# مقایسه فعالیت و مقدار برخی آنزیم‌ها و اسمولیت‌های سازگار در ژنوتیپ‌های مختلف پنبه در یک خاک شور

قربانعلی روشنی[۱]، سید جلال میرقاسمی[۲] و عبدالرضا قرنجیکی[۱]
[۱ و ۲] به ترتیب اعضای هیات علمی و محقق موسسه تحقیقات پنبه کشور، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، گرگان

**چکیده**

این تحقیق، به منظور بررسی تاثیر شوری خاک بر فعالیت سه نوع آنزیم و مقدار دو اسمولیت سازگار در هفت ژنوتیپ پنبه انجام گردید. کلیه سنجش‌ها در برگ‌های پنجم و شش بوته‌های ۳۰ روزه انجام شد. بر اساس نتایج تجزیه واریانس داده‌ها، اختلاف فعالیت کاتالاز، پراکسیداز و پلی فنل اکسیداز و مقدار پرولین و گلیسین بتائین در ژنوتیپ‌های مختلف از نظر آماری معنی‌دار بود. ژنوتیپ‌های شیرپان۵۳۹، سپید، سیلند و ساحل دارای بیشترین فعالیت کاتالاز بوده و ژنوتیپ اوپال نیز بیشترین پراکسیداز را نشان داد. بیشترین فعالیت پلی فنل اکسیداز و مقدار گلایسین بتائین با ژنوتیپ سپید بدست آمد. ژنوتیپ‌های اوپال و ۴۳۲۰۰ دارای بیشترین مقدار پرولین بودند. ژنوتیپ ۴۳۲۰۰ کمترین فعالیت کاتالاز را داشته و فعالیت پراکسیداز و پلی فنل اکسیداز و میزان پرولین نیز در ژنوتیپ چوکوروا کمتر از همه بود. شیرپان۵۳۹ کمترین مقدار گلایسین بتائین را داشت.

**واژه های کلیدی:** اسمولیت‌های سازگار، آنزیم، پنبه، شوری

**مقدمه**

شناخت مکانیسم‌های بیوشیمیایی و مولکولی گیاه پنبه در برابر تنش‌های محیطی، جهت افزایش محصول در شرایط تنش لازم است. اگر چه مفاهیم کشاورزی گیاه پنبه به خوبی شناخته شده ولیکن اطلاعات کمی در مورد خواص فیزیولوژیک و بیوشیمیایی و فتوسنتز و متابولیسم آن در شرایط تنش وجود دارد (Meloni et al., 2003; DeRidder and Salvucci, 2007).

تفاوت در تحمل به تنش شوری نه تنها در بین گونه‌های گیاهی مختلف وجود دارد، بلکه چنین تمایزاتی در بین ژنوتیپ‌ها و واریته‌های مختلف یک گونه گیاهی نیز به اثبات رسیده است (Jamil et al., 2005; Azhar and McNeilly, 2001). این تمایز و تفاوت در بین ژنوتیپ‌ها و گونه‌های مختلف پنبه نیز وجود دارد (Ahmad et al., 2002; Niu et al., 2013).

تجمع نمک‌های رقابتی از جمله پاسخ‌های گیاهی نسبت به تغییرات پتانسیل اسمزی خارجی است. ترکیباتی با عملکرد اسمزی در شرایط نامطلوب در گیاهان ایجاد می‌شوند (Hasegawa et al., 2000; Sotiropoulos, 2007). توانایی گیاهان در تحمل نمک‌ها، به مسیرهای بیوشیمیایی که تعادل آب را برقرار می‌سازند، حفاظت از کلروپلاست و هموستازی یونی، مربوط می‌شود. مسیرهای حیاتی شامل سنتز متابولیت‌های فعال اسمزی، پروتئین‌های مخصوص و آنزیم‌های جاروب‌کننده رادیکال‌های آزاد است که تحمل به شوری را افزایش می‌دهند (Gosset et al., 1994; Ashraf and Foolad, 2007).

املاح سازگار که اسمولیت‌های سازگار[۱] هم نامیده می‌شوند، ترکیبات آلی با ساختار شیمیایی گوناگونی می‌باشند که مولکول‌های آنها بدون بار و قطبی بوده و قابلیت انحلال دارند. این ترکیبات به طور طبیعی، حتی در غلظت بالا با متابولیسم سلولی تداخل ایجاد نمی‌کنند. با اینکه اسمولیت‌های سازگار متنوع هستند، اما عمدتاً شامل پرولین، گلایسین بتائین، پولیول[۲] و قندها هستند (Kerepesi and Galiba, 2000; Khan et al., 2000; Hoque et al., 2007; Ashraf and Foolad, 2007). محل

1- Compatible osmolytes
2- Polyol

ساخت و تجمع این اسمولیت‌ها در گیاهان مختلف، متفاوت است. بعنوان مثال، ماده بتا آلانین بتائین[1] با ساختار آمونیوم چهار واحدی[2] فقط در گونه‌های خاصی از گیاهان تیره بهمنیان[3] تجمع می‌کند، اما اسید آمینه پرولین در بسیاری از گیاهان که از نظر رده‌بندی گیاهی متفاوت هستند، ساخته می‌شود (Ashraf and Foolad, 2007).

گیاهانی که به شدت متحمل به نمک هستند در مقادیر بالا گلیسین بتائین را جمع می‌کنند. گونه‌های متحمل در حد متوسط و گونه‌های حساس، گلیسین بتائین ندارند (Mansour, 2000). گزارش شده است که فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدان در شرایط شور در پنبه‌های متحمل به شوری افزایش می‌یابد (Meloni et al., 2003). هنگام تنش، گونه‌های اکسیژن فعال مانند رادیکال‌های سوپر اکسید، پراکسید هیدروژن ورادیکال هیدروکسیل ایجاد می‌گردند که باعث خسارت اکسیداتیو به لیپیدهای غشاء، پروتئین‌ها و اسیدهای نوکلئیک می‌شوند (Mittler, 2002; Masood et al., 2006).

مقابله با خسارت اکسیداتیو، باعث افزایش مقاومت گیاه به شوری می‌شود. گیاهان با استفاده از آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان، گونه‌های اکسیژن فعال را جاروب می‌نمایند (Roxas et al., 1997). کاتالاز آنزیمی آنتی اکسیدان است که در تنش‌های شدید از سلول‌ها در مقابل پر اکسید هیدروژن تولید شده محافظت می‌نماید (Meloni et al.,, 2003). محل آنزیم پراکسیداز در سیتوپلاسم، کلروپلاست و میتوکندری است و در واکوئل و فضای آپوپلاستی سلول‌های برگ، در غلظت‌های بالا وجود دارد. در کلروپلاست‌ها، این آنزیم به صورت محلول و پیوند با تیلاکوئید قرار دارد و گونه‌های اکسیژن فعال را به مونو و دی هیدروکسی فنولیک تبدیل می‌کند (Roxas et al., 1997).

در این تحقیق، فعالیت و مقدار اسمولیت‌های گیاهی در هفت ژنوتیپ پنبه در یک خاک شور مورد مقایسه قرار گرفت.

## مواد و روش‌ها

در یک آزمایش مزرعه‌ای، تحمل به شوری ژنوتیپ‌های پنبه به اسامی ساحل، چوکوروا[4]، سیلند، اوپال[5]، ۴۳۲۰۰، سپید و شیرپان۵۳۹ در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی در سه تکرار مورد بررسی و مقایسه قرار گرفت. قبل از کاشت، تجزیه خاک انجام و توصیه کودی بر اساس نتایج آن انجام گرفت. EC خاک مزرعه در زمان کاشت ۱۴/۸ دسی زیمنس بر متر بود. بعد از آماده‌سازی زمین، هر ژنوتیپ در کرت‌هایی به طول ۴ متر و در ۶ ردیف کشت شد. فاصله بین ردیف‌ها ۸۰ و فاصله بین بوته‌ها در روی هر ردیف نیز ۲۰ سانتی‌متر بود. عملیات زراعی کاشت و داشت محصول براساس نظر کارشناسی انجام گردید. آبیاری با آب سد وشمگیر انجام شد که شوری آن از در طول فصل بین ۲/۵ تا ۳ دسی‌زیمنس بر متر متغیر بود. کلیه سنجش‌ها از برگ‌های پنجم و ششم بوته‌های ۳۰ روزه انجام شد. فعالیت آنزیم پراکسیداز به روش Weston (1989)، آنزیم کاتالاز به روش Chance and Maehly (1995)، آنزیم پلی فنل اکسیداز به روش Monolangan and Dinabandha (1975) و اسمولیت‌های پرولین و گلیسین بتائین به روش Sairam and Srivastava (2002) اندازه‌گیری گردید. محاسبات آماری داده‌ها و مقایسه میانگین‌ها به روش آزمون چند دامنه‌ای دانکن با استفاده از نرم‌افزار MSTAT انجام شد.

## نتایج و بحث

بر اساس نتایج تجزیه واریانس داده‌ها، فعالیت آنزیم‌های کاتالاز، پراکسیداز و پلی فنل اکسیداز و مقادیر پرولین و گلیسین بتائین در ژنوتیپ‌های مختلف پنبه از نظر آماری در سطح ۱ درصد معنی‌داری بود.

مقایسه میانگین ژنوتیپ‌های پنبه نشان داد که در ژنوتیپ‌های شیرپان، سپید و سیلند و ساحل، فعالیت آنزیم کاتالاز به طور معنی‌داری بیشتر از ژنوتیپ ۴۳۲۰۰ است. مقایسه فعالیت آنزیم پراکسیداز در بین ژنوتیپ‌ها نشان داد که ژنوتیپ اوپال بیشترین فعالیت پراکسیداز را دارد. در بین ژنوتیپ‌ها، چوکوروا نیز دارای کمترین فعالیت پراکسیدازی بود (جدول ۱). در شرایط شور، جهت مقابله با خسارت اکسیداتیو فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان افزایش یافته و باعث افزایش تحمل گیاه نسبت

1- Beta alanine betaine
2- quaternary ammonium compound
3- *Plumbaginaceae*
4- Cukurova
5- Opal

به تنش شوری می‌شود (Roxas et al., 1997). گزارش شده است که فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان در شرایط شور در پنبه‌های متحمل به شوری افزایش می‌یابد (Meloni et al., 2003). Gosset و همکاران (1994) مشاهده کردند که در شرایط شور، فعالیت آنزیم‌های کاتالاز و پراکسیداز در گیاه پنبه افزایش می‌یابند. Sairam and Srivastava (2002) نیز اعلام نمودند که در نتیجه افزایش شوری تا غلظت ۱۰۰ میلی‌مول، آنزیم‌های کاتالاز و پراکسیداز بیشتر می‌شود. افزایش فعالیت کاتالازی ممکن است به علت افزایش سطح mRNA این آنزیم در اثر شوری باشد. کاتالاز دارای یک ژن بیان‌کننده در بافت‌های در حال پیر شدن است که در اثر شوری این ژن القا شده و احتمالاً بنظر می‌رسد که این تیمار با فعال کردن مسیرهای بیوشیمیایی این فرآیند، باعث پیر شدن سلول می‌شود (Hernandez et al., 1999).

مقایسه فعالیت آنزیم پلی فنل اکسیداز نشان داد که بیشترین فعالیت آن در ژنوتیپ سپید است. ژنوتیپ اوپال نیز کمترین فعالیت را نشان داد (جدول ۱). Sairam and Srivastava (2002) افزایش فعالیت آنزیم‌های کاتالاز و پلی فنل اکسیداز را در ژنوتیپ‌ها مقاوم گندم گزارش نمودند. Roxas و همکاران (1997) افزایش پلی فنل اکسیداز را در شرایط شور مشاهده کردند.

ژنوتیپ‌های اوپال و ۴۳۲۰۰ بیشترین مقدار پرولین را نشان داده و اختلاف آنها نسبت به سایر ژنوتیپ‌های پنبه از نظر آماری معنی‌دار بود. اختلاف مقدار پلی فنل اکسیداز این ژنوتیپ نسبت به چوکوروا، اوپال، شیرپان۵۳۹ و ساحل از نظر آماری معنی دار بود (جدول ۱). سنتز پرولین تحت تنش‌های محیطی مانند خشکی، شوری، دمای بالا، یخزدگی، تابش اشعه ماوراء بنفش، آلودگی هوا و فلزات سنگین افزایش می‌یابد (Ahmad et al., 2002). پرولین در بسیاری از گیاهان به عنوان مارکر بیوشیمیایی مناسب برای تشخیص تحمل به تنش شوری مورد استفاده قرار می‌گیرد. بنابراین، از میزان پرولین گیاه می‌توان به عنوان صفتی جهت شناسایی رقم‌ها و گونه‌های متحمل استفاده نمود (Skubatz et al., 1989). گزارش شده است که در شرایط شور، پرولین در گیاه پنبه افزایش می‌یابد (Kozlowski, 1997).

**جدول ۱- مقایسه میانگین فعالیت کاتالاز، پراکسیداز، پلی فنل اکسیداز و مقدار پرولین و گلیسین بتائین درژنوتیپ‌ها پنبه**

| ژنوتیپ‌ها | کاتالاز (جذب دردقیقه برگرم وزن تر برگ) | پراکسیداز (جذب دردقیقه برگرم وزن تر برگ) | پلی فنل اکسیداز (جذب دردقیقه برگرم وزن تر برگ) | پرولین (میکروگرم بر گرم وزن تر برگ) | گلیسین بتائین (میکروگرم بر گرم وزن خشک برگ ) |
|---|---|---|---|---|---|
| چوکوروا | ۲/۶۳۷ ab | ۰/۳۱۶۷ e | ۰/۵۹۳۳ c | ۲۷۴/۵ d | ۵۰۲۷ c |
| اوپال | ۲/۷۰۲ ab | ۰/۹۹۳۳ a | ۰/۵۹۵۰ c | ۳۵۹/۲ a | ۵۰۳۷ c |
| شیرپان۵۳۹ | ۲/۷۴۰ a | ۰/۶۵۳۳ b | ۰/۶۲۶۷ bc | ۳۳۶/۱ b | ۴۷۹۶ d |
| ۴۳۲۰۰ | ۲/۶۲۳ b | ۰/۵۹۵۰ c | ۰/۷۶۰۰ abc | ۳۶۰/۴ a | ۵۲۷۵ b |
| سیلند | ۲/۷۲۸ a | ۰/۴۱۱۷ d | ۰/۸۱۸۳ ab | ۳۲۵/۸ b | ۵۰۸۶ c |
| ساحل | ۲/۷۴۲ a | ۰/۴۲۰۰ d | ۰/۶۴۶۷ bc | ۳۰۷/۴ c | ۵۲۷۱ b |
| سپید | ۲/۷۳۷ a | ۰/۶۱۳۳ bc | ۰/۸۵۶۷ a | ۲۸۸/۶ d | ۵۳۹۱a |

- حروف مشابه در هر ستون نشان دهنده عدم وجود اختلاف معنی‌دار بین داده‌ها به احتمال ۵ درصد می‌باشد.

بر اساس نتایج مقایسه میانگین داده‌ها، ژنوتیپ سپید بیشترین مقدارگلیسین بتائین را داشت. در این صفت، ژنوتیپ ۴۳۲۰۰ در پایین‌ترین گروه قرار آماری گرفت (جدول ۱). گلیسین بتائین در حفظ و تنظیم اسمزی در یوکاریوت‌های گیاهی (لارهر، ۱۹۹۶)، حفظ غشاء پلاسمایی و ساختمان چهارم پروتئین‌هاو افزایش تحمل سیستم فتوسنتزی تاثیرگذار است (Atoshi and Murata, 2001). این ماده از طریق افزایش تجمع کلروفیل‌ها (Hayashi et al., 1977)، تسهیل انتقال الکترون (Atoshi and Murata, 2001)، محافظت از فعالیت پروتئین افزایش جذب $CO_2$ و چربی غشاء تیلاکوئیدی در فتوسیستم II، حفاظت از سیستم‌های نسخه‌برداری، کاهش دمای ذوب DNA، مضاعف شدن و تسهیل همانندسازی، نقش اساسی ایفا می‌کند. همچنین، گلیسین بتائین را می‌توان به عنوان یکی از عوامل افزایش تحمل فیزیولوژیک در برابر شوری خاک در مراحل اولیه جوانه‌زنی دانست (Pessarakli, 2011).

**منابع**

Ahmad S., Khan N.I., Iqbal M.Z., Hussain, A. and Hassan M. 2002. Salt tolerance of cotton (*Gossypium hirsutum* L.). Asian Journal of Plant Science, 6:715-719.

Ashraf M. and Foolad M.R. 2007. Role of glycine betaine and proline in improving plant abiotic stress resistance. Environmental and Experimental Botany, 59: 206-216.

Atoshi S. and Murata N. 2001. The use of bacterial choline oxidase a glycine betaine synthesizing enzyme to create stress-resistant transgenic plants. Plant Physiology, 125: 180-188.

Azhar F.M. and McNeilly T. 2001. Compartmentation of Na+ and Cl- ions in different parts of *Sorghum bicolor* (L.) moench during plant development. Pakistan Journal of Botany, 33(1): 101-107.

Chance B. and C. Maehly. 1995. Assay of catalase and peroxidase. Methods in Enzymology, 11: 764-775.

DeRidder B.P. and Salvucci M. 2007. Modulation of Rubisco activase gene expression during heat stress in cotton (*Gossyoium hirsutum* L.) involves post-transcriptional mechanisms. Plant Science, 172: 246-252

Gosset D. R., Millhollon E.P. and Lucas C. 1994. Antioxidant response to NaCl stress in salt-tolerant and salt-sensitive cultivars of cotton. Crop Science, 34: 706-714.

Hasegawa P.M., Bressan R.A., Zhu J.K. and Bohnert H.J. 2000. Plant cellular and molecular responses to high salinity. Annual Review of Plant Physiology *and* Plant Molecular Biology, 51: 463-499.

Hayashi H., Alia M.L., Deshnium P., Ida M. and Murata N. 1977. Transformation of arabidopsin thalina with the cod A gene for choine oxidase, accumulation of glycine betaine and enhanced tolerance to salt and cold stress. Plant Science, 12: 133-142.

Hermandez J. A., Campilio A., Jimenez J., Alarcon J. and Sevilla F. 1999. Response of antioxidant systems and leaf water relations to NaCl stress in pea plants. New Phytology, 141, 214-251.

Hoque M.A., Banu M.N., Okuma E., Amako K., Nakamura Y., Shimoishi Y. and Murata Y. 2007. Exogenous proline and glycinebetaine increase NaCl-induced ascorbate-glutathione cycle enzyme activities, and proline improves salt tolerance more than glycinebetaine in tobacco Bright Yellow-2 suspension-cultured cells. Journal of Plant Physiology, 164(11): 1457-1468.

Jamil M., Lee C.C., Rehman S.U., Lee D.B., Ashraf M. and Rha E.S. 2005. Salinity (NaCl) tolerance of Brassica species at germination and early seedling growth. Electronic Journal of Environmental, Agricultural and Food Chemistry, 4: 970-976.

Kerepesi I. and Galiba G. 2000. Osmotic and salt stress-induced alteration in soluble carbohydrate content in wheat seedlings. Crop Science, 40(2): 482-487.

Khan M.A., Ungar I.A. and Showalter A.M. 2000. Effects of sodium chloride treatments on growth and ion accumulation of the halophyte haloxylon recurvum. Communications in Soil Science and Plant Analysis, 31(17-18): 2763-2774.

Kozlowski T.T. 1997. Response of woody plants to flooding and salinity. Tree Physiology Monograph, 1: 1-29.

Mansour M.M.F. 2000. Nitrogen containing compounds and adaptation of plants to salinity stress. Biology of Plants, 43: 491-500.

Masood A., Shah N.A., Zeeshan M. and Abraham G. 2006. Differential response of antioxidant enzymes to salinity stress in two varieties of Azolla (*Azolla pinnata* and *Azolla tilieuloides*). Environmental and Experimental Botany, 58: 216-222.

Meloni D.A., Oliva M.A., Martinez C.A. and Cambraia J. 2003. Photosynthesis and activity of superoxide dismutase, peroxidase and glutathione reductase in cotton under saltstress. Environmental and Experimental Botany, 49: 69-76.

Mittler R. 2002. Oxidative stress, antioxidants and stress tolerance. Trends in Plant Science, 7: 405-410.

Monolangan X. and Dinabandha A. 1975. Roleofantioxidantinsalt tolerance. Plant Physiology, 47: 211-214.

Niu G., Rodriguez D., Dever J. and Zhang J. 2013. Growth and physiological responses of five cotton genotypes to sodium chloride and sodium sulfate saline water irrigation. Journal of Cotton Science, 17:233–244.

Niu G., Rodriguez D., Dever J. and Zhang J. 2013. Growth and physiological responses of five cotton genotypes to sodium chloride and sodium sulfate saline water irrigation. Journal of Cotton Science, 17: 233–244.

Pessarakli M. Handbook of Plant and Crop Stress, 2nd edn. 2011. CRC Press, FL. USA. 1245 p.

Roxas V.P., Smith R.K., Allen E.R. and Allen R.D. 1997. Overexpression ofglutathione S-transferase/ glutathione peroxidase enhances the growth of transgenic tobacco seedlings during stress. Nature Biotechnology, 15: 988-991.

Sairam R.K. and Srivastava G.C. 2002. Changes in antioxidant activity in sub-cellular fractions of tolerant and suceptible wheat genotypes to long term salt stress. Plant Science, 162: 897-804.

Skubatz H., Meeuse B.J.D. and Bendich A.J. 1989. Oxidant of proline and glautamate by mitochondria the influrescence of voodoo lily (*Sauratum guttatum*). Plant Physiology, 91: 530-532.

Sotiropoulos T.F. 2007. Effect of NaCl and $CaCl_2$ on growth and contents of minerals, chlorophyll, proline and sugars in the apple rootstock M4 cultured in vitro. Biologia Plantarum, 51: 177-180

Weston A. 1989. Salt stress and antioxidant. Plant Physiology, 84:415-435.

**Comparing activity and amount of some enzymes and compatible osmolytes among various cotton genotypes in a saline soil**

G. Roshani[1], S.J. Mirghasemi[2] and A. Gharanjiki[1]
[1 and 2]Scintific Staff Members and Researccher, Cotton Research Institute of Iran, AREEO, Gorgan, Iran, respectively

**Abstract**

A field study was conducted to study effect of soil salinity on activity of three enzymes and amount of two compatible osmolytes among seven cotton genotypes. Leaves the fifth and sixth of 30-old plants were used to measure the parameter. Results showed that activity of catalase, peroxidase and polyphenol oxidase and amount of proline and glycine betaine were significantly different among genotypes. The highest catalase activity was measured in genotypes Shirpan539, Sepid, Sealand and Sahel. Genotypes Opal and Sepid showed the greatest peroxidase and polyphenol oxidase activity, respectively. The latter genotype had the most glycine betaine amount, too. The greatest proline amount was measured in genotypes Opal and 43200, whereas the latter genotype had the lowest catalase activity. Genotype Cukurova showed the least peroxidase and polyphenol oxidase activity and the lowest proline amount. The least glycine betaine amount was measured in genotype Shirpan539.

**Keywords:** Compatible osmolytes, Enzyme, Cotton, Salinity