



بررسی فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز در دو رقم مرکبات (کلئوپاترا ماندرین و سوئینگل

سیتروملو) نسبت به ارقام ناشناخته مرکبات در شرایط تنش شوری

سیده الهام فرهنگ جو^{۱*}، بابک باباخانی^۲، علی حاجی محمدی^۳، سیده آزاده فرهنگ جو^۱

۱- کارشناس ارشد رشته علوم گیاهی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد تنکابن، تنکابن، ایران.

۲- استادیار دانشگاه آزاد اسلامی، واحد تنکابن، تنکابن، ایران.

۳- کارشناس ارشد رشته زراعت، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد ورامین-پیشوا، باشگاه پژوهشگران جوان، ورامین، ایران.

*نویسنده مسئول: سیده الهام فرهنگ جو، دانشگاه آزاد اسلامی واحد تنکابن

آدرس مکاتباتی: مازندران- ساری- خیابان فرهنگ-خیابان حافظ- کوچه مریم- ساختمان گلستانه

پست الکترونیکی: S.e.farhangju@gmail.com

چکیده:

شوری خاک و آب، رشد و عملکرد محصولات کشاورزی را کاهش می دهد، جهت بررسی تأثیر تنش شوری بر میزان آنزیم آنتی اکسیدانی آسکوربات پراکسیداز در مرکبات، آزمایشی در سال ۱۳۸۹ در دانشگاه آزاد اسلامی واحد تنکابن بصورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با ۳ تکرار به اجرا درآمد، بدین صورت که میزان فعالیت آنزیم آنتی اکسیدانی آسکوربات پراکسیداز (APX) در ۱۰ ژنوتیپ ناشناخته و ۲ رقم شناخته شده مرکبات (ارقام کلئوپاترا ماندرین، سوئینگل سیتروملو) تحت تأثیر غلظت های مختلف کلرید سدیم در چهار سطح: شامل صفر، ۲، ۴، ۶ دسی زیمنس بر متر مورد بررسی قرار گرفت. در بررسی نتایج اثرات متقابل ژنوتیپ و سطوح شوری، بر فعالیت آنزیم آنتی اکسیدانی آسکوربات پراکسیداز، اختلاف معنی داری در سطح ($P < 0.01$) مشاهده شد. هم چنین اثر کلرید سدیم بر روی ژنوتیپهای مختلف تحت تأثیر شوری، تغییرات متفاوتی بسته به نوع پایه و ژنوتیپ در میزان آنزیم آنتی اکسیدانی آسکوربات پراکسیداز (APX) بوجود آورد. بیشترین فعالیت آنزیمی آسکوربات پراکسیداز در سطوح مختلف تیمار شوری نسبت به شاهد، در سطح ۲ و ۴ دسی زیمنس بر متر مربوط به ژنوتیپ ۱۰ بود، اما در سطح ۶ دسی زیمنس بر متر، ژنوتیپ ۶ بیشترین فعالیت را آنزیمی نشان داد، ژنوتیپ ۶ افزایش معنی داری ($P < 0.01$) را نسبت به سایر ژنوتیپ ها نشان داد، با توجه به نتایج بدست آمده می توان ژنوتیپ های ۳ و ۱۰ به عنوان متحمل و نیمه متحمل در نظر گرفت. بطور کلی نتایج این تحقیق نشان داد بالاترین فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز متعلق به سطح ۴ دسی زیمنس بر متر بود همچنین مقدار فعالیت آنزیمی بیشتری در مورفوتایپ سیتروملو نسبت به کلئوپاترا ملاحظه شد.

واژگان کلیدی: مرکبات، تنش شوری، ژنوتیپ، آنزیم های آنتی اکسیدانی، آسکوربات پراکسیداز.

مقدمه:

آبیاری یکی از مهمترین عوامل محدود کننده تولید در کشاورزی در طی دوره گرم و خشک می باشد (۵). غلظت نمکها در محلول خاک یا آب آبیاری، از کهن ترین مشکلات کشاورزی و محیط زیست است (۲). در حدود ۲۶٪ از زمین های کشاورزی جهان تحت تأثیر شوری قرار دارند (۳). استفاده از ارقام مقاوم به شوری یکی از روشهای موثر در بهره برداری، افزایش عملکرد زمینهای شور و کم شور نواحی خشک و نیمه خشک جهان است (۷). محیط های شور با دو خصوصیت اصلی یعنی پتانسیل اسمزی کم و غلظت بالای املاح مشخص می شود. شوری با کاهش سنتز پروتئین و افزایش فعالیت آنزیمهای هیدرولیز کننده آن و در مواردی با سنتز پروتئینهای جدید و یا کاهش فعالیت آنزیمهای پروتئولیتیک میزان پروتئین را در گیاه به ترتیب کاهش یا افزایش می دهد. حساسیت گیاه به شوری از یک مرحله رشد به مرحله دیگر تغییر می کند (۶). سازگاری

* این مقاله مستخرج از بخشی از پایان نامه کارشناسی ارشد نگارنده اول می باشد.



ششمین همایش ملی ایده های نو در کشاورزی



همایش ملی
ایده های نو در کشاورزی

۱۱ و ۱۲ اسفندماه ۱۳۹۰ دانشگاه آزاد اسلامی خوراسگان دانشکده کشاورزی

گیاهان نسبت به تنشهای محیطی بوسیله شبکه های مولکولی آبخاری کنترل می شود. این مکانیسمهای پاسخ دهنده نسبت به تنش، برای برقراری مجدد همئوستازی و حفاظت و ترمیم پروتئینها و غشاهای آسیب دیده فعال می شوند(۸). مرکبات نام گروهی از گیاهان متعلق به خانواده Rutaceae و زیر خانواده Aurantioideae می باشد، جنس citrus شامل کلیه مرکباتی است که ما در ایران می شناسیم. این جنس دارای گونه های مختلفی است. بررسی ها نشان می دهد که مرکبات موجب کاهش خطر ابتلاء به بیماریهای قلب و عروقی، سرطان، فرآیندهای تخریبی در بافتهای بدن می شود. این آثار بیولوژیکی مربوط به ترکیبات آنتی اکسیدانی می باشد که از تخریب بافتها توسط رادیکالهای آزاد جلوگیری می کند(۱). گیاهان می توانند از طریق القاء آنزیم های دفاعی آنتی اکسیدان که حفاظت علیه آسیب بیشتر فراهم می کنند به طیف وسیعی از تنش ها مانند: شوری، خشکی، دما و حمله پاتوژنها، پاسخ دهند. تنش اکسیداتیو یک تنش ثانویه است که در نتیجه تنش شوری بوجود آمده و می تواند منجر به تشکیل رادیکالهای آزاد می گردد. رادیکال های آزاد مولکول هایی هستند که از نظر شیمیایی بسیار فعال و تولید این رادیکال ها یک فرایند طبیعی متابولیسمی می باشد. این رادیکال ها از طریق آنزیم های آنتی اکسیدانی حذف می شوند. از آنزیم های آنتی اکسیدانی مهم شناخته شده می توان آسکوربات پراکسیداز، کاتالاز، سوپر اکسید دیسموتاز را نام برد(۴).

مواد و روش ها:

سنجش فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز (APX) از روش (Nakano and Asada.,1981) با استفاده از دستگاه اسپکتوفتومتر انجام شد. برای تهیه سوپرناتانت آنزیمی برگهای مرکبات، از بافر پتاسیم فسفات ۵۰ میلی مولار شامل EDTA (ethylene diamine tetra aceti) acid ۱ میلی مولار و Polyvinyl poly pyrrolidone(PVPP) (۲ درصد استفاده شد. فعالیت APX به دنبال اکسیداسیون آسکوربات به دی هیدروآسکوربات با ضریب خاموشی ($2/8 \text{ mM}^{-1} \text{ cm}^{-1}$) به مدت ۲ دقیقه در ۲۹۰ نانومتر محاسبه گردید، همچنین تجزیه و تحلیل آماری داده های حاصل به روش تجزیه واریانس بر پایه طرح کاملا تصادفی صورت گرفت و $p \leq 0.05$ بعنوان سطح معنی دار بودن اختلافات در نظر گرفته شد و با استفاده از نرم افزار Excel تحت آنالیز واریانس یک طرفه قرار گرفت .

نتایج و بحث:

نتایج بررسی اثر غلظتهای مختلف کلرید سدیم (سطوح مختلف شوری) بر فعالیت آنزیم آنتی اکسیدانی اسکوربات پراکسیداز (APX) در این آزمایش در جدول تجزیه واریانس (جدول ۱) این صفت مشاهده می گردد که نشان می دهد بین سطوح مختلف شوری و همچنین اثرات متقابل مورفوتایپ و شوری از نظر فعالیت اسکوربات پراکسیداز تفاوت معنی داری در سطح ۱ درصد مشاهده گردید.

جدول ۱- تجزیه واریانس صفت مورد اندازه گیری (میانگین مربعات)

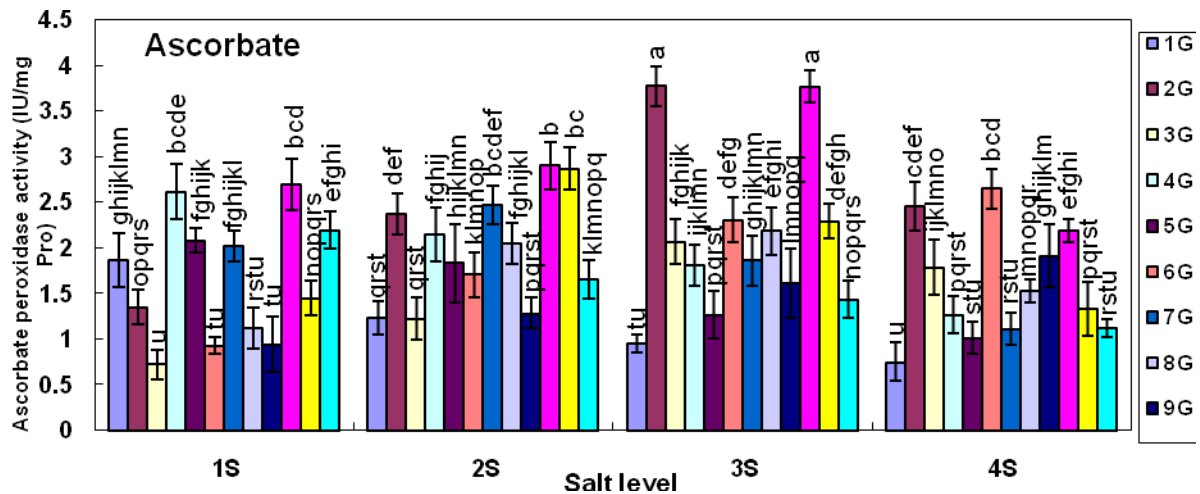
Table1.Variance analysis on measured character(MS)

فاکتور (Factor)	منابع تغییرات (s.o.v)	درجه آزادی (df)	آسکوربات پراکسیداز (APX)
t	تیمار	۴۷	۱/۴۸۱۳ **
v	رقم	۱۱	۲/۸۳۷۴ **
s	شوری	۳	۲/۰۷۰۲ **
v*s	رقم * شوری	۳۳	۰/۹۷۵۷ **
e	خطای آزمایش	۳۳	۰/۰۷۱۹
CV%	ضریب تغییرات	۹۵	۱۴/۵۶۰۷

*and **: Significant at 0.05 and 0.01 Probability level , respectively.

** و *** : به ترتیب در سطح ۵٪ و ۱٪ معنی دار هستند.

بر طبق نتایج بدست آمده مشاهده می شود، تنش شوری موجب افزایش فعالیت آنزیم اسکوربات پراکسیداز برگ می شود و در تمام سطوح کلرید سدیم از لحاظ آماری معنی دار است ($p \leq 0.05$). مقدار فعالیت آنزیم اسکوربات پراکسیداز در هر سطح شوری نسبت به سطح شاهد از اختلاف معنی داری برخوردار بوده و بالاترین فعالیت متعلق به سطح ۴ دسی زیمنس بر متر (S_3) بود. مقدار فعالیت آنزیم بیشتری در مورفوتایپ سیتروملو نسبت به کلئوپاترا ملاحظه شد (نمودار ۱).



نمودار ۱ - نمودار کلی فعالیت آنزیم اسکوربات پراکسیداز تحت غلظتهای مختلف شوری

افزایش میزان فعالیت آنزیم اسکوربات پراکسیداز نسبت به تیمار شاهد در سطوح شوری ۲، ۴ و ۶ دسی زیمنس بر متر به شرح زیر می باشد:

G_2 <=====> سیتروملو

G_8 <=====> کلئوپاترا

$G_3 < G_1 < G_9 < G_{12} < G_6 < G_5 < G_8 < G_4 < G_2 < G_7 < G_{11} < G_{10} : 2ds/m$

$G_1 < G_5 < G_{12} < G_9 < G_4 < G_7 < G_3 < G_8 < G_{11} < G_6 < G_{10} < G_2 : 4ds/m$

$G_1 < G_5 < G_7 < G_{12} < G_4 < G_{11} < G_8 < G_3 < G_9 < G_{10} < G_2 < G_6 : 6ds/m$

تغییر در بیان و فعالیت آنزیمهای آنتی اکسیدانی در بسیاری از گونه های گیاهی در واکنش به شرایط نامساعد محیطی و تنش های زنده و غیر زنده و محرکهای نمو مشاهده شده است. بیان بیش از حد ژن اسکوربات پراکسیداز پراکسیزومی گیاه آراییدوپسیس در گیاه تنباکو حفاظت علیه تنش اکسیداتیو را در این گیاه افزایش می دهد.

فعالیت بیشتر آنزیمها از میزان تنش اکسیداتیو کاسته و از فرایندهای متابولیکی که ضامن بقای سلول و گیاه هستند محافظت می کنند. تحت شرایطی که در آن فعالیت مهار می شود بافت تحت استرس فشار شدید قرار گرفته و متابولیسم کل سرکوب خواهد شد.

نتیجه گیری کلی:

بیشترین فعالیت آنزیمی اسکوربات پراکسیداز در سطوح مختلف تیمار شوری نسبت به شاهد، در سطح ۲ و ۴ دسی زیمنس بر متر مربوط به ژنوتیپ ۱۰ بود، اما در سطح ۶ دسی زیمنس بر متر، ژنوتیپ ۶ بیشترین فعالیت را آنزیمی نشان داد، ژنوتیپ ۶ افزایش معنی داری ($P < 0.01$) را نسبت به سایر ژنوتیپ ها نشان داد، با توجه به نتایج بدست آمده می توان ژنوتیپ های ۱۰ و ۳ به عنوان متحمل و نیمه متحمل در نظر گرفت. بطور کلی نتایج این تحقیق نشان داد که مقدار فعالیت آنزیم اسکوربات پراکسیداز در هر سطح شوری نسبت به سطح شاهد از اختلاف معنی داری برخوردار بوده و بالاترین فعالیت متعلق به سطح ۴ دسی زیمنس بر متر (S_3) بود همچنین مقدار فعالیت آنزیم بیشتری در مورفوتایپ سیتروملو نسبت به کلئوپاترا ملاحظه شد.



فهرست منابع:

۱. فتوحی قزوینی. ر. و فتاحی مقدم، ج. ۱۳۸۵. پرورش مرکبات در ایران. انتشارات دانشگاه گیلان، صفحه ۳۰۵.
2. **Abrol, I. P., Yadav .J.S.P. and Massoud, I. 1988.** Salt affected soils and management. 39. FAO ,Rome . PP.131
3. **Alam , S.M., Ansari, R., Mugtoba, S.M. and Shereen , A. 2001.** Saline land and rice.
4. **Asada, K. and Takahashi, M., .1987.** Production and scavenging of active oxygen in photosynthesis. In: Kyle, D.J., Osmond, C.B., Arntzen, D.J., eds. Photo inhibition, Amsterdam: Elsevier, 227–87.
5. **Dagdelen N., E. Yilmaz. F. Sezgin and T. Gurbuz. 2006.** Water- yield relation and water use efficiency of cotton (*Gossypium hirsutum L.*) and second crop corn (*Zea mays L.*) in western Turkey. Agricultural Water Management, 82:63-85.
6. **Flowers , T.S., Torke , P.F.and Yeo , A. R. 1977.** The mechanism of salt tolerance in halophytes. Annual Review of Plant Physiology. 28:89-121
7. **Stewart, J. 1989.** Effect of alkali on seed germination . Litah Agricultural Experiment. STAT., 9th.A.R.
8. **Wang , W., Vinocur, B. and Altman , A. 2003.** Plant responses to drought , salinity and extreme temperatures : Towards genetic engineering for stress tolerance .Planta 218:1-14

A study on Ascorbate peroxidase activity in the two varieties of citrus (Cleopatra Mandryn and Suengel Sitromelo) than citrus varieties unknown in terms of salinity

Farhangju, S. E^{*1}, B. Baba khani², A. Haji Mohammadi³, S.A.Farhangju⁴

*Corresponding E-mail address: S.e.farhangju@gmail.com

Abstract:

In order to study the impact of salinity application, on Ascorbate peroxidase activity in the two varieties of citrus (Cleopatra Mandrrin and Swingle citromelo) than citrus varieties unknown, an experiment was carried out in Completely randomized design with three replications in the research farm, the Islamic Azad University, Tonekabon Branch. In this experiment the amount of ascorbate peroxidase activity of antioxidant enzymes (APX) in the two varieties of citrus and ten unknown genotypes were investigated. The results obtained showed that the enzyme ascorbate peroxidase at different levels of treatment, compared with control at 2 dS/m and 4 dS/m related to the genotype is tenth, but the level of 6 dS/m, genotype 6 highest activity of an ascorbate peroxidase enzyme has been shown.

Key Words : citrus, salinity stress, genotype, antioxidant enzymes, ascorbate peroxidase.

*1. M.Sc in plant physiology, Islamic Azad University, Tonekabon Branch, Tonekabon , Iran.

Email: S.e.farhangju@gmail.com

2. Assistant Prof, Islamic Azad University, Tonekabon Branch, Tonekabon , Iran.

3. M.Sc in Agronomy, Young Researchers club of Islamic Azad University, Varamin - Pishva Branch ,varamin, Iran .

Email: Hajimohammadi.ali.1388@gmail.com

4. M.Sc in plant physiology, Islamic Azad University, Tonekabon Branch, Tonekabon , Iran.

Email : S.a.farhangjou@gmail.com