



همین کنسکرم علوم باغبانی ریرد دوازید

12th Iranian Horticultural Science Congress
September 05-08 2021
۱۴ لغایت ۱۷ شهریورماه ۱۴۰۰



دانشگاه شهید چمران اهواز

بررسی آنزیم های آنتی اکسیدانت در پاسخ به تنش خشکی در چاوی چندساله تراریخت RD29A-IPT و نمونه های محلی آن

سمیه اسماعیلی خویگانی^{۱*}، حسن صالحی^۲، مرتضی خوشخوی^۳

^۱دانشجوی پیشین دکتری گیاهان زینتی بخش علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شهید چمران اهواز، اهواز، ایران

^۲استادیار گروه علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شهید چمران اهواز، اهواز، ایران

^۳استاد بخش علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شیراز، شیراز، ایران

*نویسنده مسئول: s.esmaeili@scu.ac.ir

چکیده

برای بررسی تغییر آنزیم های آنتی اکسیدانت در پاسخ به تنش خشکی، گیاهان تراریخت RD29A-IPT چاوی چند ساله با گیاهان ناتراریخت و نمونه های محلی در گلخانه پژوهشی بخش علوم باغبانی دانشکده کشاورزی دانشگاه شیراز مورد ارزیابی قرار گرفتند. گیاهان پس از ۱۰ روز در شرایط تنش خشکی، سرزنی و به مدت ۲ هفته آبیاری شدند. آنزیم های آنتی اکسیدانت مانند پراکسیداز (POD)، کاتالاز (CAT) و سوپراکسید دیسموتاز (SOD) در ۳ مرحله پیش از تنش، خشکی و پس از بازیابی (Recovery) اندازه گیری شدند. بر اساس نتایج، فعالیت آنزیم های CAT و SOD برگ و ریشه در مقایسه با فعالیت POD به ویژه در گیاهان تراریخت در شرایط تنش خشکی بالاتر بود. این نتایج نشان می دهد که فعالیت های بالاتر آنزیم های آنتی اکسیدانت SOD و CAT با افزایش میزان سائتوکاینین های درون زا به ویژه ایزوپنتتیل آدنین (iPA) مرتبط می باشد. همچنین نتایج نشان داد پس از بازیابی، فعالیت های SOD و CAT در بیشتر گیاهان به حالت بهنجار برگشت، گرچه فعالیت پراکسیداز پس از دو هفته آبیاری دوباره کاهش یافت. به نظر می رسد فعالیت های SOD و CAT نسبت به فعالیت POD در سازگاری به خشکی و بازیابی بیشتر اثر دارند.

واژه‌های کلیدی: برگ، پراکسیداز، ریشه، سبزرش، سوپراکسید دیسموتاز، کاتالاز

مقدمه

تنش خشکی یکی از تنش های محیطی اصلی است که رشد و نمو گیاهان را محدود می کند. بازدارندگی رشد ساقه و ریشه در شرایط خشکی با انگیزش آسیب اکسیداتیو به دلیل تولید بیش از حد گونه‌های فعال اکسیژن (ROS)، مانند سوپراکسید (O_2^-) و پراکسید هیدروژن (H_2O_2) همراه است (Xu *et al.*, 2016). به طور کلی آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانت نقش حفاظتی در پاسخ به تنش گیاهی به ویژه خشکی دارند و پس از یک دوره تنش طولانی مدت، فعالیت آنتی‌اکسیدانت شامل آسکوربات پراکسیداز (APX)، CAT و SOD به طور معنی‌داری در سبز فرش‌ها کاهش می‌یابد که منجر به کاهش از بین رفتن گونه‌های فعال اکسیژن می‌شود (Shahidi *et al.*, 2017). پاسخ آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانت به تنش خشکی ممکن به دوره و شدت تنش، نوع بافت و اندام و همچنین گونه و رقم متفاوت باشد (Zhang and Kirkham, 1996). بررسی‌های پیشین نشان داد که کاربرد بیرونی سائتوکینین و افزایش سائتوکاینین درون‌زا می‌تواند فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانت را بیشتر کند و مکانیسم دفاعی آن‌ها در برابر تنش خشکی در سبزرش‌ها به ویژه اروای خزنده را افزایش دهد.

هدف از انجام این پژوهش، بررسی فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانت در برگ و ریشه گیاهان تراریخت RD29A-IPT چاوی چند ساله با گیاهان ناتراریخت و نمونه‌های محلی در شرایط پیش از تنش، خشکی و پس از بازیابی است.

مواد و روش ها

گیاهان تراریخت RD29A-IPT Grassland و Numan با گیاهان ناتراریخت و نمونه‌های محلی چاوی چند ساله جمع آوری شده از استان فارس، در دو رقم گلخانه پژوهشی بخش علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی دانشگاه شیراز کشت شدند. گیاهان پس از یک ماه استقرار و سرزنی در معرض تیمار خشکی به مدت ۱۰ روز قرار گرفتند و پس از آن گیاهان سرزنی شدند و به مدت ۲ هفته به منظور رشد دوباره آبیاری شدند. میزان فعالیت آنزیم‌های CAT، POD و SOD در بافت های برگ و ریشه در سه مرحله (پیش از تنش، تنش و بازیابی) در گیاهان اندازه‌گیری شد. فعالیت آنزیم‌های CAT، POD و SOD بر اساس روش Zhang and Kirkham (۱۹۹۶) اندازه‌گیری شد. برای سنجش هر یک از آنزیم‌ها، ۵/۰ گرم از بافت‌های برگ و ریشه در ۶ میلی لیتر بافر فسفات سدیم ۵۰ میلی مولار (pH=۷)، دارای ۰/۲ میلی مولار اتیلن دی آمین تترا استیک اسید (EDTA) و ۱ درصد (W/V) پلی وینیل پیرولیدون (PVP) روی یخ همگن شدند. سپس با سرعت ۱۵۰۰۰g به مدت ۲۰ دقیقه در دمای ۴ درجه سلسیوس سانتریفیوژ شدند. محلول رویی جهت خواندن آنزیم‌ها برداشته شد و به ترتیب جذب‌ها در طول موج‌های ۲۴۰، ۴۷۰ و ۵۶۰ نانومتر برای CAT، POD و SOD با استفاده از دستگاه اسپکتروفوتومتر (Dynamica Halo VIS-20, UK) اندازه‌گیری شدند.

نتایج و بحث

نتایج نشان داد فعالیت آنزیم POD در برگ‌های تمام گیاهان به جز گیاهان ناتراریخت در شرایط تنش خشکی افزایش یافت. گرچه افزایش معنی‌داری حدود ۸۹/۴۱ درصد و ۰۵/۴۱ درصد در برگ‌های GM12 و GC8 در شرایط تنش خشکی در مقایسه با گیاهان شاهد دیده شد. در نمونه‌های محلی، کمهر^۱، به طور معنی‌داری یک افزایش حدود ۱۳ درصد در فعالیت POD در شرایط تنش خشکی در مقایسه با گیاهان شاهد نشان داد. در میان گیاهان تراریخت، NC14 و GM12 بیشترین فعالیت آنزیم POD را در ریشه داشتند (جدول ۱). در شرایط پیش از تنش، میزان فعالیت CAT در میان همه گیاهان متفاوت بود. بیشترین فعالیت آنزیم CAT برگ، در نمونه خسروشیرین دیده شد. تنش خشکی به طور معنی داری فعالیت کاتالاز برگ در گیاهان ناتراریخت کاهش داد درحالی که گیاهان تراریخت و بیشتر نمونه‌های محلی فعالیت CAT برگ بالاتری داشتند (جدول ۲).

جدول ۲. فعالیت های CAT برگ گیاهان تراریخت، ناتراریخت و نمونه های محلی در شرایط پیش از تنش، خشکی و بازیابی و فعالیت POD ریشه پس از دو هفته بازیابی.

گیاهان تیمار	فعالیت CAT برگ (Unit g ⁻¹ f.w.)			فعالیت CAT ریشه (Unit g ⁻¹ f.w.)
	شده	پیش از تنش	خشکی	بازیابی
GW	6.79±0.87	4.74±1.63	*	2.73±0.34
NW	8.77±0.85	2.49±0.48	*	2.03±0.15
NC1	6.07±0.90	26.09±3.04	13.2±2.25	8.16±0.38
NC4	7.32±0.62	30.81±0.44	18.22±7.03	10.07±0.38
NC8	4.87±2.21	25.18±3.71	9.95±2.65	9.93±1.19
NC11	6.66±0.68	25.69±3.34	9.36±1.63	10.23±1.30
NC12	10.96±1.10	23.15±1.01	7.27±1.85	10.93±0.24
NC13	10.46±0.80	27.56±2.29	8.12±1.32	9.70±0.55
NC14	8.02±0.89	37.21±0.87	11.54±0.78	6.83±0.55
GC3	8.32±1.54	24.92±3.06	6.91±1.33	7.93±0.64
GC4	3.10±1.20	33.71±3.26	7.61±0.78	11.07±0.93
GC5	11.12±2.14	24.47±1.66	7.77±1.31	12.28±0.77
GC6	4.94±1.51	23.45±2.43	16.80±2.18	13.87±1.11
GC8	5.43±0.40	46.50±1.60	14.32±0.88	11.90±0.58
GC9	4.72±1.06	20.91±2.82	9.24±2.86	13.93±0.85
GC16	5.89±0.711	30.25±3.52	8.63±1.30	15.43±0.86
NS14	2.54±0.57	31.68±0.84	6.50±1.42	18.10±1.16
NS22	2.44±0.49	35.53±4.45	5.43±0.75	10.59±0.84
GS1	8.88±1.41	25.74±4.47	5.76±1.32	21.31±0.78
GM12	10.66±0.87	47.59±4.15	10.56±1.26	18.17±1.16
GM21	5.99±0.48	38.53±3.05	10.96±0.54	22.13±0.64
GM24	4.67±0.71	47.57±3.65	18.17±2.06	21.37±0.58
Bereshneh1	9.36±1.36	13.76±0.88	4.92±0.31	9.57±4.68
Bereshneh2	9.80±2.38	20.56±1.45	5.31±1.38	6.13±0.27
Chamsohrabk hani	9.61±0.75	22.23±4.27	9.72±1.38	6.33±0.55
Delkhan1	10.10±1.60	19.54±2.70	4.87±0.98	6.33±0.47
Delkhan2	11.54±0.78	11.68±2.19	10.86±0.40	10.15±0.37
Homayjan1	8.32±1.41	19.64±1.63	9.80±1.11	5.05±0.34
Homayjan2	12.03±1.56	20.46±3.64	6.00±1.26	7.35±0.28
Homayjan3	13.05±3.08	13.76±1.80	7.87±0.68	8.17±0.42
Homayjan-Bereshneh	8.32±1.62	17.06±0.35	10.30±1.51	3.88±0.33
Komehr1	8.02±0.64	22.84±0.77	7.06±2.01	15.74±0.63
Komehr2	11.47±1.19	16.85±2.36	12.64±2.81	11.50±0.44
Khosroshirin	15.58±1.45	12.94±3.00	5.39±1.21	6.00±0.35
Margon	11.78±2.34	20.61±0.94	14.31±2.38	9.88±0.49
Pirsabzali	8.90±0.19	13.20±1.79	16.14±0.77	6.63±0.38
Shirmohamad i	5.84±0.97	10.37±1.19	9.71±0.22	6.17±0.35
Sheshpir	10.91±0.40	4.32±0.33	10.60±0.64	9.33±0.30
Tangeh Ardakan	8.63±0.36	12.13±1.66	13.96±2.38	10.66±0.32

داده ها به صورت میانگین ± خطای استاندارد نشان داده شده است.G: رقم Grassland، N: رقم Numan، W: رقم گیاهان ناتراریخت، K: گیاهان تولید شده از مریمست، S: گیاهان تولید شده از بذر، NW: گیاهان تولید شده از بذر، گیاهان تراریخت.

جدول ۱. فعالیت های POD برگ گیاهان تراریخت، ناتراریخت و نمونه های محلی در شرایط پیش از تنش، خشکی و بازیابی و فعالیت POD ریشه پس از دو هفته بازیابی.

گیاهان تیمار	فعالیت POD برگ (Unit g ⁻¹ f.w.)			فعالیت POD ریشه (Unit g ⁻¹ f.w.)
	شده	پیش از تنش	خشکی	بازیابی
GW	0.030±0.003	0.012±0.001	*	0.013±0
NW	0.034±0.002	0.015±0.002	*	0.01±0.0
NC1	0.028±0.003	0.032±0.001	0.023±0.006	0.03±0.002
NC4	0.038±0.012	0.196±0.054	0.043±0.004	0.09±0.001
NC8	0.022±0.001	0.224±0.047	0.023±0.006	0.15±0.003
NC11	0.090±0.035	0.453±0.018	0.030±0.006	0.14±0.019
NC12	0.030±0.003	0.459±0.370	0.013±0.004	0.14±0.003
NC13	0.027±0.009	0.111±0.027	0.012±0.000	0.16±0.011
NC14	0.087±0.011	0.283±0.028	0.044±0.003	0.27±0.014
GC3	0.032±0.007	0.247±0.094	0.007±0.002	0.17±0.006
GC4	0.043±0.002	0.139±0.017	0.042±0.010	0.17±0.006
GC5	0.024±0.006	0.197±0.032	0.015±0.002	0.75±0.348
GC6	0.026±0.007	0.173±0.034	0.021±0.008	1.15±0.0135
GC8	0.017±0.004	0.715±0.061	0.028±0.001	1.23±0.022
GC9	0.047±0.003	0.042±0.007	0.026±0.002	0.07±0.005
GC16	0.125±0.001	0.369±0.130	0.047±0.002	0.27±0.007
NS14	0.072±0.053	0.160±0.026	0.016±0.000	0.19±0.010
NS22	0.026±0.001	0.020±0.006	0.030±0.005	0.04±0.001
GS1	0.007±0.000	0.239±0.020	0.010±0.000	0.17±0.006
GM12	0.007±0.002	0.300±0.097	0.012±0.001	1.65±0.012
GM21	0.035±0.015	0.230±0.040	0.021±0.007	1.48±0.014
GM24	0.014±0.005	0.330±0.017	0.028±0.000	1.60±0.039
Bereshneh1	0.057±0.022	0.071±0.026	0.020±0.000	0.08±0.006
Bereshneh2	0.030±0.003	0.339±0.047	0.058±0.014	0.03±0.002
Chamsohrab khani	0.049±0.008	0.280±0.00	0.029±0.008	0.07±0.009
Delkhan1	0.053±0.002	0.252±0.064	0.010±0.000	0.03±0.001
Delkhan2	0.033±0.010	0.325±0.045	0.031±0.000	0.04±0.004
Homayjan1	0.012±0.003	0.149±0.019	0.010±0.002	0.03±0.001
Homayjan2	0.030±0.003	0.255±0.008	0.030±0.014	0.02±0.001
Homayjan3	0.019±0.001	0.233±0.004	0.007±0.001	0.01±0.001
Homayjan-Bereshneh	0.018±0.003	0.339±0.047	0.026±0.001	0.04±0.016
Bereshneh Komehr1	0.042±0.009	0.589±0.041	0.035±0.003	0.08±0.006
Komehr2	0.012±0.004	0.075±0.002	0.030±0.006	0.05±0.011
Khosroshirin	0.052±0.003	0.144±0.020	0.023±0.000	0.03±0.003
Margon	0.016±0.001	0.214±0.030	0.033±0.002	0.07±0.012
Pirsabzali	0.064±0.008	0.448±0.047	0.085±0.012	0.06±0.010
Shirmohamadi	0.017±0.004	0.286±0.021	0.035±0.012	0.035±0.002
Sheshpir	0.017±0.006	0.310±0.040	0.010±0.001	0.041±0.003
Tangeh Ardakan	0.089±0.021	0.378±0.024	0.083±0.048	0.030±0.000

داده ها به صورت میانگین ± خطای استاندارد نشان داده شده است.G: رقم Grassland، N: رقم Numan، W: رقم گیاهان ناتراریخت، K: گیاهان تولید شده از مریمست، S: گیاهان تولید شده از بذر، NW: گیاهان ناتراریخت.

Chang و همکاران (۲۰۱۶) بیان کردند سائتوکینین‌ها می‌تواند

فعالیت ایزوآنزیم‌ها را افزایش دهند که با افزایش مکانیسم دفاعی آنتی

اکسیدانت‌ها مرتبط است و با کاهش سطح ROS در برگ‌ها، منجر

به افزایش تحمل خشکی در گیاهان اروای خزنده شد. سنتز و تجمع

ROS در شرایط تنش بیشتر می‌شود که می‌تواند سبب آسیب به

غشاهای بیولوژیک و مولکول‌های آلی شود. ROS، فرآورده‌های

جانبی فتوستنتر هستند که به سرعت در شرایط تنش تجمع می‌یابند و

سبب آسیب عمده اکسیداتیو به غشای سلول، پروتئین‌ها، مولکول های

DNA و RNA می‌شوند (Choudhury *et al.*, 2017).

سائتوکاینین‌ها با مکانیسم‌های مختلف، مانند مهار فعالیت آنزیم‌های

تولید شده توسط ROS برای نمونه گزانتین اکسیداز یا افزایش فعالیت

آنزیم‌های آنتی اکسیدان برای نمونه، SOD و CAT، تجمع ROS را

تحت تأثیر قرار می‌دهند (Hönig *et al.*, 2018; Arnaud *et al.*, 2017).

به طور کلی، این نتایج نشان داد فعالیت‌های SOD و CAT در

بیشتر گیاهان به حالت نرمال پس از ۲ هفته آبیاری دوباره برگشت،

گرچه فعالیت پراکسیداز پس از بازیابی کاهش داشت. به نظر می‌رسد

فعالیت‌های CAT و SOD نسبت به فعالیت پراکسیداز در سازگاری به

خشکی و بازیابی کارا تر هستند.

منابع

- Arnaud D., Lee S., Takebayashi Y., Choi D., Choi J., Sakakibara H., Hwang I. 2017. Cytokinin-mediated regulation of reactive oxygen species homeostasis modulates stomatal immunity in *Arabidopsis*. Plant Cell, 29: 543–559.
- Chang, Z., Liu, Y., Dong, H., Teng, K., Han, L., Zhang, X. 2016. Effects of cytokinin and nitrogen on drought tolerance of creeping bentgrass. PLoS One, 11: e0154005.
- Choudhury, F.K., Rivero R.M., Blumwald, E., Mittler, R. 2017. Reactive oxygen species, abiotic stress and stress combination. The Plant Journal, 90: 856–867.
- Hönig, M., Plihalová L., Husíčková, A., Nisler, J., Doležal, K. 2018. Role of cytokinins in senescence, antioxidant defence and photosynthesis. International Journal of Molecular Sciences, 19: 4045.
- Shahidi, R., Yoshida, J., Coughon, M.; Reheul, D., Van Labeke, M.C. 2017. Morpho-physiological responses to dehydration stress of perennial ryegrass and tall fescue genotypes. Functional Plant Biology, 44: 612–623.
- Xu, Y., Burgess, P., Zhang, X., Huang, B. 2016. Enhancing cytokinin synthesis by overexpressing ipt alleviated drought inhibition of root growth through activating ROS-scavenging systems in *Agrostis stolonifera*. Journal of experimental botany, 67: 1979-1992.
- Zhang, J., Kirkham, M. 1996. Antioxidant responses to drought in sunflower and sorghum seedlings. New Phytologist, 132: 361-373