



تأثیر سیلیکون بر محتوای آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانت در تریتیکاله (*X Triticosecale*) تحت تنش خشکی در مبارزه با کم‌آبی خاک

الهام سلمانی¹، رحیم حداد²، قاسمعلی گروسی³، رامین حسینی⁴

- 1- قزوین-انتهای خیابان نوروزیان-دانشگاه بین‌المللی امام خمینی -گروه بیوتکنولوژی
 - 2- قزوین-انتهای خیابان نوروزیان-دانشگاه بین‌المللی امام خمینی -گروه بیوتکنولوژی
 - 3- قزوین-انتهای خیابان نوروزیان-دانشگاه بین‌المللی امام خمینی -گروه بیوتکنولوژی
 - 4- قزوین-انتهای خیابان نوروزیان-دانشگاه بین‌المللی امام خمینی -گروه بیوتکنولوژی
- Res.pina38@yahoo.com

چکیده

با توجه به فراوانی سیلیکون و اهمیت آن در رشد و نمو گیاه و به منظور مطالعه اثرات آن بر روی فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانت آسکوربیت پروکسیداز (APX) و کاتالاز (CAT)، طرحی به صورت بلوک‌های کاملاً تصادفی در قالب فاکتوریل در دو رقم حساس *JUANILO92* و مقاوم *et-79-17* تریتیکاله و سه تکرار و با یک نوع کود سیلیکات سدیم و نیز سه تیمار در سه سطح شاهد، خشکی و سیلیکون - خشکی و در شرایط گلدانی انجام شد. نتایج این تحقیق نشان داد، سیلیکون می‌تواند سبب افزایش عملکرد گیاه، در خاک‌های کم‌آب شود.

واژه کلیدی: تریتیکاله، سیلیکون، تنش خشکی، آسکوربیت پروکسیداز، کاتالاز

مقدمه

کمبود آب در خاک یکی از عوامل اقلیمی محدود کننده رشد گیاهان است و هیچ گیاهی قادر نیست به طور کامل از آن اجتناب کند (کافی و همکاران، 1379). تریتیکاله [*X.Triticosecale Wittmack*] غله‌ای ساخت بشر است که از تلاقی گندم و چاودار حاصل شده است و دارای پتانسیل تولید بالایی به عنوان یک محصول زراعی می‌باشد (بریگل، 1969). در آزمایشی مزرعه‌ای بر گندم دوروم و تریتیکاله در سطوح رطوبتی مختلف، تحت تنش خشکی عملکرد گندم کاهش معنی داری را نشان داد در حالیکه این کاهش در تریتیکاله نسبت به شاهد آبی اندک و غیر معنی دار بود (گیونتا و همکاران، 1993). خشکی یکی از مهم‌ترین تنش‌های محیطی است که منجر به تولید فرآورده‌های زیان‌آوری شده که سبب بهم خوردن تعادل تشکیل گونه‌های فعال اکسیژن نظیر O_2 ، پراکسید هیدروژن، H_2O_2 ، رادیکال هیدروکسیل (HO^{\bullet})، رادیکال الکاکیل (RO)، رادیکال پروکسیل (ROO \bullet)، هیدروپراکسیدهای آلی (ROOH)، اکسیژن منفرد و رادیکال پرهیدروکسیل (HO) می‌باشند می‌شود که به طور بالقوه دارای پتانسیلی است که با بسیاری از ترکیب‌های سلولی واکنش داده و سبب خسارت به غشا و سایر ماکرومولکول‌های ضروری از قبیل رنگدانه‌های فتوسنتزی، پروتئین‌ها، اسیدهای نوکلئیک و لیپیدها می‌شود، بلوخینا و همکاران (2002). گیاهان با دارا بودن



سیستم ضد اکسنده که شامل ترکیب‌های آنزیمی مانند کاتالاز و غیر آنزیمی معمولاً سطوح این رادیکال‌ها را در سلول در حد متعادل نگه می‌دارند، آل آقاباری و همکاران (2004). سیلیکون (Si) بعد از اکسیژن دومین عنصر فراوان در روی زمین است. علی‌رغم فراوان بودن این ماده در سطح زمین به دلیل همراه بودن آن با سایر عناصر از دسترس گیاه خارج بوده و گیاهان تنها قادر به استفاده از فرم سیلیسیلیک اسید (Si(OH)_4) آن می‌باشند، و به دلیل این که در دسته عناصر ضروری برای رشد گیاهان قرار نگرفته توجه زیادی به نقش بیولوژیکی آن در گیاه نشده است اپستین (1999). در مقالاتی که اثرات سیلیکون بر روی گیاهان مورد بررسی قرار گرفته، گزارش شده است که سیلیکون باعث افزایش رشد گیاهان می‌گردد، گانز و همکاران (2007) اثرات سیلیکون را بر میزان فعالیت ضد اکسنده‌های آنزیمی و غیر آنزیمی در 10 رقم اسفناج (*Spinacia oleracea L.*) تحت تنش خشکی بررسی نموده و ملاحظه کردند فعالیت آنزیم CAT و APX به طور معنی داری کاهش می‌یابد در حالی که تیمار با سیلیکون منجر به افزایش فعالیت این آنزیم‌ها در برخی ارقام اسفناج گردید. لی و همکاران (2007) اثر سیلیکون را بر روی میزان تحمل به خشکی گیاه ذرت تحت شرایط گلخانه مورد مطالعه قرار دادند. نتایج آزمایش آنان نشان داد که تحت شرایط تنش ملایم و شدید، تیمار سیلیکون باعث افزایش عملکرد گردید این آزمایش با هدف بررسی اثرات سیلیکون بر و میزان فعالیت آنزیم ضد اکسنده APX و CAT در شرایط تنش خشکی در تربیتکاله به اجرا در آمد.

مواد و روش‌ها:

به منظور بررسی تأثیر سیلیکون در کاهش خسارات ناشی از تنش خشکی در دو ژنوتیپ تربیتکاله حساس *JUANILO92* (حساس به خشکی) و *et-79-17* (رقم متحمل به خشکی) که بذر آنها از بخش تحقیقات غلات موسسه تحقیقات اصلاح و بذرها مشهد تهیه گردیده بود بر اساس آزمایش فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی در سه تکرار با سه تیمار شاهد، خشکی و سیلیکون + خشکی در گلخانه تحقیقاتی دانشگاه بین المللی امام خمینی (ره) سال 1389 مورد ارزیابی قرار گرفتند. کشت در گلدان‌های پلاستیکی با ابعاد 45 سانتی‌متر که حاوی 15 کیلوگرم خاک ترکیبی از ماسه، خاک زراعی و مواد آلی صورت گرفت، به منظور اعمال تیمار سیلیکون به میزان 16 میلی مولار در هر گلدان سیلیکات سدیم اضافه گردید، تنش خشکی با کار گذاشتن بلوک گچی در گلدان‌ها که در شرایط آزمایشگاه در پتانسیل آب (-1MP) کالیبره شده بودند اعمال گردید. قبل از کاشت بذرها ضد عفونی شدند، سپس به تعداد 25 بذر در هر گلدان کاشته شد. نمونه برداری در مرحله 4 برگی، زمانی که پتانسیل آب در تیمار خشکی و سیلیکون + خشکی به (-1MP) رسید صورت گرفت. نمونه‌های یک گرمی از برگ‌های سالم هر بوته برداشت شده و بلافاصله بعد از قرار دادن در ورقه‌های آلومینیومی، در نیتروژن مایع منجمد گردیده و در پایان نمونه برداری در فریزر -80 (درجه قرار داده شد. جهت استخراج عصاره گیاهی، یک گرم بافت برگ در حضور بافر استخراج فسفات پتاسیم 50 میلی مولار (pH=7) و سدیم متابی سولفات له شد. سپس، مخلوط حاصل به لوله‌های سانتریفیوژ انتقال داده شده و در 15000 rpm و دمای 4 درجه به مدت 30 دقیقه Beckman Culter مدل Allegra-64 سانتریفیوژ گردید. به منظور محاسبه فعالیت آنزیم کاتالاز از روش ابی (1984) استفاده شد. فعالیت آنزیم آسکوربیت پراکسیداز بر اساس روش طبق روش ناکانو و اسادا (1987) تخمین زده شد. جداسازی و الکتروفورز آنزیم‌های ضد اکسنده از روش الکتروفورز بومی ژل طبق روش لاملی (Native-PAGE) استفاده شد. رنگ آمیزی (1970) اختصاصی آنزیم کاتالاز بر اساس روش روبرتسون و همکاران (1987) و



آنزیم آسکوربیت پراکسیداز بر اساس روش راتو و همکاران (1996) انجام شد. اطلاعات بدست آمده با استفاده از نرم افزار EXCEL و SAS تجزیه واریانس شدند. برای مقایسه میانگین ها از آزمون دانکن در سطح احتمال 1% استفاده گردید.

نتایج و بحث

خلاصه تجزیه واریانس داده ها برای صفات مختلف در جدول 1 ارائه شده است. در تنش خشکی به علت عدم توازن بین دریافت نور و مصرف آن، فعالیت فتوسنتزی مختل می گردد. تنظیم نامناسب فتوسیستم II موجب عدم توازن بین تولید و مصرف الکترون گشته که منجر به تولید گونه های فعال اکسیژن می شود. رادیکال های آزاد اکسیژن ROS علاوه بر صدمه به سلول های گیاه، به عنوان مولکول های نشانگر عمل کرده و سبب فعال سازی پاسخ های دفاعی موجود زنده در برابر تنش اعمال شده می گردند آرورات و همکاران (2002). همانگونه که ذکر شد گیاهان به منظور خنثی کردن اثرات سمی گونه های واکن شزای اکسیژن از دو سیستم ضد اکسندگی آنزیمی و غیر آنزیمی استفاده می کنند. در این تحقیق فعالیت آنزیم های ضد اکسندگی خشکی APX و CAT در هر دو ژنوتیپ تربیتکاله به طور معنی داری افزایش پیدا کرد. بطوریکه افزایش فعالیت این آنزیم ها در تیمار سیلیکون - خشکی در مقایسه با تیمار خشکی معنی دار بود.

جدول 1_ خلاصه تجزیه واریانس برای صفات مختلف در ژنوتیپ تربیتکاله در شرایط تنش خشکی

میانگین مربعات (MS)

S.O.V	منبع تغییرات	درجه آزادی (df)	آسکوربیت پروکسیداز (APX)	کاتالاز (CAT)
(G) Genotype	ژنوتیپ	1	4.553805	3.695284
(T) Treatment	تیمار	2	946.436958	503.920272
T × G	تیمار × ژنوتیپ	2	67.013142	37.472662
Error	خطا	36	1.753089	72.129883
(%) C.V	درصد ضریب تغییرات		9.763648	6.058754

** معنی دار در سطح 1%

بای و سوئی (2006) دریافتند که در گیاه ذرت تحت شرایط تنش خشکی تغییر معنی داری در میزان فعالیت آنزیم CAT در مقایسه با نمونه های شاهد مشاهده نگردید در این تحقیق تیمار سیلیکون باعث افزایش در این آنزیم گردید. این آنزیم قادر است بدون نیاز به عامل احیاء کننده، H_2O_2 و O_2 تبدیل کند حدود 90 درصد از ماده خشک گیاهی از تثبیت CO_2 وسیله آنزیم روبیسکو حاصل می شود، بریسون و همکاران (1998) این آنزیم دارای نقش دوگانه بوده و قادر است با اکسیژن نیز واکنش داده و به جای فسفوجلایسرات، فسفوجلایکولات تولید کند که در نهایت به آزاد شدن CO_2 و تسریع تنفس نوری کمک می کند و از



آنجائیکه تنفس نوری با تولید CO_2 و مصرف ATP همراه است زائد به نظر می‌رسد بزیسون و همکاران (1998). با افزایش میزان کاتالاز به دلیل نقش آن در زدودن H_2O_2 از محیط، به کاهش تنفس نوری و کاهش نقطه جبرانی CO_2 نیز کمک می‌کند. موسی (2006) بالاترین میزان فعالیت آنزیم CAT را در اثر تیمار سیلیکون در نمونه‌های ذرت که در معرض تنش شوری قرار گرفته بودند گزارش کرد و اظهار داشت که اعمال سیلیکون باعث افزایش میزان فعالیت این آنزیم در گیاهانی که در شرایط

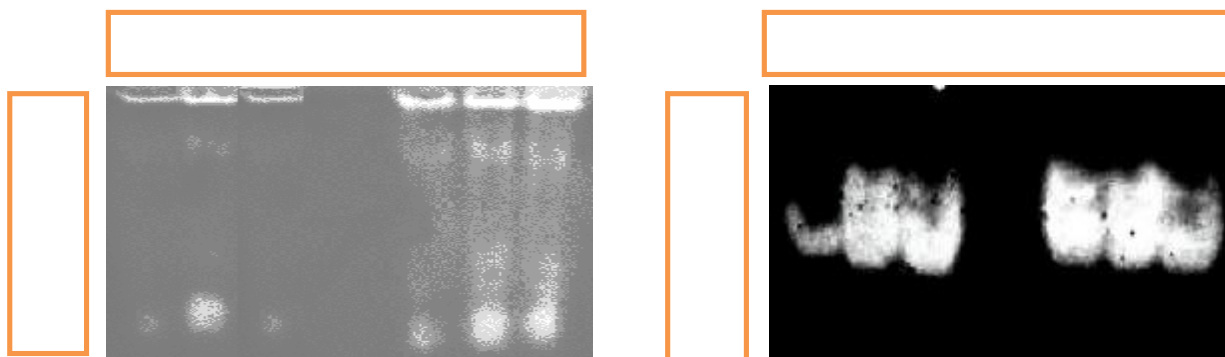
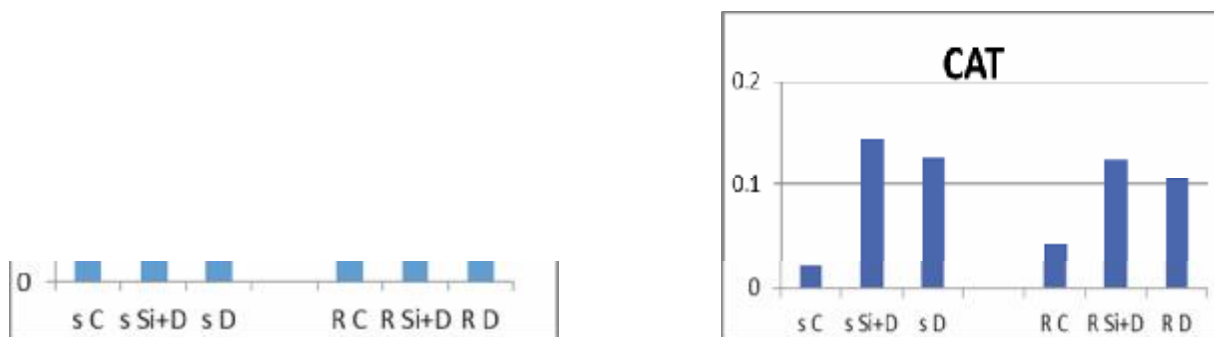


Fig 7. Electrophoresis pattern by Native-PAGE and variation in APX and CAT, T (Tolerant), S (Sensitive)



شکل 2- پرو فایل تغییرات فعالیت آنزیم کاتالاز و آسکوربیت پراکسیداز بر اساس تیمار شاهد (c)، سیلیکون+خشکی (Si)، خشکی (D) (D) (umolH₂O₂/min/mg pro)

طبیعی رشد کرده و فاقد تنش می‌باشند نیز می‌گردد. نظام پراکسیداز گیاهان به صورت آیزوفرم های چندگانه موجود است که به طور دقیق تنظیم شده و در پاسخ به محرک های محیطی فعال می‌گردد. در این تحقیق فعالیت آنزیم آسکوربیت پراکسیداز در اثر تنش افزایش یافت که تیمار سیلیکون باعث تشدید فعالیت این آنزیم گردید. افزایش فعالیت آسکوربیت پراکسیداز در اثر تنش خشکی در برنج نیز گزارش شده است شارما دویی (2005). بررسی هایی که بر روی برنج در مرحله نشائی صورت گرفت، مشخص گردید که افزایش فعالیت آسکوربیت پراکسیداز در گیاهان تحت تنش خشکی با واکنش های اکسیدکننده بوجود آورنده رادیکال های آزاد و پراکسیدهای آلی همبستگی دارد و APX نقش موثری در پاکسازی H_2O_2 دارد.



- AL-Aghabary, K., Zhujun, Z., and Qinhua, S. 2004. Influence of silicon supply on chlorophyll content, chlorophyll fluorescence, and antioxidative enzyme activities in tomato plants under salt stress. *Plant Nutrition*. 27: 2101-2115.
- Arnon, D. I. 1949. Copper enzymes in isolated chloroplast. Poly pheol oxide in *Beta vulgaris*. *Plant Physiology* 24: 1-15.
- Bates, L. S., Waldron, R. P., and Teare, I. D. 1973. Rapid determination of free proline for water stress studies. *Plant Soil* 39: 205-217.
- Aebi, H. E. 1984. Catalase in vitro. *Methods Enzymology* 105: 121-126.
- Bai, L., and Sui, F. 2006. Effect of soil drought stress on leaf of maize. *Pedosphere* 16: 326-332.