



## بررسی اثر مس و سالیسیلیک اسید بر فعالیت آنزیمهای پراکسیداز و کاتالاز در دو رقم آفتابگردان

حسین لاری یزدی<sup>۱</sup> عبدالکریم حقیر چهرگانی<sup>۲</sup> مریم سپاسی<sup>۳</sup>

۱-استادیار دانشگاه آزاد اسلامی واحد بروجرد

۲-دانشیار دانشگاه بوعلی همدان

۳-دانشجو کارشناسی ارشد دانشگاه آزاد اسلامی واحد بروجرد

### چکیده

در این تحقیق اثر سالیسیلیک اسید (۵ میکرومولار) بر روی فعالیت آنزیم های پراکسیداز و کاتالاز در دو رقم گیاه آفتابگردان (آلستار و یوروفلور) تحت تنش غلظتهای مختلف مس (۰/۰، ۲۵/۱۵ و ۰/۳۵ میلی مولار) در محیط کشت به روش هیدروپونیک با استفاده از محلول غذایی هوگلند بررسی شد. فعالیت آنزیم پراکسیداز به روش **Korio** (۱۹۸۹) و آنزیم کاتالاز به روش **Chance** (۱۹۹۵) سنجش شد. آنالیز آماری داده ها با تجزیه واریانس و آزمون دانکن توسط نرم افزار **SPSS** در سطح احتمال ۱٪ و ۳ تکرار انجام شد. مقدار بالای مس محتوای آنزیمهای پراکسیداز و کاتالاز را در هر دو رقم، در ریشه ها و برگها افزایش داد. این افزایش در رقم آلستار بیش از رقم یوروفلور بود. سالیسیلیک اسید سطح آنزیمهای پراکسیداز و کاتالاز را بطور معنی داری افزایش داد. تحت تنش مس تجمع آنزیمهای پراکسیداز و کاتالاز در ریشه ها بیشتر از برگها مشاهده شد. استفاده از سالیسیلیک اسید فعالیت آنزیمهای کاتالاز و پراکسیداز را افزایش داد.

واژگان کلیدی: مس، سالیسیلیک اسید، آنزیم، آفتابگردان

### مقدمه

هر چند مس یک عنصر ضروری برای رشد گیاه است تجمع آن در خاکها می تواند برای گیاهان سمی باشد. سالیسیلیک اسید آسیب وارده از طریق تنش اکسیداتیو را می کاهد (Shaw, 1995). هدف از این پژوهش مطالعه اثر مس و سالیسیلیک اسید بر میزان فعالیت آنزیمهای کاتالاز و پراکسیداز در دو رقم آفتابگردان می باشد.

### مواد و روش ها

ابتدا بذرهای سالم و یکنواخت به منظور ضد عفونی به مدت ۱۰ دقیقه در محلول هیپوکلریت سدیم ۲۰٪ قرار داده شدند. سپس بذرها بعد از شستشو با آب مقطر به مدت ۲۴ ساعت در آب قرار داده شدند تا به مرحله آماس رسیدند. سپس در تعدادی سبده به مدت ۲۴ ساعت در تاریکی قرار داده شدند و بعد از اتمام این مدت زمان به روشنایی منتقل گردیدند و سپس گیاهچه های ۷ روزه از سبدها به ظرفهای تیره حاوی ۶۵۰ میلی لیتر محلول نیم قدرت هوگلند (محیط هیدروپونیک) انتقال یافتند. بعد از ۲۴ ساعت ظروف حاوی گیاهان تحت تیمارهای مختلف مس (۰/۰، ۲۵/۱۵ و ۰/۳۵ میلی مولار) و سالیسیلیک اسید (۵ میکرومولار) قرار گرفتند. برای جلوگیری از خفگی ریشه ها گیاهان هر روز ۴ بار به مدت نیم ساعت هوادهی شدند.  $pH$  محلول هوگلند نیز در حد ۶/۵ تنظیم شد. بعد از گذشت ۱۰ روز برای سنجش فعالیتهای آنزیمهای کاتالاز و پراکسیداز به روش زیر عمل می کنیم:

الف) تهیه محلول عصاره گیری: مخلوط ۱/۲ گرم تریس، ۰/۱ گرم اسید آسکوربیک، ۱۷/۲ گرم ساکارز، ۰/۱ گرم سیستئین کلراید و ۲۶/۸ میلی لیتر اسید کلریدریک ۰/۲ نرمال با آب مقطر به حجم ۱۰۰ میلی لیتر با  $pH=7/5$  رساندیم. ب) استخراج عصاره آنزیمی:

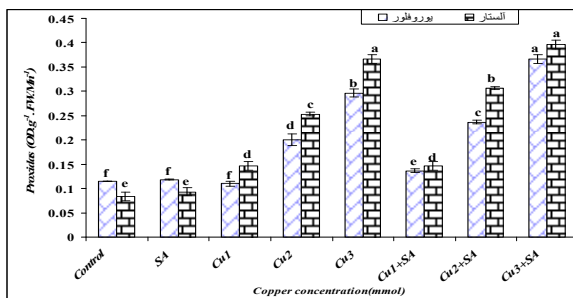
یک گرم از بافت تر گیاهی (برگ و ریشه هر کدام جداگانه) را با ۵ میلی لیتر محلول عصاره گیری سائیدهو سپس آن را به مدت ۱۰ دقیقه در حالت سکون قرار داده و سپس به مدت نیم ساعت با قدرت ۱۰۰۰۰ g سانتیفیوژ شدند. ج) سنجش فعالیت آنزیم: به منظور سنجش فعالیت آنزیم پراکسیداز از محلول های زیر استفاده گردید (Koroi, 1989):

۲(۱) میلی لیتر تامپون استات ۰/۲ مولار با  $\text{pH}=4/8$  ۰/۲(۲) میلی لیتر آب اکسیژنه ۳/۳ (۳) میلی لیتر بنزیدین (M ۰/۰۲ مولار- محلول در متانول ۵۰٪). محلول های فوق را به همراه ۰/۱ میلی لیتر از محلول عصاره گیری (حاوی آنزیم پراکسیداز) را با هم مخلوط نمودیم و در دستگاه اسپکتروفتومتر در طول موج ۵۳۰ نانومتر میزان جذب آن را خواندیم. مقدار فعالیت آنزیم بر حسب واحد جذب در دقیقه به ازاء هر میلی گرم پروتئین در گرم وزن تر محاسبه گردید. سنجش آنزیم کاتالاز (Chance, 1995): ۲/۵(۱) میلی لیتر تامپون فسفات با  $\text{pH}=7$  ۲ (۲) میلی لیتر آب اکسیژنه ۳/۳٪ محلول های فوق را به همراه ۰/۲ میلی لیتر از محلول عصاره گیری را با هم مخلوط می نماییم و در دستگاه اسپکتروفتومتر در طول موج ۵۳۰ نانومتر میزان جذب آن را می خوانیم.

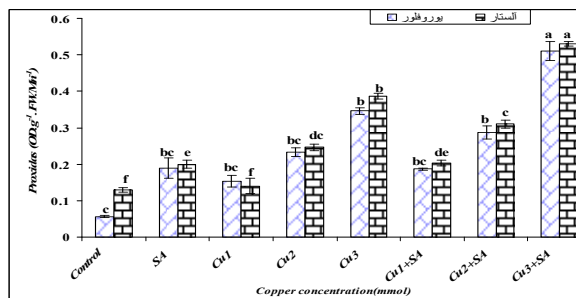
#### نتایج و بحث

با توجه به نتایج به دست آمده از پژوهش حاضر، همزمان با افزایش غلظت مس افزایش معنی دار ( $P<0.01$ ) آنزیمهای کاتالاز و پراکسیداز در ریشه و برگ گیاهان ۱۰ روزه هر دو رقم مشاهده شد. در هر دو رقم میزان فعالیت آنزیم پراکسیداز در برگ و ریشه افزایش شدیدی نسبت به آنزیم کاتالاز نشان داد و این افزایش در در ریشه گیاهان بیشتر از برگ آنها بود. از طرفی این افزایش در رقم آلتار بیشتر از رقم یوروفلور بود که نشان دهنده مقاومت بیشتر رقم آلتار نسبت به رقم یوروفلور بود. همچنین در بر همکنش غلظتهای مختلف مس و سالیسیلیک اسید در برگ و ریشه گیاهان ۱۰ روزه در هر دو رقم، مشاهده شد که تیمارها نسبت به شاهد روند افزایشی دارند ( $P<0.01$ ). این افزایش در ریشه مشهودتر از برگ بوده و در رقم آلتار بیشتر از رقم یوروفلور است که نشاندهنده مقاومت بیشتر رقم آلتار است (جداول ۱، ۲، ۳ و ۴).

Saiva (۲۰۰۲) و Kumar, et al (۲۰۰۴) افزایش فعالیت آنزیمهای کاتالاز و پراکسیداز را در گندم گزارش کردند. Jouili و El Ferjani (۲۰۰۲) نیز افزایش فعالیت پراکسیداز را در گیاهچه های آفتابگردان تحت تیمار مس گزارش کردند که با تحقیقات ما همسویی دارد. در پژوهش انجام شده کاربرد سالیسیلیک اسید باعث افزایش معنی دار فعالیت آنزیمهای کاتالاز و پراکسیداز شده که این افزایش در ریشه مشهودتر از برگ بود (Rao, 1997; Kang, 2003; Zawaznik and et al, 2008)



نمودار ۱- مقایسه پراکسیداز برگ در دو رقم

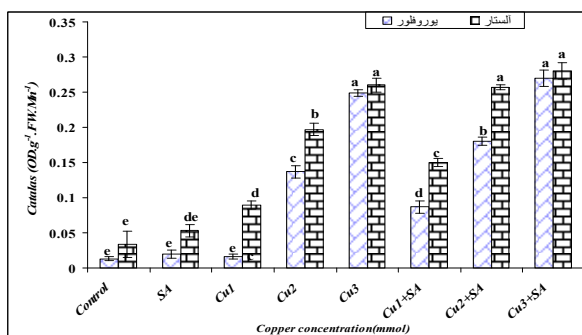


نمودار ۲- مقایسه پراکسیداز ریشه در دو رقم

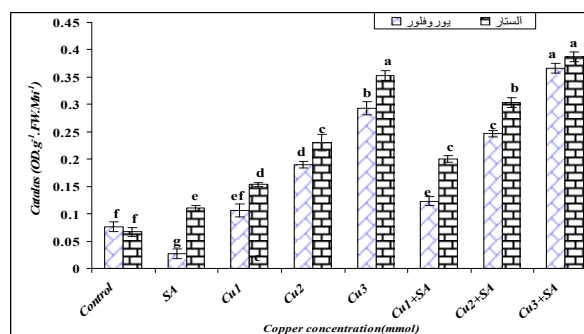
آلستار و یوروفلور ۱۰ روزه تحت تاثیر  
 غلظت های مس و سالیسیلیک اسید

آلستار و یوروفلور ۱۰ روزه تحت تاثیر غلظت های  
 مس و سالیسیلیک اسید

Jouili و Ferjani در سال ۲۰۰۲ ثابت کردند که کاتالاز استرس وارد شده به گیاهچه های آفتابگردان توسط مقدار سمی مس را تعدیل می کند. بر اساس تحقیق Rao (۱۹۹۷) اسید سالیسیلیک آسیب وارده از طریق تنش اکسیداتیو را می کاهد و با حفظ فعالیت کاتالاز برای زدودن و دفع  $O_2$  و  $H_2O_2$  اقدام می کند. که نظریات این دانشمندان با تحقیق ما همسویی دارد.



نمودار ۳- مقایسه کاتالاز برگ در دو رقم آلستار و یوروفلور  
 ه تحت تاثیر غلظت های مس و سالیسیلیک اسید



نمودار ۴- مقایسه کاتالاز ریشه در دو رقم و آلستار یوروفلور ۱۰ روزه  
 غلظت های مس و سالیسیلیک اسید

## نتیجه گیری کلی

با توجه به سمی بودن غلظت بالای مس برای گیاه آفتابگردان، سالیسیلیک اسید میتواند اثرات ناشی از تنش این فلز سنگین را کاهش دهد.

## منابع

۱. احسان طباطبایی ف. ۱۳۸۶. فیزیولوژی تنش های گیاهی: دانشگاه پیام نور. صفحه ۱۹۰

۲. Tayeb M . Enany A . Ahmed N . ۲۰۰۶. Salicylic acid-induced adaptive response to copper stress in sunflower (*Helianthus annuus*L .). Plant Growth Regul, ۵۰: ۱۹۱-۱۹۹



۳ . Tayeb M .Enany A . Ahmed N . ۲۰۰۶ . Salicylic Acid Alleviates the Copper Toxicity in Sunflower seedlings . International Journal of Botany ۲(۴) : ۳۸۰ - ۳۸۷

## Effect of Cu and Salicylic Acid on of Peroxidase and Catalas Activity of Two Varieties of Sunflower(*Helianthus annuus* L.)

1-hosein lari 2-abdolkarim chehregani 3-maryam sepasi

Corresponding author affiliation: 1-Assistant professor of Biology, Islamic Azad University of Broujerd 2-Associated professor of Biology, Bu Ali University 3-M.S student os Islamic azad University of Broujerd  
mym\_sep@yahoo.com

### Abstract:

In this research effect of salicylic acid(5 $\mu$ M) on two cultivar of *Helianthus annuus* L.(Alestar and Uroufior) under different consentraition(0.15,0.25 and 0.35 mM) of Cu stress in hydroponic cultur (Hogland).

In this research used Korio method(1989)for determining Peroxidase and Chance(1995) for determining Catalas enzymes activity. Data analyzed by Doncan test by use of SPSS software in %1 probability level and in 3 repeats . Excess Cu increased peroxidas and catalas enzymes activity in both cultivar and both roots and leaves.This increasing in Alestar is higher than Urouflor.Salicylic acid significantly increased enzymes levels. Under excess Cu, a higher accumulation of peroxidase and catalase enzymes occurred in roots than leaves Exogenous application of SA appeared to induce anresponse to Cu toxicity .

**KeY Words:**Sunflower, Copper, Salicylic acid, Enzyms