



ارزیابی میزان تحمل برخی ژنوتیپ‌های لوبیا (*Phaseolus vulgaris* L.) به شوری

شکوفه دست‌نشان^۱ و منیژه سبک‌دست^۲

۱- دانشجوی کارشناسی ارشد، گروه زراعت و اصلاح نباتات، دانشکده پردیس کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه تهران
۲- استادیار، گروه زراعت و اصلاح نباتات، دانشکده پردیس کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه تهران (نویسنده مسؤل: sabokdast@ut.ac.ir)
تاریخ دریافت: ۹۸/۳/۱۰ تاریخ پذیرش: ۹۸/۷/۹
صفحه: ۱۸۴ تا ۱۹۲

چکیده

مطالعه صفات فیزیولوژیک و بیوشیمیایی می‌توانند به شناخت راهکارهایی برای انتخاب ارقام متحمل و افزایش عملکرد در شرایط متنوع محیطی از جمله شرایط تنش شوری کمک کنند. به همین 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)، ۵۰، ۱۰۰ و ۲۰۰ میلی‌مولار نمک طعام) و شش ژنوتیپ لوبیا (جولس، ناز، ۹۶، ۲۰، ۲ و ۷۴) بود. سطوح تنش شوری پنج هفته پس از کاشت بذر اعمال شد و ده روز پس از اعمال تنش از سه برگچه دوم نمونه‌گیری شد. بعضی صفات بیوشیمیایی و فیزیولوژیک از قبیل میزان نشت الکترولیک، پرولین، مالون دی‌آلدئید، فعالیت آنزیم‌های کاتالاز، گایاکول پراکسیداز و اسکوربات پراکسیداز، پلی‌فنل‌اکسیداز و پروتئین محلول کل اندازه‌گیری شد. نتایج نشان داد تمامی ژنوتیپ‌های مورد مطالعه با افزایش سطح نمک تحت تنش شوری قرار گرفتند، اما پاسخ آن‌ها به تنش متفاوت بود. در مجموع بیشترین و کمترین میزان پرولین، مالون دی‌آلدئید، فعالیت‌های آنزیمی کاتالاز، اسکوربات پراکسیداز، گایاکول پراکسیداز و پلی‌فنل‌اکسیداز در سطح ۲۰۰ میلی‌مولار نمک به ترتیب در ژنوتیپ جولس و ناز مشاهده شد. با بررسی صفات اندازه‌گیری شده و با مد نظر قرار دادن ویژگی‌های فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی ژنوتیپ جولس در قیاس با دیگر ژنوتیپ‌ها به تنش شوری متحمل بوده و به عنوان بهترین ژنوتیپ در شرایط این پژوهش معرفی شد.

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

مقدمه

شوری خاک و آب از عوامل‌های 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، ۸۰۰ میلیون هکتار زمین و ۳۲ میلیون هکتار زمین کشاورزی تحت تاثیر نمک قرار دارند (۳۱).

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

تنش شوری موجب تغییرات بیوشیمیایی، فیزیولوژیک و مورفولوژیک متعددی در گیاه شده و رشد، فتوسنتز، تنفس، سنتز پروتئین و تولید انرژی را تحت تاثیر قرار می‌دهد (۲۶) در مراحل اولیه مواجهه گیاه با تنش شوری به دلیل خشکی فیزیولوژیک، آب از دسترس گیاه خارج و پتانسیل اسمزی محیط اطراف ریشه به دلیل افزایش یون‌های سدیم و کلر کاهش 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 به هم خوردن توازن متابولیکی شده و سپس تنش اکسیداتیو در گیاه ایجاد می‌گردد

(۴). تنش اکسیداتیو در نتیجه ازدیاد انواع فرم‌های فعال اکسیژن^۱ (ROS) نظیر رادیکال سوپراکسید، پراکسید هیدروژن و رادیکال هیدروکسیل بوجود می‌آید. فرم‌های فعال اکسیژن باعث اختلالات متابولیکی مانند اکسیداسیون لیپیدهای غشاء، پروتئین‌ها و اسیدهای نوکلئیک می‌شود (۴۲).

گیاهان برای غلبه بر آثار اکسیداتیو القا شده از شوری، از یک سیستم آنتی‌اکسیدانتی پیچیده استفاده می‌کنند، که می‌تواند به دو گروه سیستم‌های غیر آنزیمی و آنزیمی طبقه‌بندی شود گروه اول (غیر آنزیمی) شامل مولکول‌های کوچک مانند ویتامین (A، C و E) و کاروتنوئیدها است که می‌تواند به طور مستقیم با ROSها واکنش نشان دهد. گروه دوم آنتی اکسیدانت‌های آنزیمی نظیر سوپراکسید دیسموتاز، پراکسیداز و کاتالاز هستند که با اشکال فعال اکسیژن واکنش نشان می‌دهد و آنها را در سطح پایین فعالیت نگه می‌دارند. مطالعات متعدد نشان داده که مقاومت به تنش اکسیداتیو تا حدود زیادی با مقاومت به شوری در گیاهان مرتبط است (۲۴). به بیان دیگر ارقام متحمل به شوری از طریق افزایش فعالیت آنتی‌اکسیدان‌های مختلف سازوکار دفاعی بهتری در برابر تنش اکسیداتیو نسبت به ارقام حساس نشان می‌دهند (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 شوری در گندم (۳۸) و برنج (۶۱) گزارش شده است. مقاومت

1- Reactive oxygen species

و استحکام غشاهای سلولی به‌طور 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 تنش اسمزی اعمال شده توسط غلظت‌های بالای نمک، تجمع و انباشتگی برخی محلول‌های سازگار از قبیل پرولین، گلايسين بتائين و پلی‌اول‌ها و ... است (۱۰، ۶۱). پرولین تنها اسید آمینه‌ای (اسید آمینه‌ای با یک گروه آمین ثانویه) است که نه تنها به‌عنوان اسمولیت عالی، بلکه به‌عنوان یک مولکول دفاعی آنتی اکسیداتیو و مولکول پیام‌آور عمل می‌کند. در نتیجه، تعادل اسمزی، یکپارچگی غشاء و غلظت ROS را در محدوده طبیعی حفظ می‌کند؛ بنابراین از انفجار اکسیداتیو در گیاه جلوگیری می‌کند (۲۹).

در بین حبوبات، لوبیای معمولی (*Phaseolus vulgaris* L.) به‌جهت داشتن بیشترین سطح زیرکشت و تولید، اهمیت ویژه‌ای دارد (۲۰). ۲۰-۳۰ درصد تولیدات لوبیا در خاورمیانه به‌دلیل شوری به هدر می‌رود (۱۳) در چنین شرایطی به‌دلیل اینکه لوبیا بسیار به شوری حساس است عملکرد افت پیدا می‌کند (۴۱). لوبیا و سایر لگوها، گیاهان نه تنها یک علوفه مغذی به‌شمار می‌روند 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 با استفاده از روش‌های مثل بررسی فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیداتیو 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 متحمل به تنش شوری را شناسایی کرد. لذا این پژوهش به‌منظور بررسی مکانیسم و شناسایی صفات فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی موثر در متحمل یا حساس بودن ژنوتیپ‌های لوبیا در مرحله گیاهچه‌ای در شرایط تنش شوری جهت کمک به توسعه کشت این گیاه در مواجهه 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 به‌صورت 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 لوبیای معمولی شامل (جولس، ناز، ۹۶، ۲۰، ۲ و ۷۴) 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 عفونی 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

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 الکترولیت غشاء پلاسما، از آخرین برگ توسعه یافته، تعداد پنج عدد پانچ تهیه و در ۲۵ سی سی آب مقطر دیونیزه قرار گرفت. نمونه‌ها به‌مدت سه ثانیه به‌هم 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 الکترولیت‌ها 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) به‌روش جابرا و همکاران (۳۳) و بر اساس میزان اکسید شدن اسکوربات 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 فنل اکسیداز (PPO) بر اساس روش کار و میشر (۳۵) در طول موج ۴۲۰ نانومتر اندازه‌گیری شد. میزان فعالیت ویژه آنزیم به‌صورت جذب در دقیقه در میلی‌گرم پروتئین گزارش شد. میزان مالون دی‌آلدهید (MDA) به‌عنوان شاخص پراکسیداسون لیپید بر اساس روش هیت (۳۰) در نظر گرفته شد. آنالیز واریانس، تجزیه به عامل‌ها و مقایسه میانگین‌ها به‌روش 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 الکترولیتی (Electrolyte Leakage Index)

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

کمترین میزان پایداری غشاء در شرایط تنش شدید مشاهده گردید. پژوهش به عمل آمده بر روی گندم نیز نشان داد ارقامی که نشأت یونی کمتری دارند، به شوری متحمل‌ترند (۳۲).

پرولین

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

از آنجا که غشای پلاسمایی از اولین بخش‌های گیاهی است که تحت تنش آسیب می‌بیند، حفظ انسجام غشا و جلوگیری از واپاشیدگی آن یکی از راهکارهای مهم در اصلاح برای افزایش تحمل به تنش محسوب می‌شود. در شرایط تنش شوری، تولید و تجمع گونه‌های فعال اکسیژن نظیر سوپراکسید، هیدروژن پراکسید و رادیکال‌های اکسیژن افزایش می‌یابد که به بسیاری از ترکیبات سلولی نظیر چربی‌ها، پروتئین‌ها، کربوهیدرات‌ها و اسیدهای نوکلئیک صدمه می‌زند با تغییر ساختمان غشا، در اثر پراکسیداسیون چربی‌ها و پروتئین‌ها، تراوایی غشای سلولی را افزایش می‌دهند که منجر به نشت الکترولیت‌های 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 تنش رطوبتی را به عنوان یک جزء اصلی تحمل به تنش در ژنوتیپ‌های متحمل مطرح کرده‌اند (۳۲). افزایش نشت یونی غشاء و کاهش محتوای آب نسبی با افزایش سطح شوری و در نتیجه خشکی فیزیولوژیک حاصل از آن در برخی آزمایش‌ها روی ارقام آفتابگردان، 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 شوری بر میزان تراوش یونی غشاء در برگ ذرت اثر معنی‌داری داشت به طوری که نشت یونی با افزایش شوری 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 تغییرات	درجه آزادی	میانگین مربعات							
		نشت الکترولیت (ELI)	پرولین	مالون دی آلدئید (MDA)	پروتئین	کاتالاز (CAT)	اسکوربات پراکسیداز (APX)	گایاکول پراکسیداز (GPX)	پلی فنل اکسیداز (PPO)
تکرار	۳	۰/۰۷ ^{ns}	۰/۱۴۷ ^{ns}	۰/۰۰۰۰۱ ^{ns}	۰/۰۰۰۱ ^{ns}	۰/۰۰۰۰۱ ^{ns}	۰/۰۰۰۰۸ ^{ns}	۰/۰۰۰۰۳ ^{ns}	۰/۰۰۱ ^{ns}
ژنوتیپ	۵	۶۳۷/۶۲ ^{**}	۹۴/۴۰۱ ^{**}	۰/۰۰۷ ^{**}	۰/۰۳۲ ^{**}	۰/۱۰۹ ^{**}	۰/۰۰۹ ^{**}	۰/۰۱۲ ^{**}	۰/۵۹۲ ^{**}
شوری	۳	۳۱۹۹/۹۳ ^{**}	۱۷۹۱/۳۲۸ ^{**}	۰/۰۲۸ ^{**}	۰/۰۶۸ ^{**}	۰/۰۳۵ ^{**}	۰/۰۰۴ ^{**}	۰/۰۰۷ ^{**}	۰/۶۰۸ ^{**}
شوری × ژنوتیپ	۱۵	۳۱/۲۷ ^{**}	۵/۲۳۹ ^{**}	۰/۰۰۰۳ ^{**}	۰/۰۰۳ ^{**}	۰/۰۰۲ ^{**}	۰/۰۰۲ ^{**}	۰/۰۰۰۲ ^{**}	۰/۰۲۲ ^{**}
خطا	۴۶	۰/۲۲	۰/۲۱۰	۰/۰۰۰۴	۰/۰۰۰۱	۰/۰۰۰۰۷	۰/۰۰۰۰۴	۰/۰۰۰۰۴	۰/۰۰۳
ضریب تغییرات		۴/۶۹	۲/۵۶	۸/۳۳	۴/۷۴	۲/۹۹	۷/۳۰	۶/۹۲	۵/۹۵

^{ns}، * و ** به ترتیب معنی‌دار در سطح احتمال یک و پنج درصد و غیرمعنی‌دار

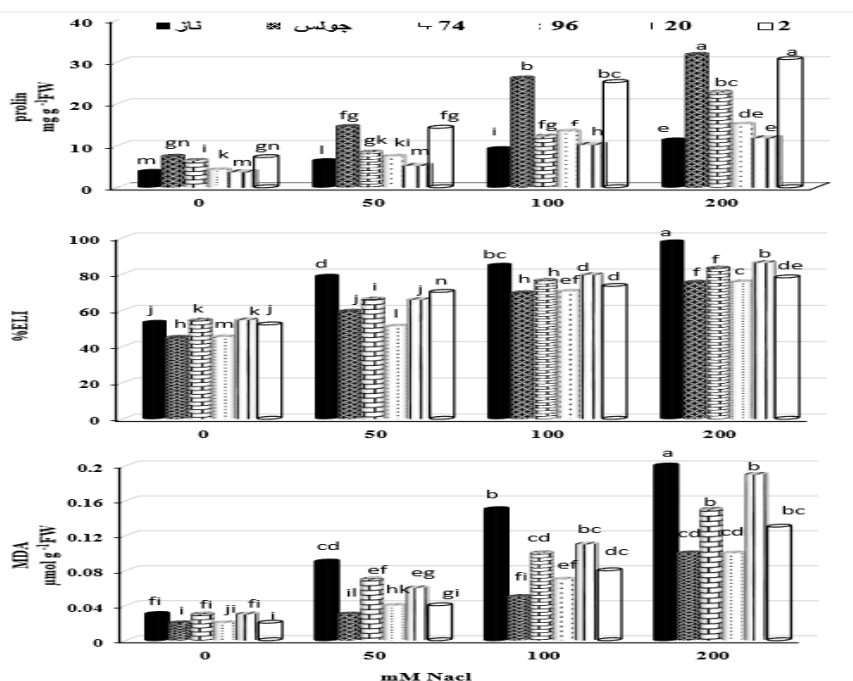
جدول ۲- مقایسه میانگین اثر متقابل تنش شوری و ژنوتیپ بر صفات مورد سنجش در ۶ ژنوتیپ لوبیا
Table 2. Comparison of the average effect of salt stress and genotype on traits measured in six beans genotypes

نشت الکترولیک (%)	مالون دی آلدئید $\mu\text{mol g}^{-1} \text{FW}$	پروکلین $\text{mg g}^{-1} \text{FW}$	پروتئین $\text{mg g}^{-1} \text{FW}$	گایاکول پراکسیداز $\text{unite mg}^{-1} \text{protein}$	پلی فنل اکسیداز $\text{unite mg}^{-1} \text{protein}$	اسکوربات پراکسیداز $\text{unite mg}^{-1} \text{protein}$	کاتالاز $\text{unite mg}^{-1} \text{protein}$	تیمار
ژنوتیپ								
جولس	۰/۰۴۹ ^d	۲۱/۲۳۳ ^a	۰/۳۵۶ ^a	۰/۱۴۷ ^a	۱/۲۲۴ ^a	۰/۱۳۵ ^a	۰/۴۰۱ ^a	ژنوتیپ
ناز	۰/۱۱۵ ^a	۱۴/۱۰۰ ^f	۰/۲۱۳ ^d	۰/۰۸۳ ^c	۰/۶۲۰ ^d	۰/۰۶۰ ^d	۰/۱۸۴ ^e	جولس
۷۴	۰/۰۸۳ ^d	۱۷/۶۰۸ ^d	۰/۲۵۶ ^c	۰/۰۷۳ ^d	۰/۸۴۲ ^c	۰/۰۸۳ ^c	۰/۲۳۱ ^d	ناز
۹۶	۰/۰۵۷ ^{cd}	۱۹/۱۵۰ ^c	۰/۳۱۸ ^d	۰/۱۲۱ ^d	۱/۰۵۵ ^d	۰/۱۰۶ ^d	۰/۳۸۰ ^d	۷۴
۲۰	۰/۰۸۹ ^d	۱۵/۲۳۳ ^e	۰/۲۶۰ ^c	۰/۰۶۴ ^d	۰/۸۲۹ ^c	۰/۰۷۳ ^c	۰/۱۸۷ ^e	۹۶
۲	۰/۰۶۳ ^c	۲۰/۱۴۱ ^d	۰/۳۱۱ ^d	۰/۰۸۹ ^c	۱/۱۱۰ ^d	۰/۱۱۰ ^d	۰/۳۰۲ ^c	۲۰
سطح تنش mM								۲
۰	۰/۰۳۳ ^d	۷/۱ ^d	۰/۳۵۶ ^a	۰/۱۰۳ ^d	۰/۷۳۵ ^d	۰/۰۷۴ ^c	۰/۲۸۶ ^d	سطح تنش mM
۵۰	۰/۰۵۶ ^c	۱۲/۲ ^c	۰/۳۱۱ ^d	۰/۱۱۹ ^a	۰/۸۶۲ ^c	۰/۰۹۱ ^d	۰/۳۳۶ ^a	۰
۱۰۰	۰/۰۹۱ ^d	۳۳/۷ ^d	۰/۲۶۴ ^c	۰/۰۹۳ ^c	۱/۰۴۰ ^d	۰/۱۰۸ ^a	۰/۲۷۳ ^c	۵۰
۲۰۰	۰/۱۲۴ ^a	۲۸/۶ ^a	۰/۲۱۲ ^d	۰/۰۶۹ ^c	۱/۱۴ ^d	۰/۱۰۶ ^a	۰/۲۲۸ ^d	۱۰۰
								۲۰۰

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

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

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



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

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

مالون دی‌آلدئید

تجزیه واریانس نشان داد که غلظت مالون دی‌آلدئید برگ ژنوتیپ‌های لوبیا 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 ۰/۳۳ میکرومول در گرم وزن تر برگ در شاهد (سطح صفر) به ۰/۱۲۴ میکرومول در گرم وزن تر برگ در سطح ۲۰۰ 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 ۲۰۰ میلی‌مولار بیشترین مقدار مالون دی‌آلدئید در ژنوتیپ ناز مشاهده شد که مقدار مالون دی‌آلدئید از ۰/۰۳ میکرومول در گرم وزن تر برگ در شاهد به ۰/۲۰ میکرومول در گرم وزن تر برگ در سطح ۲۰۰ میلی‌مولار افزایش یافت و کمترین مقدار پرولین در این سطح تنش به ژنوتیپ جوس اختصاص داشت که مقدار مالون دی‌آلدئید از ۰/۰۲ میکرومول در گرم وزن تر برگ در شاهد به ۰/۱۰ میکرومول در گرم وزن تر برگ در سطح ۲۰۰ میلی‌مولار افزایش داشت (شکل ۱). پراکسیداسیون غشایی که نتیجه اثرات رادیکال‌های آزاد هستند نشان‌دهنده آسیب در سطح سلول می‌باشند (۱۹، ۵۲). بنابراین سطح مالون دی‌آلدئید حاصل از پراکسیداسیون لیپیدی غشاء اغلب به‌عنوان یک شاخص برای آسیب‌های اکسیداتیو به‌کار می‌رود (۶، ۳۷). در بسیاری از گیاهان زراعی مانند گندم، عدس همراه با افزایش تولید ROS، افزایش در پراکسیداسیون لیپیدی غشاهای زیستی نیز مشاهده شده است (۱۲، ۴۵). تجمع مالون دی‌آلدئید در شرایط تنش سبب افزایش نفوذپذیری غشاء پلاسمایی شده و نشت یونی افزایش می‌یابد (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 جوس در سطح شوری ۲۰۰ میلی‌مولار کمتر از ژنوتیپ‌های دیگر بود.

آنزیم کاتالاز

نتایج تجزیه واریانس نشان داد که سطح شوری، ژنوتیپ‌های لوبیا 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 لوبیا در شکل ۲ نشان داده شده است. با افزایش سطح شوری به ۵۰ میلی‌مولار نمک طعام میزان آنزیم کاتالاز در همه ژنوتیپ‌ها نسبت به شاهد افزایش داشت (شکل ۲ و جدول ۲). بیشترین افزایش در ژنوتیپ جوس (۳۲ درصد) و کمترین آن در ژنوتیپ ناز (۱۰ درصد) مشاهده گردید (شکل ۲) با افزایش سطح شوری از ۵۰ به ۱۰۰ میلی‌مولار نمک طعام میزان فعالیت آنزیم کاتالاز در ژنوتیپ جوس افزایش یافت و بیشترین فعالیت کاتالاز در ژنوتیپ جوس برابر با ۰/۴۴ در تیمار ۱۰۰ میلی‌مولار به‌دست آمد. در حالیکه افزایش مقدار نمک از ۵۰ به ۱۰۰ میلی‌مولار باعث کاهش معنی‌دار فعالیت کاتالاز در سایر ژنوتیپ‌ها گردید. کاهش فعالیت آنزیم در این ژنوتیپ‌ها احتمالا نشان

می‌دهد که فرآیند انهدام H_2O_2 تولید شده در اثر تنش شوری در این ژنوتیپ‌ها از کارآمدی کمتری برخوردار است. ری و همکاران (۳۶) نشان دادند که تحت تنش شوری میزان فعالیت آنزیم کاتالاز در رقم حساس به شوری گلرنگ 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 آنجایی که آنزیم کاتالاز در پراکسی‌زوم‌ها سلول‌های برگ واقع شده است و در کلروپلاست یافت نمی‌شود. پراکسید هیدروژن تولید شده در کلروپلاست بیشتر توسط ایزوم‌های مختلف اسکوربات پراکسیداز از محیط حذف می‌گردد (۲۴). به‌همین 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 اسکوربات پراکسیداز

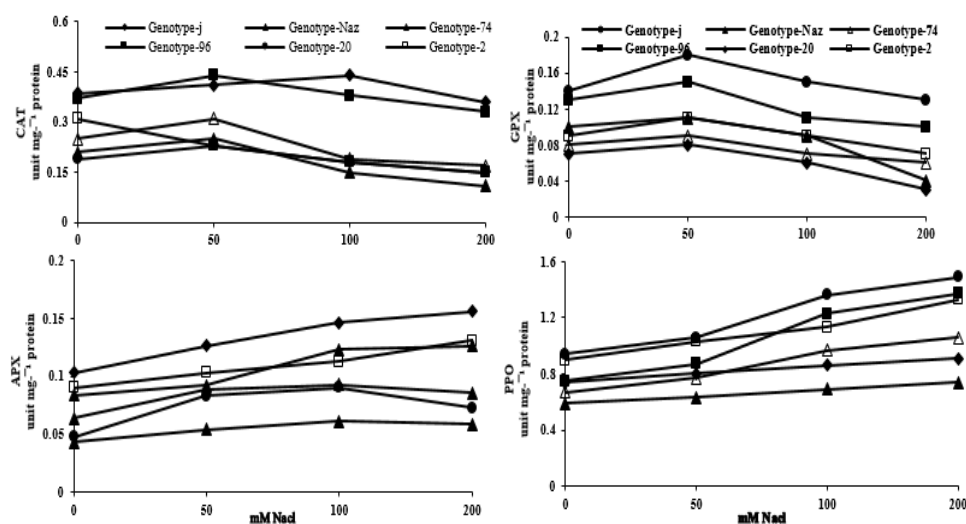
نتایج حاصل از تجزیه واریانس داده‌های فعالیت آنزیم اسکوربات پراکسیداز نشان داد که بین سطوح شوری، ژنوتیپ و برهم کنش شوری و ژنوتیپ در سطح ۱ درصد اختلاف معنی‌دار وجود دارد (جدول ۱). نتایج مقایسه میانگین فعالیت آنزیم سوپر اکسید دیسموتاز تحت تیمارهای مختلف شوری در ژنوتیپ‌های مختلف لوبیا نشان داد که ژنوتیپ جوس با میزان ۰/۱۰۳ تغییرات جذب در میلی‌گرم پروتئین دارای بیشترین و ژنوتیپ ناز با ۰/۰۴۳ تغییرات جذب در میلی‌گرم پروتئین کمترین میزان فعالیت اسکوربات پراکسیداز را در شرایط نرمال داشتند (جدول ۲ و شکل ۲). افزایش سطح تنش شوری موجب افزایش میزان فعالیت آنزیم اسکوربات پراکسیداز در تمام ژنوتیپ‌های مورد مطالعه گردید. اما روند افزایش در ژنوتیپ‌های مورد مطالعه متفاوت بود به‌طوری‌که در سطح شوری ۲۰۰ میلی‌مولار ژنوتیپ جوس با ۵۲ درصد دارای بیشترین و ژنوتیپ ناز با ۳۷ درصد دارای کمترین افزایش فعالیت این آنزیم در مقایسه با شاهد بود (شکل ۲). به‌طور متوسط میزان فعالیت آنزیم اسکوربات پراکسیداز در ژنوتیپ ناز نسبت به سایر ژنوتیپ‌ها کمتر بود. یکی از آنتی اکسیدانت‌های آنزیمی مهم در گیاهان اسکوربات پراکسیداز می‌باشد (۳۹) وظیفه این آنزیم سم‌زدایی H_2O_2 با کمک اسکوربیک اسید است (۵۶). افزایش فعالیت آنزیم اسکوربات پراکسیداز در شرایط تنش شوری در مطالعات متعددی گزارش شده است (۱۸). نتایج این آزمایش با یافته‌های مرادی و عبدالباقی (۴۳) در برنج، 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

به‌طوریکه در سطح شوری ۲۰۰ میلی‌مولار ژنوتیپ جوس با ۵۸ درصد دارای بیشترین و ژنوتیپ ناز با ۲۵ درصد دارای کمترین افزایش فعالیت این آنزیم در مقایسه با شاهد بودند (شکل ۲). به‌طور 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 نموده‌اند. رکزاس و همکاران (۴۷) نیز افزایش پلی فنل اکسیداز را در شرایط شور تأیید نموده‌اند. سایر گزارشات نیز در هماهنگی 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 برهم‌کنش شوری و ژنوتیپ بر میزان فعالیت آنزیم پلی فنل اکسیداز بود (جدول ۱). مقایسه میانگین‌ها نشان داد که ژنوتیپ جوس با میزان ۰/۹۴ جذب در میلی‌گرم پروتئین دارای بیشترین و ژنوتیپ ناز با ۰/۵۹ 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 تخریب شده و زیست نشانگر (بیومارکر) مالون دی‌آلدئید افزایش می‌یابد، لذا آنزیم GPX در یاخته افزایش‌یافته تا با از بین بردن اکسیژن‌های رادیکال آزاد جلوی این تخریب را بگیرد (۲۳). در بسیاری 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 دی‌آلدئید و حفظ یکپارچگی غشای سلول کاملاً منطقی به‌نظر می‌رسد. افزایش میزان شوری از ۵۰ میلی‌مولار به ۲۰۰ میلی‌مولار 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 لوبیا را نشان می‌دهد. با افزایش سطح شوری به ۵۰ میلی‌مولار نمک میزان فعالیت آنزیم در همه ژنوتیپ‌ها نسبت به شاهد افزایش یافت. بیشترین افزایش فعالیت آنزیم در ژنوتیپ جوس در مقایسه با شاهد (۱۴ درصد) و کمترین آن در ژنوتیپ ۲۰ (۱۰ درصد) مشاهده گردید (شکل ۲). گایاکول پراکسیداز گلیکو پروتئین‌هایی 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 الکترولیت با میزان مالون دی‌آلدئید و پرولین و همبستگی منفی با فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیداتیو 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 جوس با داشتن نشت یونی کمتر متحمل‌تر به شوری می‌باشد. در شرایط تنش شوری همبستگی منفی و معنی‌داری بین فعالیت همه آنزیم‌های آنتی اکسیدانی در برگ ژنوتیپ‌های لوبیا با نشت الکترولیت و مالون دی‌آلدئید مشاهده شد. همچنین همبستگی مثبت و معنی‌داری بین فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدانی با یکدیگر وجود داشت که نقش این آنزیم‌ها در کاهش آسیب‌های ناشی از وقوع تنش اکسیداتیو را مشخص می‌نماید (جدول ۳).

به سطح تنش ۵۰ میلی‌مولار در ژنوتیپ‌ها گردید. به‌طور 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 میلی‌مولار در گیاه تنباکو مشاهده شده است که با نتایج این مطالعه مطابقت دارد (۲۸). در مطالعه حاضر در سطح شوری ۱۰۰ و ۲۰۰ میلی‌مولار نمک، فعالیت آنتی اکسیدانی کاهش پیدا کرد دلیل آن احتمالا می‌تواند به این علت باشد که گیاهان در مراحل اولیه تنش 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 حداکثر فعالیت احتمالا به خاطر رفع نیاز سلول و کنترل اثرات مخرب تنش می‌باشد. فعالیت آنزیم‌ها باید تا حدی ادامه داشته باشد که سلول‌ها به‌میزان کافی مواد لازم برای مواجهه با شرایط تنش 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 آنتی اکسیدانی در اثر شوری بالا باشد.

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

صفات	پروتئین	کاتالاز	اسکوربات پراسیداز	گایاکول پراکسیداز	پلی فنل پراکسیداز	پرولین	مالون دی آلدئید	نشت الکترولیت
پروتئین	۱							
کاتالاز	۰/۷۴۶**	۱						
اسکوربات پراکسیداز	۰/۲۸۳*	۰/۶۳۳**	۱					
گایاکول پراکسیداز	۰/۷۳۷*	۰/۸۸۱**	۰/۴۴۹**	۱				
پلی فنل پراکسیداز	۰/۰۷۹	۰/۴۵۲*	۰/۸۹۳**	۰/۲۳۹	۱			
پرولین	۰/۴۹۵**	۰/۰۵۴	۰/۶۳۵**	۰/۲۲۶	۰/۷۷۰**	۱		
مالون دی آلدئید	۰/۹۳۱**	۰/۶۸۹**	۰/۰۹۸	۰/۶۷۸**	۰/۰۵۲	۰/۶۳۹**	۱	
نشت الکترولیت	۰/۸۸۱**	۰/۵۸۴**	۰/۰۰۶	۰/۵۹۹**	۰/۱۷۱	۰/۶۶۴**	۰/۹۲۰**	۱

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

آنتی اکسیدان‌ها در حفظ تعادل گیاه در زمان مواجهه با تنش‌های محیطی زنده و غیرزنده می‌توان استباط نمود که ژنوتیپ‌های با فعالیت آنتی اکسیدانی بیشتری (از جمله جوس) از نظر فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی توانایی بالاتری از نظر تحمل تنش‌های محیطی غیر زنده و حفظ توان فتوسنتزی خواهند داشت. بنابراین استفاده از ژنوتیپ جوس در برنامه اصلاحی لوبیا برای بهبود تحمل به تنش شوری را پیشنهاد می‌کنیم.

در مجموع نتایج نشان‌داد که تفاوت روند فعالیت آنزیم‌ها در ژنوتیپ‌ها نشان‌دهنده این واقعیت است که مشارکت فعال این آنزیم‌ها در ایجاد مقاومت به تنش شوری تا حد نسبتا زیادی به میزان مقاومت ژنوتیپ‌ها بستگی دارد که در معرض تنش اکسیداتیو ناشی از شوری قرار می‌گیرند. بنابراین می‌توان نتیجه‌گیری نمود که ژنوتیپ‌ها در پاسخ به تنش شوری فعالیت‌های آنتی اکسیدانی 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. Lucoli, A. Frattarelli, P. Nota, E. Tel-Or, E. Benyamini, 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 Ghoshdi, H. 2005. Grapes. In: H. Ghorbani Ghoshdi & A. Ladanmoghadam, *Intraduction 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 usi-tatissimum* 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. Investigation on growth characteristics, 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. Aghaalkhani. 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.

52. Shao, H.B., Z.S. Liang and M.A. Shao. 2005. Changes of anti-oxidative enzymes and MDA content under soil water deficits among 10 wheat (*Triticum aestivum* L.) genotypes at maturation stage. *Colloids and Surfaces Biointerfaces*, 45: 7-13.
53. Siddiqi, E.H., M. Ashraf, F. Al-Qurainy 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.
54. 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.
55. Szabados, L. and A. Savoure. 2010. Proline: a multifunctional amino acid. *Trends Plant Science*, 15: 89-97.
56. 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.
57. 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. Plant Science*, 151: 59-66.
58. Yasar, F., S. Ellialtioglu and 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.
59. 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.
60. 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.
61. Zhang, Y.J., X. Zhang, C.J. Chen, M.J. Zhou and H.C. Wang. 2010. Effects of fungicides JS399- 19, azoxystrobin, tebuconazole 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 trifoliate 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 Jules was salt tolerant in comparison to the rest of genotypes.

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