

اثر تنش شوری بر بیان نسبی ژن‌های کاتالاز و آسکوربات پراکسیداز 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

¹Biotechnology Dept., ²Agronomy 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 گوجه‌فرنگی 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 آسکوربات پراکسیداز (*Ascorbate Peroxidase: APX1*) در دو رقم فلات سی‌اچ (CH-Falat) و ریوگراندا (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 مورد بررسی 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

گوجه‌فرنگی،

تنش شوری،

qPCR،

CAT1،

APX1

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 فوق حساسیت 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، نوکلئیک اسیدها و پروتئین‌ها می‌شود که تجمع آسیب وارده در نهایت 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 آنتی‌اکسیدان موثر در مقاومت در گونه‌های گیاهی می‌توان با انتقال آن و افزایش بیان آن به تولید ارقام مقاوم به شوری پرداخت.

کاتالاز و آسکوربات پراکسیداز 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. آسکوربات پراکسیداز 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، آسکوربات پراکسیداز دارای چندین نقش اساسی در فرایندهای فیزیولوژیکی گیاه است و همچنین به‌عنوان یک احیاکننده برای خیلی از انواع فعال اکسیژن بخصوص پراکسید هیدروژن 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 پراکسید هیدروژن 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 خشتی کردن اثرهای اسمزی ایجادشده در

شرایط تنش تأثیر بسزایی دارند، همچنین قندهای محلول می‌توانند به عنوان 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 تأیید 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 محل‌های 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، به این ترتیب دو طرف غشا به تعادل رسیده و در نهایت 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 گونه‌های 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: بذره‌های دو رقم گوجه‌فرنگی (*Solanum lycopersicum* L.) به نام‌های فلات سی اچ (CH-Falat)

و ریوگراندا 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 به‌ذور 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 25 ± 2 ، 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 به‌طور کامل 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، سانتریفیوژ با سرعت ۱۴۰۰۰ rpm به مدت ۱۵ دقیقه در دمای ۴°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 ۴°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 اسپکتروفتومتر انجام گرفت، به این صورت که بخشی از RNA به

شد و با شرایط زیر واکنش qPCR انجام شد: ۸ دقیقه در دمای ۹۵°C (برای فعال شدن آنزیم) و ۴۰ تکرار با چرخه‌های ۱۵ ثانیه در دمای ۹۵°C، ۱۵ ثانیه در دمای ۶۰°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 به صورت نسبی سنجیده می‌شود، تیمار کنترل در این پژوهش، ژن *ACTIN* است و میزان بیان نسبی با روش *efficiency adjusted* $\Delta\Delta Ct$ (Pfaffl, 2001) محاسبه شد، در این روش همه داده‌ها با ژن *ACTIN* به عنوان 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 ۶ میلی‌لیتر تولوئن به آن، به شدت 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 ۶۰۰۰ 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 ۴ میلی‌لیتر 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 ۶۳۰ نانومتر ثبت شد. از D-گلوکز به عنوان استاندارد استفاده شد (Sairam et al. 2002).

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

نسبت ۱:۱۰۰ رقیق شده و با دستگاه اسپکتروفتومتر ارزیابی شد. همچنین جهت تعیین کیفیت RNA نیز مقدار یک میلی‌گرم از هر نمونه (بر اساس نتایج اسپکتروفتومتری 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، به این ترتیب که به ۳۰ میکرولیتر از RNA استخراج شده، 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 *CAT1*، *APX1* و ژن خانه‌دار *ACTIN* انجام شد، توالی و شماره دسترسی مورد استفاده در سایت NCBI در جدول ۱ ارائه شده است.

جدول ۱- توالی آغازگرهای استفاده شده در این پژوهش

Table 1-Primers sequences for qPCR		
توالی آغازگر برای qPCR	نام ژن	شماره دسترسی
Fq- GCGACCAAGGATCTTTACGA Rq- CAACACCAATCGACCAACTG	<i>CAT1</i>	NM-001247898.1
Fq- CATTAGGGAGCAGTTTCCCA Rq- CTCTGGCTTGTCCTCTCTGC	<i>APX1</i>	NM-001247853.1
Fq- ATGCCTATGTTGGTGACGAG Rq- CTCTGGAGCCACACGAAGT	<i>ACTIN</i>	AB199316.1

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 ۴ 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

نرم افزارهای مورد استفاده در این پژوهش: این آزمایش بر اساس طرح بلوک های کامل تصادفی با ۳ تکرار بود، برای محاسبات آماری در این پژوهش از نرم افزارهای Mstat-c و Spss و Excel استفاده شد.

نتایج

منحنی استاندارد هر سه ژن *ACT*، *CAT1* و *APX1* با استفاده از رقت های ۱، ۰/۲، ۰/۰۴ 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 رقت های 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. همان طور که در شکل ۱ می بینید a ، منحنی استاندارد مربوط به ژن *ACT* با شیب منحنی برابر با $-3/327$ و $R^2 = 1$ است پس با توجه به رابطه $E = 10^{(-1/\text{slope})}$ ، 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 $-2/992$ و $R^2 = 1$ است، پس E برابر است با ۲/۱۶ است. نمودار منحنی استاندارد *C*، مربوط به ژن *APX1* است که شیب خط $-3/122$ و $R^2 = 1$ را نشان می دهد 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 میلی مولار به صورت صعودی بود ولی در سطح ۱۰۰ میلی مولار کمتر از سطح ۷۵ میلی مولار بود. در رقم CH-Falat بیان نسبی ژن *CAT1* در سطح ۲۵ و ۵۰ میلی مولار 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 میلی مولار از نظر میزان بیان نسبی ژن *CAT1* اختلاف معنی داری نشان ندادند، به طور کلی می توان

خشکاندن پودر شدند، یک گرم ماده پودری، در کوره الکتریکی در دمای 560°C در مدت ۴ ساعت به خاکستر تبدیل شد. به هر نمونه خاکستر، ۲۰ میلی لیتر اسید کلریدریک یک نرمال اضافه شد، سپس مخلوط حاصل به دمای 90°C منتقل شد و تا تبخیر کامل اسید در این دما نگهداری شد. خاکستر هضم شده در ۱۰۰ میلی لیتر آب دو بار تقطیر حل شد و توسط کاغذ واتمن، صاف شد. مقدار سدیم و پتاسیم محلول صاف شده از طریق رسم منحنی استاندارد مربوط به هر کدام 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 مورد نظر بر حسب درصد، C غلظت عنصر در عصاره بر حسب میلی گرم در لیتر، D درجه رقت، V حجم نهایی عصاره تهیه شده بر حسب میلی لیتر و M وزن خشک نمونه بر حسب گرم بود (Bandehhag et al. 2004).

اندازه گیری شاخص پایداری غشا (Membrane stability index): شاخص پایداری غشا (MSI) از طریق اندازه گیری هدایت الکتریکی مواد نشت کرده از نمونه های برگ به آب دو بار تقطیر، در دماهای 40°C و 100°C تعیین شد. ۰/۱ گرم نمونه برگ به صورت قطعاتی با اندازه های یکسان بریده شدند و در لوله های آزمایش محتوی ۱۰ میلی لیتر آب مقطر دو بار تقطیر قرار داده شدند. تعدادی از نمونه ها در آب 40°C به مدت ۳۰ دقیقه و تعدادی دیگر در آب 100°C به مدت ۱۵ دقیقه نگهداری شدند و هدایت الکتریکی آن ها (به ترتیب C_1 و C_2) با استفاده از EC متر اندازه گیری شد، شاخص پایداری غشا بر حسب درصد با رابطه زیر تعیین شد (Sairam and Srivastava, 2002).

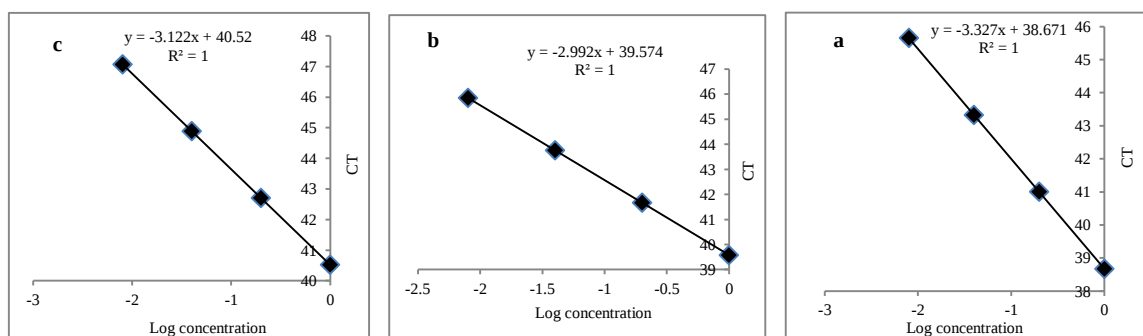
$$MSI = [1 - (C_1 - C_2)] \times 100$$

در سطح ۷۵ و ۱۰۰ میلی مولار 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 میلی مولار با هم اختلاف معنی دار داشتند و در هر دو سطح ذکر شده میزان بیان نسبی ژن *CAT1*

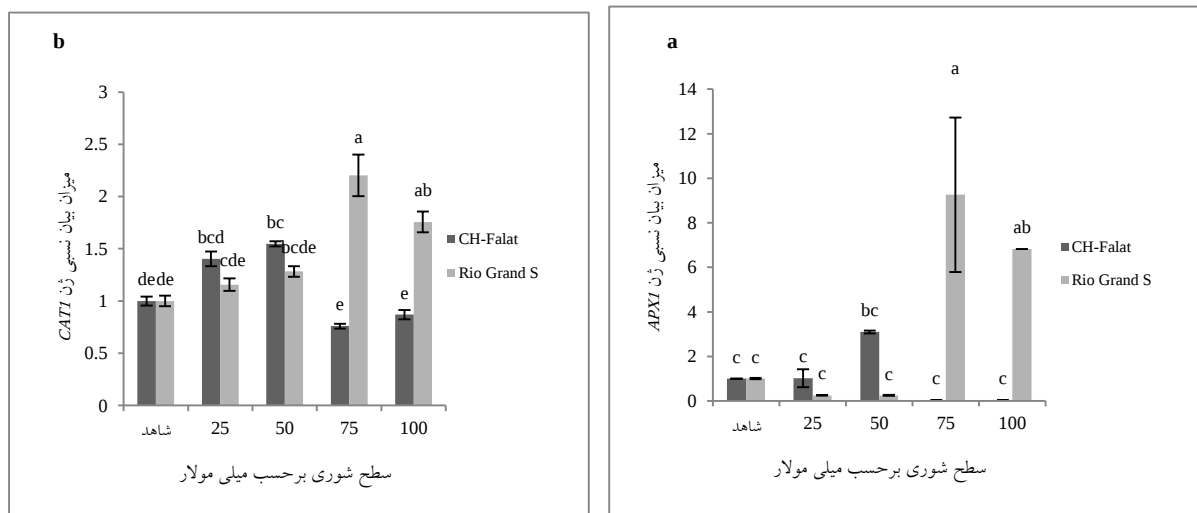
مولار کاهش یافت، دو رقم Rio Grand S و CH-Falat از نظر میزان بیان نسبی ژن *APX1* فقط در دو سطح شوری ۷۵ و ۱۰۰ میلی مولار با هم اختلاف معنی دار داشتند و در هر دو سطح ذکر شده میزان بیان نسبی ژن *APX1* نسبت به شاهد در رقم Rio Grand S بیشتر از رقم CH-Falat بود ولی در سطح شوری ۲۵ و ۵۰ میلی-مولار از نظر میزان بیان نسبی ژن *APX1* اختلاف معنی داری نشان ندادند (شکل ۲، b).

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

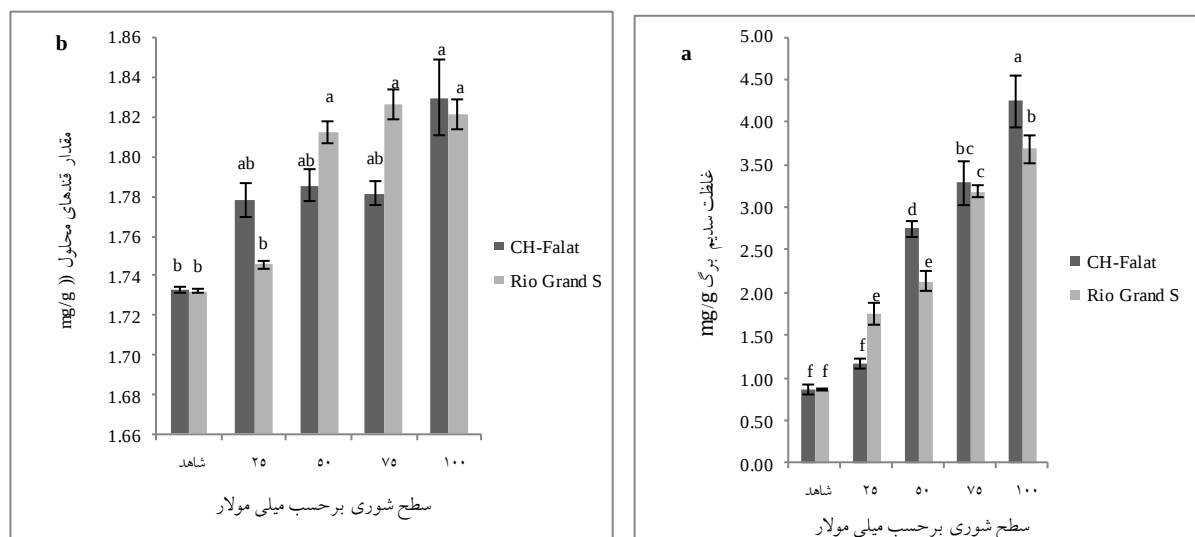
بیان نسبی ژن *APX1* در رقم Rio Grand S در سطح شوری ۲۵ و ۵۰ میلی مولار نسبت به شاهد کاهش یافت ولی در سطح ۷۵ و ۱۰۰ میلی مولار افزایش یافت. در رقم CH-Falat وضع برعکس بود، یعنی بیان نسبی ژن *APX1* در سطح شوری ۲۵ و ۵۰ میلی مولار نسبت به شاهد افزایش یافت ولی در سطح شوری ۷۵ و ۱۰۰ میلی-



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



شکل ۳- اثر تنش شوری بر صفات فیزیولوژیکی در دو رقم CH-Falat و Rio Grand S (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.

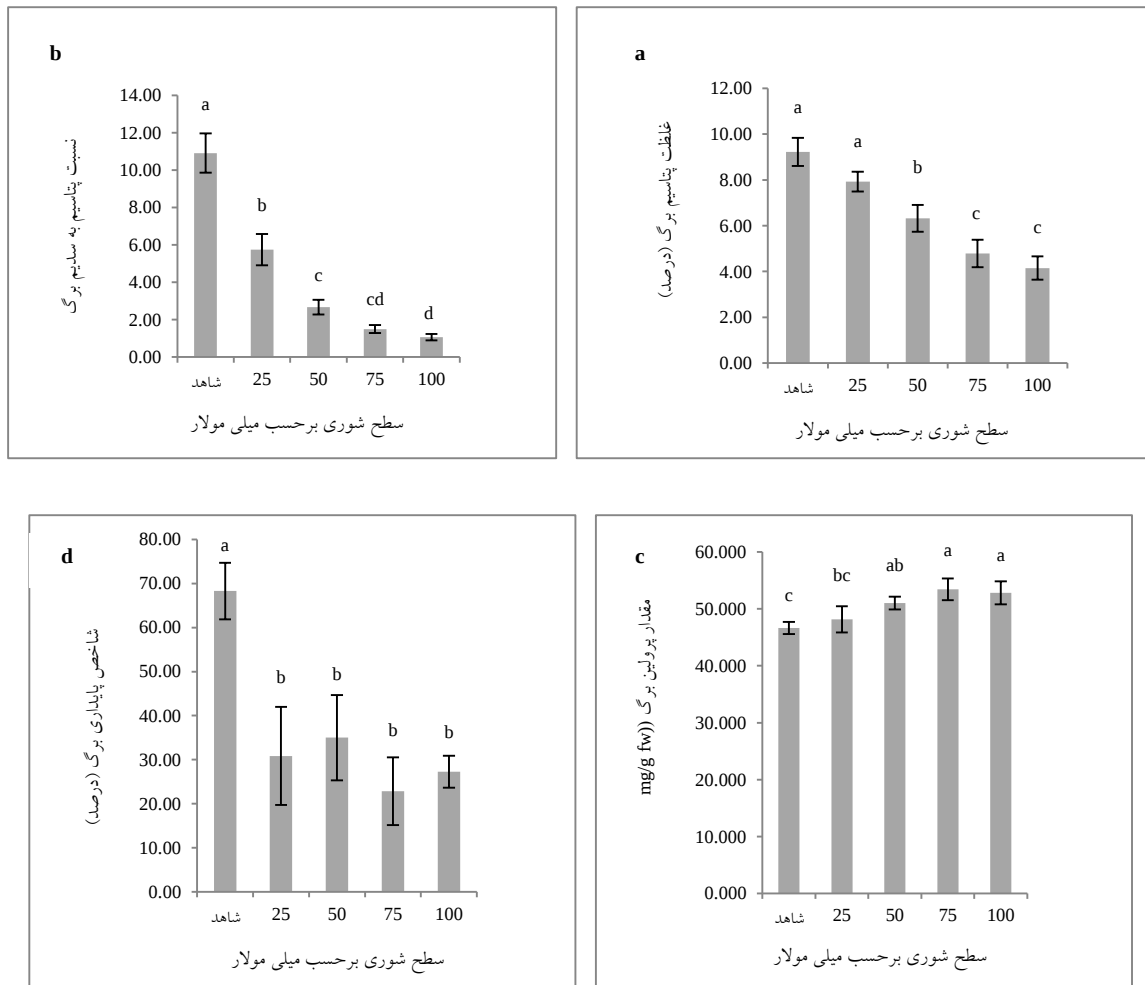
بررسی صفات فیزیولوژیکی

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.

در دو رقم CH-Falat و Rio Grand S 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 به‌طور کلی 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 میلی‌مولار تعلق داشت (شکل ۳، a).

در دو رقم CH-Falat و Rio Grand S 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).



شکل ۴- 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.

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 ۴، c).

در این پژوهش در هر دو رقم مقدار پرولین با زیاد شدن میزان شوری از شاهد به ۱۰۰ میلی‌مولار افزایش پیدا کرد. بین تیمارهای شاهد و ۲۵ میلی‌مولار، ۲۵ و ۵۰ میلی‌مولار و همچنین سطوح ۷۵، ۵۰ و ۱۰۰ میلی‌مولار اختلاف معنی‌داری وجود نداشت (شکل ۴، d).

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 و ۱۰۰ میلی‌مولار اختلاف معنی‌داری وجود نداشت، بیشترین کمترین مقدار پتاسیم به ترتیب از شاهد و غلظت ۱۰۰ میلی‌مولار نمک به دست آمد (شکل ۴، 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 (شکل ۴، b).

به بروز تنش اکسیداتیو شده است و نشان دهنده 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 گوجه فرنگی تحت تیمارهای شوری برخی از صفات فیزیولوژیکی هم در این تیمارها مورد بررسی قرار گرفت که جمع بندی نتایج آن ها نشان داد که در هر دو رقم با افزایش غلظت NaCl از صفر تا ۱۰۰ میلی مولار، مقدار سدیم، پرولین و قندهای محلول در برگ های گیاه افزایش و مقدار پتاسیم و نسبت پتاسیم به سدیم در برگ ها کاهش یافت و شاخص پایداری غشا در برگ ها در تیمارهای شوری نسبت به شاهد کاهش نشان داد.

فراوانی سدیم در خاک باعث کم شدن جذب پتاسیم توسط گیاه می شود (Turan et al. 2009)، افزایش جذب سدیم در مقایسه با پتاسیم در شرایط شور سبب بالا رفتن تجمع سدیم و کاهش میزان پتاسیم برگ های گیاه می شود، افت مقدار پتاسیم به علت بالا رفتن غلظت NaCl در پژوهش هایی 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 می-یابد که نشان دهنده به کار افتادن سیستم مقاومتی گیاه از طریق تولید اسمولیت ها به منظور کم کردن آسیب های 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 میلی مولار بر میزان قندهای محلول در برگ ها افزوده شد، افزایش قند محلول با افزایش شوری در گیاه *Atriplex halimus* (Bajji et al. 1998) و گندم (Ahmad Radi et al. 2013) گزارش شده است که با نتایج آزمایش ما همخوانی دارد.

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

ماهیت اصلی فرایند تنش در ایجاد عدم تعادل بین تولید انواع فعال اکسیژن و پاک سازی آن ها در سلول است که در هر دو تنش زنده و غیرزنده رخ می دهد (Kar, 2011)، اگرچه غلظت بالای انواع فعال اکسیژن موجب بروز تنش اکسیداتیو و خسارت به مولکول های حیاتی می شود ولی غلظت متعادل آن ها از یک سو سبب سازگاری نسبی برای ایجاد مقاومت در گیاه شده و از سوی دیگر به عنوان عوامل انتقال پیام در روند تنظیم بیان ژن ایفای نقش می کند (Larkindale et al. 2005)، بنابراین ارزیابی تغییرات بیان برخی ژن ها و شاخص های بیوشیمیایی که نقش آن ها در پاسخ به تنش های زنده و غیرزنده در سایر گیاهان مشخص شده است می-تواند در شناخت ارقام متحمل کمک شایانی کند (Abdel-Monaim et al. 2012).

در بررسی حاضر نیز بیان نسبی ژن های *CAT1* و *APX1* در دو رقم گوجه فرنگی تحت تأثیر تنش شوری مورد بررسی قرار گرفت داده های این بررسی نشان داد که بیان نسبی ژن *CAT1* در رقم Rio Grand S در همه سطوح تنش شوری افزایش نشان داده است ولی در رقم CH-Falat فقط در سطح ۲۵ و ۵۰ میلی مولار نسبت به شاهد افزایش بیان مشاهده شد، بیان نسبی ژن *APX1* در رقم Rio Grand S در سطح شوری ۲۵ و ۵۰ میلی مولار کاهش و در سطح ۷۵ و ۱۰۰ میلی مولار افزایش یافت که این نتیجه با نتایج پژوهش هایی که بر روی اسفناج (Noctor and Foyer, 1998) و توت فرنگی (Yong et al. 2008) در این زمینه صورت گرفته است مطابقت دارد. در رقم CH-Falat بیان نسبی ژن *APX1* در سطح شوری ۲۵ و ۵۰ میلی مولار افزایش یافت ولی با افزایش شوری در سطح ۷۵ و ۱۰۰ میلی مولار 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 این که در رقم CH-Falat بیان نسبی هر دو ژن *CAT1* و *APX1* در سطح شوری ۷۵ و ۱۰۰ میلی مولار کاهش یافته است به نظر می-رسد این موضوع به دلیل غیرفعال شدن یا تجزیه آنزیم های *CAT1* و *APX1* در شرایط خیلی شور در این رقم باشد که منجر

رقم از نظر 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.

(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 در نتیجه سلول کمتر تحت تاثیر 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

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, Pesarakli 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.
- Bajji 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

- 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 pathways 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. *Physiologia 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.

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

¹Biotechnology Dept., ²Agronomy 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* (*APX1*) 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 sugars 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*