود (جدول ۱). مقایسه میانگین‌ها نشان داد که ژنوتیپ جولس با میزان ۰/۹۴ جذب در میلی‌گرم پروتئین میزان فعالیت پلی فنل جذب در میلی‌گرم پروتئین کمترین میزان فعالیت پلی فنل اکسیداز را در شرایط نرمال داشتند (جدول ۲ و شکل ۲). افزایش سطح تنش شوری موجب افزایش میزان فعالیت آنزیم پلی فنل اکسیداز در تمام ژنوتیپ‌های مورد مطالعه گردید. اما روند افزایش در ژنوتیپ‌های مورد مطالعه متفاوت بود.



شکل ۲- مقایسه میانگین اثرات متقابل تنش در ژنوتیپ برای میزان فعالیت آنزیم کاتالاز، اسکوربات پراکسیداز، گایاکول پراکسیداز و پلی فنل اکسیداز

Figure 2. Mean comparison of the interactions of stress in genotype for catalase, ascorbat peroxidase, polyphenol oxidase and ghayacol peroxidase

گیاهان می‌شود و در نتیجه آن غشاء یاخته‌های تخرب شده و زیست نشانگر (بیومارکر) مالون دی‌آلدهید افزایش می‌یابد، لذا آنزیم GPX در یاخته افزایش یافته تا با از بین بردن اکسیژن‌های رادیکال آزاد جلوی این تخرب را بگیرد (۲۳). در پیماری از مطالعات نشان داده شده است که ارتباط نزدیکی بین افزایش آنزیم پراکسیداز و مقاومت به تنش شوری وجود دارد و مقاومت گیاهان در اثر افزایش پراکسیداز بهبود یافته است (۵۸، ۸). نتایج مشابهی تحت تنش‌های خشکی، باران اسیدی و سرما در گیاهان گندم و نخود گزارش شده است (۶۰، ۵۷، ۱۴) بنابراین افزایش فعالیت پراکسیداز تحت تنش شوری در مطالعه حاضر با توجه به نقش مهم پراکسیداز در حذف آنزیمی H₂O₂، کاهش مالون دی‌آلدهید و حفظ یکپارچگی غشاء سلول کاملاً منطقی به نظر می‌رسد. افزایش میزان شوری از ۵۰ میلی مولار به ۲۰۰ میلی مولار باعث کاهش معنی‌دار میزان فعالیت آنزیم گایاکول پراکسیداز نسبت

آنزیم گایاکول پراکسیداز

بین ژنوتیپ‌ها، سطوح تنش و اثر متقابل آنها از لحاظ فعالیت آنزیم گایاکول پراکسیداز (GPX) در سطح آماری ۱ درصد تفاوت معنی‌داری مشاهده شد (جدول ۱). شکل ۲ نتایج مقایسه میانگین فعالیت آنزیم گایاکول پراکسیداز تحت تیمارهای مختلف شوری در ژنوتیپ‌های مختلف لویبا را نشان می‌دهد. با افزایش سطح شوری به ۵۰ میلی مولار نمک میزان فعالیت آنزیم در همه ژنوتیپ‌ها نسبت به شاهد افزایش یافته. بیشترین افزایش فعالیت آنزیم در ژنوتیپ جولس در مقایسه با شاهد (۱۴ درصد) و کمترین آن در ژنوتیپ ۲۰ (۱۰ درصد) مشاهده گردید (شکل ۲). گایاکول پراکسیداز گلیکوپروتئین‌هایی هستند که در که در سیتوسول، دیواره یاخته‌ای و واکوئل قرار دارند و از اکسایش (اکسیداسیون) ترکیب‌های فنلی مانند گایاکول برای سمزدایی و تجزیه (H₂O₂) استفاده می‌کنند. تنش شوری موجب تنش اکسایشی (اکسیداتیو) در

همبستگی بین صفات

همبستگی مثبت و معنی‌داری بین نشت الکتروولیت با میزان مالون دی‌آلدید و پرولین و همبستگی منفی با فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانتیو مشاهده شد (جدول ۳). با توجه به این که مقدار نشت یونی رابطه عکس با پایداری غشاء سیتوپلاسمی دارد بنابراین می‌توان نتیجه گرفت که ژنوتیپ ناز با داشتن نشت یونی بیشتر، از پایداری غشاء سیتوپلاسمی کمتری برخوردار است. در نتیجه، این ژنوتیپ تحمل کمتری در برابر شوری دارد و بالعکس ژنوتیپ جولس با داشتن نشت یونی کمتر متتحمل‌تر به شوری می‌باشد. در شرایط تنفس شوری همبستگی منفی و معنی‌داری بین فعالیت همه آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانتی در برگ ژنوتیپ‌های لوبیا با نشت الکتروولیت و مالون دی‌آلدید مشاهده شد. همچنین همبستگی مثبت و معنی‌داری بین فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانتی با یکدیگر وجود داشت که نقش این آنزیم‌ها در کاهش آسیبهای ناشی از وقوع نتش اکسیدانتیو را مشخص می‌نماید (جدول ۳).

به سطح تنفس ۵۰ میلی‌مولاً در ژنوتیپ‌ها گردید. به طور متوسط میزان فعالیت این آنزیم در ژنوتیپ ناز نسبت به سایر ژنوتیپ‌ها کمتر بود. کاهش فعالیت آنزیم گایاکول پراکسیداز در سطح شوری ۱۰۰ و ۱۵۰ میلی‌مولاً در گیاه تنباکو مشاهده شده است که با نتایج این مطالعه مطابقت دارد (۲۸). در مطالعه حاضر در سطح شوری ۱۰۰ و ۲۰۰ میلی‌مولاً نمک، فعالیت آنتی‌اکسیدانتی کاهش پیدا کرد دلیل آن احتمالاً می‌تواند به این علت باشد که گیاهان در مراحل اولیه تنفس برای محافظت از ساختارهای سلولی و حفظ فعالیت‌های عادی شروع به افزایش بیان ژن‌های دخیل در سنتز آنزیم‌های دفاعی می‌کنند و کاهش فعالیت آنزیم بعد از حداقل فعالیت احتمالاً به خاطر رفع نیاز سلول و کنترل اثرات مخرب تنفس می‌باشد. فعالیت آنزیم‌ها باید تا حدی ادامه داشته باشد که سلول‌ها به میزان کافی مواد لازم برای مواجه با شرایط تنفس را سنتز کنند و پس از آن به احتمال زیاد لزومی برای ادامه فعالیت بالای این آنزیم نبوده و فعالیت‌شان کم می‌شود یا می‌تواند ناشی از آسیب‌پذیری اندام‌های درگیر در فعالیت آنتی‌اکسیدانتی در اثر شوری بالا باشد.

جدول ۳- ضریب همبستگی خطی (r) بین صفات مطالعه شده

Table 3. Linear correlation (r) between studied traits

صفات	بروتین	کاتالاز	اسکوربات پراسیداز	گایاکول پراکسیداز	پلی فتل پراکسیداز	پرولین	مالون دی‌آلدید	نشت الکتروولیت
پروتین کاتالاز	۱ .۷۴۶**	۱						
اسکوربات پراسیداز گایاکول پراکسیداز	.۰/۲۸۳** .۰/۷۷۷*	.۰/۶۲۳** .۰/۸۸۱**	۱ .۰/۴۴۹**	۱				
پلی فتل پراکسیداز پرولین	.۰/۰۷۹ .۰/۴۹۵**	.۰/۴۵۲** .۰/۰۵۴	.۰/۸۹۳** .۰/۶۳۵**	.۰/۰/۲۲۹ .۰/۰/۲۲۶	۱ .۰/۷۷۰**	۱		
مالون دی‌آلدید نشت الکتروولیت	.۰/۰/۹۲۱** .۰/۰/۸۸۱**	.۰/۰/۶۸۹** .۰/۰/۵۸۴**	.۰/۰/۰۹۸ .۰/۰/۰۶	.۰/۰/۶۷۸** .۰/۰/۵۹۰**	.۰/۰/۰/۵۲ .۰/۰/۱۷۱	.۰/۰/۶۲۹** .۰/۰/۶۶۴**	.۰/۰/۹۲۰** .۰/۰/۹۲۰**	۱

** و *: به ترتیب معنی‌دار در سطح احتمال ۱٪ و ۵٪

آن‌تی‌اکسیدان‌ها در حفظ تعادل گیاه در زمان مواجه با نتش‌های محیطی زنده و غیرزنده می‌توان استباط نمود که ژنوتیپ‌های با فعالیت آنتی‌اکسیدانتی بیشتری (از جمله جولس) از نظر فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی توانایی بالاتری از نظر تحمل نتش‌های محیطی غیر زنده و حفظ توان فتوسنتزی خواهند داشت. بنابراین استفاده از ژنوتیپ جولس در برنامه اصلاحی لوبیا برای بهبود تحمل به نتش شوری را پیشنهاد می‌کنیم.

در مجموع نتایج نشان داد که تفاوت روند فعالیت آنزیم‌ها در ژنوتیپ‌ها نشان‌دهنده این واقعیت است که مشارکت فعال این آنزیم‌ها در ایجاد مقاومت به نتش شوری تا حد نسبتاً زیادی به میزان مقاومت ژنوتیپ‌ها بستگی دارد که در معرض نتش اکسیدانتیو ناشی از شوری قرار می‌گیرند. بنابراین می‌توان نتیجه‌گیری نمود که ژنوتیپ‌ها در پاسخ به نتش شوری فعالیت‌های آنتی‌اکسیدانتی متفاوتی را انتخاب می‌نمایند. این تفاوت در سازوکارهای دفاعی نه تنها در گونه‌های گیاهی مختلف متفاوت است بلکه در ژنوتیپ‌ها و ارقام یک گونه گیاهی نیز متفاوت است. با توجه به نقش اساسی

منابع

1. Aebi, H. 1984. Catalase in vitro. Methods in Enzymology, 105: 121-126.
2. Agarwal, P.K., P. Sheel, K. Gupta and B. Jha. 2013. Bioengineering for salinity tolerance in plants: State of the Art Molecular Biotechnology, 54: 102-123
3. Alexander, M. 1984. Ecology of rhizobium In Biological Nitrogen Fixation: Ecology, Technology. Physiology. Plenum Press, New York, 39.
4. Arzani, A. 2008. Improving salinity tolerance in crop plants: a biotechnological view. In Vitro Cell. Development. Biology. Plant, 44: 373-383
5. Arzani, A. and M. Ashraf. 2016. Smart engineering of genetic resources for enhanced salinity tolerance in crop plants. Critical. Review. Plant Science, 35: 146-189
6. Ashraf, M. 2009. Biotechnological approach of improving plant salt tolerance using antioxidants as markers. Biotechnology Advances, 27(1): 84-93
7. Ashraf, M., Q. Ali. 2008. Relative membrane permeability and activities of some antioxidant enzymes as the key determinants of salt tolerance in canola (*Brassica napus* L.). Environment. Experimental. Botany, 63: 266-273.
8. Askary, M., A.A. Maghsoudi Moud and V.R. Saffari. 2013. Investigation of some physiological characteristics and grain yield of Corn (*Zea mays* L.) hybrids under salinity stress. Journal of Crop Production and Processing, 9(3): 93-103 (In Persian).
9. Azari, A., S.A.M. Modares Sanavi, H. Askari, F. Ghanati, A.M. Naji and B. Alizadeh. 2012. Effect of salt stress on morphological and physiological traits of two species of rapeseed (*Brassica napus* and *B. rapa*). Iranian Journal of Crop Sciences, 14(2): 121-135 (In Persian).
10. Baghizadeh, A., S. Mohammadinejad and M. Rahimi. 2019. Evaluation of Some Biochemical Characteristics of Some Red Bean Ecotypes under Drought Stress Conditions. . Journal of Crop Breeding, 11(29): 55-64 (In Persian).
11. Bates, L.S., R.P. Waldren and I.D. Teare. 1973. Rapid determination of free proline for water stress studies. Plant Soil, 39: 205-207.
12. Bandeoglu, E., F. Eyidogan, M. Yucel and H.A. Oktem. 2004. Antioxidant response of shoots and roots of lentil to NaCl Salinity stress. Plant Growth Regulation, 42: 69-77.
13. Bayuelo-Jiménes, J.S., D.G. Debouck and J.P. Lynch. 2002. Salinity tolerance of Phaseolus species during early vegetative growth. Crop Science, 42: 2184-2192.
14. Berova M., Z. Zlatev and N. Stoeva. 2002. Effect of paclobutrazol on wheat seedlings under low temperature stress. Journal Plant Physiology, 28: 75-84.
15. Bradford, M.M. 1976. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principles of protein-dye binding. Analytical Biochemistry, 72: 248-254.
16. Chance, B. and A.C. Maehly. 1955. Assay of catalases and peroxidase. Methods in Enzymology, 2: 764-775.
17. Daneshmandi, M.S.H. and M. Azizi. 2008. The study on the effect of water stress and Super Absorbent polymer (SAP) on some quantity and quality characteristics of Sweet basil (*Ocimum basilicum* L. var. keshkeny levelu). Inthernational Iranian Horticultural Science Congress, At Rasht, Iran.
18. Demiral, T. and I. Turkan. 2005. Comparative lipid peroxidation, antioxidant defense systems and proline content in roots of two rice cultivars differing in salt tolerance. Environ. Exp. Botany, 53: 247-257.
19. Di Cori, P., S. Lucioli, A. Frattarelli, P. Nota, E. Tel-Or, E. Benyamin, H. Gottlieb, E. Caboni and C. Forni. 2013. Characterization of the response of in vitro cultured *Myrtus communis* L. plants to high concentrations of NaCl. Plant Physiology and Biochemistry, 73: 420-426.
20. FAO Statistical Yearbook. 2013. World Food and Agriculture.
21. FAO. 2016. *FAO Soils Portal*. Availableat: <http://www.fao.org/soils-portal/soil-management/management-of-some-problem-soils/salt-affected-soils/more-information-on-salt-affected-soils/en/>.
22. Gerami, M., A. Mohammadian and V. Akbarpour. 2019. The Effect of Putrescine and Salicylic Acid on Physiological Characteristics and Antioxidant in Stevia Rebaudiana B. Under Salinity Stress. Journal of Crop Breeding, 11(29): 40-54 (In Persian).
23. Ghorbani Ghohzdi, H. 2005. Grapes. In: H. Ghorbani Ghohzdi & A. Ladanmoghadam, Introduction to oxidative stresses and palnt strians (In Persian).
24. Gill, S. and N. Tuteja. 2010. Reactive oxygen species and antioxidant machinery in abiotic stress tolerance in crop plants. Plant Physiol. Biochemistry, 48: 909-930.
25. Guo, R., W. Hao and D. Gong. 2012. Effects of water stress on germination and growth of linseed seedlings (*Linum usitatissimum* L.), photosynthetic efficiency and accumulation of metabolites. Journal of Agricultural Science, 4: 253.
26. Gupta, B. and B. Huang. 2014. Mechanism of Salinity Tolerance in Plants: Physiological, Biochemical and Molecular Characterization. International Journal of Genomics, 1-18.

27. Hanin, M., C. Ebel, M. Ngom, L. Laplaze and K. Masmoudi. 2016. New Insights on Plant Salt Tolerance Mechanisms and Their Potential Use for Breeding. *Front_Plant_Science*, 7: 1787.
28. Hatamnia, A.A., N. Abbaspour, R. Darvishzadeh, F. Rahmani and R. Heidari. 2013. Tobacco responds to salt term salinity stress in relation to oxidative stress, antioxidant activity and osmolyte concentration. *Plant Science* 163: 1037-1046.
29. Hayat, S., Q. Hayat, M.N. Alyemeni and A.S. Wanil. 2012. Role of proline under changing environments: a review. *Plant Signal. Behavvior*, 7: 1456-1466.
30. Heath, R.L. and L. Packer. 1968. Photo peroxidation in isolated chloroplasts. I. Kinetics and stoichiometry of fatty acid peroxidation. *Arch Biochemistry Biophysics*, 125: 189-198.
31. Hoque, M., E. Okuma, M. Banu, Y. Nakamura, Y. Shimoishi and Y. Murata. 2007. Exogenous proline mitigates the detrimental effects of salt stress more than exogenous betaine by increasing antioxidant enzyme activities. *Journal of Plant Physiology*, 164: 553-561.
32. Jabari, F., A. Ahmadi and K. Poustini. 2006. Relationships between anti-oxidant enzymes activates and chlorophyll content of different wheat cultivars. *Journal of Agricultural Science*, 37(1): 307-316.
33. Jebara, S., M. Jebara, F. Limam and M. Elarbi Aouani. 2005. Changes in ascorbate peroxidase,catalase, guaiacol peroxidase and superoxide dismutase activities in common bean (*Phaseolus vulgaris*) nodules under salt stress. *Plant Physiology*, 162: 929-936
34. Jome Bidokhti, E. 2014. Invistigation on growth chatacteristics, grain yield and yield components of some varieties Chickpea (*Cicer arietinum* L.) under salinity stress. M.Sc. Thesis in agronomy, Faculty of Agriculture University of Birjand (In Persian).
35. Kar, M. and D. Mishra. 1976. Catalase, Peroxidase and polyphenoloxidase activities during rice leaf senescence. *Plant Physiology*, 57: 315-319.
36. Karray-Bouraoui, N., M. Rabhi, H. Attia, F. Harbaoui, I. Jallali, R. Ksouri, N. Msilini and M. Lachaâl. 2011 Different antioxidant responses to salt stress in two different provenances of *Carthamus tinctorius* L. *Acta Physiologiae Plantarum*, 33: 1435-1444.
37. Kaur, G., H.P. Singh, D.R. Batish and R.K. Kohli. 2012. Growth, photosynthetic activity and oxidative stress in wheat (*Triticum aestivum*) after exposure of lead to soil. *Journal. Environment. Biology*, 33(2): 265-9.
38. Khalesro, S.H. and M. Aghaalikhani. 2007. Effect of salinity and water deficit stress on seed germination. *pajouhesh and Sazandegi*, 77: 153-163 (In Persian).
39. Khan, N.A. and S. Singh. 2008. Abiotic stress and plant responses. I K International Publishing House, New Delhi, 312 pp.
40. Kumar, S.A., S. Beena, A. Monika and A. Singh. 2017. Physiological, Biochemical, Epigenetic and Molecular Analyses of Wheat (*Triticum aestivum*) Genotypes with Contrasting Salt Tolerance. *Plant Science*, 8(1151): 1-10.
41. Läuchli, A. 1984. Salt exclusion: An adaptation of legumes for crops and pastures under saline conditions. In *Salinity Tolerance in plants: Strategies for Crop Improvement*, Staples, eds. R.C., Toenniessen, G. H., Wiley, New York, 155-159.
42. Masood, S.A., M. Hasanuzzaman, M.I.R. Khan and N.A. Anjum. 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.
43. Moradi, F. and M.I. Abdelbaghi. 2007. Responses of photosynthesis, chlorophyll fluorescence and ROS-scavenging systems to salt stress during seedling and reproductive stages in rice. *Ann. Botany*, 99: 1161-1173.
44. Mudgal V., N. Madaan, A. Mudgal. 2010. Biochemical Mechanisms of salt Tolerance in Plants: A Review. *International Journal of Botany*, 6: 136-143.
45. Munns, R. and R.A. James. 2003. Screening methods for salinity tolerance: a case study with tetraploid wheat. *Plant and Soil*, 253: 201-218.
46. Rasoolnia, A., M.R. Bi hamta, A. Peyghambari, H. Alizade, S. Takallo and M. Kamalizade. 2012. Evaluation of leaf proteome pattern and antioxidant activity of barley under salinity stress. *Iranian Journal of Field Science*, 43(2): 231-241 (In Persian).
47. Roxas, V.P., R.K. Smith, E.R. Allen and R.D. Allen. 1997. Over expression of glutathione Stransferase/ glutathione peroxidase enhances the growth of transgenic tobacco seedlings during stress. *Nat. Biotech*, 15: 988-991.
48. Rout, N.P. and B.P. Shaw. 2001. Salt tolerance in aquatic macrophytes: Possible Involvement of the antioxidative enzymes. *Plant Science*, 160: 415-423.
49. Sabokdast, M., M. Dashtaki Y. Sasani and A. Rezaizadeh. 2017. Effect of drought stress on some agronomic characteristics, grain yield and its components in bean genotypes. *Iranian Journal of Field Crop Science*, 48(4): 1201-1209 (In Persian).
50. Sairam, R.K., K.V. Rao and G.C. Srivastava. 2002. Differential response of wheat genotypes to long-term salinity stress in relation to oxidative stress, antioxidant activity and osmolytes concentration. *Plant Science*, 163: 1037-1046.
51. Shi, D. and Y. Sheng. 2004. Effect of various salts alkaline mixed stress conditions on sunflower seedling and analysis of their stress factors. *Environmental and Experimental Botany*, 54: 8-21.

۵۲. Shao, H.B., Z.S. Liang and M.A. Shao. 2005. Changes of anti-oxidative enzymes and MDA content under soil water deficits among 10wheat (*Triticum aestivum* L.) genotypes at maturation stage. *Colloids and Surfaces Biointerfaces*, 45: 7-13.
۵۳. Siddiqi, E.H., M. Ashraf, F. Al-Qurainary and N.A. Akram. 2011. Salt-induced modulation in inorganic nutrients, antioxidant enzymes, proline content and seed oil composition in safflower (*Carthamus tinctorius* L.). *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 91: 2785-2793.
۵۴. Summart, J., P. Thanonkeo, S. Panichajakul, P. Prathepha and M.T. Mc Manse. 2010. Effect of salt stress on growth, inorganic ion and proline accumulation in Thai aromatic rice, Kaho Dawk Mail 105, Callus Culture, 9(2): 145-152.
۵۵. Szabados, L. and A. Savoure. 2010. Proline: a multifunctional amino acid. *Trends Plant Science*, 15: 89-97.
۵۶. Tuteja, N. and S.S. Gill. 2010. Reactive oxygen species and antioxidant machinery in abiotic stress tolerance in crop plants. *Plant Physiology and Biochemistry*, 48: 909-930.
۵۷. Velikova, V., I. Yordanov and A. Edreva. 2000. Oxidative stress and some antioxidant systems in acid rain-treated bean plants: protective role of exogenous polyamines. *Journal of Plant Science*, 151: 59-66.
۵۸. Yasar, F., S. Ellaliogluand, K. Yildiz. 2008. Effect of salt stress on antioxidant defense systems, lipid peroxidation and chlorophyll content in green bean. *Russian Journal Plant Physic*, 55(6): 782-786.
۵۹. Yildiz, M. and H. Terzi. 2013. Effect of NaCl stress on chlorophyll biosynthesis, proline, lipid peroxidation and antioxidative enzymes in leaves of salt-tolerant and salt-sensitive barley cultivars. *Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi Tarım Bilimleri Dergisi. Journal of Agricultural Sciences*, 19: 79-88.
۶۰. Zhang, Z.H., Q. Liu, H.X. Song, X.M. Rong and A.M. Ismail. 2012. Responses of different rice (*Oryza sativa* L.) genotypes to salt stress and relation to carbohydrate metabolism and chlorophyll content. *African Journal Agriculture. Research*, 7: 19-27.
۶۱. Zhang, Y.J., X. Zhang, C.J. Chen, M.J. Zhou and H.C. Wang. 2010. Effects of fungicides JS399- 19, azoxystrobin, tebuconazloe and carbendazim on the physiological and biochemical indices and grain yield of winter wheat. *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 98: 151-157.

Evaluation of Tolerance Rate of Some Genotypes of Beans (*Phaseolus Vulgaris L.*) To Salinity Stress

Shokofeh Dastneshan¹ and Manijeh Sabokdast²

1- M.Sc. Student, Agronomy and Plant Breeding Department, College of Agriculture and Natural Resources,
University of Tehran, Iran

2- Assistant Professor, Agronomy and Plant Breeding Department, College of Agriculture and Natural Resources,
University of Tehran, Iran (Corresponding author: sabokdast@ut.ac.ir)

Received: May 31, 2019 Accepted: October 1, 2019

Abstract

Evaluation of the physiological and biochemical traits can help to identify strategies for selection of resistant cultivars and increased crop yield production under diverse environmental conditions such as SALT stress conditions. To this end, an experiment was conducted in a greenhouse based on a completely randomized design (CRD) with three replications. The experimental factors were six genotype of common bean (Naz, Jules, 94.74, 20, 2) and four levels of). Salinity (zero as control, 50, 100 and 200 mM NaCl). Salt stress was applied five weeks after planting and lasted for 10 days. Second trifoliolate were used for sampling. Some physiological and biochemical characteristics including Electrolyte leakage (EL), Proline, total soluble proteins, malondialdehyde, Enzyme activity catalase, ascorbat peroxidase, polyphenol oxidase and ghayacol peroxidase were measured at the end of the experiment. Result showed that all genotype with increasing salinity level (up 200 Mm) had similar response, but the intensity of these responses was different in various genotypes. Overall, the highest and lowest content Prolin, malondialdehyde, enzymes activity of catalase, ghayacol peroxidase and ascorbat peroxidase were recorded at salinity level of 200Mm in jules and naz respectively. By evaluating of the studied traits, with considering physiological and biochemical characteristics, it could be conclude that genotype julse was salt tolerant in comparison to the rest of genotypes.

Keywords: Abiotic Stress, Common Bean, Sodium Chloride, Tolerance, Oxidative Stress