بررسی فعالیت ایزوزایم‌های سوپراکسید دیسموتاز تحت شرایط تغذیه با منابع مختلف آهن در گیاه *Aloe vera*

رسول قاسمی[1*]، پرستو ناصری[2] و حسین نوروزی[2]

[1] گروه زیست شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه پیام نور، تهران، ایران، [2] گروه زیست شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه پیام نور، مرکز اصفهان، ایران

(تاریخ دریافت: ۹۳/۰۳/۳۰، تاریخ پذیرش نهایی: ۱۳۹٤/۰٦/۲۳)

چکیده:

Aloe vera **از گیاهانی است که با توجه به سازگاری‌های ویژه آن به شرایط اقلیمی ایران مورد بهره‌برداری صنعتی قرار گرفته است. بررسی بیشتر خصوصیات فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی آن در بافت‌هایی که مورد استفاده مستقیم قرار می‌گیرند، موجب بهره‌برداری بهینه می‌شود. در این مطالعه اثر تغذیه آهن بر غلظت آهن در بافت‌های برگ و فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز مورد بررسی قرار گرفت. گیاهان تکثیر شده از یک پایه مادری تحت تیمار غلظت‌های مختلف آهن در محیط کشت (۰، ۵، ۱۰ و ۲۰ میکرومولار) از دو منبع FeEDTA و FeEDDHA در یک طرح فاکتوریل کامل تصادفی قرار گرفتند. نتایج نشان داد که بین دو منبع آهن تفاوتی در تجمع آن در گیاه وجود نداشت. با افزایش غلظت در محیط کشت، بیشترین تاثیر در افزایش غلظت آهن در بافت‌های سطحی برگ دیده شد. فعالیت آنزیمی سوپراکسید دیسموتاز کل در بافت‌های مختلف تحت تاثیر غلظت آهن قرار نگرفت. بررسی ایزوزایم‌ها نشان داد که فعالیت MnSOD در همه بافت‌ها وجود داشت. فعالیت FeSOD بیشتر در بافت‌های سطحی دیده شد اما با افزایش غلظت آهن، این ایزوزایم در پالپ نیز دیده شد. ایزوزایم Cu/ZnSOD در همه غلظت‌ها در بافت‌های سطحی دیده شد ولی در هیچکدام از شرایط در پالپ دیده نشد. بر اساس نتایج استدلال می‌شود که پالپ به عنوان مهمترین بافت مورد استفاده گیاه، محل اصلی ذخیره آهن در گیاه نیست. فعالیت سوپراکسید دیسموتاز در پالپ با افزایش غلظت آهن محیط قابل القاء است و بنابراین امکان القای فعالیت ایزوزایم Cu/ZnSOD با افزایش غلظت مس و روی قابل بررسی است.**

کلمات کلیدی: ***Aloe vera***، **آهن، ایزوزایم، پالپ، سوپراکسید دیسموتاز**

مقدمه:

Aloe vera با برگ‌های گوشتی بومی مناطق شمالی آفریقاست، اما منشا آن دقیقا مشخص نیست. تاکنون جمعیت طبیعی از *Aloe vera* در جهان ثبت نشده است اما جمعیت‌های مشابهی از آن در شمال آفریقا به ثبت رسیده است (VanWyk and Smith, 1996). با وجود استفاده‌های زیادی که از آن در زمینه مصارف بهداشتی می‌شود و همچنین وجود تبلیغات زیاد، بسیاری از خواص آن از نظر علمی ثابت نشده است. با وجود این، مهمترین تاثیرات دارویی آن شامل تاثیر بر دیابت و چربی خون است. این تاثیرات عمدتا به دلیل وجود مانون‌ها، آنتراکینون‌ها و لکتین‌هاست (Ernst *et al*., 2002). ارتفاع این گیاه بین ٦۰ تا ۱۰۰ سانتی‌متر است و واریته‌های مختلفی از آن وجود دارد که ممکن است سبز یا سبز با نقاط سفید رنگ در آن باشد. در برخی منابع *Aloe vera* فقط به گونه‌های خال‌دار آن گفته می‌شود و آن را به عنوان *Aloe vera* واریته chinensis می‌شناسند (Reynolds, 2004)، اما به نظر می

*نویسنده مسؤل، نشانی پست الکترونیکی: ghasemi@nj.isfpnu.ac.ir

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2024-04-24]

[DOR: 20.1001.1.23222727.1395.5.17.2.9]

رسد که واریته خالدار آن در واقع هیبریدی بین *Aloe vera* و *Aloe masavana* باشد. مهمترین ساختار مورد استفاده آن برگ آن است. برگ این گیاه شامل دو بخش بافت‌های سطحی و بخش ژله‌ای داخلی است که پالپ نامیده می‌شود. بافت‌های سطحی دارای بافت پارانشیمی فتوسنتز کننده است که در زیر آن و در مجاورت پالپ لوله‌های شیرابه‌دار وجود دارد.

ترکیبات *Aloe vera* ۹۶ درصد جرمی آب می‌باشد و ٤ درصد باقیمانده دارای مواد فراوانی است که تاکنون ۷۵ نوع آن شناخته شده است. ترکیباتی که در بخش گوشتی و ژل‌دار آن (که در بسیاری از منابع تحت عنوان پالپ نامیده می‌شود) یافت شده اغلب از جنس پلی‌ساکاریدهایی می‌باشند که قادر به ترمیم و کاهش التهاب هستند (Viljoen *et al*., 2001). این ژل ضمن اینکه دارای خواص ضد میکروبی است شامل آنتی‌اکسیدان‌های فراوانی در قالب ویتامین‌های A, B, C, E، آمینو اسید و اسید چرب ضروری، کلسیم و آلوئین می‌باشد (Hay and Haynes, 1956). این ژل، خوراکی و دارای ۷۵ ماده مغذی از لحاظ ارزش غذایی،۲۰۰ ترکیب فعال،۲۰ نوع ماده معدنی، ۱۸ نوع آمینو اسید و۱۲ نوع ویتامین است (Reynolds, 2004). اثرات این ژل عمدتا بر ترمیم پوست آسیب دیده و تاثیر بر سیستم ایمنی ذکر شده است.

آهن از جمله عناصر کم‌مصرف است که در واکنش‌های گیاهان به شرایط محیطی و مقابله با عوامل تنش‌زای محیطی مانند مقابله با سمیت فلزات سنگین، نور شدید و همچنین شوری اهمیت زیادی دارد. این عنصر در طیف وسیعی از فعالیت‌ها و واکنش‌ها مانند بیوسنتز کلروفیل و رنگدانه‌هایی مانند آنتوسیانین‌ها، انتقال الکترون فتوسنتزی و تنفسی، واکنش‌های اکسید–احیاء و آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان نقش دارد. بنابراین تغذیه آهن شامل مسیرها و مکانیسم‌های جذب، انتقال و ذخیره و همچنین سایر واکنش‌های فیزیولوژیکی گیاه به وضعیت آهن موضوع مطالعات وسیعی است. مقابله با شرایط نامساعد محیطی مختلف توسط عوامل مختلفی در گیاهان انجام می‌شود که از مهمترین آنها میزان فعالیت سیستم آنتی‌اکسیدانی گیاه است. تغییر عملکرد این سیستم می‌تواند نقش بسزایی در توان مقابله گیاه با شرایط تنش‌زای محیطی داشته باشد. میزان فعالیت این سیستم به طور قابل توجهی تحت تاثیر تغذیه معدنی گیاه قرار دارد به نحوی که میزان فعالیت برخی از آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان در گیاه شاخصی برای تعیین وضعیت تغذیه گیاه است. به عنوان مثال، فعالیت آنزیم‌های کاتالاز و سوپراکسید دیسموتاز از اولین شاخص‌هایی است که در گیاهان در شرایط کمبود آهن قابل اندازه‌گیری است (Marschner, 1995).

آنزیم سوپراکسید دیسموتاز یا SOD در موجودات زنده به سه نوع مختلف است. دو نوع FeSOD و MnSOD از نظر ترادف اسیدهای آمینه به هم شبیه بوده و در پروکاریوت‌ها تکامل یافته‌اند. نوع سوم، Cu/ZnSOD، در یوکاریوت‌ها تکامل یافته است. در هر حال تمامی موجودات زنده هوازی دارای انواعی از این آنزیم هستند. در یوکاریوت‌ها نوع MnSOD عمدتاً در میتوکندری‌ها وجود دارد (Wang *et al*., 2007)؛ نوع FeSOD در کلروپلاست‌ها و نوع Cu/ZnSOD در سیتوپلاسم و کلروپلاست وجود دارد (Kliebstein *et al*., 1998; Messerschmidt *et al*., 2001). آنزیم Cu/ZnSOD یک پروتئین دیمر با وزن مولکولی ۳۲ کیلو دالتون است که ایزوزایم‌های زیادی از آن شناخته شده است (Paoletti and Mocali, 1990). آنزیم‌های MnSOD و FeSOD به ترتیب پروتئین‌هایی تترامر با وزن مولکولی ۸٦ کیلو دالتون و دیمر با وزن مولکولی ٤۱ کیلو دالتون هستند (Messerschmidt *et al*., 2001). علیرغم تفاوت در کوفاکتور، همه انواع آنزیم SOD مکانیسم و عملکرد یکسانی دارند (Ahmad, 1995). بر اثر عملکرد این آنزیم رادیکال‌های سوپراکسید که بر اثر انتقال الکترون به مولکول اکسیژن پدید آمده بودند به اکسیژن و پراکسید هیدروژن تبدیل می‌شوند. در بین ایزوزایم‌های مختلف، Cu/ZnSOD سرعت عمل و قابلیت بسیار بیشتری در زدودن رادیکال سوپراکسید دارد و حتی فرم‌هایی از آن در آپوپلاست نیز وجود دارد (Alscher *et al*, 2002).

گزارشات حاکی از تغییر فعالیت ایزوزایم‌های SOD بر اثر عوامل مختلف مانند عوامل تنش‌زا است. شدت و نوع عوامل

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2024-04-24]

[DOR: 20.1001.1.23222727.1395.5.17.2.9]

تنش اکسیداتیو تأثیر متفاوتی بر بیان ژن‌های انواع مختلف آنزیم‌های SOD دارند (Kliebenstein *et al.*, 1998). به عنوان مثال Wu و همکاران (۱۹۹۹) مشخص نمودند که در گیاه گندم، تنش خشکی بیان ژن‌های نوع MnSOD را تشدید می‌کند در حالی که در بیان ژن‌های نوع Cu/ZnSOD تغییری دیده نمی‌شود. به علاوه آنها نشان دادند که بین نژادهای مختلف نیز تفاوت‌هایی در الگوی بیان ژن‌های انواع مختلف SOD وجود دارد.

کاشت و بهره‌برداری از گیاه *Aloe vera* در ایران در سال‌های اخیر رو به فزونی گذاشته است و بنابراین نیاز به تولید محصول بهتر و همچنین رسیدن به شرایط بهینه تولید و بهبود توان مقابله گیاه با شرایط نامساعد و یا غیر بهینه، از نیازهای توسعه این محصول است. به علاوه امکان تغییر در ترکیب عناصر معدنی در ژل این محصول که جنبه خوراکی نیز دارد دارای اهمیت ویژه‌ای است. در این مطالعه به بررسی اثر تغذیه آهن در این گیاه پرداخته شد و برای بررسی وضعیت از شاخص‌هایی مانند غلظت آهن در بافت‌های برگ و همچنین وضعیت عملکرد ایزوزایم‌های مختلف آنزیم سوپراکسید دیسموتاز استفاده شد. بررسی امکان استفاده از غلظت های بالاتر آهن برای افزایش غلظت آهن در بخش های خوراکی مانند پالپ و همچنین نحوه پاسخ گیاه با کمبود آهن نیز از اهداف پژوهش حاضر بود.

مواد و روش‌ها:

رشد گیاهان: گیاهانی که از یک پایه مادری تکثیر شده بودند و سن حدود ٤ ماه داشتند، در گلدان‌های پلاستیکی یک لیتری حاوی پرلیت و در شرایط گلخانه در سه بلوک کامل تصادفی، در سه تکرار، کاشته شدند و با محلول هوگلند به مدت ۳ ماه تغذیه شدند. ترکیب محلول غذایی مورد استفاده شامل نیترات کلسیم (۱ میلی‌مولار)، فسفات دی هیدروژن پتاسیم (۰/۱ میلی‌مولار)، سولفات منیزیم (۰/۵ میلی‌مولار)، نیترات پتاسیم (۰/۵ میلی‌مولار)، کلرید سدیم (۲ میکرومولار)، سولفات مس (۰/۲ میکرومولار)، سولفات روی (۰/۲ میکرومولار)، سولفات منگنز (۲ میکرومولار)، اسید بوریک (۱۰ میکرومولار) و مولیبدات سدیم (۰/۱ میکرومولار) بود. pH محلول با استفاده از اسید کلریدریک ۵/۸ تنظیم شد. شرایط رشد گیاهان شامل دوره نوری ١٦–٨ ساعته نور–تاریکی بود که علاوه بر نور خورشید با استفاده از نور لامپ‌های فلورسانت با شدت حدود ۱۰۰ میکرومول فوتون در متر مربع در ثانیه تکمیل می‌شد. شرایط دمایی در محدوده ۳۷–۲۵ درجه سانتیگراد بود. محلول غذایی در ظروف زیر گلدانی ریخته شد و در تمام مدت آزمایشات، تبخیر آب با افزودن آب مقطر جبران می‌شد. محلول غذایی به طور کامل هر هفته تعویض می‌شد.

گیاهان تحت تیمار دو منبع آهن FeEDDHA (فریک اتیلن دی آمین دی ۲–هیدروکسی فنیل استات) و FeEDTA (فریک اتیلن دی آمین ترا استیک اسید) با غلظت‌های ۰، ۵، ۱۰ و ۲۰ میکرومولار قرار گرفتند. غلظت‌های مختلف آهن به محلول غذایی اضافه شد. تیمارها به مدت ٤٥ روز ادامه داشت. در این فاصله زمانی در گیاهان حداقل یک برگ جدید رشد کرد. با استفاده از قسمت‌های یکسانی از برگ کامل نوظهور، بافت‌های سطحی برگ و پالپ آنها آزمایش‌های زیر انجام شد. بافت‌ها ابتدا با استفاده از نیتروژن مایع منجمد شدند و با استفاده از هاون چینی بافت منجمد شده کاملا ساییده شد. سپس به آن بافر فسفات ۵۰ میلی مولار با pH = ۷/۵ سرد شده بر روی یخ اضافه شد و با افزودن شن مجددا ساییده شد. مخلوط حاصل در نهایت در دمای ٤ درجه سانتیگراد با شدت g۱۰۰۰۰ سانتریفیوژ شده و در نهایت محلول رویی مورد استفاده قرار گرفت. در همه مدت انجام آزمایش و تا قبل از اندازه‌گیری فعالیت آنزیمی کلیه محلول‌ها بر روی یخ نگهداری شدند.

اندازه‌گیری فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز (SOD) کل: فعالیت SOD بر اساس روش Giannopolities و Ries (۱۹۷۷) اندازه‌گیری شد. محلول واکنش شامل بافر فسفات (۵۰ میلی‌مولار) و pH = ۷/۸، متیونین (۱۳ میلی‌مولار)، NBT (p-nitroblue tetrazolium chloride) با غلظت ۷۵ میکرومولار، ریبوفلاوین (۲ میکرومولار) و EDTA (۰/۱

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2024-04-24]

[DOR: 20.1001.1.23222727.1395.5.17.2.9]

میلی‌مولار) بود. برای اندازه‌گیری، ۱۰۰ میکرولیتر نمونه به ۱۰۰۰ میکرولیتر محلول واکنش افزوده شد. برای اندازه‌گیری هر نمونه، چهار لوله آزمایش در نظر گرفته شد که دو لوله حاوی محلول واکنش و عصاره استخراج شده و دو نمونه به عنوان شاهد و بدون افزودن عصاره بود. از هر سری، یک لوله در معرض نور فلورسانت و لوله دیگر در تاریکی قرار داده شد. لوله‌های قرار گرفته در تاریکی به عنوان بلانک برای تعیین جذب نمونه‌ها مورد استفاده قرار گرفتند. نمونه‌های قرار گرفته در معرض نور بعد از ۱۵ دقیقه تغییر رنگ دادند و تیره شدند. جذب نوری نمونه‌ها در طول موج ۵۶۰ نانومتر اندازه‌گیری شد. طبق تعریف، یک واحد آنزیمی سوپراکسید دیسموتاز مقداری است که بتواند پنجاه درصد از انجام واکنش جلوگیری کند. هر چه میزان فعالیت آنزیم بیشتر باشد محلول واکنش روشن‌تر باقی می‌ماند. در حضور رادیکال سوپراکسید (که در حضور نور و ریبوفلاوین در محیط تولید می‌شود) ماده زرد رنگ NBT به ماده فورمازان با رنگ سرمه‌ای تبدیل می‌شود، هر چه میزان فعالیت آنزیم بیشتر باشد سوپر اکسید کمتری در محیط باقی خواهد ماند و در نتیجه مقدار کمتری فورمازان تشکیل می‌شود که بر این اساس محلول روشن‌تر باقی می‌ماند.

برای تعیین مقدار فعالیت آنزیمی بر حسب "واحد در میلی‌گرم پروتئین" استخراج شده از هر نمونه، غلظت پروتئین کل نیز با استفاده از روش برادفورد (Bradford, 1976) در نمونه‌ها اندازه‌گیری شد.

الکتروفورز پروتئین‌ها به فرم طبیعی: فعالیت آنزیم SOD به صورت نیمه کمی و با روش رنگ آمیزی ژل پس از الکتروفورز بر اساس روش ارائه شده توسط Beauchamp و Fridovich (۱۹۷۱) انجام شد. ژل مورد استفاده از نوع پلی‌آکریلامید دو بخشی (بخش جدا کننده با غلظت ۱۰٪ و ژل متراکم کننده با غلظت ٤٪ اکریلامید) بود. در تهیه ژل هیچ‌گونه مواد واسرشته کننده (Denaturing) پروتئین مانند سدیم دودسیل سولفات استفاده نشد. ضخامت ژل مورد استفاده ۱ میلی‌متر و ابعاد آن ۱۱ در ۱۲ سانتیمتر بود.

آماده سازی عصاره‌های پروتئینی جهت الکتروفورز: عصاره‌های به دست آمده از بافت‌های سطحی برگ و پالپ گیاهان تیمار شده با غلظت‌های مختلف آهن، جهت لودینگ پروتئین استفاده شد. از آنجایی که در مقایسه نیمه کمی باید غلظت پروتئین نمونه‌ها در هر چاهک معین و یکسان باشد، در ابتدا سنجش کمی پروتئین‌های استخراج شده طبق روش Bradford (۱۹۷٦) انجام گرفت. یکسان سازی غلظت پروتئین نمونه‌ها با استفاده از بافر نمونه (حاوی بافر تریس ۵۰mM با pH = ٦/٨، گلیسرول، آب مقطر و رنگ برموفنل‌بلو) انجام شد و به هر چاهک ژل مقدار مساوی ۲۰ میکروگرم پروتئین اضافه شد. الکتروفورز با ولتاژ ۱۰۰ ولت انجام شد و به منظور پایین نگه داشتن دمای ژل و جلوگیری از غیر فعال شدن آنزیم‌ها در مدت انجام الکتروفورز، با استفاده از دستگاه خنک کننده دمای سیستم در حدود ۵ درجه نگه داشته شد.

رنگ آمیزی ژل برای تشخیص ایزوزایم‌های SOD: پس از انجام الکتروفورز، ژل به ترتیب زیر رنگ‌آمیزی شد: ۱) ژل در ۵۰ میلی‌لیتر بافر تریس-HCl ۵۰ میلی‌مولار با pH = ۸ به مدت ۲۰ دقیقه در تاریکی و بر روی یخ قرار داده شد. ۲) پس از دور ریختن محلول فوق ۵۰ میلی‌لیتر بافر تریس-HCl ۵۰ میلی‌مولار با pH = ۸ حاوی ۱۰۰ میلی‌گرم در لیتر NBT و ٤۰ میکرومولار ریبوفلاوین به ژل اضافه شد و در تاریکی به مدت ۲۰ دقیقه قرار گرفت. این مرحله نیز بر روی یخ انجام گرفت. ۳) در مرحله بعد پس از دور ریختن محلول فوق ۵۰ میلی‌لیتر بافر تریس-HCl ۵۰ میلی‌مولار با pH = ۸ حاوی(V/V) ۱/۱۰۰۰ TEMED به مدت ۲۰ دقیقه در تاریکی قرار داده شد. ٤) در نهایت ژل به مدت ۱۵ دقیقه زیر نور فلورسانت قرار داده شد.

ظهور باندهای شفاف در زمینه تیره ژل نشان دهنده حضور ایزوزایم‌های مختلف آنزیم SOD در محل باندها می‌باشد. برای بدست آوردن الگویی ثابت از وضعیت باندهای قابل مشاهده، الکتروفورز بیش از ده بار تکرار شد و تصویر مناسب که بیانگر

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2024-04-24]

[DOR: 20.1001.1.23222727.1395.5.17.2.9]

الگوی تکرار پذیر باشد انتخاب شد.

اندازه‌گیری غلظت عناصر در بافت خشک: ۰/۱ گرم از بافت گیاه (برگ کامل) و ۰/۱ گرم پالپ بطور مجزا وزن شد به هر یک از نمونه‌ها ۲ میلی‌لیتر اسید نیتریک افزوده شد. نمونه‌ها به مدت ۲٤ ساعت در دمای آزمایشگاه و سپس به مدت ۲ ساعت در بن ماری در دمای ۹۰ درجه جهت هضم اسیدی قرار گرفتند. پس از سرد شدن نمونه‌ها به هر کدام ۱ میلی‌لیتر آب اکسیژنه ۳۰ ٪ افزوده شد و مجددا در دمای ۹۰ درجه تا شفاف شدن محلول قرار گرفتند. سپس حجم هر یک از نمونه‌ها با آب مقطر به ۱۰ میلی‌لیتر رسید. محلول‌های حاصل سپس به مدت ۱۰ دقیقه با شدت ۱۰۰۰۰ g جهت رسوب دادن ذرات معلق احتمالی سانتریفوژ شد و محلول‌های رویی پس از انتقال به لوله آزمایش دیگر جهت تعیین غلظت عناصر با دستگاه طیف سنج جذب اتمی (Atomic absorption spectrophotometer, Shimadzu, 6200) آماده شدند (Ghasemi *et al.*, 2009).

تجزیه آماری داده‌ها: نتایج کمی بدست آمده در این مطالعه با استفاده از تجزیه واریانس یک راهه و دو راهه مورد ارزیابی قرار گرفتند. برای مقایسه‌های دوگانه از روش آماری t-test و مقایسه‌های چند گانه با استفاده از آزمون Tukey's HSD در سطح اطمینان ۵ درصد انجام شد. کلیه تجزیه‌های آماری با استفاده از نرم افزار SPSS نسخه ١٦ انجام شد.

نتایج:

اندازه‌گیری غلظت آهن: بررسی آماری غلظت عنصر آهن در نمونه‌های برگ کامل نشان داد که در تیمار FeEDDHA درغلظت ۲۰ میکرومولار با غلظت ۱۰ میکرومولار و شرایط عدم آهن در محیط کشت اختلاف معنی‌دار وجود دارد ($P<0.05$). در غلظت ۱۰ میکرومولار دو برابر افزایش نسبت به شرایط عدم آهن در محیط کشت مشاهده شد. در غلظت ۲۰ میکرومولار نسبت به غلظت ۱۰ میکرومولار در حدود ٤۰ درصد افزایش در غلظت آهن مشاهده می‌شود و نسبت به شرایط عدم افزودن آهن در محیط کشت در غلظت ۲۰ میکرومولار میزان عنصر آهن در حدود ۳ برابر افزایش مشاهده گردید. در تیمار FeEDTA در غلظت ۲۰ میکرومولار با شرایط عدم افزودن آهن در محیط کشت اختلاف معنی‌دار مشاهده شد ($P<0.05$). در این غلظت در میزان عنصر آهن در حدود ۳ برابر افزایش مشاهده شد. بین دو منبع آهن در هیچ تیمار غلظتی اختلاف معنی‌دار مشاهده نشد (شکل۱). بر اساس تجزیه واریانس دو راهه مشخص شد در این طرح آزمایش، منبع آهن بر غلظت آهن تاثیر معنی‌دار نداشت اما غلظت آهن استفاده شده تاثیر معنی‌دار ($P<0.05$) داشت (جدول ۱).

در آنالیز عنصر آهن نمونه‌های پالپ تمام تیمارها، در تیمار FeEDDHA در غلظت ۲۰ میکرومولار با شرایط عدم آهن در محیط کشت اختلاف معنی‌دار مشاهده شد ($P<0.05$). در این غلظت در میزان عنصر آهن در حدود ۳ برابر افزایش دیده شد. در تیمار FeEDTA در غلظت۲۰ میکرومولار با شرایط عدم آهن در محیط کشت اختلاف معنی‌دار مشاهده شد ($P<0.05$) به نحوی که غلظت آهن در حدود ۲/۵ برابر افزایش داشت. بین دو منبع آهن در هیچ تیمار غلظتی اختلاف معنی‌دار مشاهده نشد (شکل۲). بر اساس تجزیه واریانس دو راهه مشخص شد در این طرح آزمایش، منبع آهن مورد استفاده بر غلظت عنصر آهن تاثیر معنی‌دار نداشت اما غلظت آهن استفاده شده تاثیر معنی‌دار ($P<0.05$) داشت (جدول ۱).

فعالیت آنزیمی سوپراکسید دیسموتاز: در بررسی فعالیت آنزیمی سوپراکسید دیسموتاز نمونه‌های تهیه شده از برگ کامل، در تیمار FeEDDHA در غلظت ۲۰ میکرومولار با غلظت ۱۰ میکرومولار تفاوت معنی‌دار مشاهده شد ($P<0.05$). در غلظت ۲۰ میکرومولار نسبت به غلظت صفر، در حدود ۳۰ درصد کاهش در فعالیت آنزیم مشاهده گردید. بین دو منبع آهن تفاوت معنی‌دار مشاهده نشد (شکل۳). بر اساس تجزیه واریانس دو راهه مشخص شد در این طرح آزمایش، منبع آهن بر فعالیت آنزیم در برگ کامل تاثیر نداشت اما غلظت آهن استفاده شده تاثیر معنی‌دار بر فعالیت آنزیم ($P<0.05$) داشت (جدول ۱).

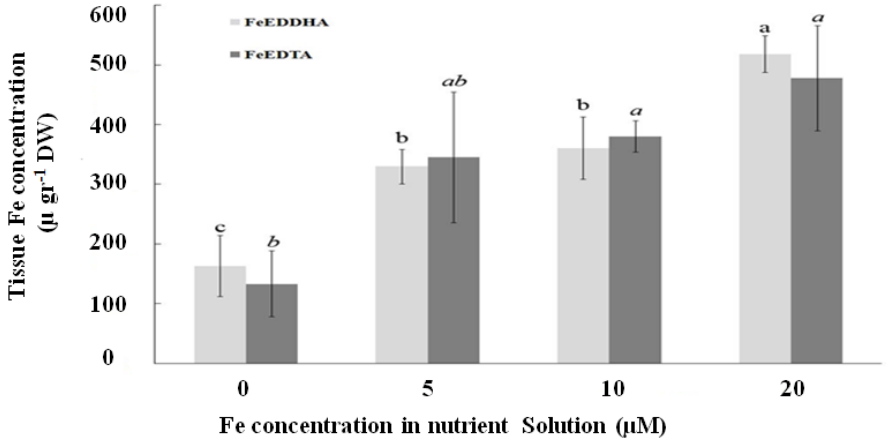
[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2024-04-24]

[DOR: 20.1001.1.23222727.1395.5.17.2.9]

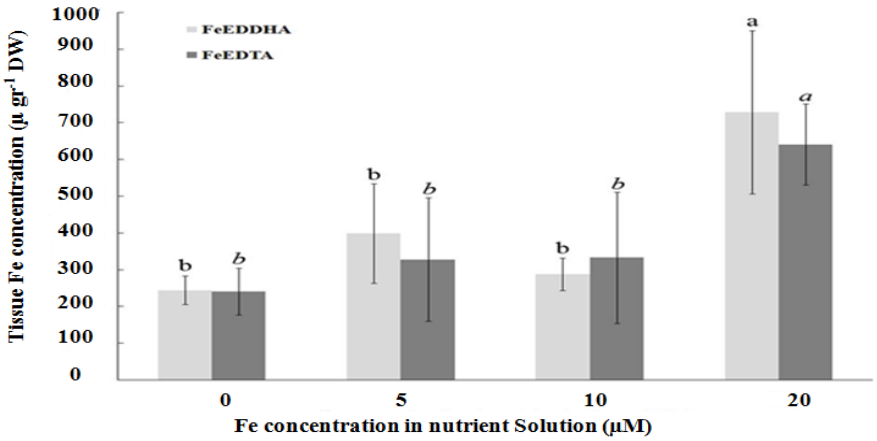
جدول ۱- تجزیه واریانس اثر غلظت آهن در محیط کشت، منبع آهن و برهمکنش آنها بر غلظت آهن و فعالیت آنزیمی سوپراکسید دیسموتاز در بافت‌های گیاه *Aloe vera*. ضریب مربع اتا بیانگر سهم تغییرات مشاهده شده هرکدام از عوامل تاثیر گذار بر اساس درصد است.

منبع تغییرات	غلظت آهن				فعالیت SOD			
	پالپ		برگ کامل		پالپ		بافت‌های سطحی برگ		برگ کامل	
	Eta^2	Sig.	Eta^2	Sig.	Eta^2	Sig.	Eta^2	Sig.	Eta^2	Sig.
غلظت آهن	٦٢/٨	۰/۰۰۱	۸۳	<۰/۰۰۱	۱۸	۰/۳۱	۲۸	۰/۰۱	٤٢/٦٥	۰/۰۱٥
منبع آهن	۰/٤٥	۰/٦٥	۰/۰۰۳	۰/۹٦	۱۷	۰/۲۹	۲۱	۰/۰۱	۰/٤٥	۰/۷۲
غلظت * منبع آهن	۱/٦٥	۰/۸٦۷	۰/٦۸	۰/۸۷۹	۹	۰/٥۹	۱۷	۰/۰٤	۸/۹	۰/٤۱۹
خطا	۳٥		۱٦/۲		٥٦		۳٤		٤۸	

Sig.: مقادیر کمتر از ۰/۰۵ نشان دهنده وجود اثر آماری معنی‌دار است.



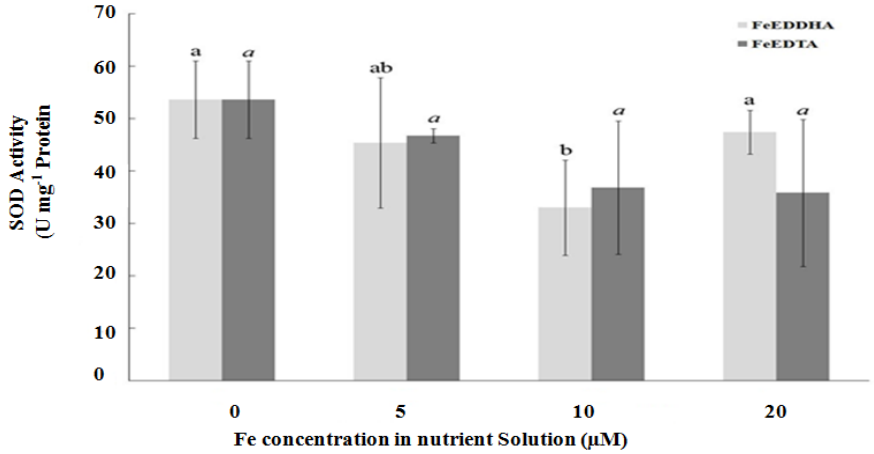
شکل ۱- غلظت آهن در نمونه‌های برگ کامل گیاه *Aloe vera* تحت تیمارهای مختلف غلظت و منبع آهن. مقادیر شامل میانگین ۳ تکرار ± انحراف معیار می‌باشد. عدم حروف مشترک در هر سری (حروف معمولی برای منبع آهن FeEDDHA و حروف کوچک ایتالیک برای منبع آهن FeEDTA) نشان دهنده تفاوت معنی‌دار بین غلظت‌های مختلف آهن مورد استفاده بر اساس آزمون توکی ($P < 0.05$) می‌باشد.



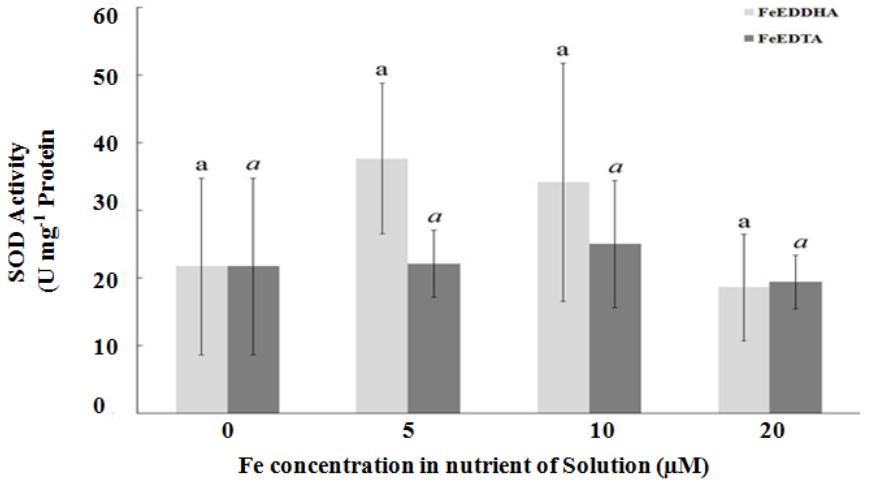
شکل ۲ - غلظت عنصر آهن در نمونه‌های پالپ گیاه *Aloe vera* تحت تیمارهای مختلف غلظت و منبع آهن. مقادیر شامل میانگین ۳ تکرار ± انحراف معیار می‌باشد. عدم حروف مشترک در هر سری (حروف معمولی برای منبع آهن FeEDDHA و حروف ایتالیک برای منبع آهن FeEDTA) نشان دهنده تفاوت معنی‌دار بین غلظت‌های مختلف آهن مورد استفاده بر اساس آزمون توکی ($P < 0.05$) می‌باشد.

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2024-04-24]

[DOR: 20.1001.1.23222727.1395.5.17.2.9]



شکل ۳- فعالیت آنزیمی سوپراکسید دیسموتاز کل در نمونه‌های برگ کامل گیاه *Aloe vera* تحت تیمارهای مختلف غلظت و منبع آهن. مقادیر شامل میانگین ۳ تکرار ± انحراف معیار می‌باشد. عدم حروف مشترک در هر سری (حروف معمولی برای منبع آهن FeEDDHA و حروف ایتالیک برای منبع آهن FeEDTA) نشان دهنده تفاوت معنی‌دار بین غلظت‌های مختلف آهن مورد استفاده بر اساس آزمون توکی($P < 0.05$) می‌باشد.

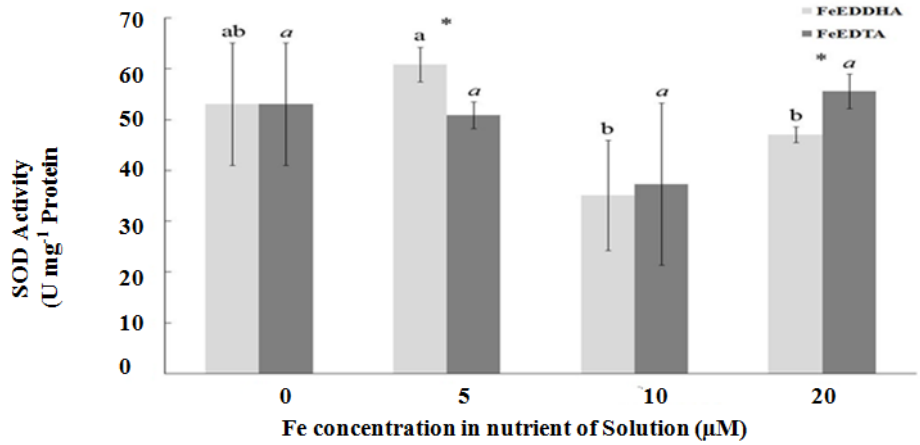


شکل ٤- فعالیت آنزیمی سوپراکسید دیسموتاز کل در نمونه‌های پالپ گیاه *Aloe vera* تحت تیمارهای مختلف غلظت و منبع آهن. مقادیر شامل میانگین ۳ تکرار ± انحراف معیار می‌باشد. تفاوت معنی‌داری بین غلظت‌های مختلف آهن در هر سری از منابع آهن وجود ندارد.

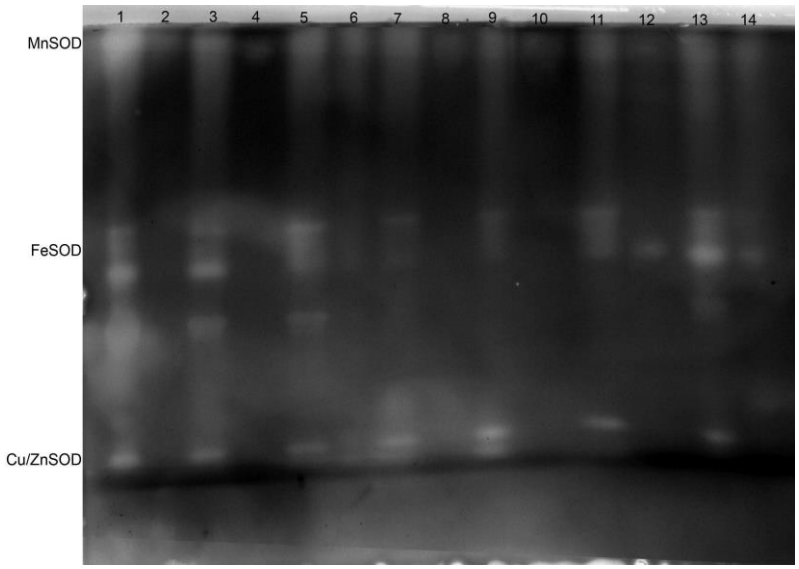
در نمونه‌های پالپ تهیه شده، تفاوت معنی‌دار در هیچ کدام از تیمارها مشاهده نشد (شکل٤). بر اساس تجزیه واریانس دو راهه مشخص شد در این طرح آزمایش، نه منبع آهن و نه غلظت‌های آهن بر فعالیت آنزیم در پالپ تاثیر نداشت (جدول ۱).

در بافت‌های سطحی برگ، در تیمار FeEDDHA در غلظت ۲۰ میکرومولار تفاوت معنی‌دار با غلظت ۵ میکرومولار در میزان فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز مشاهده شد ($P<0.05$). در این غلظت، در حدود ۱۰ درصد کاهش در فعالیت آنزیم مشاهده شد. در تیمار FeEDTA در هیچ‌کدام از غلظت‌ها تفاوت معنی‌دار مشاهده نشد. بین دو منبع آهن در دو غلظت ۲۰ و ۵ میکرومولار تفاوت معنی‌دار مشاهده گردید ($P<0.05$). در غلظت ۲۰ میکرومولار در فرم FeEDDTA افزایش ۵ درصد و در فرم FeEDDHA در غلظت ۵ میکرومولار افزایش ۱۰ درصد در فعالیت آنزیم مشاهده شد (شکل۵). بر اساس آنالیز واریانس دوراهه مشخص شد که در این طرح آزمایش، هم منبع آهن و هم غلظت آهن مورد

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2024-04-24]
[DOR: 20.1001.1.23222727.1395.5.17.2.9]



شکل ۵- فعالیت آنزیمی سوپراکسید دیسموتاز کل در نمونه‌های بافت‌های سطحی برگ گیاه *Aloe vera* تحت تیمارهای مختلف غلظت و منبع آهن. مقادیر شامل میانگین ۳ تکرار ± انحراف معیار می‌باشد. عدم حروف مشترک در هر سری (حروف معمولی برای منبع آهن FeEDDHA و حروف ایتالیک برای منبع آهن FeEDTA) نشان دهنده تفاوت معنی‌دار بین غلظت‌های مختلف آهن مورد استفاده بر اساس آزمون توکی ($P < 0.05$) می‌باشد. علامت ستاره نشان دهنده تفاوت معنی‌دار بین دو منبع آهن بر اساس t-test ($P < 0.05$) است.



شکل ٦- ژل رنگ آمیزی شده اختصاصی آنزیم سوپراکسید دیسموتاز. نمونه‌های پروتئینی استخراج شده از بافت‌های سطحی (پوست) و پالپ برگ گیاه *Aloe vera* تیمار شده با دو منبع آهن FeEDTA و FeEDDHA. در غلظت های مختلف ۰، ۵، ۱۰ و ۲۰ میکرومولار. نمونه‌ها به ترتیب عبارتند از: ۱ و ۲ پوست و پالپ (شرایط عدم آهن در محیط کشت)، ۳ و ٤ پوست و پالپ (غلظت ۵ میکرومولار فرم FeEDDHA)، ۵ و ٦ پوست و پالپ (غلظت ۵ میکرومولار فرم FeEDTA)، ۷ و ۸ پوست و پالپ (غلظت ۱۰ میکرومولار فرم FeEDDHA)، ۹ و ۱۰ پوست و پالپ (غلظت ۱۰ میکرومولار فرم FeEDTA)، ۱۱ و ۱۲ پوست و پالپ (غلظت ۲۰ میکرومولار فرم FeEDDHA)، ۱۳ و ١٤ پوست و پالپ (غلظت۲۰ میکرومولار فرم FeEDTA). برای وضوح بیشتر، تصویر به فرمت Grayscale تبدیل شده است.

استفاده بر فعالیت آنزیم SOD در بافت‌های سطحی برگ تاثیر معنی‌دار ($P<0.05$) داشت (جدول ۱).

تعیین نیمه کمی فعالیت ایزوزایم‌های SOD: در تصویر ژل الکتروفورز برای مشاهده ایزوزایم‌های آنزیم سوپراکسید دیسموتاز، سه گروه باند مربوط به سه ایزوزایم مختلف آنزیم مشاهده شد (شکل ٦). از بالا به پایین ژل باندهای مربوط به

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2024-04-24]
[DOR: 20.1001.1.23222727.1395.5.17.2.9]

ایزوزایم MnSOD، FeSOD و Cu/ZnSOD است. به طور کلی در غلظت‌های بالای آهن شدت باندها در پالپ بیشتر بود که باندهای روشن‌تر میزان بیشتر فعالیت آنزیمی SOD را در این غلظت‌ها نشان می‌دهد. ایزوزایم FeSOD فقط در شرایط غلظت ۲۰ میکرومولار در پالپ دیده شد. نتایج همچنین نشان‌دهنده عدم ایزوزایم Cu/ZnSOD در پالپ بود.

بحث و نتیجه‌گیری:

از اولین موارد مشاهده شده در این مطالعه عدم بروز اثرات کمبود آهن در برگ‌های نوظهور در شرایط عدم افزودن آهن به محیط کشت بود. این امر نشان‌دهنده این است که در این گیاه ذخیره آهن در بافت‌هایی مانند ساقه یا ریزوم به حدی هست که بتواند عدم افزودن آهن به محیط را برای مدت‌ها جبران کند. این امر اهمیت بالایی دارد زیرا آهن از عناصر غیر متحرک در گیاه است و در بخش‌های نوظهور می‌بایستی از ریشه به بخش‌های هوایی منتقل شود. بر این اساس این گیاه توانایی بالایی در انتقال و جابجایی آهن بین بخش‌های مختلف خود را دارد.

نتایج این بررسی نشان داد که با افزایش غلظت آهن در محیط، غلظت آهن در بافت برگ افزایش معنی‌داری در هر دو فرم پیدا می‌کند. این افزایش در پالپ کمتر از برگ کامل شد. بر این اساس احتمالا پالپ مخزن اصلی برای انباشت آهن اضافه در برگ‌ها نیست و بیشتر آهن وارد شده به برگ‌ها در بافت‌های سطحی برگ‌ها انباشته می‌شود. این امر مخصوصا مهم است زیرا بافت‌های فعال که نیاز به آهن دارند عمدتاً درسطح برگ‌ها قرار دارند. مهمترین بافت‌هایی که بالقوه دارای ذخیره بالایی از آهن در این گیاه باشند شامل بافت‌های ریزوم، ریشه‌های قطور و بافت پالپ برگ‌ها می‌باشد (Reynolds, 2004) که نقش پالپ در این زمینه با مشاهدات حاصل از این مطالعه کمتر جلوه می‌کند.

اساساً به دلیل غیر متحرک بودن آهن در گیاه و خاک، وضعیت آن در گیاه رابطه تنگاتنگی با تنظیم جذب و انتقال به اندام‌های مختلف و ذخیره آن دارد به نحوی که مانع کمبود و یا سمیت آن شود. تنظیم عملکرد ناقل‌های مختلف آن اهمیت ویژه‌ای دارد (Curie and Briat, 2003). ذخیره آهن در گیاه عمدتا در فضای آپوپلاستی، بین غشاء پلاسمایی و دیواره سلولی و همچنین احتمالا به مقادیر کمتر در واکوئول رخ می‌دهد. در این مکان‌ها pH پایین به همراه وجود عوامل کلیت کننده مانند اسیدهای آلی شرایط مناسبی برای قرار گرفتن آهن بدون بروز مشکلات اکسیداسیون-احیاء برای سلول‌ها فراهم می‌کند (Briat and Lobreaux, 1998). در پلاستیدها فریتین جذب کننده آهن است. فریتین قادر به جذب تا ٤٥٠٠ اتم آهن و نگهداری آن در شرایط محلول و قابل دسترسی زیستی بدون آسیب زایی اکسیداتیو است (Harrison and Arosio, 1996).

سوپراکسید دیسموتازها در ساختار خود دارای اتم آهن هستند (سوپراکسید دیسموتاز دارای سه ایزوزایم است که بر اساس اتم فلزی آن و همچنین ساختار پروتئینی از هم متمایز می‌شوند. فرم آهن دار آن عمدتا در کلروپلاست‌ها قرار دارد). افزایش در فعالیت آنزیم در غلظت بالای آهن در نمونه‌های کل گیاه را می‌توان به دو صورت بحث کرد: ۱) آنزیمی که در ساختارش دارای گروه هم می‌باشد (Garg and Manchanda, 2009)، دارای آهن به عنوان یک عنصر ساختاری است. بنابراین افزایش آهن باعث افزایش تولید این آنزیم و به دنبال آن افزایش فعالیت آنزیمی می‌شود. ۲) زیاد بودن آهن در محیط کشت در هر حال می‌تواند موجب بروز تنش اکسیداتیو شود. بنابراین سیستم‌های دفاع آنتی اکسیدان گیاه فعال خواهد شد. یکی از اجزاء این سیستم آنزیم سوپراکسید دیسموتاز می‌باشد. در این تحقیق افزایش غلظت آهن در نمونه‌های برگ کامل موجب افزایش فعالیت آنزیم شد. این احتمال وجود دارد که افزایش آهن موجب بروز نوعی تنش شده که برای مقابله با آن میزان فعالیت آنزیم افزایش پیدا کرده است. این امر می‌تواند شاهدی نیز باشد بر این که در پالپ امکان ذخیره یا تجمع غلظت‌های بالای آهن وجود ندارد و بنابراین احتمالا در شرایط غلظت بالای آهن در محیط کشت، ایزوزایم آهن‌دار سوپراکسید دیسموتاز برای مقابله با تنش اکسیداتیو حاصل، در پالپ نیز فعال شده است. با وجود این تغییرات مشاهده شده اما در فعالیت آنزیمی کل سوپراکسید دیسموتاز در پالپ

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2024-04-24]

[DOR: 20.1001.1.23222727.1395.5.17.2.9]

تفاوت معنی‌دار مشاهده نشد. بنابراین یک وضعیت ثابت از فعالیت کل در پالپ وجود دارد.

ایزوزایم‌های مختلف بسته به اثرگذاری عامل تنش‌زا به طور متفاوتی پاسخ می‌دهند. شوری شدید موجب تحریک FeSOD می‌شود و شوری خفیف Cu/ZnSOD را تحریک می‌کند. عوامل مهار کننده زنجیره انتقال الکترون فتوسنتزی بر MnSOD تاثیر ندارند در حالی که سرما، شوری و سمیت فلزاتی مانند منگنز موجب افزایش فعالیت MnSOD می‌شوند (Alscher *et al.*, 2002). بر این اساس در صورتی که فعالیت ایزوزایم خاصی افزایش داده شود، مقاومت به تنش‌های ویژه‌ای زیاد می‌شود. مثلا با افزایش بیان ژن‌های FeSOD مقاومت گیاه در برابر عوامل آسیب‌زا به فتوسیستم‌ها زیاد می‌شود (VanCamp *et al.*, 1996). بر این اساس تاثیر آهن در تغییر الگوی فعالیت سوپراکسید دیسموتارها اختصاصی بوده و بر ایزوزایم Cu/ZnSOD بی تاثیر بوده است.

دیده شدن فعالیت FeSOD در پالپ ممکن است به دلیل بروز برخی تمایزهای اندامکی در سلول‌های بافت پالپ نیز باشد. این ایزوزایم اساسا در کلروپلاست‌ها وجود دارد (Raychaudhuri and Xing, 2008) و عدم آن در بافت پالپ نوعی تناقض است که می‌بایستی بیشتر مورد تحقیق قرار گیرد.

به منظور مطالعه بیشتر، بررسی دلایل فعال شدن ایزوزایم FeSOD در شرایط غلظت بالای آهن در محیط کشت با بررسی بروز تنش اکسیداتیو از طریق بررسی تولید گونه‌های واکنشگر اکسیژن در پالپ قابل بررسی بیشتر است. همچنین نقش فیزیولوژیک پالپ در این گیاه علاوه بر ذخیره آب قابل بررسی بیشتر است. آیا پالپ در ذخیره حداقل برخی از عناصر غذایی مانند منگنز، روی و کلسیم که از مشکلات تغذیه‌ای انسان نیز می‌باشد نقش دارد؟ آیا با تغییر شرایط محیطی می‌توان بروز ایزوزایم Cu/ZnSOD را در پالپ القاء نمود؟ همچنین بررسی‌های بیشتر نیاز است تا نقش تغذیه آهن در افزایش مقابله با تنش‌های محیطی از جمله سرما که از عوامل محدود کننده کشت این گیاه است، تعیین شود.

تشکر و قدردانی:

این پژوهش با حمایت مالی معاونت پژوهشی دانشگاه پیام نور انجام شده است و به این وسیله از آن سپاسگزاری می‌شود.

منابع:

Ahmad, S. (1995) Antioxidant mechanisms of enzymes and proteins. In: Oxidative stress and antioxidant defences in biology (ed. Ahmad, S.). Pp. 238-272. Chapman and Hall. USA.

Alscher, R. G., Erturk, N. and Heath, L. S. (2002) Role of superoxide dismutases (SODs) in controlling oxidative stress in plants. Journal of Experimental Botany 53: 1331–1341.

Beauchamp, C. and Fridovich, I. (1971) Superoxide dismutase: improved assays and an assay applicable to acrylamide gels. Analytical Biochemistry 44: 276–287.

Bradford, M. M. (1976) A rapid and sensitive method for the quantification of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. Analytical Biochemistry 72: 248–254.

Briat, J. F. and Lobréaux, S. (1998) Iron storage and ferritin in plants. In: Iron Transport and Storage in Microorganisms, Plants and Animals (eds. Sigel, A. and Sigel, H.) Pp. 563-584. Marcel Dekker Inc, New York, USA.

Curie, C. and Briat, J. F. (2003) Iron transport and signaling in plants, Annual Review in Plant Biology 54: 183-206.

Ernst, E., Pittler, M. H. and Stevinson, C. (2002) Complementary/alternative medicine in dermatology: evidence-assessed efficacy of two diseases and two treatments. American Journal of Clinical Dermatology 3: 341–348.

Garg, N. and Manchanda, G. (2009) ROS generation in plants: boon or bane? Plant Biosystem 143: 8-96.

Ghasemi, R., Ghaderian, S. M., Kramer, U. (2009) Interference of nickel with copper and iron homeostasis contributes to metal toxicity symptoms in the nickel hyperaccumulator plant *Alyssum inflatum.* New Phytologist 184: 566–580.

Giannopolities, C. N. and Ries, S. K. (1977) Superoxide dismutase. I. Occurrence in higher plants. Plant Physiology 59: 309-314.

Harrison, P. M. and Arosio, P. (1996) The ferritins: molecular properties, iron storage function and cellular regulation. Biochimica et Biophysica Aacta 1275: 161-120.

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2024-04-24]

[DOR: 20.1001.1.23222727.1395.5.17.2.9]

Hay, J. E. and Haynes, L. J. (1956) The aloins. Part I. The structure of barbaloin. Journal of Chemical Society 3141-3147.

Kliebenstein, D. J., Monde, R. and Last, R. L. (1998) Superoxide dismutase in Arabidopsis: an electic enzyme family with disparate regulation and protein localization. Plant Physiology 118: 637-650.

Marschner, H. (1995) Mineral nutrition of higher plants, 2nd edn. New York, NY, USA: Academic Press.

Messerschmidt, A., Huber, R., Poulos, T. and Wieghardt, K. (2001) Handbook of metalloproteins. John Wiley & Sons, England. 2 volumes, 1472 pp.

Paoletti, F. and Mocali, A. (1990) Determination of superoxide dismutase activity by purely chemical system based on NAD (P) H oxidation. Methods in Enzymology 186: 209-220.

Raychaudhuri, S. and Xing, D. (2008) The role of superoxide dismutase in combating oxidative stress in higher plants. The Botanical Review 66: 89–98.

Reynolds, T. (2004) Aloes, The genus Aloe. CRC Press, Boca Raton, USA. 390pp.

Van Wyk, B. E. and Smith, G. (1996) Guide to the aloe of South Africa, p. 20. Pretoria: Briza Publications.

VanCamp, W., Capian, K., VanMontagu, M., Inze, D. and Slooten, L. (1996) Enhancement of oxidative stress tolerance in transgenic tobacco plants overproducing Fe/superoxide dismutase in chloroplasts. Plant Physiology 112: 1703-1714.

Viljoen, A. V., Van Wyk, B-E. and Newton, L. E. (2001) The occurrence and taxonomic distribution of the anthorones aloin, aloinside and microdontin in Aloe. Biochemistry of Systematics and Ecology 29: 53-63.

Wang, Y., Wisniewski, M., Meilan, R., Uratsu, R. L., Cui, M. G., Dandekar, A. and Fuchigami, L. (2007) Ectopic expression of Mn-SOD in Lycopersicon esculentum leads to enhanced tolerance to salt and oxidative stress. Journal of Applied Horticulture 9: 3-8.

Wu, G., Wilen, R. W., Robertson, A. J. and Lawrence, V. G. (1999) Isolation, chromosomal localization, and differential expression of mitochondrial manganese superoxide dismutase and chloroplastic copper/zinc superoxide dismutase genes in wheat. Plant Physiology 120: 513-520.

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2024-04-24]

[DOR: 20.1001.1.23222727.1395.5.17.2.9]

Study of the superoxide dismutase isozymes activities under different iron nutrition sources in *Aloe vera*

Rasoul Ghasemi*, Parastoo Naseri and Hossein Noroozi

Department of Biology, Faculty of Sciences, University of Payame Noor, Iran
(Received: 20 June 2014, Accepted: 14 Septamber 2015)

Abstract:

Since *Aloe vera* has special adaptations to the environmental conditions of Iran, it has been industrially utilized. Further physiological and biochemical study on of usable tissues improves its utilization. In this study the effects of iron nutrition on the iron concentrations in different leaf tissues and the activity of superoxide dismutase were investigated. Propagated plants from a maternal scion were treated by different concentrations of iron (0, 5, 10 and 20 µM) in two chelate forms, FeEDTA and FeEDDHA in a fully factorial complete design. The results showed no difference between the two iron chelate forms in iron concentrations in tissues. The most increasing in iron concentration was observed in leaf surface tissues by using higher concentrations of iron in medium. Total superoxide dismutase activity in different tissues was not influenced by iron concentration in medium. Study of different SOD isozymes showed a constitutive activity of MnSOD in all tissues. The activity of FeSOD was more apparent in surface tissues but it was induced in pulp in higher concentrations of iron. In all of the used iron concentrations, the activity of Cu/ZnSOD observed in surface tissues but it was never observed in pulp. It could be suggested that pulp as the most important industrial usable tissue was not a source for accumulation of iron. The activity of SOD could be induced in pulp by increasing iron concentration. Indeed an induction in the activity of Cu/ZnSOD in pulp could be investigated by increasing Cu and/or Zn concentrations.

Keywords: *Aloe vera*, Iron, Isozymes, Pulp, Superoxide dismutase.

*corresponding author, Email: ghasemi@nj.isfpnu.ac.ir

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2024-04-24]

[DOR: 20.1001.1.23222727.1395.5.17.2.9]