

بررسی تأثیر تنش شوری ناشی از کلرید سدیم بر روی میزان فعالیت آنزیم پراکسیداز ریشه و سنجش میزان سدیم ریشه گیاه تریتیکاله (*Triticosecale wittmack* ×) در کشت گلخانه ای

ملیحه جهانی^{۱*}، صدیقه جهانی^۲، محمد رضا هادی^۳

۱- دانشجوی کارشناسی ارشد فیزیولوژی گیاهی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد علوم و تحقیقات فارس، گروه زیست شناسی، شیراز، ایران.

۲- دانشجوی کارشناسی ارشد فیزیولوژی گیاهی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد مشهد، گروه زیست شناسی، مشهد، ایران.

۳- استادیار گروه زیست شناسی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد علوم و تحقیقات فارس، شیراز، ایران.

*نویسنده مسئول: ملیحه جهانی Email: malihe.jahani63@gmail.com

چکیده:

شوری یک مشکل در حال توسعه در خاک های کشاورزی است. به منظور بررسی تأثیر تنش شوری ناشی از کلرید سدیم بر روی میزان فعالیت آنزیم پراکسیداز ریشه و سنجش میزان سدیم ریشه گیاه تریتیکاله در کشت گلخانه ای، پژوهشی در دانشگاه آزاد اسلامی واحد مشهد در سال ۱۳۸۹ به صورت یک طرح کاملاً تصادفی با ۳ تکرار در شرایط گلخانه ای (دما ۲۵ درجه سانتیگراد، رطوبت نسبی ۳۵ درصد، فتوپریود ۱۶ ساعت روشنایی و ۸ ساعت تاریکی) صورت گرفت. نشاءهای گیاهی یک هفته بعد از کاشت بذور در خاک با سطوح مختلف تنش شوری شامل ۵۰، ۱۰۰، ۱۵۰ میلی مولار کلرید سدیم تیمار شدند. پس از ۵ هفته اعمال تنش، برخی از پارامترهای فیزیولوژیکی شامل میزان فعالیت آنزیم پراکسیداز ریشه و میزان سدیم ریشه مورد سنجش قرار گرفت. داده های حاصل با استفاده از نرم افزار SPSS16 مورد تحلیل آماری قرار گرفت و مقایسه میانگین داده ها با استفاده از آزمون توکی در سطح احتمال ۰/۰۵ انجام شد و نمودارها با استفاده از نرم افزار Excel ترسیم شد. نتایج بدست آمده نشان داد که با افزایش تنش شوری به طور معنی داری میزان فعالیت آنزیم پراکسیداز ریشه و میزان سدیم ریشه افزایش یافت ($p \leq 0/05$).

واژگان کلیدی: تنش شوری، آنزیم پراکسیداز ریشه، سدیم ریشه، *Triticosecale wittmack* ×

مقدمه:

تنش شوری یکی از اصلی ترین عوامل محدود کننده رشد و تولید محصولات کشاورزی می باشد (Ding et al., 2008). تنش شوری همانند دیگر تنش های محیطی سبب تولید رادیکال های آزاد اکسیژن می شود که این ترکیبات خسارت زیادی را از طریق اکسیداسیون چربی ها، پروتئین ها و اسیدهای نوکلئیک به سلول وارد می کنند. آنزیم پراکسیداز اکسیدوردوکتازی است که در هنگام بروز تنش موجب جمع آوری رادیکال های آزاد اکسیژن تولید شده، می شود و با اکسیداسیون های متفاوت در مکانیسم های دفاعی گیاه شرکت می کند (Amirjani, 2010). در پژوهشی که بر روی کلم انجام شد، گزارش شد که تنش شوری باعث افزایش میزان فعالیت آنزیم پراکسیداز شد (Ding et al., 2008). در آزمایشی که بر روی سویا انجام شد، گزارش شد که تنش شوری باعث افزایش میزان سدیم شد (Amirjani, 2010). بنابراین با توجه به اهمیت تریتیکاله به عنوان یک گیاه زراعی و وسعت رو به افزایش زمین های شور، این پژوهش با هدف بررسی تأثیر تنش شوری ناشی از کلرید سدیم بر روی میزان فعالیت آنزیم پراکسیداز ریشه و سنجش میزان سدیم ریشه گیاه تریتیکاله در کشت گلخانه ای انجام شد.

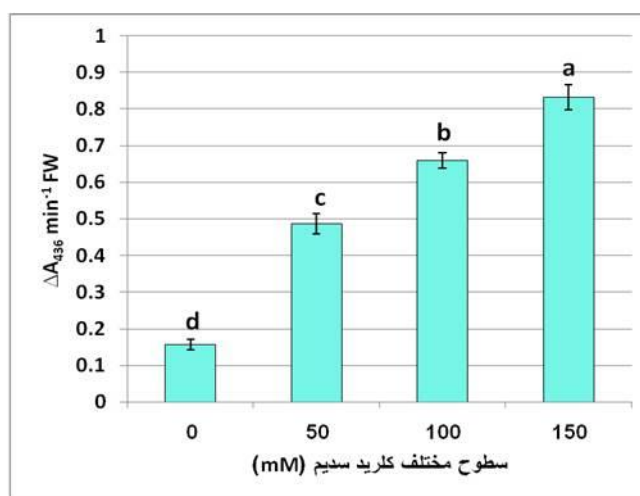
مواد و روش ها:

به منظور بررسی تأثیر تنش شوری ناشی از کلرید سدیم بر روی میزان فعالیت آنزیم پراکسیداز ریشه و سنجش میزان سدیم ریشه گیاه تریتیکاله در کشت گلخانه ای، پژوهشی در دانشگاه آزاد اسلامی واحد مشهد در سال ۱۳۸۹ در قالب یک طرح کاملاً تصادفی با ۳ تکرار در شرایط گلخانه ای (دما ۲۵°C، رطوبت نسبی ۳۵٪ و فتوپریود ۱۶ ساعت روشنایی و ۸ ساعت تاریکی) انجام شد. نشاءهای گیاهی یک هفته بعد از کاشت بذور در خاک با سطوح کلرید سدیم ۰، ۵۰، ۱۰۰ و ۱۵۰ میلی مولار تیمار شدند. اعمال تنش به مدت ۵ هفته صورت گرفت. پس از ۵ هفته اعمال تنش، برخی از پارامترهای فیزیولوژیکی شامل میزان فعالیت آنزیم پراکسیداز ریشه و میزان سدیم ریشه مورد سنجش قرار گرفت. به منظور اندازه گیری میزان فعالیت آنزیم پراکسیداز به روش مک آدام و نلسون شارپ (۱۹۹۲) نیاز به تهیه محلول حاوی عصاره آنزیمی بود به این ترتیب که ابتدا ۰/۱ گرم از بافت ریشه تازه را پس از شستشو با آب مقطر با ۱ میلی لیتر محلول کلرید پتاسیم ۰/۸ مولار (که با افزودن ۰/۶ گرم کلرید پتاسیم جامد به ۱۰ میلی لیتر محلول بافر فسفات ۰/۱ مولار با pH= ۶/۸ تهیه می گردد) در هاون چینی سائیده و مخلوط حاصل با سرعت ۷۰۰۰ دور در دقیقه به مدت ۱۰ دقیقه با استفاده از سانتریفوژ یخچال دار (Vision مدل VS-15000 CFN II)، سانتریفوژ گردید. به منظور حفظ فعالیت آنزیم کلیه مراحل کار در ظرف یخ انجام گرفت. سپس به ۵۰ میکرو لیتر عصاره آنزیم، ۳ میلی لیتر محلول بافر فسفات ۰/۱ مولار و ۵۰ میکرو لیتر گاباکول و سپس ۵۰ میکرو لیتر هیدروژن پراکسید ۳٪ اضافه شد و بلافاصله تغییرات جذب نوری در طول موج ۴۳۶ نانومتر با استفاده از اسپکتروفتومتر (شیمادزو مدل UV/۱۱۰۰) در فواصل زمانی ۱۵ ثانیه به مدت ۳ دقیقه ثبت گردید (Mac-Adam and Nelson sharp, 1992). برای سنجش میزان سدیم ریشه از روش Rayan و همکاران (۲۰۰۱) استفاده شد. ابتدا خاکستر تر گیاهی تهیه شد. بدین منظور مقدار ۰/۵ گرم بافت خشک ریشه کاملاً ساییده شد، سپس ۱۰ میلی لیتر اسید نیتریک غلیظ به آن اضافه شد و به مدت ۴۸ ساعت در دمای آزمایشگاه قرار داده شد، سپس به مدت ۲ ساعت روی اجاق برقی دارای ترموستات با حرارت ملایم قرار داده شد تا تمام بخارات اسیدی قهوه ای رنگ به آرامی خارج شود. پس از خارج شدن کامل بخارات اسیدی، محلول بی رنگی بدست آمد که حجم آن را با آب دیونیزه به ۱۰۰ میلی لیتر رسانده و محلول حاصل که Digest نامیده می شود، چند بار با استفاده از کاغذ صافی، صاف گردید و از آن برای سنجش میزان سدیم ریشه به وسیله دستگاه فلیم فتومتر یا نورسنج شعله ای مدل JENWAY PEP7 استفاده گردید (Rayan et al., 2001). تحلیل آماری داده ها با استفاده از نرم افزار SPSS16 و مقایسه میانگین داده ها با استفاده از آزمون توکی در سطح احتمال ۰/۰۵ و ترسیم نمودارها با استفاده از نرم افزار Excel صورت گرفت.

نتایج و بحث:

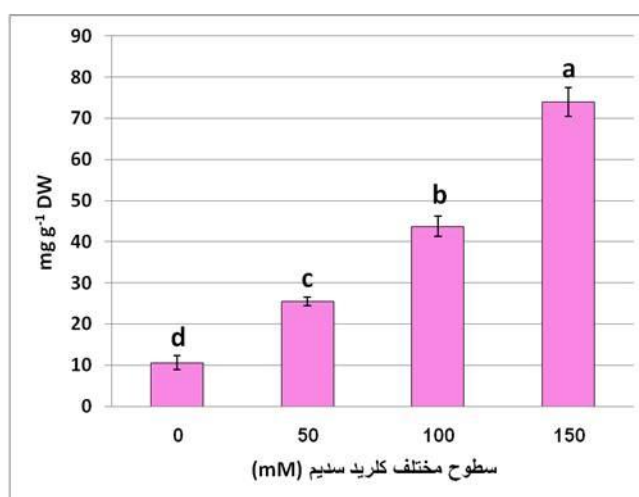
نتایج حاصل از آنالیز واریانس داده ها نشان داد که با افزایش تنش شوری، میزان فعالیت آنزیم پراکسیداز ریشه به طور معنی داری افزایش یافت ($p \leq 0.05$). بیشترین میزان فعالیت آنزیم پراکسیداز ریشه در گیاه تحت تیمار ۱۵۰ میلی مولار کلرید سدیم مشاهده شد و کمترین میزان فعالیت آنزیم پراکسیداز ریشه مربوط به گیاه شاهد بود (نمودار ۱).

۱۱ و ۱۲ اسفندماه ۱۳۹۰ دانشگاه آزاد اسلامی خراسان دانشکده کشاورزی



نمودار (۱): اثر غلظت های مختلف کلرید سدیم بر میزان فعالیت آنزیم پراکسیداز ریشه گیاه تربتی کاله در هر ستون حروف مشترک نشان دهنده عدم وجود اختلاف معنی دار در سطح احتمال ۰/۰۵ است.

افزایش میزان فعالیت آنزیم پراکسیداز در طی تنش شوری احتمالاً به این دلیل است که تنش شوری باعث افزایش تولید انواع اکسیژن فعال می شود که بسیار واکنش گر و سمی بوده و به بیومولکول های حیاتی سلول آسیب وارد کرده و در نهایت متابولیسم سلول را مختل می نماید و آنزیم پراکسیداز با فعالیت آنتی اکسیدانی خود باعث جمع آوری و کاهش گونه های اکسیژن فعال می شوند (Ding *et al.*, 2008). در پژوهشی که بر روی سویا انجام شد، گزارش شد که تنش شوری باعث افزایش میزان فعالیت آنزیم پراکسیداز شد که با نتایج حاصل از تحقیق حاضر مطابقت دارد (Amirjani, 2010). همچنین نتایج حاصل از آنالیز واریانس داده ها نشان داد که با افزایش تنش شوری، میزان سدیم ریشه به طور معنی داری افزایش یافت ($p \leq 0.05$). بیشترین میزان سدیم ریشه در گیاه تحت تیمار ۱۵۰ میلی مولار کلرید سدیم مشاهده شد و کمترین میزان سدیم ریشه مربوط به گیاه شاهد بود (نمودار ۲).



نمودار (۲): اثر غلظت های مختلف کلرید سدیم بر میزان سدیم ریشه گیاه تربتی کاله در هر ستون حروف مشترک نشان دهنده عدم وجود اختلاف معنی دار در سطح احتمال ۰/۰۵ است.

علت افزایش میزان سدیم ریشه در تنش شوری، انتقال کاتیون های Na^+ و K^+ با یک پروتئین مشترک است که Na^+ برای شارش به درون سلول با K^+ رقابت می نماید که نتیجه آن افزایش جذب سدیم و کاهش جذب پتاسیم است (Amirjani, 2010). در



پژوهشی که بر روی کلم انجام شد، گزارش شد که تنش شوری باعث افزایش میزان سدیم شد که با نتایج حاصل از تحقیق حاضر مطابقت دارد (Ding *et al.*, 2008).

نتیجه گیری کلی:

نتایج حاصل از پژوهش حاضر نشان داد که تنش شوری باعث افزایش میزان فعالیت آنزیم پراکسیداز ریشه و میزان سدیم ریشه شد. برای آگاهی از سازوکارهای مقاومت و افزایش تحمل در برابر تنش، درک و شناخت اثرات مختلف تنش های محیطی بر فیزیولوژی گیاهان زراعی ضرورت دارد.

منابع:

- 1) Amirjani, M. R. (2010). Effect of salinity stress on growth, mineral composition, proline content, antioxidant enzymes of soybean. American Journal of Plant Physiology. 5(3): 350-360.
- 2) Ding, N. F., Fu, Q. L., Liu, C., Guo, B. and Lin, Y. C. (2008). Effect of salt stress on the growth, antioxidant enzyme activities, and ion uptake of two chinese cabbage cultivars. Acta Agriculturae Zhejiangensis. 35(4): 425-431.
- 3) Mac-Adam, J. W. and Nelson Sharp, C. J. (1992). Peroxidase activity in the leaf elongation zone of tall fescue. J. Plant Physiol. 99(4): 872-878.
- 4) Rayan, J. R., Estefan, G. and Rashid, A. (2001). Soil and plant analysis laboratory manual. (2 edition). ICARDA. Syria.

Study the effects of salinity stress by sodium chloride on peroxidase enzyme activity of root and sodium content of root in triticale (*×Triticosecale wittmack*) in greenhouse culture

Malihe Jahani^{1*}, Sedighe Jahani², Mohammad Reza Hadi³

1- M.Sc. student of plant physiology, biology department, Faculty of science, Islamic Azad university research and science branch of Fars.

2- M.Sc. student of plant physiology, biology department, Faculty of science, Islamic Azad university of Mashhad.

3- Assistant Professor of biology department, Faculty of science, Islamic Azad university research and science, branch of Fars.

* Corresponding Email address: malihe.jahani63@gmail.com

Abstract:

Salinity is a growing problem in agricultural soils. In order to investigate of effects of salinity stress by sodium chloride on peroxidase enzyme activity of root and sodium content of root in triticale (*×Triticosecale wittmack*) in greenhouse culture, a experiment as a completely randomized design with 3 replications in greenhouse condition (25°C, 35% relative humidity, photoperiod of 16 hours light and 8 hours darkness). The seeds were germinated in soli. One week triticale seedlings exposed to 0, 50, 100 and 150 mM NaCl for 5 weeks and assayed for some physiological parameters including peroxidase enzyme activity of root and sodium content of root. Data were exposed to statistical analysis using SPSS16 software. Results showed that with increasing salinity significantly increased peroxidase enzyme activity of root and sodium content of root ($p \leq 0.05$).

Keywords: salinity stress, peroxidase enzyme of root, sodium of root, *×Triticosecale wittmack*