مجله پژوهش‌های تولید گیاهی
جلد شانزدهم، شماره اول، ۱۳۸۸
www.gau.ac.ir/journals

بررسی برخی از پارامترهای فیزیولوژیک و بیوشیمیایی در گیاهان جهش‌یافته *AtrecQl4A* تحت تنش شوری

محمدرضا کیامقدم[۱] و *محمدباقر باقریه‌نجار[۲]

[۱]دانشجوی کارشناسی‌ارشد گروه زیست‌شناسی، دانشگاه گلستان، [۲]استادیار گروه زیست‌شناسی، دانشگاه گلستان

تاریخ دریافت: ۸۶/۱۱/۸ ؛ تاریخ پذیرش: ۸۷/۱۱/۳۰

چکیده

اعضای خانواده RecQ در ترمیم، رونویسی و نوترکیبی DNA وظایف مهمی بر عهده دارند. گیاه مدل ارابیدوپسیس دارای ۷ همولوگ RecQ است. ما قبلاً نشان دادیم که از کار افتادن ژن *RecQl4A* اربیدوپسیس پاسخ گیاه به برخی از تنش‌های ژنوتوکسیک را تغییر می‌دهد. در این گزارش، برخی از پارامترهای فیزیولوژیک و بیوشیمیایی در گیاه جهش‌یافته *recQl4A* تحت تیمار شوری اندازه‌گیری شد تا بتوان نقش ژن *RecQl4A* در کنترل پاسخ گیاه به استرس شوری را تعیین نمود. گیاهان وحشی و جهش‌یافته در قالب یک طرح کاملاً تصادفی روی پلیت‌های آگار- موراشی- اسکوگ حاوی NaCl رشد داده شدند. هنگامی‌که گیاهان با ۱۰۰ و ۱۵۰ میلی‌مولار NaCl تیمار شدند صدمات وارده به گیاهان به قدری زیاد بود که امکان اندازه‌گیری پارامترهای فیزیولوژیک و بیوشیمیایی وجود نداشت. در غلظت ۷۵ میلی‌مولار کلرید سدیم، مقدار پروتئین کل محلول در پاسخ به شوری کاهش یافت. به‌علاوه، در پاسخ به شوری، گیاهان جهش‌یافته، وزن خشک و محتوای کلروفیل کمتری در مقایسه با گیاهان وحشی داشتند؛ لیکن قند کل در گیاهچه‌های جهش‌یافته از گیاهچه‌های وحشی بیشتر بود. به همین ترتیب هنگامی‌که گیاهان با ۷۵ میلی‌مولار کلرید سدیم تیمار شدند میزان فعالیت آنزیم کاتالاز در گیاهان جهش‌یافته از فعالیت آن در گیاهان وحشی بیشتر بود. جالب توجه این‌که افزایش غلظت

* مسئول مکاتبه: m.b.bagherieh@gmail.com

NaCl از صفر به ٧٥ میلی‌مولار باعث شد تا فعالیت آنزیم پلی‌فنل‌اکسیداز فقط در گیاهان جهش‌یافته به‌طور معنی‌داری کاهش یابد. این نتایج پیشنهاد می‌کند ژن *RecQl4A* در تنظیم پاسخ گیاه آرابیدپسیس به تیمار NaCl نقش اساسی ایفا می‌کند و بدین‌ترتیب دانش محققان را در درک سازوکارهای کنترل‌کننده مقاومت گیاهان به تنش‌های محیطی افزایش می‌دهد.

واژه‌های کلیدی: آرابیدوپسیس، *RecQl4A*، کاتالاز، پراکسیداز، پلی‌فنل‌اکسیداز

مقدمه

هر چند به‌راحتی نمی‌توان تعریف درستی از تنش ارایه نمود اما معمولاً کلیه عواملی که باعث بروز ناهنجاری‌هایی در فرایند رشد و نمو گیاه می‌گردند تنش نامیده می‌شوند. شوری یکی از تنش‌های غیرزنده مهم است که بر کیفیت و میزان بهره‌وری گیاهان زراعی تأثیر نامطلوبی دارد (بویر، ١٩٨٢). خاک‌های شور مناطق وسیعی از کره زمین را اشغال کرده‌اند به گونه‌ای که نزدیک به ٧٥ درصد سطح این سیاره خاکی را دریاهایی پوشانده‌اند که غلظت نمک در آن‌ها زیاد بوده و حاوی مقادیر فراوانی از یون‌هایی همچون سدیم، پتاسیم، کلر و منیزیم می‌باشند. با توجه به نشأت گرفتن حیات از دریاها احتمالاً تنش شوری اولین نوع تنش محیطی است که موجودات زنده در طول تکامل با آن مواجه شده‌اند و بیشتر اوقات اثر آن‌ها در تحمل شوری به‌صورت افزایشی است (اینگر و ردی، ١٩٩٦).

شوری محیط به‌طور عمده از طریق دو مسیر می‌تواند رشد و نمو گیاهان را محدود کند. الف) کاهش پتانسیل اسمزی خاک و القای تنش کم آبی در گیاه و ب) ایجاد سمیت توسط مقادیر اضافی یون‌های ایجادکننده شوری. ژن‌های متعددی در کاهش اثرات زیان‌بار شوری بر رشد و نمو گیاهان نقش ایفا می‌کنند. برخی از این ژن‌ها تحمل گیاه را در مقابل خشکی افزایش می‌دهند و برخی دیگر، تجمع املاح اضافی را در گیاهان کاهش می‌دهند و یا آن‌ها را در واکوئل گیاه محصور می‌کنند. هرچند برخی از جنبه‌های اثر شوری بر رشد و نمو گیاهان مورد بررسی قرار گرفته است، اما اطلاعات زیادی از اثرات مستقیم و یا غیرمستقیم شوری بر متابولیسم DNA در دست نیست.

در مطالعات قبلی مراحل جداسازی و بررسی مولکولی ژن *RecQl4A* در گیاهان جنس اربیدوپسیس به تفصیل شرح داده شد (باقریه‌نجار، ٢٠٠٤؛ باقریه‌نجار و همکاران، ٢٠٠٥). ژن *RecQl4A* متعلق به خانواده *RecQ* از هلیکازهای DNA است که در گیاهان جنس اربیدوپسیس دارای ٧ همولوگ است. بررسی‌ها نشان می‌دهند گیاهان جهش‌یافته *RecQl4A* در شرایط رشد

طبیعی تفاوت آشکاری با گیاهان وحشی ندارند لیکن حساسیت آن‌ها به برخی از عوامل صدمه‌زننده به DNA از جمله متیل متان سولفونیت و اشعه ماورای بنفش بیشتر می‌باشد (باقریه‌نجار و دایکول، ۱۳۸٦). هم‌چنین، با به‌کارگیری یک روش مولکولی نشان داده شد فراوانی نوترکیبی همولوگی[1] (HR) در گیاهان جهش‌یافته بیشتر از گیاهان وحشی است (باقریه‌نجار و همکاران، ۲۰۰۵). آنچه هنوز مشخص نیست نقش احتمالی ژن *RecQl4A* در کنترل پاسخ گیاه به سایر تنش‌های محیطی از جمله شوری، خشکی و تنش‌های حرارتی است.

در پژوهش حاضر، با مقایسه برخی از پارامترهای فیزیولوژیک و بیوشیمیایی گیاهان وحشی و جهش‌یافته *recQl4A* تحت تیمار شوری تلاش شده است تا چگونگی دخالت این ژن در کنترل پاسخ گیاه به استرس شوری مورد مطالعه قرار گیرد.

مواد و روش‌ها

روش کشت: گیاه مورد استفاده در این آزمایش گونه *Arabidopsis thaliana* بود. برای استریل شدن بذرها از محلول ۸۰ درصد اتانول- آب ژاول ۲۰ درصد استفاده شد. بذرها بعد از استریل کردن و خشک شدن به درون پلیت‌های ۱۰ سانتی‌متری حاوی محیط کشت آگار- موراشیگ- اسکوگ و ساکاروز منتقل گردیده و به‌مدت ٤ روز در دمای ٤ درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند و سپس، به اطاقک رشد در دمای ۲۱ درجه سانتی‌گراد، رطوبت نسبی ٦٥ درصد و دوره نوری ١٦ ساعت انتقال یافتند. آزمایش به‌صورت فاکتوریل و در قالب طرح کاملاً تصادفی اجرا گردید. فاکتور اول واریته‌های آرابیدوسیس شامل WS و Col-0 و جهش‌یافته‌های آن‌ها در ژن *RecQl4A* به‌ترتیب شامل *4A* و *G350* و فاکتور دوم، شوری در ٥ سطح شاهد، ٥٠، ٧٥، ١٠٠ و ١٥٠ میلی‌مولار و به‌صورت NaCl، با خلوص ١٠٠ درصد بود. گیاهان بعد از ۲۱ روز به‌منظور آنالیزهای کمی و کیفی به آزمایشگاه منتقل شدند.

اندازه‌گیری فاکتورهای بیوشیمیایی: عمل استخراج آنزیم‌ها و پروتئین‌های محلول با استفاده از روش کار و میشرا (١٩٧٦) و لیو و هانگ (٢٠٠٠) به شرح زیر انجام شد. مقدار ۰/۰٥ گرم از بافت برگ تازه در هاون چینی سرد و در ظرف یخ با ۲ میلی‌لیتر بافر فسفات ۰/۱ مولار با اسیدیته ٦/٨ هموژن شد و سپس به‌مدت ١٥ دقیقه در ١٣٠٠٠ دور در دقیقه در دمای ٤ درجه سانتی‌گراد سانتریفیوژ گردید. فاز بالایی عصاره (سوپرناتانت) به‌دست آمده برای اندازه‌گیری فعالیت سه آنزیم کاتالاز، پراکسیداز و

1- Homologous Recombination

پلی‌فنل‌اکسیداز و هم‌چنین، مقدار پروتئین‌های محلول مورد استفاده قرار گرفت. انـدازه‌گیـری فعالیـت کاتالاز در حجم نهایی ۳ میلی‌لیتر شامل ۲/۸۵ میلی‌لیتر بافر فسفات سدیم ۵۰ میلی‌مولار با pH ۷، ۱۰۰ میکرولیتر پراکسید هیدروژن ۰/٤۵ مولار و ۵۰ میکرولیتر عصاره آنزیمی انجام شد. واکنش بـا افـزودن عصاره آنزیمی آغاز گردید و تغییـرات جـذب محلـول واکـنش نـسبت بـه شـاهد بـه‌وسـیله دسـتگاه اسپکتروفتومتر در مد سینتیک و در طول موج ۲٤۰ نانومتر به‌مدت ۲ دقیقه در فواصل زمـانی ۱۰ ثانیـه ثبت گردید. در نهایت فعالیت آنزیم کاتالاز براساس میکرومول پراکسید هیدروژن تجزیه شده (ضریب خاموشی ٤۰ میلی‌مولار بر سانتی‌متر در دقیقه به‌ازای یـک میلـی‌گـرم پـروتئین) بیـان گردیـد. فعالیـت گایاکول پراکسیداز نیز در مد سینتیک و در طول موج ٤۷۰ نانومتر اندازه‌گیری شد. معـرف مـورد نیـاز برای فعالیت آنزیم پراکسیداز، گایاکول بود که در حضور الکترون‌های ناشـی از تجزیـه H_2O_2 توسـط آنزیم به تتراگایاکول تبدیل شده و رنگ قرمز تولید می‌کند. ۳ میلی‌لیتـر مخلـوط واکـنش شـامل ۲/۷۹ میلی‌لیتر بافر فسفات سدیم ۲۵ میلی‌مولار با pH ۷، ۱۰۰ میکرولیتر پراکسید هیـدروژن ۰/٤۵ مـولار و ۱۰ میکرولیتـر عـصاره آنزیمـی و ۱۰۰ میکرولیتـر گایـاکول بـود. بـرای انـدازه‌گیـری فعالیـت آنـزیم پلی‌فنل‌اکسیداز، از پیروگالل به‌عنوان معرف استفاده شد. ۳ میلی‌لیتر مخلوط واکنش شامل بافر فـسفات ۲۵ میلی‌مولار با اسیدیته ٦/۸، پیروگالل ۱۰ میلی‌مولار و۱۰۰ میکرولیتر عـصاره آنزیمـی بـود. فعالیـت آنزیم در طول موج ٤۲۰ نانومتر براساس شدت رنگ نارنجی پورپوروگالین تولید شده اندازه‌گیری شد. ضریب خاموشی برای پورپوروگالین ۲/٤۷ بر میلی‌مولار بر سانتی‌متر در دقیقه بـه‌ازای یـک میلـی‌گـرم پروتئین می‌باشد (رزندو و همکاران، ۲۰۰۲).

اندازه‌گیری پروتئین‌های محلول به روش میکرو برادفورد (۱۹۷٦) انجام شد. ۵۰ میکرولیتـر از هـر عصاره به حجم کل ۱۰۰ میکرولیتر رسانده شد و سپس ۵ میلی‌لیتر محلول برادفورد به آن اضافه گردید و بعد از ورتکس کردن و گذشت ۱۵ دقیقه، جذب محلول در طول موج ۵۹۵ نانومتر خوانده شد.

برای استخراج قندها از روش اوموکولو و همکاران (۱۹۹٦) استفاده شده است. بـرای ایـن منظـور مقدار ۰/۱ گرم از بافت تر بخش‌های هوایی گیاه را با ۵ میلی‌لیتر اتانول ۸۰ درصد گرم در هاون چینـی خرد کرده و سپس به‌مدت ۱۰ دقیقه در بن ماری در دمای ۷۰ درجه سانتی‌گراد قرار داده شـد. بعـد از این مدت، عصاره الکلی حاوی قندهای محلول جدا شد و قسمت پایینی همراه با ۵ میلی‌لیتر اتانول ۸۰ درصد دوباره برای تکرار عصاره‌گیری به حمام آب جوش منتقل گردید. عمل استخراج با اتانول ٤ بـار تکرار شد. بعد از استخراج به‌منظور تبخیر الکل، عصاره به‌دست آمده در دمای ۷۰ درجـه سـانتی‌گـراد

قرار گرفت. برای حذف کلروفیل، عصاره به‌دست آمده به نسبت ۱ به ۵ با کلروفورم مخلوط گردید و بعد از ورتکس کردن به‌مدت ۵ دقیقه به حال سکون رها شد. فاز بالایی عصاره به‌دست آمده به‌مدت ۱۰ دقیقه در سرعت ۱۰۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفیوژ گردید. قسمت شفاف بالایی جدا شده برای اندازه‌گیری مقدار قندهای محلول مورد استفاده قرار گرفت. اندازه‌گیری مقدار قند با اندازه‌گیری به‌وسیله انترون طبق روش مک‌ردی و همکاران (۱۹۵۰) انجام شد. ۳ میلی‌لیتر محلول انترون را به ۱۰۰ میکرولیتر از عصاره اضافه کرده، به‌مدت ۲۰ دقیقه در حمام آب جوش قرار دادیم و با استفاده از اسپکتروفتومتر در طول موج ٦٢٠ نانومتر قند محلول را اندازه‌گیری کردیم.

اندازه‌گیری کلروفیل با استفاده از روش آرنون (۱۹٤۹) انجام گرفت. برای این منظور مقدار ۰/۰۵ گرم از بافت تر بخش هوایی گیاه با ۵ میلی‌لیتر استون ۸۰ درصد خرد شد. مخلوط به‌دست آمده به‌مدت ۱۰ دقیقه در ۱۳۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفیوژ گردید و در نهایت، قسمت بالایی عصاره جدا و حجم آن به ۸ میلی‌لیتر رسانده شد. اندازه‌گیری کلروفیل با استفاده از روش اسپکتروفتومتری و در دو طول موج ٦٤٥ و ٦٦٣ انجام گرفت.

$$Chla.(\frac{mg}{gFW}) = [(۱۲/۷ \times A_{٦٦٣}) - (۲/٦۹ \times A_{٦٤٥})] \times \frac{V}{}$$

$$Chlb.(\frac{mg}{gFW}) = [(۲۲/۹ \times A_{٦٤٥}) - (٦/٤٨ \times A_{٦٦٣})] \times \frac{V}{}$$

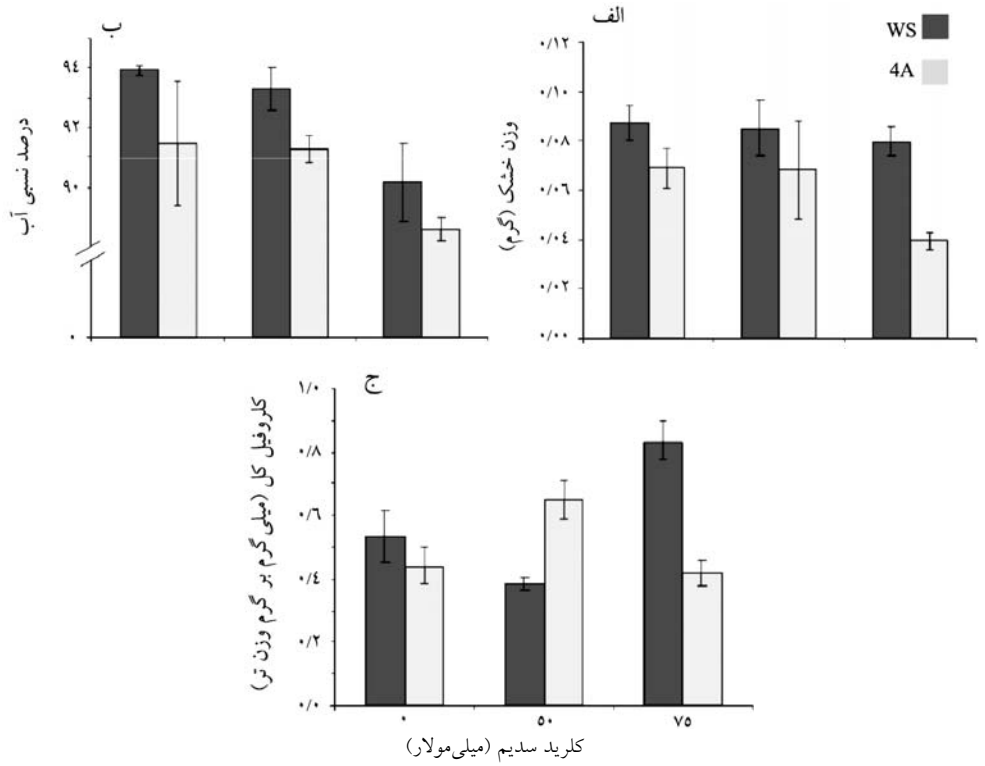
$$Chltot.(\frac{mg}{gFW}) = [(۲۰/۲ \times A_{٦٤٥}) - (۸/۰۲ \times A_{٦٦٣})] \times \frac{V}{}$$

محاسبات آماری: تمام اندازه‌گیری‌ها حداقل ٤ بار تکرار شد و میانگین و خطای استاندارد داده‌ها محاسبه گردید و اختلاف میانگین‌ها توسط آزمون student *t*-test دو طرفه در سطح ۹۹ درصد مورد ارزیابی قرار گرفت.

مقایسه الگوی تغییرات صفات در دو واریته WS و جهش‌یافته *RecQl4A*: جهت بررسی نقش ژن *RecQl4A* در ترمیم صدمات DNA ناشی از تنش شوری، تفاوت پاسخ به این تنش در گیاهان وحشی WS و جهش‌یافته‌های آن در ژن *recQl4A* مورد بررسی قرار گرفت. بذرهای گیاهان وحشی و جهش‌یافته فوق در پلیت‌های حاوی مقادیر مختلف NaCl آن‌طور که در بخش مواد و روش‌ها آمده است، کشت داده شدند و پس از گذشت ۲۱ روز، از پلیت‌ها خارج شده و پارامترهای فیزیولوژیک و بیوشیمیایی زیر در آن‌ها اندازه‌گیری شد.

نتایج

افزایش مقدار شوری محیط کشت تا ۷۵ میلی‌مولار، تأثیر معنی‌داری بر وزن خشک گیاهان وحشی نداشت لیکن، باعث کاهش وزن خشک در گیاهان جهش‌یافته گردید به‌طوری‌که در غلظت ۷۵ میلی‌مولار کلرید سدیم، وزن خشک گیاهان جهش‌یافته تا ۵۰ درصد نسبت به گیاهان وحشی کاهش یافت (شکل ۱- الف).



شکل ۱- تأثیر غلظت‌های مختلف کلرید سدیم بر وزن خشک (الف) درصد آب نسبی، ب) مقدار کلروفیل، ج) گیاهان اربیدوپسیس وحشی (WS) و جهش‌یافته (4A). میانگین داده‌ها ± خطای استاندارد نشان داده شده است.

افزایش مقدار شوری محیط کشت تا ۷۵ میلی‌مولار محتوای آب نسبی را در هر دو واریته وحشی و جهش‌یافته کاهش داد. به‌علاوه به‌نظر می‌رسد صرف نظر از تیمار اعمال شده، محتوای آب واریته جهش‌یافته از واریته وحشی کمتر باشد (شکل ۱- ب).

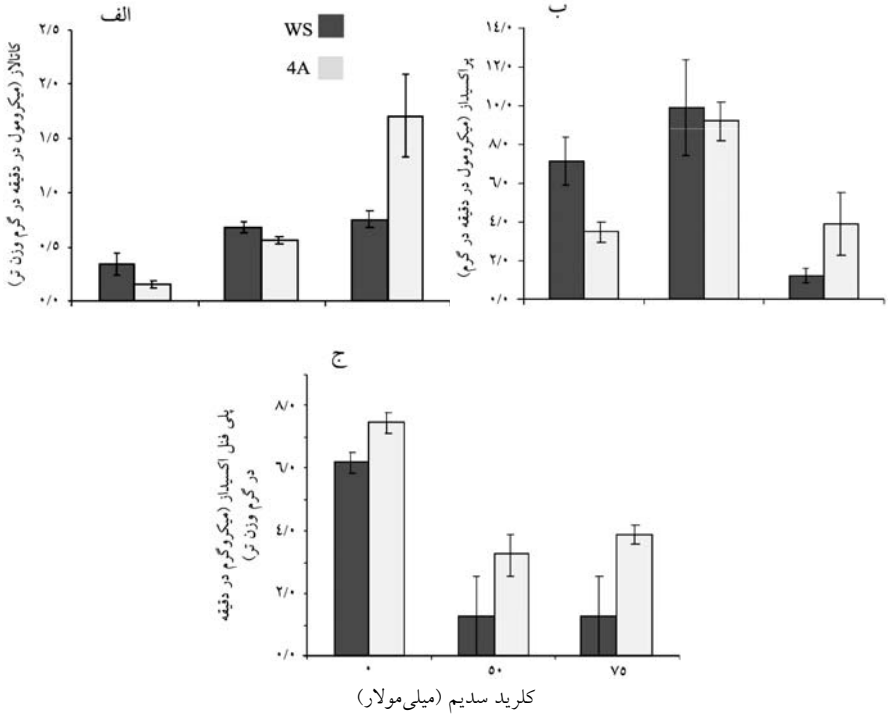
الگوی تغییرات مقدار کلروفیل کل تحت تیمار شوری در گیاهان وحشی و جهش‌یافته کاملاً متفاوت بود. در گیاهان وحشی، محتوای کلروفیل در غلظت ۵۰ میلی‌مولار کلرید سدیم اندکی کاهش ولی با افزایش شوری تا ۷۵ میلی‌مولار، مقدار آن افزایش یافت. لیکن در گیاه جهش‌یافته ابتدا افزایش در غلظت ۵۰ میلی‌مولار و سپس کاهش در غلظت ۷۵ میلی‌مولار مشاهده گردید (شکل ۱- ج). احتمالاً می‌توان افزایش مقدار کلروفیل در گیاه وحشی را ناشی از کاهش محتوای آب گیاه در تیمار مذکور دانست زیرا وزن خشک گیاهان وحشی تحت تیمار شوری تغییر محسوسی نداشته است. اما کاهش مقدار کلروفیل در گیاه جهش‌یافته همگام با کاهش وزن خشک گیاهان جهش یافته تحت تیمار شوری است و بر حساسیت بیشتر گیاهان جهش‌یافته *RecQl4A* به شوری دلالت دارد.

انواع اکسیژن‌های فعال مثل $O_2^{-\circ}$، OH° و H_2O_2 تحت شرایط تنش و فعالیت‌های اکسیداتیو قوی تولید می‌شوند و به‌طور معمول می‌توانند همه انواع ملکول‌های زیستی را مورد هجوم قرار دهند (دراسکیویکز و همکاران، ۲۰۰٤). از این‌رو، میزان فعالیت چند آنزیم فعال در تنش اکسیداتیو نظیر کاتالاز، پراکسیداز و پلی‌فنل‌اکسیداز در این تحقیق مورد بررسی قرار گرفت. با توجه به آنالیزهای انجام شده همگام با افزایش غلظت شوری محیط کشت، فعالیت آنزیم کاتالاز در گیاهان وحشی و جهش‌یافته افزایش یافت اما این افزایش در گیاهان جهش‌یافته بسیار مشهودتر بود خصوصاً این‌که در تیمار کنترل و غلظت ۵۰ میلی‌مولار کلرید سدیم، فعالیت آنزیم کاتالاز در گیاه جهش‌یافته از گیاه وحشی کمتر بود ولی در تیمار ۷۵ میلی‌مولار کلرید سدیم از فعالیت کاتالاز در گیاه وحشی پیشی گرفت (شکل ۲- الف).

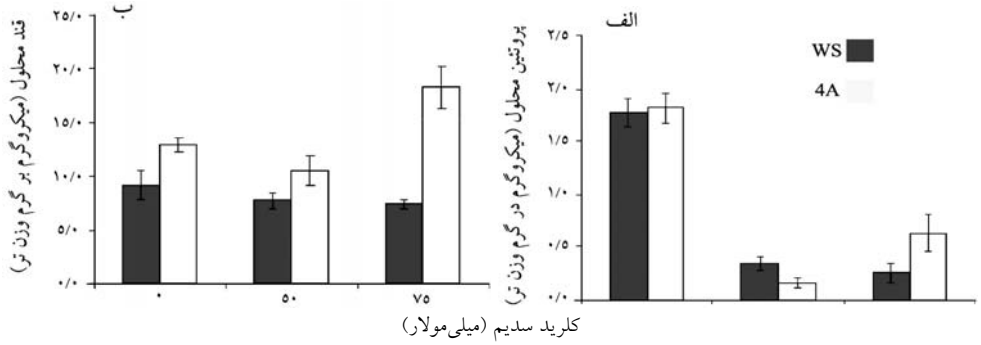
روند تغییرات فعالیت آنزیم پراکسیداز تحت تیمار شوری در گیاهان آزمایش شده با روند تغییرات آنزیم کاتالاز متفاوت بود. بیشترین فعالیت پراکسیداز در هر دو واریته آزمایش شده در تیمار ۵۰ میلی‌مولار کلرید سدیم مشاهده گردید. در تیمار کنترل، فعالیت آنزیم پراکسیداز در گیاهان وحشی از گیاهان جهش‌یافته بیشتر بود. در حالی‌که در تیمار ۵۰ میلی‌مولار کلرید سدیم میزان فعالیت آنزیم پراکسیداز در گیاهان وحشی و جهش‌یافته مشابه هم بود و جالب این‌که در غلظت ۷۵ میلی‌مولار کلرید سدیم، فعالیت این آنزیم در گیاهان جهش‌یافته از گیاهان وحشی بیشتر بود (شکل ۲- ب).

روند تغییرات فعالیت آنزیم پلی‌فنل‌اکسیداز کاملاً برعکس روند تغییرات فعالیت آنزیم کاتالاز بود از این نظر که با افزایش غلظت شوری فعالیت آنزیم فوق به‌طورکلی کاهش یافت. در تمام غلظت‌های مورد آزمایش میزان فعالیت آنزیم پلی فنل اکسیداز در گیاهان جهش‌یافته از گیاهان وحشی بیشتر بود (شکل ۲- ج).

تیمار شوری میزان پروتئین محلول کل گیاهان وحشی و جهش‌یافته را کاهش داد لیکن در تیمار ۷۵ میلی‌مولار کلرید سدیم میزان پروتئین کل محلول در گیاهان جهش‌یافته نسبت به گیاهان وحشی بیشتر بود (شکل ۳- الف). برخلاف میزان پروتئین محلول، میزان قند محلول تحت‌تأثیر تیمار شوری افزایش یافت (شکل ۳- ب). جالب توجه این‌که در تمام غلظت‌های مورد آزمایش، میزان قند محلول در گیاهان جهش‌یافته از گیاهان وحشی بیشتر بود.



شکل ۲- تأثیر غلظت‌های مختلف کلرید سدیم بر فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانت در گیاهان اربیدوپسیس وحشی (WS) و جهش‌یافته (4A). میانگین داده‌ها ± خطای استاندارد نشان داده شده است.



شکل ۳- تأثیر غلظت‌های مختلف کلرید سدیم بر میزان پروتئین محلول کل (الف) قند محلول، (ب) در گیاهان اربیدوپسیس وحشی (WS) و جهش‌یافته (4A). میانگین داده‌ها ± خطای استاندارد نشان داده شده است.

مقایسه الگوی تغییرات صفات در دو واریته Col-0 و جهش‌یافته *g350*: جهت تأیید نتایج به‌دست آمده، یک لاین جهش‌یافته دیگر *RecQl4A* به نام *g350* در واریته کلمبیا (Col-0) مورد بررسی قرار گرفت و آزمایش‌های انجام گرفته در خصوص لاین WS تکرار گردید. به‌طورکلی، واریته کلمبیا در مقایسه با واریته واسیلوسکیا نسبت به شرایط نامساعد محیطی از مقاومت بیشتری برخوردار است (باقریه‌نجار، ۲۰۰٤). در گیاهان وحشی واریته کلمبیا و گیاهان جهش‌یافته *g350*، با افزایش غلظت کلرید سدیم میزان وزن تر کاهش یافت. لیکن در غلظت ۷۵ میلی‌مولار کلرید سدیم، وزن تر گیاهان جهش‌یافته *g350* کاهش معنی‌داری نسبت به گیاهان وحشی کلمبیا از خود نشان داد (شکل ٤- الف). افزایش غلظت کلرید سدیم تا ۷۵ میلی‌مولار تأثیر معنی‌داری بر کاهش وزن خشک گیاهان واریته وحشی نداشت لیکن در گیاهان جهش‌یافته *g350* باعث کاهش وزن خشک گیاه گردید به گونه‌ای که وزن خشک گیاهان جهش‌یافته *g350* در غلظت ۷۵ میلی‌مولارکلرید سدیم به‌طور معنی‌داری از وزن خشک گیاهان وحشی کمتر بود (شکل ٤- ب). براساس نتایج حاصله، مقدار کلروفیل کل در گیاهان وحشی در تیمار کنترل از مقدار کلروفیل کل در گیاهان جهش‌یافته بیشتر بود لیکن همگام با افزایش شوری محیط کشت، این رابطه به‌صورت معکوس درآمد و مقدار کلروفیل در گیاهان جهش‌یافته از کلروفیل گیاهان وحشی کمتر شد (شکل ٤- ج). این نتایج نشان می‌دهند که در واریته کلمبیا نیز از کار افتادن ژن *At RecQl4A* حساسیت گیاه به شوری محیط را افزایش می‌دهد.

بررسی فعالیت آنزیم‌های کاتالاز، پراکسیداز و پلی‌فنل‌اکسیداز در گیاهان واریته کلمبیا و جهش‌یافته *g350* نشان داد همگام با افزایش شوری محیط کشت، میزان فعالیت آنزیم کاتالاز در هر دو واریته به

تناسب افزایش یافت (شکل ٥- الف). از طرف دیگر، میزان فعالیت آنزیم پراکسیداز در هر دو واریته در اثر افزایش شوری کاهش یافت به گونه‌ای که در غلظت ٧٥ میلی‌مولار کلرید سدیم فعالیت آنزیم پراکسیداز در گیاهان جهش‌یافته به‌طور معنی‌داری از فعالیت پراکسیداز در گیاهان وحشی کمتر بود (شکل ٥- ب). همچنین، فعالیت آنزیم پلی‌فنل‌اکسیداز در هر دو واریته در اثر شوری محیط کاهش یافت ولی تأثیر شوری در کاهش فعالیت این آنزیم در گیاهان واریته کلمبیا از واریته واسیلوسکیا کمتر بود (شکل ٥- ج).

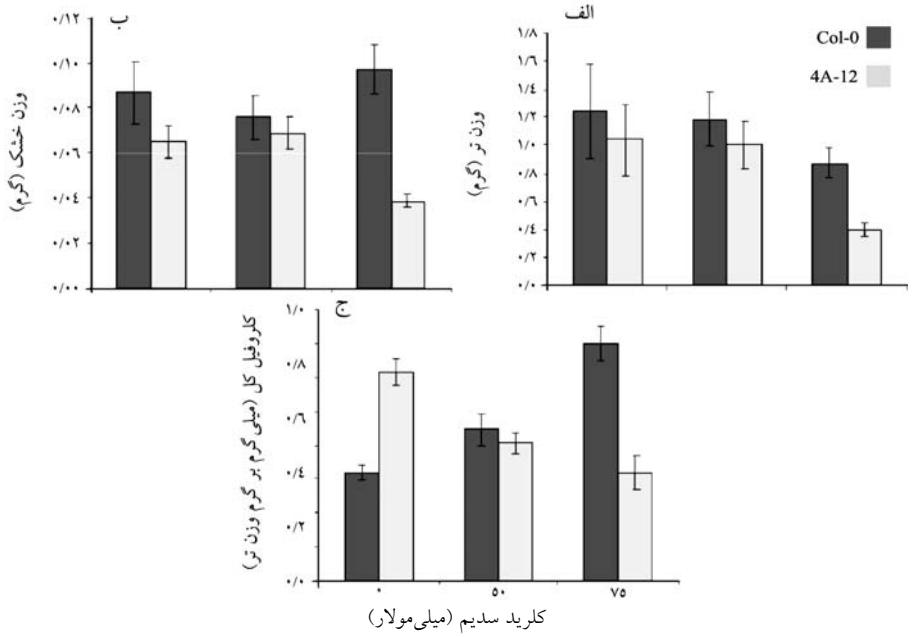
به‌طورکلی روند تأثیر تیمار شوری بر مقدار پروتئین محلول کل و قند محلول در گیاهان وحشی و جهش‌یافته *g350* در واریته کلمبیا مشابه روند تأثیر آن در مقدار پروتئین محلول کل و قند محلول در گیاهان وحشی و جهش‌یافته *AtrecQl4A* در واریته واسیلوسکیا بود (شکل ٦- الف و ب). این نتایج پیشنهاد می‌کند تفاوت‌های مشاهده شده بین گیاهان جهش‌یافته‌ای که در آن‌ها ژن *AtRecQl4A* غیرفعال شده است در دو واریته مختلف نسبتاً مشابه است و برای اولین بار تأثیر ژن *AtRecQl4A* را در کنترل پاسخ گیاه به شوری محیط کشت به اثبات می‌رساند.

بحث

در این پژوهش نگارندگان با اندازه‌گیری تعدادی از صفات کمی و کیفی در دو واریته آرابیدوپسیس و جهش‌یافته‌های آن‌ها در ژن *RecQl4A*، نقش این ژن را در کنترل پاسخ گیاه به استرس شوری مورد بررسی قرار دادند. ژن *AtRecQl4A* یکی از اعضای خانواده DNA هلیکازها است که نقش آن در ترمیم صدمات وارده به DNA در گیاهان به اثبات رسیده (باقریه‌نجار و همکاران، ٢٠٠٥) هر چند هنوز شاهد مستقیمی مبنی بر فعالیت هلیکازی آن در گیاهان ارایه نگردیده است.

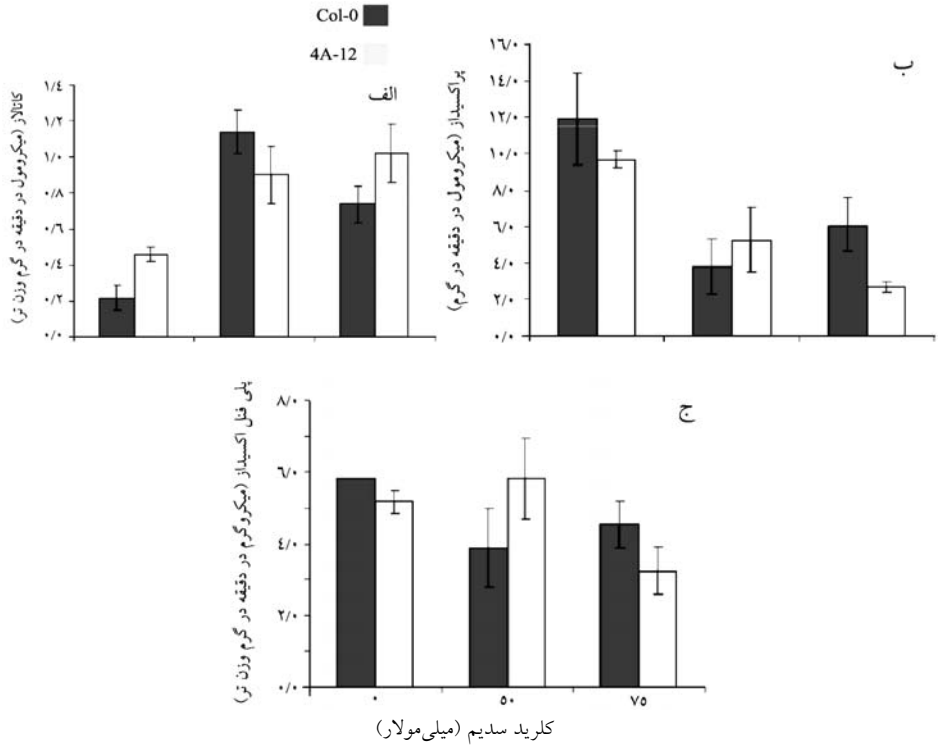
نتایج ما نشان داد تیمار شوری اعمال شده تولید زی‌توده را در ٤ واریته اربیدوپسیس آزمایش شده کاهش داد به گونه‌ای که تیمارهای ١٠٠ و ١٥٠ میلی‌مولار کلرید سدیم در هر ٤ واریته گیاهی موجب توقف کامل رشد گردید. این نتایج تأییدکننده آن است که گیاه آرابیدوپسیس جزء گیاهان شیرین‌رست است که جذب سدیم را محدود می‌نماید یا آن را در بافت‌های پیرتر بخش‌بندی می‌کند (چیزمن، ١٩٨٨). به‌علاوه، ما نشان دادیم که گیاهان جهش‌یافته *recQl4A* در مقایسه با گیاهان وحشی پس از تیمار با شوری ٧٥ میلی‌مولار کلرید سدیم از زی‌توده کمتری برخوردار هستند. از دلایلی که می‌توان در توضیح کاهش زی‌توده متصور شد یکی کاهش میزان فتوسنتز است که به دو جنبه شوری یعنی کاهش آب گیاه و بر هم خوردن ترکیب یونی آن وابسته می‌باشد (اینگر و ردی، ١٩٩٦). کاهش پتانسیل آب گیاه موجب بروز تنش اسمزی و در نتیجه، غیرفعال شدن انتقال الکترون فتوسنتزی می‌گردد که به‌دلیل انقباض فضای

درون سلولی در اثر خروج آب از خلال غشای پلاسمایی رخ می‌دهد (الاخوردی و همکاران، ۲۰۰۲). از طرف دیگر، جذب زیاد یون‌های سدیم جذب سایر یون‌ها به‌ویژه K^+ را کاهش می‌دهد (بال و همکاران، ۱۹۸۷). چنین شرایطی موجب کاهش بازده کوانتایی آزادسازی اکسیژن در اثر عملکرد نامناسب فتوسیستم II که نیازمند K^+ است، می‌شود. (بال و همکاران، ۱۹۸۷). عوامل ذکر شده و هم‌چنین تنش اسمزی ناشی از کمبود آب موجب تشکیل انواع اکسیژن فعال (ROS) همچون رادیکال سوپر اکسید ($O_2^{-\circ}$) پراکسید هیدروژن (H_2O_2)، رادیکال هیدروکسید ($OH^{-\circ}$) و اکسیژن منفرد[1] (O_2) می‌گردد. گونه‌های فعال اکسیژن، سمی می‌باشند و قادر هستند به‌طور جدی متابولیسم عادی سلول را از طریق آسیب اکسیداتیو به لیپیدها، پروتئین‌ها و اسیدهای نوکلئیک مختل کنند (ایمیلی و لین، ۱۹۸٦). با توجه به دخالت پروتئین AtRecQl4A در ترمیم صدمات وارده به DNA (باقریه‌نجار و همکاران، ۲۰۰۵) این احتمال وجود دارد که تیمار ۷۵ میلی‌مولار کلرید سدیم موجب بروز تنش اکسیداتیو و در نتیجه، آسیب به DNA گیاهان شده و از آن طریق تولید زی‌توده در گیاهان جهش‌یافته را کاهش داده است.



شکل ٤- تأثیر غلظت‌های مختلف کلرید سدیم بر وزن تر (الف): وزن خشک، ب): مقدار کلروفیل، ج): در گیاهان اربیدوپسیس وحشی (Col-0) و جهش‌یافته (4A-12). میانگین داده‌ها ± خطای استاندارد نشان داده شده است.

1- Singlet Oxygen



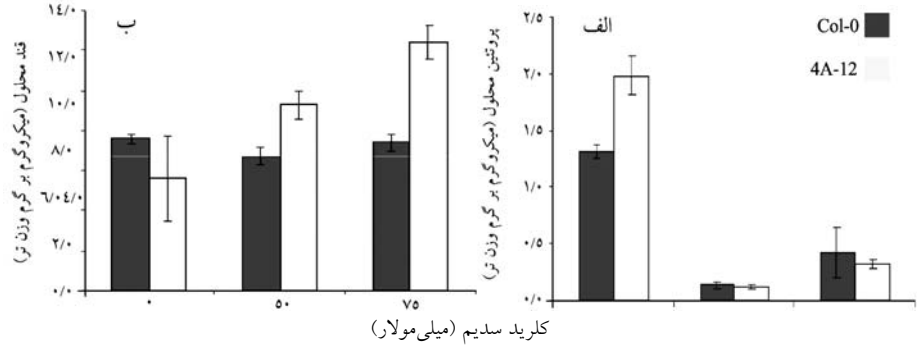
شکل ٥- تأثیر غلظت‌های مختلف کلرید سدیم بر فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانت در گیاهان اربیدوپسیس وحشی (Col-0) و جهش‌یافته (4A-12). میانگین داده‌ها ± خطای استاندارد نشان داده شده است.

عموماً مقدار کلروفیل و مجموع کاروتنوئیدهای برگ در تنش شدید شوری کاهش می‌یابد. در برگ‌های پیر تحت تنش شوری کاهش کلروفیل ادامه می‌یابد و در صورت طولانی شدن تنش شوری، برگ‌ها می‌ریزند (هرناندز و همکاران، ١٩٩٩؛ آگاستین و همکاران، ٢٠٠٠). از طرف دیگر، پریدا و داس (٢٠٠٥) گزارش کرده‌اند که در گیاهان تحت تنش شوری افزایش ضخامت پارانشیم نردبانی به‌دلیل بیشتر بودن تعداد کلروپلاست‌ها و در نتیجه، افزایش محتوای کلروفیل در این نوع پارانشیم می‌تواند بر ظرفیت فتوسنتزی گیاهان تحت تنش شوری اثر مثبت گذارد. در پژوهش حاضر، میزان کلروفیل کل در گیاهان وحشی تا تیمار ٧٥ میلی‌مولار کلرید سدیم افزایش داشت و پاسخ‌های متفاوتی بین گیاهان وحشی و جهش‌یافته در تغییرات مقدار کلروفیل کل مشاهده گردید. هرچند تیمار ٥٠ میلی‌مولار کلرید سدیم موجب افزایش معنی‌دار مقدار کلروفیل در گیاهان *4A* گردید، اما تأثیر

معنی‌داری در گیاهان WS نداشت. از طرف دیگر، تیمار ۷۵ میلی‌مولار کلرید سدیم که برای گیاه آرابیدوپسیس تنش شوری محسوب می‌شود موجب افزایش معنی‌دار مقدار کلروفیل در گیاهان WS گردید اما موجب کاهش معنی‌داری در گیاهان *4A* تا سطح تیمار شاهد گردید. این مطلب حاکی از آن است که هر دو گیاه سعی کرده‌اند در این شرایط با افزایش مقدار کلروفیل، ظرفیت فتوسنتزی و در نتیجه توانایی مواجه با تنش را در خود تقویت کنند. تفاوت غلظت نمک مؤثر در ایجاد این پاسخ در گیاهان WS و *4A* احتمالاً ناشی از حساسیت متفاوت این گیاهان نسبت به تنش شوری می‌باشد به‌طوری‌که به‌دلیل حساسیت بیشتر گیاهان *4A* نسبت به شوری، این گیاهان موفق نشده‌اند در غلظت بیشتر نمک مقدار کلروفیل خود را افزایش دهند یا از تخریب آن جلوگیری نمایند.

در سلول‌هایی که تحت تنش قرار ندارند تولید و تخریب ROS در حال تعادل است اما در پاسخ به تنش‌های محیطی توازن میان تولید و تخریب به هم می‌خورد و تولید ROS افزایش می‌یابد (آلچر و همکاران، ۲۰۰۲؛ بوچانان، ۱۹۹۷). پلی‌فنل‌اکسیداز، کاتالاز و پراکسیداز مثال‌هایی از آنزیم‌های آنتی‌اکسیداتیو می‌باشند. کاتالاز که در پراکسی‌زوم‌ها، گلی‌اکسی‌زوم‌ها و میتوکندری‌ها قرار داشته و ظاهراً در کلروپلاست‌ها وجود ندارد، اساساً پراکسید هیدروژن تولید شده در تنفس نوری و تنفس را به آب و مولکول اکسیژن تجزیه می‌کند (میشرا و گوپتا، ۲۰۰۶). داده‌های این پژوهش نشان داد شوری محیط کشت موجب افزایش فعالیت آنزیم کاتالاز می‌گردد. تیمار ۷۵ میلی‌مولار کلرید سدیم که برای گیاه آرابیدوپسیس تنش شوری محسوب می‌شود باعث افزایش فعالیت آنزیم کاتالاز در گیاهان جهش‌یافته *recQl4A* نسبت به گیاهان وحشی در هر دو واریته گردید. ظاهراً روند تغییرات فعالیت آنزیم کاتالاز در جریان تنش به گونه گیاه بستگی دارد به‌طوری‌که فعالیت آن در برخی از گونه‌ها افزایش و در برخی دیگر از گونه‌ها کاهش می‌یابد (کینگ و همکاران، ۱۹۹۲).

نگارندگان هم‌چنین نشان دادند تیمار ۷۵ میلی‌مولار کلرید سدیم موجب کاهش معنی‌دار فعالیت آنزیم پراکسیداز و پلی‌فنل‌اکسیداز در گیاهان اربیدوپسیس گردید. پراکسیدازها در بافت‌های گیاهی مختلف وجود دارند و عملکرد آن‌ها متفاوت است. در آپوپلاست به‌عنوان مصرف‌کننده پراکسید هیدروژن و آنزیم‌های اکسیدکننده فنل عمل می‌کنند. در تأیید نتایج ارایه شده در این پژوهش، جیا و همکاران (۲۰۰۲) گزارش کرده‌اند که تیمار گیاهان نخودفرنگی با کلرید سدیم موجب کاهش قابل ملاحظه بیان ژن مربوط به ٤ ایزوآنزیم پراکسیداز گردید.



شکل ٦- تأثیر غلظت‌های مختلف کلرید سدیم بر میزان پروتئین محلول کل (الف) قند محلول، (ب) در گیاهان اربیدوپسیس وحشی (Col-0) و جهش‌یافته (4A-12). میانگین داده‌ها ± خطای استاندارد نشان داده شده است.

به‌طورکلی تنش شوری با کاهش میزان فتوسنتز می‌تواند مقدار پروتئین و قند گیاه را کاهش دهد. اما از طرف دیگر، گیاهان برای حفظ تعادل یونی در واکوئل‌ها و سیتوپلاسم خود ترکیباتی با جرم مولکولی کم از قبیل پرولین، گلایسین، بتائین، پلی‌یول‌ها و قندهایی از قبیل گلوکز و فروکتوز که مجموعاً اسمولیت نامیده می‌شوند را انباشته می‌کنند (پریدا و همکاران، ٢٠٠٢). به‌دلیل این‌که این مواد تداخلی با واکنش‌های معمول بیوشیمیایی ایجاد نمی‌کنند، اصطلاحاً محلول‌های سازگار نامیده می‌شوند (زیفانگ و لوئیشر، ٢٠٠٣). از اعمال این اسمولیت‌ها می‌توان به انباشته شدن متناسب با تغییر اسمزی خارج سلولی در محدوده خاص، حمایت از ساختارها و تعادل اسمزی تقویت‌کننده جریان ورودی آب (یا کاهش جریان خروجی) اشاره نمود (هاسگاوا و همکاران، ٢٠٠٠). نتایج به‌دست آمده در این پژوهش نشان‌دهنده آن است که تیمار شوری باعث کاهش معنی‌دار مقدار پروتئین محلول در لاین‌های مختلف مورد آزمایش نسبت به گیاهان شاهد گردید اما فقط در گیاهان جهش‌یافته *recQl4A* تیمار شده با ٧٥ میلی‌مولار کلرید سدیم این کاهش به اندازه گیاهان وحشی نبود. شاید بتوان این پدیده را با افزایش هیدرولیز برخی از پروتئین‌ها و یا سنتز پروتئین‌های جدید در عدم حضور ژن *recQl4A* مرتبط دانست.

افزایش قندهای محلول در گیاهان جهش‌یافته *recQl4A* نسبت به گیاهان وحشی احتمالاً به‌دلیل حساسیت بیشتر این گیاهان به تنش و پاسخ شدیدتر آنها به تولید قندهای محلول به‌عنوان اسمولیت بوده است که در جهت جبران کاهش مقاومت گیاه به شوری حاصل شده است. احتمال دارد در غیاب

ژن *recQl4A* افزایش مقدار قندهای محلول، پتانسیل آب سلول‌ها را کاهش داده تا در نتیجه، توانایی گیاه را در جذب آب از محیط شور بهبود بخشد. در مجموع با توجه به نتایج به‌دست آمده می‌توان دو نقش برای پروتئین *RecQl4A* در تنظیم پاسخ گیاه به تنش‌های محیطی متصور شد: اول این‌که پروتئین RecQl4A با تنظیم فرایندهای مرتبط با ترمیم صدمات وارده به DNA می‌تواند در کنترل پاسخ گیاه به برخی تنش‌های محیطی نقش ایفا کند و دوم این‌که این پروتئین با داشتن دامین EF-hand نقشی دوگانه دارد و علاوه‌بر دخالت در فرایندهای مرتبط با ترمیم DNA (شبیه سایر همولوگ‌های RecQ) به‌طور مستقل در پاسخ گیاه به تنش‌های محیطی از جمله شوری و سرما نیز نقش دارد. با توجه به این‌که این ژن اولین عضو از خانواده RecQ در گیاهان است که با تفصیل مورد مطالعه قرار می‌گیرد و بررسی نقش همولوگ‌های آن در سایر موجودات زنده در ایجاد مقاومت به شوری حایز اهمیت نبوده است لذا انجام آزمایشات *in vitro* با پروتئین خالص شده AtRecQl4A می‌تواند نقش این ژن را در کنترل متابولیسم گیاه بیشتر روشن سازد.

منابع

۱- باقریه‌نجار، م.ب.، و دایکول، پ. ۱۳۸٦. نقش ژن *RecQl4A* اربیدوپسیس در ترمیم صدمات وارده به گیاه توسط اشعه ماورای بنفش. مجله دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، جلد چهارم شماره ٦، ۱۰۰-۱۱۰.

2.Agastian, P., Kingsley, S.J., and Vivekanandan, M. 2000. Effect of salinity on photosynthesis and biochemical characteristics in mulberry genotypes. Photosynthetica, 38: 287-290

3.Allakhverdiev, S.I., Nishiyama, Y., Miyairi, S., Yamamoto, H., Inagaki, N., Kanesaki, Y., and Murata, N. 2002. Salt stress inhibits the repair of photodamaged photosystem II by suppressing the transcription and translation of psbA genes in Synechocystis. Plant Physiol. 130: 1443-1453.

4.Alscher, R.G., Erturk, N., and Heath, L.S. 2002. Role of superoxide dismutase (SODs) in controlling oxidative stress in plants. J. Exp. Bot. 53: 1331-1341.

5.Arnon, D.I. 1949. Copper enzymes in isolated chloroplasts. polyphenoloxidase in Beta Vulgaris. Plant Physiol. 24: 1-15.

6.Bagherieh-Najjar, M.B. 2004. DNA recombination in plants: Functional analysis of *Arabidopsis* RecQ genes. University of Groningen, The Netherlands.

7.Bagherieh-Najjar, M.B., de Vries, O.M.M., Hille, J., and Dijkwel P.P. 2005. *Arabidopsis* RecQl4A suppresses homologous recombination and modulates DNA damage response. Plant J., 43: 789-798.

8.Ball, M.C., Chow, W.S., and Anderson, J.M. 1987. Salinity induced potassium deficiency causes a loss of functional phtosystem II in leaves of grey mangroves, *Avicennia marina*, through depletion of the atrazine-binding polypeptide. Aust. Plant Physiol. 14: 351-361.
9.Bohnert, H.J., and Jensen, R.G. 1996. Strategies for engineering waterstress tolerance in plants. Trends Biotechnol. 14: 89-97.
10.Boyer, J.S. 1982. Plant productivity and environment. Science, 218: 443-448.
11.Bradford, M. 1976. A Rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding Anal. Biochem. 72: 248-254.
12.Buchanan-Wollaston, V. 1997. The molecular biology of leaf senescence. J. Exp. Bot.48: 181-199.
13.Cheeseman, J.M. 1988. Mechanism of salinity tolerance in plants. Plant Physiol. 84: 547-550.
14.Drazkiewicz, M., Sko´rzyn´ska-Polit, E., and Krupa, Z. 2004. Copperinduced oxidative stress and antioxidant defense in *Arabidopsis thaliana*. BioMetals, 17: 379-387.
15.Hasegawa, P.M., Bressan, R.A., Zhu, J.K., and Bohnert, H.J. 2000. Plant cellular and molecular responses to high salinity. Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol. 51: 463-499.
16.Hernandez, J.A., Campillo, A., Jimenez, A., Alacon, J.J., and Sevilla, F. 1999. Response of antioxidant systems and leaf water relations to NaCl stress in pea plants. New Phytol. 141: 241-251.
17.Imlay, J.A., and Linn, S. 1986. DNA damage and oxygen radical toxicity. Science, 240: 1302-1309.
18.Iyengar, E.R.R., and Reddy, M.P. 1996. Photosynthesis in Highly Salt Tolerant Plants, Handbook of Photosynthesis. Marshal Dekar, Baten Rose, USA, Pp: 897-909.
19.Jia, W., Wang, Y., Zhang, S., Zhang, J. 2002. Salt stress-induced ABA accumulation is more sensitively triggered in roots than in shoots. J. Exp. Bot. 53: 2201-2206.
20.Kar, M., and Mishra, D. 1976. Catalase, Peroxidase and polyphenolxidase activities during rice leaf senescence. Plant Phsiol. 57: 315-319.
21.Khavarinejad, R.A., and Mostofi, Y. 1998. Effects of NaCl on photosynthetic pigments, saccharides, and chloroplast ultrastructure in leaves of tomato cultivars. Photosynthetica, 35: 151-154.
22.King, B.J., Siddiqi, M.Y., and Glass, A.D. 1992. Studies of the uptake of nitrate in barley. V. Estimation of root cytoplasmic nitrate concentration using nitrate reductase activity- implications for nitrate influx. Plant Physiol. 99: 1582-1589
23.Kusano, K., Berres, M.E., and Engels, W.R. 1999. Evolution of the RecQ family of helicase: A Drosophila homolog, Dmblm, is similar to the human bloom syndrome gene. Genetics, 151: 1027-1039.

24.Liu, X., and Huang, B. 2000. Heat stress injury in relation to membrane lipid peroxidation in creeping. Crop Sci. 40: 503-510.
25.McCready, R.M., Guggolz, J., Silviera, V., and Owens, H.S. 1950. Determination of starch and amylase in vegetables. Analytical chemistry, 22: 1156-1158.
26.Misra, N., and Gupta, A.K. 2006. Effect of salinity and different nitrogen sources on the activity of antioxidant enzymes and indole alkaloid content in *Catharanthus roseus* seedlings. J. Plant Physiol. 163: 11-18.
27.Omokolo, N.D., Tsala, N.G., and Djocgoue, P.F. 1996. Changes in carbohydrate, amino acid and phenol content in cocoa pods from three clones after infection with *Phytophthora megakarya* Bra. and Grif. Annals of Botany, 77: 153-158.
28.Parida, A., Das, A.B., and Das, P. 2002. NaCl stress causes changes in photosynthetic pigments, proteins and other metabolic components in the leaves of a true mangrove, *Bruguiera parviflora*, in hydroponic cultures. Plant Biol. 45: 28-36.
29.Parida, A.K., and Das, A.B. 2005. Salt tolerance and salinity effects on plants. Ecotoxicology and Enviromental safety, 60: 324-349.
30.Resende, M.L.V., Nojosa, G.B.A., Cavalcanti, L.S., Aguilar, M.A.G., Silva, L.H.C.P., Perez, J.O., Andrade, G.C.G., Carvalho, G.A., and Castro, R.M. 2002. Induction of resistance in cocoa against *Crinipellis perniciosa* and *Verticillium dahliae* by acibenzolar-S-methyl (ASM). Plant Pathology, 51: 621-628.
31.Thipyapong, P., and Steffens, J.C. 1997. Tomato polyphenol oxidase; differential response of polyphenol oxidase F promotor to injuries and wound signals. Plant Physiol. 115: 409-418.
32.Zhifang, G., and Loescher, W.H. 2003. Expression of a celery mannose 6-phosphate reductase in *Arabidopsis thaliana* enhances salt tolerance and induces biosynthesis of both mannitol and a glucosyl-mannitol dimmer. Plant Cell Environ. 26: 275-283.

Gorgan University of Agricultural Sciences and Natural Resources

J. of Plant Production, Vol. 16(1), 2009
www.gau.ac.ir/journals

Analysis of some physiological and biochemical parameters in AtrecQl4A mutant plants under salinity stress

M.R. Kiamoghadam[1] and *M.B. Bagherieg-Najjar[2]
[1]M.Sc. Student, Dept. of Biology, Golestan University,
[2]Assistant Prof., Dept. of Biology, Golestan University

Abstract

RecQ family members play crucial roles in DNA repair, replication and recombination. The model plant *Arabidopsis thaliana* contains seven RecQ homologues. We already showed that inactivation of *AtRecQl4A* alters plant responses to genotoxic stress. In this report, some physiological and biochemical parameters in *recQl4A* mutant plants were investigated under salinity treatment. Wild type and *recQl4A* mutant plants were grown on Murashige and Skoog agar plates containing various concentrations of NaCl arranged in a completely randomized design. When plants were treated with 100-150 mM NaCl, damage to the plants was so high that we were not able to measure physiological or biochemical parameters accurately. In 75 mM NaCl, total soluble protein in all examined plant lines declined. In response to salinity treatment, mutant seedlings exhibited less dry weight and chlorophyll content, as compared to the wild type plants. However, total soluble sugar in the mutant seedlings was higher than that in wild type plants. Similarly, the catalase activity in the mutant plants was significantly higher than that of wild type, when plants were treated with 75 mM NaCl. Interestingly, increasing of NaCl concentration form 0 to 75 mM caused a significant reduction in the polyphenol oxidase activity in the mutant plants but not in the wild type plants. These results propose that the *RecQl4A* gene plays crucial roles in response of Arabidopsis plants to NaCl treatment and provide new insights in understanding mechanisms underlying plant salinity tolerance.

Keywords: Arabidopsis, RecQl4A, Catalase, peroxidase, Polyphenoloxidase

* Corresponding Author; Email: m.b.bagherieh@gmail.com