Archive of SID

تنشهای محیطی در علوم زراعی
Environmental Stresses in Crop Sciences
جلد دهم، شماره دوم، تابستان ۱۳۹۶
۲۰۱-۱۹۳
http://dx.doi.org/10.22077/escs.1396.576

بررسی اثر سطوح مختلف کم‌آبیاری بر ویژگی‌های بیوشیمیایی و عملکرد ماش (*Vigna radiate* L.)

شمس‌الدین اسکندرنژاد[۱]، منوچهر قلی‌پور[۲*]، حسن مکاریان[۲]
۱. دانشجوی دکتری رشته زراعت گرایش اکولوژی دانشگاه شاهرود.
۲. دانشیار دانشکده کشاورزی دانشگاه شاهرود.

تاریخ دریافت: ۹۴/۱۰/۲۸؛ تاریخ پذیرش: ۹۵/۰۴/۱۲

چکیده

به‌منظور برر سی عکس‌العمل برخی صفات ماش به شرایط کم‌آبیاری و همچنین مطالعه مقایسه‌ای سه آنزیم آنتی‌اکسیدان گایاکول پروکسیداز، سوپراکسید دیسموتاز و کاتالاز از لحاظ میزان فعالیت در سطوح مختلف کم‌آبیاری، آزمایش گلدانی در شرایط مزرعه اجرا گردید. این طرح در قالب طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار انجام شد و تیمارها شامل آبیاری به هنگام ۸۰ (شاهد)، ۶۵، ۵۰ و ۳۵ درصد ظرفیت زراعی خاک بود. برای سنجش میزان حساسیت صفات به کم‌آبیاری، از شاخص آماری نرخ تأثیرپذیری استفاده گردید. نتایج نشان داد که اثر کم‌آبیاری بر صفات مورد برر سی معنی‌دار بود. عملکرد دانه و ارتفاع بوته بیشترین حسا سیت به کم‌آبیاری را نشان دادند. تعداد دانه در غلاف، تعداد غلاف در بوته و عملکرد بیولوژیکی با قرار گرفتن در یک گروه آماری، رده دوم حساسیت را به خود اختصاص دادند. طول غلاف به لحاظ دارا بودن کمترین مقدار این شاخص، مقاوم‌ترین صفت شناخته شد. فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز تنها در کم‌آبیاری متوسط افزایش یافت. این در حالی است که فعالیت کاتالاز فقط در کم‌آبیاری شدید بیشتر گردید. در کم‌آبیاری ضعیف، فعالیت آنزیم گایاکول پروکسیداز همانند شاهد بود. ولی با افزایش شدت کم‌آبیاری، فعالیت آن‌هم به‌طور متناسب بالاتر رفت. با توجه ارتباط تنگاتنگ فعالیت آنزیم گایاکول پروکسیداز با آب در دسترس گیاه، ممکن است دست‌کاری ژنتیکی ماش برای فعالیت بالاتر این آنزیم باعث افزایش مقاومت به کم‌آبی گردد.

واژه‌های کلیدی: **پروکسیداز، حبوبات، حساسیت، خشکی، دیسموتاز، کاتالاز.**

مقدمه

کم‌آبیاری یکی از شایع‌ترین تنش‌های غیرزنده به شمار رفته و سبب کاهش فتوسنتز گیاه می‌شود. یکی از دلایل این کاهش، عدم تعادل بین جذب و استفاده از نور در گیاه تحت تنش است (Foyer and Noctor, 2000). کاهش فعالیت فتوسیستم II (تغییرات بیوشیمیایی) در اثر کم‌آبیاری، منجر به عدم تعادل بین تولید و استفاده از الکترون‌ها و نهایتاً تغییر عملکرد کوانتومی الکترون می‌گردد. نتیجه این امر، بروز اتلاف انرژی خورشیدی در فتوسیستم II می‌باشد (Peltzer et al., 2002). تغییر در انتقال الکترون فتوسنتزی گیاه در شرایط کم‌آبیاری از عوامل تشکیل گونه‌های فعال اکسیژن (رادیکال‌های آزاد) ازجمله پروکسید هیدروژن (H_2O_2)، سوپراکسید ($O_2^{\cdot-}$) و هیدروکسیل ($OH^{\cdot}$) به شمار می‌رود. این فرایند به آن علت است که اکسیژن در سایت پذیرنده[۱] فتوسیستم I با NADP برای احیا رقابت می‌نماید. هورمون ABA نیز از عواملی است که نقش عمده‌ای در تشکیل رادیکال‌های آزاد به عهده دارد. این هورمون گیاهی با تحریک بسته شدن روزنه‌ها باعث تقلیل اتلاف آب، کاهش تثبیت CO_2 و کم شدن احیای NADP+ در سیکل کلوین می‌شود.

[1]. Acceptor side

* نگارنده پاسخگو: منوچهر قلی‌پور. پست الکترونیک: manouchehr.gholipoor@gmail.com.

www.SID.ir

Archive of SID

این اثرات کاهشی به‌واسطه تغییر اختصاص الکترون به مولکول اکسیژن، منجر به افزایش تشکیل رادیکال‌های آزاد می‌گردد (Arora et al., 2002).

رادیکال‌های آزاد عمدتاً در کلروپلاست، میتوکندری و پروکسیزوم‌ها تولید می‌شوند. به‌عنوان نمونه، در فرایند تنفس نوری هنگامی‌که گلیکولات توسط آنزیم گلیکولات اکسیداز به گلی اکسیلیک اسید اکسید می‌گردد، H_2O_2 در پروکسیزوم‌ها تولید می‌شود (Noctor et al., 2002). باید توجه داشت که رادیکال‌های آزاد در غلظت‌های پایین (شرایط بدون تنش)، به‌عنوان مولکول سیگنال عمل نموده و در فرایندهای بیان ژن و متابولیسم سلول، به‌طور مثبت مشارکت می‌کنند. این در حالی است که با افزایش غلظت آن‌ها، تأثیر تخریبی و مضر بر سلول به‌جا گذاشته می‌شود؛ زیرا در این شرایط، اکسید شدن پروتئین‌ها، رنگ‌دانه‌های فتوسنتزی، اسیدهای چرب و اسیدهای نوکلوئیک رخ‌داده و کلروز و نکروز شدن بافت گیاه بروز می‌نماید (Villalobos et al., 2004). این تأثیر دوسویه مثبت و منفی رادیکال‌های آزاد باعث شده است که توجه زیادی به آن‌ها معطوف گردد (Noctor et al., 2002).

گیاه برای کنترل سطح رادیکال‌های آزاد و محافظت سلول‌ها از آسیب‌های اکسیداتیو، از سیستم‌های آنزیمی و غیر آنزیمی برخوردار می‌باشد. آنتی‌اکسیدان‌های غیر آنزیمی شامل بتاکاروتن، آسکوربیک اسید، آلفا توکوفرول و گلوتاتیون احیاشده هستند. آنتی‌اکسیدان‌های آنزیمی را گایاکول پراکسیداز[1]، آسکوربات پراکسیداز، کاتالاز، پلی‌فنل اکسیداز و گلوتاتیون ردوکتاز تشکیل می‌دهند (Xu et al., 2008). سوپراکسید دیسموتاز اولین عامل دفاع آنزیمی گیاه در مقابل رادیکال‌های آزاد به شمار می‌آید که تبدیل H_2O_2 به آب و O_2 را کاتالیز می‌نماید (Gratao et al., 2005). سوپراکسید دیسموتاز پروتئینی است که سایت فعال آن ممکن است مس و روی (هر دو)، منگنز یا آهن و نیکل را مورداستفاده قرار دهد. بر همین اساس، این آنزیم دارای سه فرم Cu/Zn، Fe—Mn و Ni است. کاتالاز یک تترامر زنجیره چهارتایی پلی‌پپتید است که هر زنجیره آن بیش از ۵۰۰ اسیدآمینه را شامل می‌گردد. اسیدیته مطلوب برای فعالیت آن بسته به گونه گیاهی بین چهار تا ۱۱ می‌باشد. دمای مطلوب آن نیز بسته به گونه گیاهی فرق می‌کند (Xu et al., 2008).

نتایج بررسی‌های منتشرشده در خصوص گیاهانی مانند برنج (Guo et al., 2006)، ارزن دم‌روباهی (Sreenivasulu et al., 2000)، گوجه‌فرنگی (Mittova et al., 2000)، چغندرقند (Bor et al., 2003)، گندم (Khanna-Chopra and Selote, 2007) و جو (Acar et al., 2001) حاکی از وجود رابطه معنی‌داری بین فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان و مقاومت به تنش است. برخلاف غلات و سایر گیاهان، گزارش منتشرشده‌ای در خصوص واکنش بیوشیمیایی ماش به کم‌آبیاری در دست نیست. هدف از این آزمایش، بررسی میزان حساسیت برخی از صفات ماش به کم‌آبیاری و همچنین مطالعه مقایسه‌ای سه آنزیم آنتی‌اکسیدان گایاکول پراکسیداز، سوپراکسید دیسموتاز و کاتالاز از لحاظ میزان فعالیت در سطوح مختلف کم‌آبیاری بود.

مواد و روش‌ها

ابتدا برای حصول اطمینان از کیفیت زراعی بذر ماش، آزمایش جوانه‌زنی در آزمایشگاه تکنولوژی بذر دانشگاه صنعتی شاهرود اجرا گردید. گنجایش گلدان‌ها (۳۰×۲۰ سانتی‌متر)، ۵ کیلوگرم خاک بود که در هرکدام، ۵ عدد بذر رقم VC1973a کشت شد. تنک کردن در مرحله ۴ برگی و با حذف ۲ گیاه انجام شد. پس از محاسبه ظرفیت زراعی[2] (FC) خاک با استفاده از روش کلوت (Klute, 1986)، چهار سطح کم‌آبیاری با سه تکرار شامل شاهد (۸۰٪)، ۶۵٪، ۵۰٪ و ۳۵٪ ظرفیت زراعی اعمال گردید. درروش کلوت (Klute, 1986)، میزان محاسبه ظرفیت زراعی مبتنی بر تغییرات وزن خاک می‌باشد. بعد از رسیدگی گیاه، صفات طول غلاف، ارتفاع بوته، تعداد دانه در غلاف، تعداد غلاف در بوته، عملکرد دانه و عملکرد بیولوژیکی اندازه‌گیری شدند.

به‌منظور اندازه‌گیری فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان، در زمان گلدهی نسبت به برداشت نمونه مرکب از کل برگ‌های گیاه اقدام گردید. یک گرم از برگ در ازت مایع به‌خوبی سائیده و به‌صورت پودر درآورده شد. سپس مقدار سه میلی-لیتر بافر فسفات پتاسیم ۱۰۰ میلی‌مولار با اسیدیته ۶/۸ که حاوی EDTA[3] ۰/۱ میلی‌مولار بود به آن اضافه و سائیده شد. جهت جلوگیری از افزایش دمای نمونه‌ها، تمام مراحل استخراج بر روی یخ انجام گرفت. عصاره حاصل به مدت ۱۵ دقیقه با سرعت $16000g$ و دمای چهار درجه سانتی‌گراد

[1]. Guaiacol peroxidase
[2]. Field capacity
[3]. Ethylene Dinitrilo Tetra Acetic Acid Disodium Salt Dihydrate

www.SID.ir

Archive of SID

سانتریفوژ شده و از محلول شفاف رویی برای سنجش فعالیت آنزیم استفاده گردید (Cavalcanti et al., 2004).

برای اندازه‌گیری فعالیت آنزیم کاتالاز، ابتدا محلول حاوی بافر فسفات پتاسیم ۵۰ میلی‌مولار با اسیدیته هفت و H_2O_2 ۲۰ میلی‌مولار تهیه گردید. سپس ۵۰ میکرو لیتر از عصاره آنزیم به سه میلی‌لیتر از محلول فوق اضافه شد. درنهایت با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر، در ۲۴۰ نانومتر میزان جذب اندازه‌گیری و ثبت شد (Havir and McHale, 1987). با توجه به ضریب جذب مولی H_2O_2 که برابر با ۰/۰۳۶ $mM^{-1}cm^{-1}$ است، فعالیت آنزیم محاسبه گردید و به‌صورت میکرو مول H_2O_2 اکسیدشده بر گرم وزن تر بر دقیقه بیان گردید. بر طبق تعریف، یک واحد کاتالاز مقدار آنزیمی است که موجب تجزیه یک میکرو مول H_2O_2 در مدت یک دقیقه در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد می‌شود. برای شاهد، میزان کاهش جذب برای شرایط عدم وجود H_2O_2 و پروتئین در محلول مدنظر قرار گرفته شد.

اندازه‌گیری میزان فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز به روش وان‌روسان و همکاران (Van Rossun et al., 1997) و با استفاده از اسپکتروفتومتر انجام شد. در این روش، پس از تهیه عصاره‌های آنزیمی به میزان ۵۰ میکرو لیتر، فعالیت آنزیم با اندازه‌گیری میزان ممانعت از انجام واکنش احیایی فتوشیمیایی نیتروبلوتترازولیوم تعیین می‌گردد. محلول واکنش برای سنجش فعالیت آنزیم شامل ۱۳ میلی‌مول متیونین، ۷۵ میکرو مول نیتروبلوتترازولیوم کلراید، ۱۰۰ میکرو مول EDTA و ۲ میکرو مول ریبوفلاوین به همراه ۵۰ میلی‌مول بافر فسفات پتاسیم با pH ۷/۵ بود. نمونه‌ها (دارای عصاره آنزیمی) در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد زیر لامپ فلوئورسنت (۳۰ وات) با فاصله ۲۰ سانتی‌متر قرار داده شدند. پس از ۵ دقیقه، نمونه‌ها به تاریکی منتقل گردیدند و با دستگاه اسپکتروفتومتر، جذب نمونه‌ها در ۵۶۰ نانومتر اندازه‌گیری شد. در اصل، اختلاف جذب نمونه‌های دارای عصاره آنزیمی و شاهد (نمونه‌های فاقد عصاره آنزیمی) نشان‌دهنده ممانعت واکنش تشکیل ماده رنگی فورماران توسط آنزیم می‌باشد. طبق تعریف، یک واحد فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز مقدار فعالیت آنزیمی است که باعث ۵۰٪ ممانعت از احیای نیتروبلوتترازولیوم به فرمازان می‌شود. این روش بر اساس تبدیل نیتروبلوتترازولیوم به فرمازان در حضور نور و ظهور رنگ است. درصورتی‌که در محیط واکنش آنزیم سوپراکسید دیسموتاز وجود داشته باشد، از انجام این واکنش ممانعت به‌عمل‌آمده و میزان تشکیل ماده رنگی و ظهور آن را کاهش می‌یابد. فعالیت آنزیم به‌صورت واحد فعالیت آنزیم (AU) بر گرم وزن تر بر دقیقه بیان گردید.

برای اندازه‌گیری فعالیت آنزیم گایاکول پروکسیداز، ۲۵ میکرو لیتر از محلول آنزیم استخراج‌شده از برگ مورداستفاده قرار گرفت و به محلولی شامل ۵۰ میلی مول بافر فسفات پتاسیم با pH ۶/۸، ۲۰ میلی‌مول گایاکول و ۲۰ میلی مول H_2O_2 اضافه گردید. بعد از انکوباسیون در دمای ۳۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱۰ دقیقه، با افزودن ۰/۵ میلی‌لیتر H_2SO_4 ۵٪ (v/v) واکنش متوقف شد و جذب در ۴۸۰ نانومتر قرائت گردید (Cavalcanti et al., 2004). یک واحد گایاکول پروکسیداز به‌صورت تغییر یک واحد جذب در یک میلی‌لیتر آنزیم استخراج‌شده تعیین گردید و به‌صورت واحد فعالیت آنزیم (AU) بر گرم وزن تر بر دقیقه بیان شد.

به‌منظور اندازه‌گیری شدت حساسیت صفات به کم‌آبیاری، از شاخص نرخ تأثیرپذیری (E) استفاده گردید که رابطه آن به شرح زیر است (Gelman and Hill, 2007):

$$E = \frac{\sum_{i=1}^{n}(X_i Y_i) - \frac{\sum_{i=1}^{n} X_i \sum_{i=1}^{n} Y_i}{n}}{\sum_{i=1}^{n}(X_i)^2 - \frac{(\sum_{i=1}^{n} X_i)^2}{n}} \qquad [۱]$$

که در آن X متغیر مستقل و Y متغیر وابسته می‌باشد. مقیاس این شاخص عبارت است از واحد صفت نسبت به واحد کم‌آبیاری. در گزارش‌ها، معمولاً مقیاس آن را گزارش نمی‌کنند. برای مقایسه صفات مختلف با یکدیگر ازلحاظ نرخ تأثیرپذیری، لازم است که انحراف استاندارد (S) این شاخص محاسبه گردد که رابطه آن به شرح زیر می‌باشد:

$$S = \sqrt{\frac{\sum_{i=1}^{n}\left(Y_i - \frac{\sum_{i=1}^{n} Y_i}{n}\right)}{\sum_{i=1}^{n}\left(X_i - \frac{\sum_{i=1}^{n} X_i}{n}\right)} - \left(\frac{\sum_{i=1}^{n}(X_i Y_i) - \frac{\sum_{i=1}^{n} X_i \sum_{i=1}^{n} Y_i}{n}}{\sum_{i=1}^{n}(X_i)^2 - \frac{(\sum_{i=1}^{n} X_i)^2}{n}}\right)^2}{n-2}} \qquad [۲]$$

برای آزمون معنی‌دار بودن تک‌تک شاخص‌ها، از T-test استفاده گردید که با استفاده از نسبت زیر محاسبه می‌شود:

$$T = \frac{E}{S} \qquad [۳]$$

درجه آزادی این آزمون برابر با n-2 می‌باشد.

www.SID.ir

Archive of SID

نتایج و بحث

نتایج حاصل از تجزیه واریانس نشان داد که کلیه صفات مورد مطالعه، به‌طور معنی‌داری تحت تأثیر کم‌آبیاری قرار گرفتند (نتایج ارائه نشده). میانگین صفات موردبررسی شامل طول غلاف، ارتفاع بوته، تعداد دانه در غلاف، تعداد غلاف در بوته، عملکرد بیولوژیکی و دانه در شکل ۱ آورده شده است. شاخص نرخ تأثیرپذیری این صفات در جدول ۱ ارائه شده است. با افزایش شدت کم‌آبیاری، یک روند کاهشی در طول غلاف دانه دیده شد. این روند به‌صورتی است که تفاوت هر میانگین نسبت به میانگین مجاور خود ازلحاظ آماری، معنی‌دار نیست. به‌عنوان نمونه، طول غلاف به‌دست‌آمده در شرایط ظرفیت زراعی ۶۵٪ ازلحاظ آماری مشابه شاهد و ظرفیت زراعی ۵۰٪ است. بر همین اساس، کمیت نرخ تأثیرپذیری این صفت خیلی کم بود.

تغییر در ارتفاع بوته بر اثر کم‌آبیاری، در برخی جنبه‌ها متفاوت از تغییر در طول غلاف بود. در ظرفیت زراعی ۶۵٪، این صفت از نظر آماری تحت تأثیر قرار نگرفت و مشابه شرایط شاهد شد. ولی در ظرفیت‌های زراعی پایین‌تر، کاهش معنی‌داری نشان داد. بر اساس نتایج این بررسی، روند کوتاه‌تر شدن ارتفاع بوته در شدت‌های بالای کم‌آبیاری سریع‌تر است، زیرا درصد کاهش ارتفاع در ظرفیت زراعی ۵۰٪ نسبت به ظرفیت زراعی ۶۵٪، حدود ۹٪ به دست آمد. این در حالی است که درصد کاهش ارتفاع در ظرفیت زراعی ۳۵٪ نسبت به ظرفیت زراعی ۵۰٪ برابر با ۱۲٪ بود. در مقایسه با کلیه صفات مندرج در جدول ۱، ارتفاع بوته بالاترین نرخ تأثیرپذیری از کم‌آبیاری (۰/۱۳۳۳۳۳) را به خود اختصاص داد؛ بنابراین ارتفاع بوته در ماش، از صفات بسیار حساس به کم‌آبیاری به شمار می‌رود. تنش خشکی با اختلال در فرایندهای فتوسنتزی و کاهش تولید مواد پرورده جهت ارائه به بخش‌های در حال رشد، مانع از دستیابی به پتانسیل کامل گیاه می‌گردد. با اعمال کم‌آبیاری بین بخش‌های هوایی (ساقه) و زمینی (ریشه) جهت کسب مواد غذایی رقابت صورت می‌گیرد و در این رقابت، سهم بیشتری از مواد فتوسنتزی به ریشه اختصاص یافته (Hirt and Shinozaki, 2004) و درنتیجه مواد فتوسنتزی کمتری به ساقه که ازجمله بخش‌های هوایی گیاه می‌باشد، تخصیص داده می‌شود که درنتیجه آن، ممکن است کاهش ارتفاع بوته رخ دهد.

جدول ۱- کمیت شاخص نرخ تأثیرپذیری و آماره‌های مرتبط با آن برای برخی صفات ماش.

Table 1-The quantity of sensitivity rate index and relevant statistic for some traits of mung bean

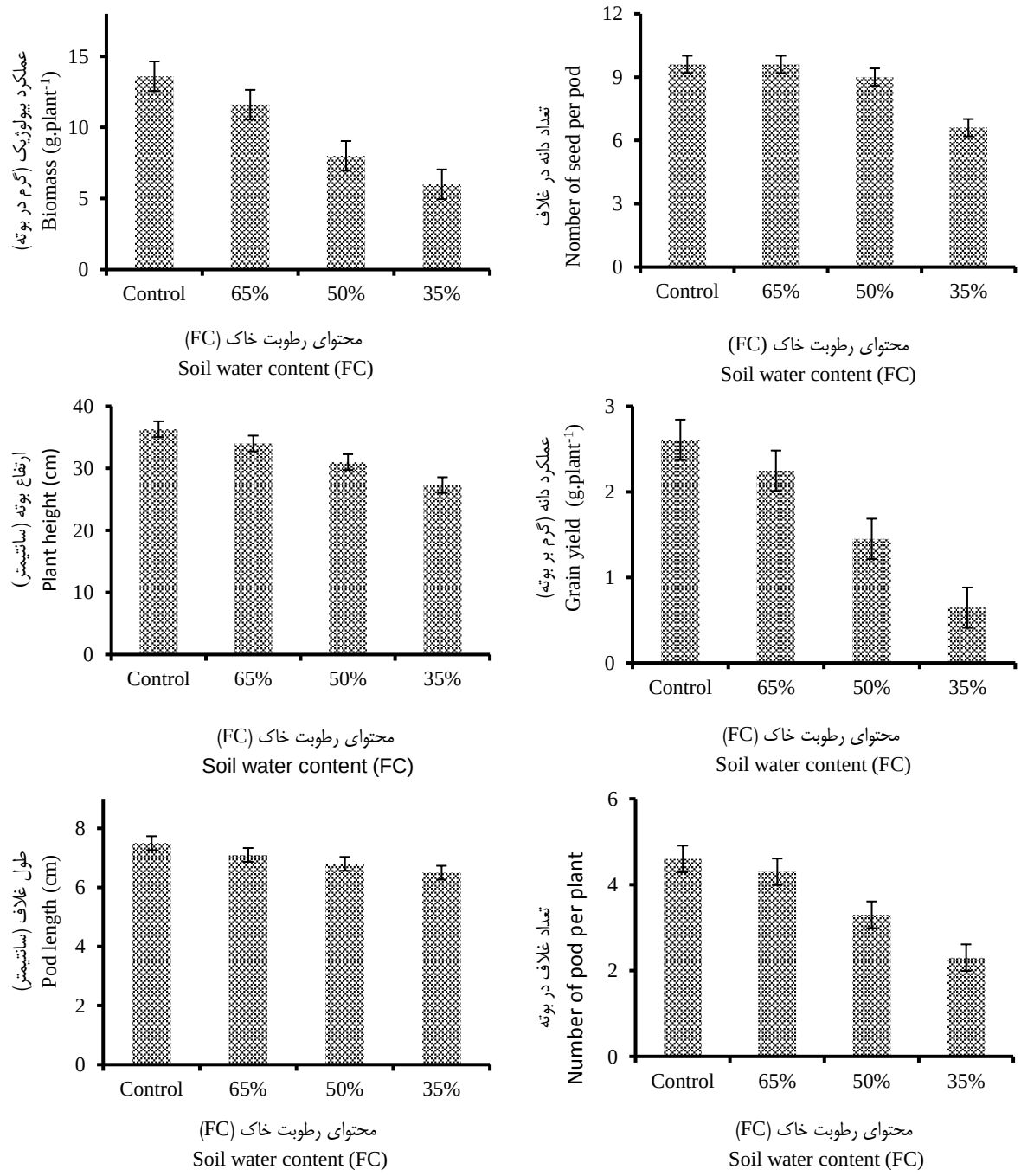
صفت	نرخ تأثیرپذیری# Sensitivity index	خطای استاندارد Standard error	مقدار T T value	سطح احتمال Probability level
طول غلاف Pod length	0.003015	0.01178840	0.298	0.7717
ارتفاع بوته Plant height	0.133333	0.04864217	2.741	0.0208
تعداد دانه در غلاف Number of seed per pod	0.050182	0.01340499	3.744	0.0038
تعداد غلاف در بوته Number of pod per plant	0.038788	0.00975739	3.975	0.0026
عملکرد دانه Grain yield	0.120727	0.00657286	4.794	0.0007
عملکرد بیولوژیکی Biological yield	0.035512	0.03645209	3.312	0.0079

#: مقیاس نرخ تأثیرپذیری عبارت است از واحد صفت موردبررسی بر واحد کم‌آبیاری (درصد ظرفیت زراعی).

#: The scale of sensitivity rate is unit of tested trait per drought stress unit (field capacity percent).

www.SID.ir

Archive of SID



شکل ۱. میانگین صفات موردبررسی در ماش در شدت‌های مختلف کم‌آبیاری (محتوای رطوبتی ۶۵٪، ۵۰٪ و ۳۵٪ به ترتیب معادل تنش ضعیف، متوسط و شدید می‌باشد).

Fig. 1. The mean values of tested traits of mung bean under different drought stress intensities (Soil water contents of 65%, 50% and 35% are equivalent to weak, medium and severe drought stress intensity, respectively).

به نظر می‌رسد که در ماش، آستانه آسیب‌پذیری تعداد دانه در غلاف از کم‌آبیاری نسبتاً بالا باشد زیرا در ظرفیت‌های زراعی ۶۵ و ۵۰٪، کمیت این صفت از نظر آماری همانند شرایط شاهد به دست آمد. پس از عبور شدت کم‌آبیاری از این آستانه، تعداد دانه در غلاف به میزان قابل‌توجهی تقلیل یافت. نرخ تأثیرپذیری آن برابر با ۰/۰۵۰۱۸۲ به دست آمد. کمیت این نرخ برای تعداد غلاف در بوته برابر با ۰/۰۳۸۷۸۸ بود که با در نظر گرفتن خطای استاندارد محاسبه‌شده،

www.SID.ir

Archive of SID

اختلاف بین تعداد دانه در غلاف و تعداد غلاف در بوته از نظر آماری ناچیز است. تعداد غلاف در بوته به‌دست‌آمده در ظرفیت زراعی ۶۵٪ همانند شاهد بود. بر همین اساس، آستانه تأثیرپذیری این صفت کمتر از تعداد دانه در غلاف است.

از نظر آماری، صفات عملکرد بیولوژیک و دانه تحت تأثیر تیمار کم‌آبیاری ضعیف قرار نگرفتند. ولی با افزایش شدت کم‌آبیاری، روندی کاهشی را نشان دادند. با نگاه کلی به نمودارهای مربوطه در شکل ۱، حساسیت پایین‌تر عملکرد بیولوژیکی به کم‌آبیاری در مقایسه با عملکرد دانه نمایان است. از دیدگاه کمی، نرخ تأثیرپذیری آن‌ها به ترتیب برابر با ۰/۰۳۵۵۱۲ و ۰/۱۲۰۷۲۷ بود که از نظر آماری نیز تفاوت قابل‌ملاحظه‌ای دارند. شایان توجه است که نرخ تأثیرپذیری عملکرد دانه ازلحاظ آماری مشابه نرخ تأثیرپذیری ارتفاع بوته است. پر شدن دانه، وابسته به فتوسنتز جاری و انتقال مجدد کربوهیدرات‌های غیر ساختاری (نشاسته) ذخیره‌شده در بافت‌های رویشی ازجمله ساقه در قبل از دوره گلدهی است (Ehdaie et al., 2006). در شرایط وجود تنش، فتوسنتز جاری کاهش می‌یابد و ازاین‌رو، ذخایر کربوهیدراتی به همراه فعالیت آنزیم‌های هیدرولیتیک ازجمله آلفا آمیلاز (نشاسته و ترکیبات پلی‌ساکارید باید به قند قابل‌انتقال از طریق آوند آبکش یعنی ساکارز هیدرولیز گردند) نقش مهمی‌تری را بازی می‌کنند. بااینکه این آنزیم‌ها از مقاومت نسبتاً بالایی به خشکی برخوردار هستند (Ehdaie et al., 2006)، ولی به نظر می‌رسد که شاید کاهش فعالیت این آنزیم‌ها بر اثر کم‌آبیاری، علت کاهش بیشتر عملکرد دانه نسبت به عملکرد بیولوژیک باشد.

تغییرات فعالیت آنزیم‌های کاتالاز، گایاکول پروکسیداز و سوپراکسید دیسموتاز در شکل ۲ آورده شده است. در ظرفیت‌های زراعی ۶۵ و ۵۰٪، افزایش در فعالیت آنزیم کاتالاز در مقایسه با شاهد ناچیز و از نظر آماری معنی‌دار نبود. در مقابل، در ظرفیت زراعی ۳۵٪ فعالیت آن افزایش قابل‌توجهی (۳ برابر) نشان داد. کاتالاز از آنزیم‌های مهم برای حذف H_2O_2 موجود در پروکسیزوم‌ها به شمار می‌رود (Hirt and Shinozaki, 2004). وجود H_2O_2 در گیاه از این نظر حائز اهمیت است که در غلظت‌های متوسط، به‌عنوان مولکول سیگنال عمل نموده و در سنتز پیش ماده‌های پروتئین دیواره سلولی مشارکت دارد. ولی در غلظت‌های بالا برای گیاه سمی بوده و آسیب‌های اکسیداتیو را به دنبال دارد (Noctor et al., 2002). با در نظر گرفتن این دو نکته به نظر می‌رسد که در ماش، در شرایط شاهد و ظرفیت‌های زراعی ۶۵ و ۵۰٪، غلظت H_2O_2 به آستانه خسارت نمی‌رسد. ولی با شدیدتر شدن کم‌آبیاری، غلظت H_2O_2 نیز بیشتر شده و گیاه برای مقابله با آن، سنتز (فعالیت) آنزیم کاتالاز را تشدید می‌نماید. در بررسی‌های انجام شده بر روی ماش در شرایط شاهد، ۱۰۰ میلی مول NaCl، ۱۰۰ میلی مول NaCl + ۵ میلی مول $CaCl_2$ و ۵ میلی مول $CaCl_2$ مشخص شد که در تمام تیمارها در مقایسه با شاهد، فعالیت آنزیم کاتالاز افزایش نشان می‌دهد (Manivannan et al., 2007). در گندم، اختلاف معنی‌داری بین ارقام ازلحاظ میزان فعالیت این آنزیم به دست نیامده است (Noctor et al., 2002). در گیاهان دیگر، برخی از گزارش‌ها بر عدم‌تغییر فعالیت کاتالاز در شدت‌های مختلف کم‌آبیاری دلالت دارد (Castillo, 1996; Zhang and Kirkham, 1994).

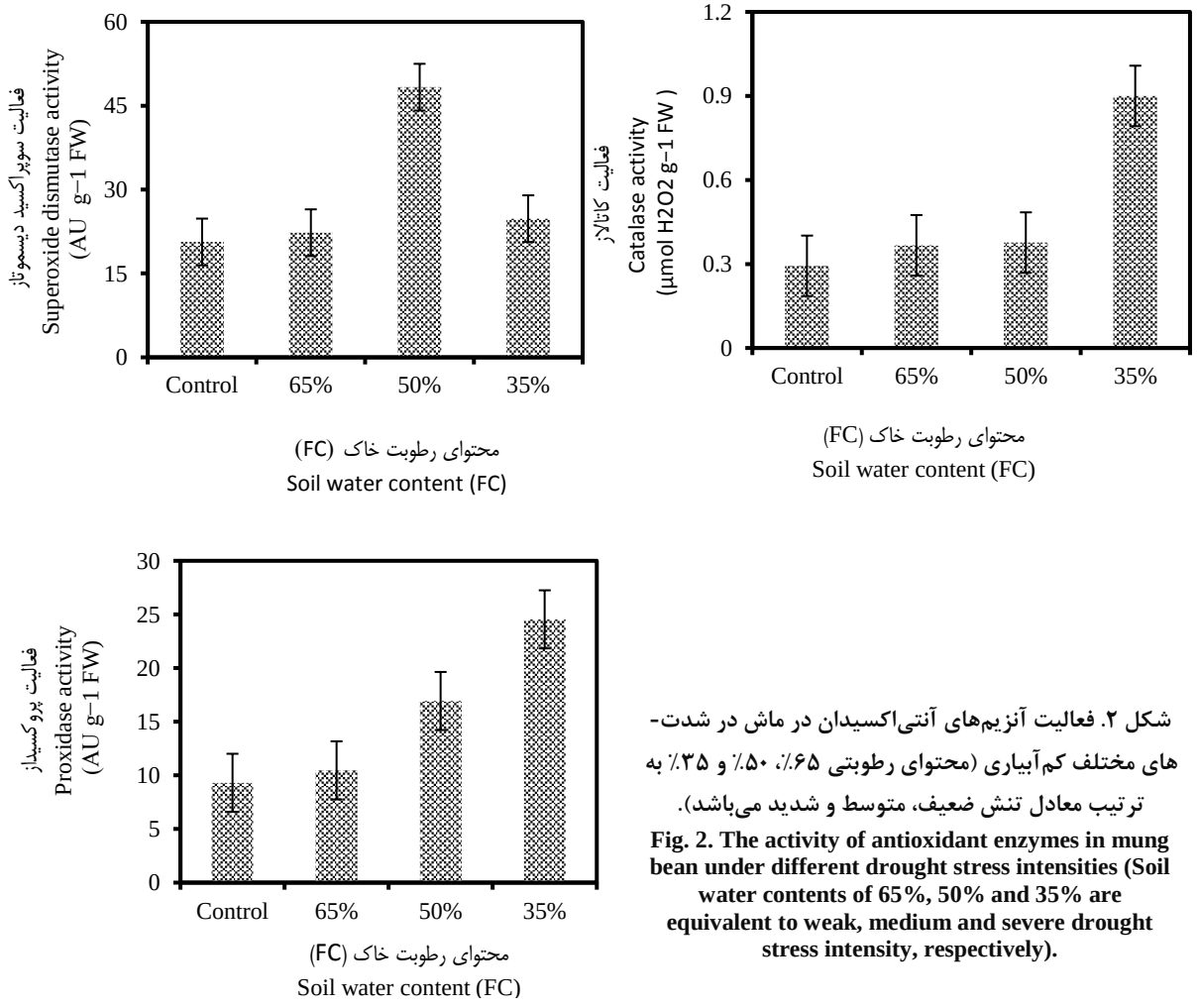
در ظرفیت زراعی ۶۵٪، فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز از نظر آماری همانند شاهد بود. در ظرفیت زراعی ۵۰٪، میزان فعالیت به بیش از دو برابر شاهد افزایش نشان داد. ولی در ظرفیت زراعی ۳۵٪، سطح فعالیت آن به سطح شاهد تقلیل یافت. با در نظر گرفتن این موضوع که سوپراکسید دیسموتاز عمل جمع‌آوری O_2^- را انجام می‌دهد، به نظر می‌رسد افزایش فعالیت آن در ظرفیت زراعی ۵۰٪ متوسط ممکن است حاکی از افزایش O_2^- (Zhang and Kirkham, 1994) و همچنین جلوگیری از تغییر $O2^-$ به H_20_2 و درنتیجه محافظت از سیستم فتوسنتزی گیاه باشد (Foster and Hess, 1982). به لحاظ وجود رابطه معنی‌دار بین شدت کم‌آبیاری و غلظت O_2^- (Castillo, 1996) انتظار می‌رود که در ظرفیت زراعی ۳۵٪، غلظت O_2^- بیشتر از ظرفیت زراعی ۵۰٪ باشد. با توجه به این موضوع و از طرف دیگر، کمتر شدن فعالیت سوپراکسید دیسموتاز در ظرفیت زراعی ۳۵٪ نسبت به شاهد، این احتمال مطرح است که سنتز این آنزیم متوقف‌شده یا تجزیه آن تشدید شده باشد (Gaspar et al., 1991) و یا به علت عدم جمع‌آوری O_2^- در اثر کاهش فعالیت آنزیم، غلظت H_20_2 افزایش یافته باشد زیرا O_2^- ازلحاظ واکنش‌پذیری، در حد متوسط بوده و نیمه‌عمر بسیار کوتاهی دارد و بر همین اساس قادر به عبور از غشاهای بیولوژیکی نیست و سریعاً به H_20_2 تغییر می‌نماید (Halliwell and Gutteridge, 1989). این گونه فعال اکسیژن، کوئینون‌ها و کمپلکس‌های دارای Fe^{3+} و CU^{2+} را

www.SID.ir

Archive of SID

احیا می‌نماید. ازاین‌رو فعالیت آنزیم‌های واجد فلز را به‌طور منفی تحت تأثیر قرار می‌دهد.

گایاکول پروکسیداز یکی از آنزیم‌های مهم گروه پروکسیدازها است که گایاکول (متوکسی فنل؛ یکی از معمول‌ترین سوبستراهای این آنزیم) را اکسید می‌نماید و بالاترین فعالیت را در حدود دمای ۳۰ درجه سانتی‌گراد نشان می‌دهد (Ghamsari et al., 2007). این آنزیم علاوه بر عمل جمع‌آوری H_2O_2، در بیوسنتز اجزای دیواره سلولی و لیگنینی شدن آن مشارکت دارد (Cavalcanti et al., 2004). در این بررسی، میزان فعالیت این آنزیم در ظرفیت زراعی ۶۵٪ همانند شاهد بود. ولی با افزایش شدت کم‌آبیاری، مقدار آن به‌طور متناسب افزایش نشان داد. به‌طوری‌که در ظرفیت‌های زراعی ۵۰ و ۳۵٪ میزان فعالیت آن به ترتیب ۸۲ و ۱۶۲٪ بالاتر از شاهد بود. افزایش در فعالیت گایاکول پروکسیداز در اثر تنش، به بیان بیشتر ژن کد کننده این آنزیم و یا به فعال شدن ایزوفرم‌های از قبل سنتز شده آنزیم نسبت داده شده است (Mittal and Dubey, 1991). در مطالعات انجام‌شده بر روی نیشکر مشخص شده است که در اوایل دوره اعمال خشکی، تغییری در فعالیت این آنزیم ایجاد نمی‌شود و پس از مدت کوتاهی، فعالیت آن افزایش می‌یابد (Cia et al., 2012). میزان فعالیت این آنزیم در رقم متحمل نیشکر بالاتر از رقم حساس به دست آمده است. این در حالی است که پژوهش‌های صورت گرفته توسط کاوال‌کانی و همکاران (Cavalcanti et al., 2004) بر لوبیا چشم‌بلبلی روییده در شرایط تنش شوری، این آنزیم تأثیری در جمع‌آوری رادیکال-های آزاد نداشته که می‌تواند ناشی از حساسیت بالای آن به سدیم در این گیاه باشد.



شکل ۲. فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان در ماش در شدت-های مختلف کم‌آبیاری (محتوای رطوبتی ۶۵٪، ۵۰٪ و ۳۵٪ به ترتیب معادل تنش ضعیف، متوسط و شدید می‌باشد).

Fig. 2. The activity of antioxidant enzymes in mung bean under different drought stress intensities (Soil water contents of 65%, 50% and 35% are equivalent to weak, medium and severe drought stress intensity, respectively).

www.SID.ir

Archive of SID

به نظر می‌رسد که در بررسی‌های آینده باید تمرکز بیشتری بر ایزوآنزیم‌های آنتی‌اکسیدان به‌ویژه پروکسیدازها در این گیاه به عمل آید، زیرا تعداد زیادی از مولکول‌های آلی و غیر آلی توسط پروکسیدازها اکسید می‌گردند. این آنزیم‌ها نقش مهمی در فرایندهای بیوشیمیایی ازجمله متابولیسم اکسین و اتیلن، واکنش‌های ردوکس در غشای پلاسمایی، تغییرات دیواره سلولی و فرایندهای نموی و دفاعی به عهده دارند (Gaspar et al., 1991). در مطالعات آینده می‌توان از اصول مربوط به تنوع در فعالیت آنزیم به‌عنوان تابعی از اسیدیته، غلظت سوبسترا، دما و واکنش به بازدارنده‌هایی مانند آزید و سیانید (Schulz, 1994; Tayefi-Nasrabadi et al., 2011) برای تمییز ایزوآنزیم‌ها استفاده نمود.

نتیجه‌گیری

به‌عنوان نتیجه‌گیری می‌توان گفت که عملکرد دانه و ارتفاع بوته از بالاترین عکس‌العمل به کم‌آبیاری برخوردار بودند. در مقابل، طول غلاف به لحاظ دارا بودن کمترین مقدار شاخص حساسیت، مقاوم‌ترین صفت به کم‌آبیاری شناخته شد. فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز تنها در ظرفیت زراعی ٪۵۰ افزایش یافت. این در حالی است که فعالیت کاتالاز فقط در ظرفیت زراعی ۳۵٪ بیشتر گردید. در شرایط ظرفیت زراعی ۳۵٪، فعالیت آنزیم گایاکول پروکسیداز همانند شاهد (ظرفیت زراعی ۸۰٪) بود. ولی با کاهش ظرفیت زراعی (بدتر شدن شرایط آب در دسترس گیاه)، فعالیت آن‌هم به‌طور متناسب بالاتر رفت. به لحاظ وجود رابطه نزدیک بین فعالیت آنزیم گایاکول پروکسیداز با آب در دسترس گیاه، به نظر می‌رسد که دست‌کاری ژنتیکی ماش برای فعالیت بالاتر این آنزیم می‌تواند باعث افزایش مقاومت به کم‌آبی گردد.

منابع

Acar, O., Turkan, I., Zdemir, F.O., 2001. Superoxide dismutase and peroxidase activities in drought sensitive and resistant barley (*Hordeum vulgare* L.) varieties. Acta Physiologiae Plantarum. 3, 351–356.

Arora, A., Sairam, R.K., Srivastava, G.C., 2002. Oxidative stress and antioxidative system in plants. Current Science. 82, 1227–38.

Bor, M., Ozdemir, F., Turkan, I., 2003. The effect of salt stress on lipid peroxidation and antioxidants in leaves of sugar beet *Beta vulgaris* L. and wild beet *Beta maritime* L. Plant Science. 164, 77–84.

Castillo, F.J., 1996. Antioxidant protection in the inducible CAM plant *Sedum album* L. following the imposition of severe water stress and recovery. Oecologia. 107, 469-477.

Cavalcanti, F.R., Oliveira, J.T.A., Martins-Miranda, A.S., Viégas, R.A., Silveira, J.A.G., 2004. Superoxide dismutase, catalase and peroxidase activities do not confer protection against oxidative damage in salt-stressed cowpea leaves. New Phytologist. 163, 563–571.

Cia, M.C., Guimaraes, A.C.R., Medici, L.O., Chabregas, S.M., Azevedo, R.A., 2012. Antioxidant responses to water deficit by drought-tolerant and -sensitive sugarcane varieties. Annals of Applied Biology. 161, 313–324.

Ehdaie, B., Alloush, G.A., Madore, M.A, Waines, J.G., 2006. Genotypic variation for stem reserves and mobilization in wheat: I. post anthesis changes in internode dry matter. Crop Sciences. 46, 735-746.

Foster, J.G., Hess, J.L., 1982. Oxygen effects on maize leaf superoxide dismutase and glutathione reductase. Phytochemistry. 21, 1527-1532.

Foyer, C.H., Noctor, G., 2000. Oxygen processing in photosynthesis: regulation and signaling. New Phytologist. 146, 359–388.

Gaspar, T., Penel, C., Hagege, D., Greppin H., 1991. Peroxidase in plant growth, differentiation and developmental processes. In: Lobarzewski, J., Greppin, H., Pennel, C., Gaspar, T. (eds.), Biochemical, Molecular and Physiological Aspects of Plant Peroxidases. Lublin, Poland and Geneva, Switzerland, pp. 249–280.

Gelman, A., Hill, J., 2007. Data Analysis Using Regression and Multilevel/Hierarchical Models (1stEdition). Cambridge University Press.

Ghamsari, L., Keyhani, E., Golkhoo, S., 2007. Kinetics properties of guaiacol peroxidase

www.SID.ir

Archive of SID

activity in *Crocus sativus*L.corm during rooting. Iranian Biomedical Journal. 11, 137-146. [In Persian with English Summary].

Gratao, P.L., Polle, A., Lea, P.J., Azevedo, R.A., 2005. Making the life of heavy metal-stressed plants a little easier. Functional Plant Biology. 32, 481–494.

Guo, Z., Ou, W., Lu, S., Zhong, Q., 2006. Differential responses of antioxidative system to chilling and drought in four rice cultivars differing in sensitivity. Plant Physiology and Biochemistry. 44, 828–836.

Halliwell, B., Gutteridge, J.M.C., 1989. Free Radicals in Biology and Medicine. Oxford, Clarendon Press.

Havir, E.A., McHale, N.A., 1987. Biochemical and developmental characterization of multiple forms of catalase in tobacco leaves. Plant Physiology. 84, 450–455.

Hirt, H., Shinozaki, K., 2004. Plant Responses to Abiotic Stress. Springer, Vienna, Austria.

Khanna-Chopra, R., Selote, D.S., 2007. Acclimationto drought stress generates oxidative stress tolerance in drought-resistant than -susceptible wheat cultivar under field conditions. Environmental and Experimental Botany. 60, 276–283.

Klute, A., 1986. Water retention: laboratory methods. In: Black, C.A. (ed.), Methods of Soil Analysis. I. Physical and Mineralogical Methods. Madison, ASA, SSSA, pp. 635-662.

Manivannan, P., Abdul-Jaleel, C., Kishorekumar, A., Sankar, B., Somasundaram, R., Sridharan, R., Panneerselvam, R., 2007. Changes in antioxidant metabolism of *Vigna unguiculata* L. Walp. by propiconazole under water deficit stress. Colloids and Surfaces Biointerfaces. 57, 69–74.

Mittal, R., Dubey, R.S., 1991. Behaviour of peroxidases in rice: changes in enzyme activity and isoforms in relation to salt tolerance. Plant Physiology and Biochemistry. 29, 31– 40.

Mittova, V., Volokita, M., Guy, M., Tal, M., 2000. Activities of SOD and the ascorbate-glutathione cycle enzymes in subcellular compartments in leaves and roots of the cultivated tomato and its wild salt-tolerant relative *Lycopersicon pennellii*. Physiologia Plantarum. 110, 42–51.

Noctor, G., Veljovic-Jovanovic, S.D., Driscoll, S., Novitskaya, L., Foyer, C.H., 2002. Drought and oxidative load in wheat leaves. A predominant role for photorespiration? Annals of Botany. 89, 841–850.

Peltzer, D., Dreyer, E., Polle, A., 2002. Temperature dependencies of antioxidative enzymes in two contrasting species. Plant Physiology and Biochemistry. 40, 141–50.

Schulz, A.R., 1994. Enzyme Kinetics. Cambridge University Press, Cambridge.

Sreenivasulu, N., Grima, B., Wobus, U., Weschke, W., 2000. Differential response of antioxidant compounds to salinity stress in salt-tolerant and salt-sensitive seedlings of foxtail millet (*Setaria italica*). Physiologia Plantarum. 109, 435–442.

Tayefi-Nasrabadi, H., Dehghan, G., Daeihassani, B., Movafegi, A., Samadi, A., 2011. Some biochemical properties of guaiacol peroxidases as modified by salt stress in leaves of salt-tolerant and salt-sensitive safflower (*Carthamus tinctorius L.*) cultivars. African Journal of Biotechnology. 10, 751-763.

Villalobos, M.A., Bartels, D., Iturringa, G., 2004. Stress tolerance and glucose insensitive phenotypes in Arabidopsis over expressing the CpMYB10 transcription factor gene. Plant Physiology. 135, 309-324.

Van Rossun, M.W.P.C., Alberda, M., Van Der Plas, L.H.W., 1997. Role of oxidative damage in tulip bulb scale micropropagation. Plant Science. 130, 207–216.

Xu, P.L., Guo, Y.K., Bai, J.G., Shang, L., Wang, X.J., 2008. Effects of long-term chilling on ultrastructure and antioxidant activity in leaves of two cucumber cultivars under low light. Physiologia Plantarum. 132, 467–478.

Zhang, J., Kirkham, M.B., 1994. Drought-stress-induced changes in activities of superoxide dismutase, catalase, and peroxidase in wheat species. Plant Cell Physiology. 35, 785-791.

www.SID.ir

Archive of SID

www.SID.ir