Archive of SID

بررسی اثر شوری بر توان دگرآسیبی کلزا از طریق مطالعه برخی شاخص‌های رشد، میزان کلروفیل، فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی و نیترات ردوکتاز دانه‌رست سویا در شرایط هیدروپونیک

مریم نیاکان*، معصومه تجری، مه لقا قربانلی

گرگان، دانشگاه آزاد اسلامی، گروه زیست‌شناسی

تاریخ دریافت ۸۵/۲/۱۲ تاریخ پذیرش: ۸٦/٤/۲٦

چکیده

تنش شوری یکی از فاکتورهای مهم در ایجاد تغییر مسیرهای متابولیسمی است که سنتز متابولیت‌های اولیه و ثانویه از جمله ترکیبات آللوشیمیایی را تحت تاثیر قرار می‌دهد. کلزا از جمله گیاهانی است که دارای ترکیبات آللوشیمیایی خاصی تحت عنوان گلوکوزینولات‌ها می‌باشد. سویا یکی از گیاهان کشت شده در تناوب زراعی با کلزا بوده که نسبت به ترکیبات آللوشیمیایی تولید شده توسط کلزا حساس می‌باشد. هدف از انجام این پژوهش، بررسی اثر تنش شوری با درجات متفاوت (تنش ملایم و شدید) بر توان دگرآسیبی کلزا از طریق مطالعه رشد ، میزان کلروفیل و آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی کاتالاز و پراکسیداز و نیترات ردوکتاز در دانه‌رست سویا در پاسخ به شرایط هیدروپونیک می‌باشد. در این راستا، گیاه کلزا رقم هایولا تحت تیمار شوری ملایم (EC=6dS/m) و شوری شدید (EC=10dS/m) و غیرشور (EC=0dS/m) در شرایط گلدانی کشت و از عصاره آبی کل گیاه در غلظت ۷۰٪ تهیه و به محیط کشت هوگلند حاوی دانه‌رست‌های سویا اضافه شد.نتایج نشان داد که با افزایش شدت تنش شوری بر توان دگرآسیبی کلزا نیز افزوده می‌شود. بدین معنی که عصاره آبی حاصل از کلزاهای کشت شده در خاک‌های شور سبب کاهش کلروفیل لپه، طول ریشه و اپی‌کوتیل، کاهش فعالیت کاتالاز و اکسیداز اندام هوایی و ریشه و نیز کاهش فعالیت نیترات ردوکتاز در لپه‌ها می شد.

کلمات کلیدی: شوری، دگرآسیبی، کلزا، رشد، سویا

* نویسنده مسئول، تلفن تماس: ۰۹۱۱۳۷۷۰۳۸۲، پست الکترونیک:Email: mnniakan@yahoo.com

مقدمه

در اکوسیستم‌های زراعی، گیاهان به جای همزیستی عمدتاً در تداخل با یکدیگرند. حداقل دو نوع تداخل وجود دارد: یکی رقابت برای جذب منابع و دیگری ورود مواد سمی به محیط توسط گیاه که اصطلاحاً آللوپاتی یا دگرآسیبی نامیده می‌شود(۱۰،۸). دگرآسیبی به معنای هرگونه اثر مستقیم یا غیرمستقیم، محرک یا بازدارنده توسط یک گیاه بر گیاه دیگر است که از طریق تولید ترکیبات آللوشیمیایی و آزاد شدن آنها به درون محیط صورت می‌گیرد(۲۸). ترکیبات آللوشیمیایی تقریباً در تمامی بافت‌های گیاه از جمله برگ‌ها، گل، میوه، ساقه، ریزوم و دانه گرده وجود دارد(۳۳). تولید و توزیع این ترکیبات بستگی به ویژگیهای بیوشیمیایی و فیزیولوژیکی ویژه هر ترکیب دارد(۳٤). مثلا ترکیبات آللوشیمیایی گلوکوزینولات که در گیاهان تیره براسیکاسه و از جمله کلزا یافت می‌شود(۳و۱۱). این ترکیبات سولفور و نیتروژن دارند، تحت تاثیر آنزیم میروزنیاز به مواد بازدارنده‌ای نظیر ایزوسیانات‌ها، تیوسیانات‌ها ونیتریل‌ها تبدیل می‌شوند که این ترکیبات می‌توانند جوانه‌زنی و یا رشد و نمو سایر گیاهان را تحت

www.SID.ir

Archive of SID

تاثیر قرار دهد(۷و۲۱). همچنین گزارش شده است که غلظت کم ایزوسیاناتها می‌تواند جوانه‌زنی را به تاخیر انداخته و در دانه خفتگی ثانویه ایجاد کند. تحقیقات نشان داده است که فرآورده‌های حاصل از هیدرولیز گلوکوزینولات‌ها می‌تواند از رشد ریشه و یا اندام هوایی اکثر گونه‌های زراعی و نیز علف‌های هرز جلوگیری کند(۳۱).

ترکیبات آللوشیمیایی می‌تواند ساختار، عملکرد و نفوذپذیری غشاء را تحت تاثیر قرار داده(۱۲و۲۵). بطوریکه ابتدا غشاء پلاسمایی را تخریب کرده و سپس اطلاعات تنشی را از نقطه مشخصی به داخل سلول‌ها ارسال می کنند. بدین ترتیب اثرات مختلفی بر سلول‌های گیاهی برجای می‌گذارند(۲٤).

همچنین گزارش شده است که این ترکیبات، فتوسنتز گیاه را از طریق تخریب کلروفیل تحت تاثیر قرار داده وسبب تخریب ساختار غشاهای درونی کلروپلاست می‌شوند(۳۵).

یکی از فرآیندهای حساس به ترکیبات آللوشیمیایی، تنفس می‌باشد، و اثر بازدارندگی این ترکیبات در گیاه، بدلیل توقف انتقال الکترون در زنجیره انتقال الکترون میتوکندریایی و یا تغییر نفوذپذیری غشا میتوکندری می باشد(۲٦).

تعداد زیادی از مواد آللوشیمیایی از فعالیت آنزیمها نیز جلوگیری می‌کنند. بعنوان مثال در حضور این ترکیبات، فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی نظیر پراکسیداز و کاتالاز، سلولاز، پلی‌گالاکتوروناز و آمیلاز و آنزیم‌های مسیر اکسیداتیو پنتوز فسفات کاهش یافته و یا متوقف می‌شود(۲۲).

مدارک قابل توجهی نیز موجود می‌باشد که نشان می‌دهد ترکیبات آللوشیمیایی جذب یون‌ها را توسط گیاه تغییر می‌دهد. بعنوان مثال جذب Mo, Fe, K, P, N تحت تاثیر این ترکیبات قرار می‌گیرد(۲٤). این ترکیبات می‌توانند بر سنتز پروتئین‌ها و نیز آنزیم‌ها اثر گذاشته و سبب کاهش و یا افزایش آن گردند(۹). نتایج برخی از محققین نشان می‌دهد که ترکیبات آللوشیمیایی اثرات متفاوتی بر فعالیت نیترات ردوکتازی می‌گذارد.

شواهد متعددی نشان می‌دهد زمانی که گیاهان در معرض ترکیبات آللوشیمیایی قرار می‌گیرند، رشد و نمو آنها تحت تاثیر قرار می‌گیرد. از جمله اثرات این ترکیبات، بازدارندگی یا کند کردن میزان جوانه‌زنی، تیره و متورم شدن دانه‌ها، کاهش رشد طولی ریشه و یا ریشه‌چه و اندام هوایی ، نکروزه شدن نوک ریشه، پیچ‌خوردگی محور ریشه، بی‌رنگ شدن ریشه و عدم تشکیل تارهای کشنده است. این اثرات مورفولوژیک، نشان دهنده انواع مختلف اثر ترکیبات آللوشیمیایی در سطح سلولی یا مولکولی سلول های گیاهان دریافت کننده است(۲٤).

از سوی دیگر، تولید ترکیبات آللوشیمیایی در گیاهان، علاوه بر ژنوم آنها، بعوامل محیطی نظیر دما، نور و آب نیز بستگی دارد. تحقیقات نشان داده است که دگرآ سیبی در شرایط نامساعد و تنش‌زا تشدید می‌شود. بعنوان مثال زمانی که میزان آب و یا روشنایی و یا مواد غذایی در محیط محدود شود، دگرآ سیبی شدت می‌یابد (۱٦).

گزارش شده است که عصاره آبی کلزا سبب تاخیر در جوانه زنی و کاهش رشد سویا می شود(۱). . با توجه به این که بررسی‌های اندکی در رابطه با اثر تنش شوری بر میزان دگرآ سیبی گیاهان و از جمله کلزا موجود می‌باشد. هدف از انجام این تحقیق، بررسی اثر تنش شوری بر توان دگرآ سیبی کلزا از طریق مطالعه رشد و فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی پراکسیداز و کاتالاز و نیترات ردوکتاز در بخش‌های مختلف دانه‌رست سویا در محیط کشت هوگلند است.

مواد و روشها

کشت گلدانی:

www.SID.ir

Archive of SID

بذرهای کلزا رقم هایولا (*Brassica napus* L *cv* Hyola 401) پس از ضدعفونی در گلدان‌های حاوی خاک با بافت لومی شنی کاشته شد. برای اعمال تیمارهای شوری کم (EC=6 دسی زیمنس بر متر) و شوری متوسط (EC=10 دسی زیمنس بر متر) مقدار NaCl مورد نیاز محاسبه (بعد از تعیین مقدار آب لازم جهت اشباع خاک گلدان، میزان ۱/٦٦ کرم برای EC=6 dS/m و ۳/۰۲ گرم برای EC=10 dS/m نمک در آب حل شد) و یک بار در مرحله ظهور لپه به گلدان‌ها اضافه شد. پس از رسیدن به مرحله ۵-۳ برگی (۱) (بعلت داشتن توان دگرآسیبی بیشتر،ریشه و اندام هوایی گیاهان در هر تیمار بطور جداگانه در سایه و بطور طبیعی خشک و آسیاب شد.

تهیه عصاره آبی:

از مخلوط پودر اندام هوایی و ریشه هر تیمار کلزا ۵ گرم پودر خشک به ۱۵۰ میلی‌لیتر آب مقطر استریل اضافه شد. مخلوط حاصل به مدت ۱۲ ساعت بر روی شیکر قرار داده گرفت. عصاره از کاغذ صافی نایلونی با منافذ ۰/۲ میکرونی عبور داده شد(۲۳). از آنجایی که این عصاره بازدارندگی شدید(صد در صد بازدارندگی) بر روی جوانه رنی و رشد دانه سویا داشت (۱) از این عصاره (غلظت ۱۰۰٪) با توجه به نتیجه بیش آزمایشات در غلظت های مختلف عصاره ، محلولی با غلظت ۷۰٪ تهیه شد.

آماده‌سازی محلول غذایی:

ابتدا نمک عناصرماکرو بطور جداگانه وزن و در بالن مادر به ظرفیت ۱۰۰۰ میلی لیتر ریخته شد(جدول۱) جهت تهیه محلولهای میکرو نیز هر ماده بطور جداگانه وزن، در آب مقطر حل، و سپس حجم نهایی هر کدام به ۱۰۰۰ میلی لیتر رسانده شد. آنگاه بمقدار لازم ازهر محلول میکرو برداشته و در بالن مادر حاوی عناصر ماکرو ریخته شد (جدول ۲) .

پس از تهیه محلول غذایی هوگلند ، ۲۰ میلی‌لیتر از محلول غذایی با ۵۰ میلی‌لیتر عصاره آبی کلزا (۷۰ ٪)تحت تیمارهای شوری، مخلوط و در ظروف پلاستیکی یکبار مصرف ریخته و برای پوشش این ظروف از پلاستیک فریزی که بر روی هر کدام٤ سوراخ جهت هوادهی در نظر گرفته شده بود استفاده و بدنه ظروف با کاغذ فویل پوشانده شد، در هر ظرف یک دانه‌رست ۵ روزه سویا که در پتری‌دیش و تحت آبیاری با آب مقطر جوانه زده بود، قرار گرفت. در این آزمایش از محلول خالص هوگلند بعنوان شاهد استفاده شد. گیاهان در طی این مدت تحت دمای ٢٤ درجه سانتی گراد رطوبت ٦٥/٥ درصد و دوره نوری ١٤ ساعت روشنایی و١٠ ساعت تاریکی درگلخانه قرار گرفت.

جدول ۱ ـ عناصر ماکرو مورد استفاده در محلول غذایی هوگلند.

وزن نمک مورد نیاز (گرم) در ۱۰۰۰ میلی لیتر	فرمول ماده شیمیایی	نام ماده شیمیایی
۰/۱	KNO_3	نیترات پتاسیم
۰/۰۰۹	$Ca(NO_3)_2.4H_2O$	نیترات کلسیم
۰/٤۹۳	$MgSo_4$	سولفات منیزیم
۰/٦۸۱	KH_2PO_4	فسفات دی هیدروژن پتاسیم

www.SID.ir

Archive of SID

جدول ۲ ـ ترکیبات عناصر میکرو مورد استفاده در محلول غذایی هوگلند .

حجم مورد نیاز از محلولهای میکرو (میلی لیتر)	وزن نمک مورد نیاز (گرم در لیتر)	فرمول شیمیایی	نام ماده شیمیایی
۱۰۰	۰/۳٦٤	$FeSo_4.6H_2O$	سولفات آهن
۱۰۰	/۲۰۱	$H_2MOO_4.4H_2O$	اسید مولیبدیک
۱۰۰	۰/۰۳	HBO_3	اسید بوریک
۱۰۰	۰/۰۱۸	$MnCl_2 . 4H_2O$	کلرور منگنز
۱۰۰	۰/۸۹	$EDTA$	
۱۰	۰/۰۲۱	$ZnSo_4 . 7H_2O$	سولفات روی
۱۰	۰/۰۰۹	$CuSo_4 . 5H_2O$	سولفات مس

پارامترهای استفاده شده در محیط کشت هوگلند:

طول ریشه وساقه دانه‌رست‌های سویا در تیمارهای مختلف (هوگلند شاهد، EC=10, EC=6, EC=0 دسی زیمنس بر متر) در پایان روز هشتم با خط‌کش اندازه‌گیری شد.

سنجش‌های بیوشیمیایی

سنجش مقدار **کلروفیل (a,b):** ابتدا لپه‌های سبزرنگ دانه‌رست ۸ روزه سویا در هر تیمار جدا، وزن، با ۱۵ میلی لیتر استن سابیده و در ۳۰۰۰ g به مدت ۱۵ دقیقه سانتریفیوژ شد. محلول روئی جدا و جذب آن در طول موج‌های ٦٤٥.٦٥٢.٦٦٣ در مقابل شاهد توسط دستگاه اسپکتروفتومتر خوانده شد. سپس با استفاده از رابطه زیر، مقدار کلروفیل a,b در میلی‌گرم بافت موردنظر محاسبه شد(٤).

$$\text{Chla}\ \frac{\text{mg}}{\text{بافت}} = (12.7OD_{663} - 2.69OD_{645})\ \frac{V}{1000w}$$

$$\text{Chlb}\ \frac{\text{mg}}{\text{بافت}} = (22.9OD_{645} - 4.68OD_{652})\ \frac{V}{1000w}$$

سنجش فعالیت نیترات ردوکتاز: ریشه، لپه و ساقه دانه‌رست‌های ۸ روزه سویا در هر تیمار جدا و پس از تعیین وزن ترآنها در محلول انکوباسیون شامل نیترات پتاسیم ۱۵۰ میلی‌مولار، پروپانول ۳٪ حجمی و بافر فسفات ۱۰۰ میلی‌مولار بود به مدت یک ساعت در دمای ۳۰ درجه سانتی گراد اون قرار گرفت.

سپس به ۲ میلی لیتر ازآن ۱ میلی لیتر محلول گریس I(حل ۰/۵ گرم اسیدسولفانیلیک در ۵۰ میلی لیتر اسید استیک و رسانیدن به حجم ۱۰۰ میلی لیتر) و ۱ میلی لیتر گریس II(حل ۰/۲ گرم الفا نفتیلامین در ۵۰ میلی لیتر اسید استیک و رسانیدن به حجم ۱۰۰میلی لیتر) افزوده و جذب در طول موج ۵۲۰ نانومتر در مقابل شاهد با اسپکتروفتومتر خوانده شد. تعیین غلظت نیتریت حاصل از احیاء نیترات تحت تاثیر آنزیم نیترات ردوکتاز با استفاده از غلظت‌های متفاوت نیتریت سدیم انجام شد. پس از ترسیم منحنی استاندارد، معادله خط تعیین و سپس از رابطه زیر مقدار نیتریت تولید شده به ازاء هر گرم وزن تر ماده M محاسبه شد(۳۰).

$$M = \frac{C \times 0.005}{W} (\mu MN^{-}O2.g^{-1}.h^{-1})$$

سنجش فعالیت آنزیم پراکسیداز: در این مرحله نیز سه بخش ریشه، ساقه و لپه جدا و از هر قسمت یک گرم توزین شد. جهت سنجش فعالیت آنزیم، ۲ مرحله انجام شد:

www.SID.ir

Archive of SID

۱. **استخراج عصاره آنزیمی**: در این مرحله یک گرم نمونه با ٤ میلی‌لیتر محلول عصاره‌گیری (شامل ۱/۲گرم تریس، ۲گرم اسید آسکوربیک، ۳/۸گرم بوراکس، ۲گرم $EDTANa_2$ و ۵۰گرم پلی‌اتیلن گلیکول و رساندن به حجم ۱۰۰ میلی‌لیتر با آب مقطر به مدت ۳۰ دقیقه همگن شده و بمدت ٢٤ ساعت در دمای ٤ درجه سانتی گراد قرار گرفت و سپس نیم ساعت با دور ٤۰۰ گرم سانتریفوژ شد.

۲. **سنجش فعالیت آنزیم**: در این مرحله ۰/۱ میلی‌لیتر عصاره آنزیمی با تامپون استات ۰/۲ مولار، ۰/٤ میلی‌لیتر آب اکسیژنه ۳درصد و ۰/۲میلی‌لیتر بنزیدین محلول در الکل ۵۰ درجه ۰/۰۱ مولار اضافه و جذب آن در طول موج ۵۳۰ نانومتر در مقابل شاهد دستگاه خوانده شد(۱۷).

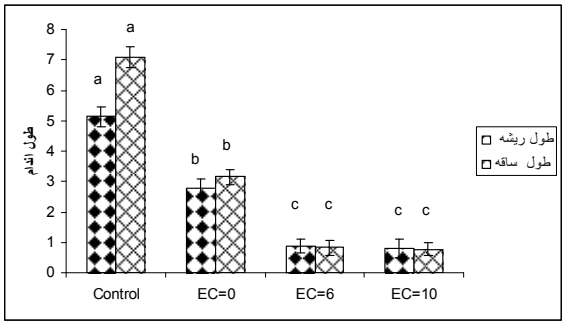
سنجش فعالیت آنزیم کاتالاز: جهت سنجش فعالیت این آنزیم نیز از عصاره آنزیمی استخراج شده در آزمایش مربوط به فعالیت پراکسیداز استفاده شد. بدین ترتیب که ۵ میلی‌لیتر محلول شامل ۳۰۰۰ میکرومول بافر فسفات (pH=6.8 و ۱۰۰ میکرومول آب اکسیژنه و ۱ میلی‌لیتر عصاره آنزیمی دو بار رقیق شده مخلوط و این محلول به مدت ۱ دقیقه در دمای ۲۵ درجه سانتی گراد قرار گرفت. سپس اسیدسولفوریک ۱۲درصد به محلول فوق اضافه تا فعالیت آنزیم متوقف شود. این محلول با پرمنگنات پتاسیم ۰/۰۱ نرمال تیتر شده تا رنگ صورتی کم‌رنگی حاصل شود. با توجه به حجم محلول مصرف شده فعالیت آنزیم بر حسب تجزیه یک میکرومول آب اکسیژنه در یک دقیقه محاسبه شد(٦).

محاسبه آماری: تجزیه و تحلیل داده‌ها از طریق تجزیه واریانس دو عاملی و مقایسه میانگین انجام گرفت. همچنین مقایسه بین تیمارها و شاهد با ٤ تکرار بر اساس آزمون دانکن در سطح $p\leq 0/01$ توسط برنامه آماری Mstat C صورت گرفت. رسم نمودارها نیز با کمک نرم‌افزار Excel انجام شد.

نتایج

طول ریشه: نتایج تجزیه واریانس در مورد رشد ریشه، نشان داد که تفاوت طول ریشه بین شاهد (هوگلند) و تیمارها در سطح ۱٪ معنی‌دار می‌باشد. بدین معنی که کمترین رشد ریشه در دانه‌رست‌های سویا رویانده شده در عصاره آب کلزای کشت شده در EC=10 و EC=6 دسی‌زیمنس بر متر بوده و بیشترین رشد ریشه در شاهد مشاهده شد(شکل ۱).

طول ساقه: در این آزمایش نیز افزایش شدت تنش شوری سبب افزایش توان دگرآسیبی کلزا نسبت به EC=0دسی زیمنس و شاهد شد. بدین معنی که بیشترین بازدارندگی در رشد ساقه دانه‌رست سویا مربوط به عصاره آبی کلزای کشت شده در EC=6 و EC=10 دسی زیمنس بر متر می‌باشد(شکل ۱).



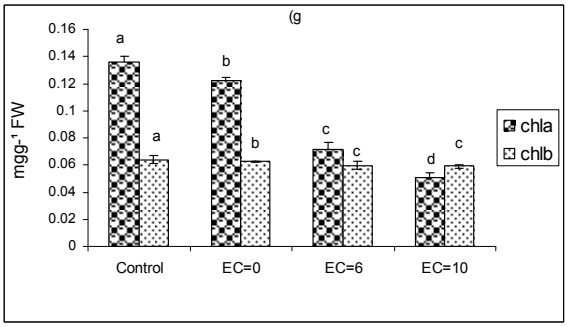
شکل۱-اثر عصاره آبی کلزاهای کشت شده در خاک با شوری های EC=0 , EC=6 و EC=10 دسی زیمنس بر متر و شاهد(C,هوگلند) بر طول ریشه و ساقه(سانتی متر) دانه رست سویا در محیط کشت هیدروپونیک .(حروف مشابه نشان دهنده عدم اختلاف معنی دار و حروف غیر مشابه نشان دهنده اختلاف معنی دار میانگین ها در سطح $p\leq 0/01$ می باشد$X \pm SE$)

مقدار کلروفیل a,b: در شکل۲ ، نتایج مقایسه میانگین کلروفیل a ارائه شده است. بیشترین میزان کلروفیل در لپه‌های دانه‌رست‌های سویا در محیط کشت هوگلند (شاهد) و کمترین آن در عصاره آبی کلزای کشت شده در EC=10 دسی زیمنس بر متر است. همچنین کاهش معنی‌داری بین میزان کلروفیل b در لپه‌های گیاهان شاهد

www.SID.ir

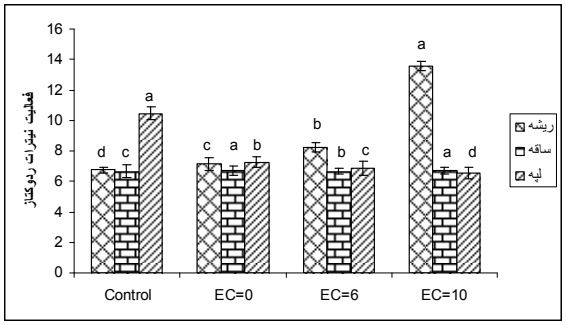
Archive of SID

نسبت به سایر تیمارها مشاهده می شود که این کاهش تنها بین تیمارهای عصاره‌های آبی کلزای کشت شده در EC=6 EC=10 دسی زیمنس بر متر معنی‌دار نمی باشد.



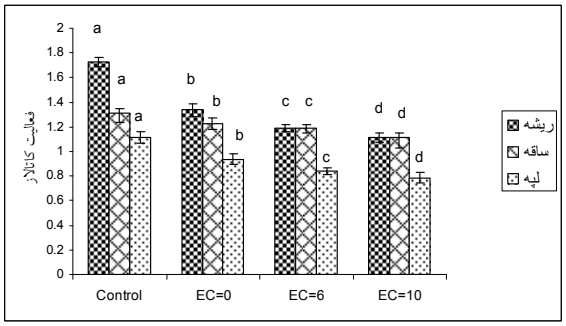
شکل۲-اثر عصاره آبی کلزاهای کشت شده در خاک با شوری های EC=0 , EC=6 و EC=10 دسی زیمنس بر متر و شاهد(C,هوگلند) بر میزان کلروفیل a و b ($mg\ g^{-1}\ FW$) در لپه دانه رست سویا در محیط کشت هیدروپونیک.(حروف مشابه نشان دهنده عدم اختلاف معنی دار و حروف غیر مشابه نشان دهنده اختلاف معنی دار میانگین ها در سطح $p\leq 0/01$ می باشد$X \pm SE$).

میزان فعالیت نیترات ردوکتاز: چنانچه در شکل ۳ دیده می شود، فعالیت آنزیم نیترات ردوکتاز ریشه، لپه و ساقه گیاه سویا تحت تاثیر تیمارهای آزمایشی قرار گرفته است. مطابق با نتایج بدست آمده، بیشترین مقدار فعالیت آنزیم نیترات ردوکتاز در ریشه سویا در عصاره آبی کلزای رشد کرده در EC=10 دسی زیمنس بر متر و کمترین آن در شاهد (هوگلند) دیده می شود. در لپه‌ها بیشترین میزان فعالیت آنزیم در شاهد و کمترین آن در/EC=10 دسی زیمنس بر متر مشاهده می شود.در ساقه‌ها نیز بیشترین میزان فعالیت آنزیم در عصاره کلزای رشد کرده در خاک با EC=10 دسی زیمنس بر متر و غیرشور EC=0 و کمترین آن در شاهد دیده می شود(شکل۳).



شکل۳-اثر عصاره آبی کلزاهای کشت شده در خاک با شوری های EC=0 , EC=6 و EC=10 دسی زیمنس در متر و شاهد(C,هوگلند) بر میزان فعالیت آنزیم نیترات ردوکتاز ($\mu MN_{O2}.g^{-1}.h^{-1}$) در لپه دانه رست سویا در محیط کشت هیدروپونیک.(حروف مشابه نشان دهنده عدم اختلاف معنی دار و حروف غیر مشابه نشان دهنده اختلاف معنی دار میانگین ها در سطح $p\leq 0/01$ می باشد $X \pm SE$).

میزان فعالیت کاتالاز: فعالیت آنزیم کاتالاز دستخوش تیمارهای مختلف قرار گرفت که این تغییرات در سطح ۱٪ معنی‌دار می‌باشد. مطابق با نتایج بدست آمده، بیشترین میزان فعالیت آنزیم کاتالاز در ریشه، لپه و ساقه سویا در شاهد (هوگلند) و کمترین آن در عصاره آبی کلزای رشد کرده در EC=10 دسی زیمنس بر متر مشاهده می‌شود (شکل٤).

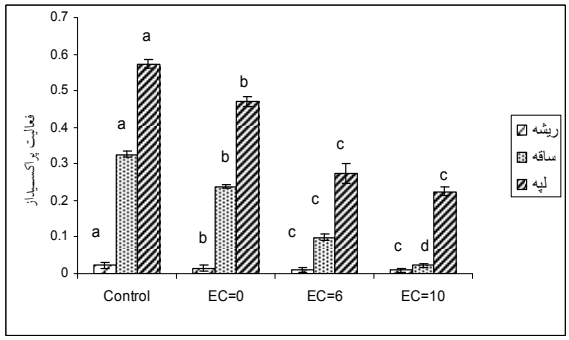


شکل٤-اثر عصاره آبی کلزا کشت شده در خاک با شوری های EC=0 , EC=6 و EC=10 دسی زیمنس در متر و شاهد(C,هوگلند)، بر میزان فعالیت آنزیم کاتالاز (M H2O2 μ destroid.min^{-1}) در ریشه، ساقه و لپه دانه رست سویا در محیط کشت هیدروپونیک.(حروف مشابه نشان دهنده عدم اختلاف معنی دار و حروف غیر مشابه نشان دهنده اختلاف معنی دار میانگین ها در سطح $p\leq 0/01$ می باشد$X \pm SE$).

www.SID.ir

Archive of SID

میزان فعالیت پراکسیداز: فعالیت آنزیم پراکسیداز ریشه، لپه و ساقه سویا نیز تحت تاثیر تیمارهای آزمایشی قرار گرفت. نتایج حاصل از این آزمایشات، نشان داد که بیشترین فعالیت آنزیم در ریشه، ساقه و لپه مربوط به شاهد مشاهده می شود و کمترین آن در عصاره آبی کلزای رشد کرده در EC= 10 دسی زیمنس بر متر تعلق دارد که در مورد ریشه و لپه بین این عصاره و عصاره مربوط به EC=6 دسی زیمنس بر متر تفاوت معنی‌داری مشاهده نمی‌شود (شکل۵)



شکل۵-اثر عصاره آبی کلزاهای کشت شده در خاک با شوری های EC=0 , EC=6 و EC=10 دسی زیمنس بر متر و شاهد(C,هوگلند) بر میزان فعالیت آنزیم پراکسیداز (ODg^{-1} fw min^{-1}) در ریشه، ساقه و لپه دانه رست سویا در محیط کشت هیدروپونیک.(حروف مشابه نشان دهنده عدم اختلاف معنی دار و حروف غیر مشابه نشان دهنده اختلاف معنی دار میانگین ها در سطح $p\leq 0/01$ می باشد $X \pm SE$).

بحث و نتیجه‌گیری

یکی از انواع تنش‌هایی که گیاهان بایستی در دوران زندگی خود با آن مقابله کنند، دگرآسیبی می‌باشد. اکثر تحقیقات در مورد دگرآسیبی بر اثر برهم‌کنش بین انواع علف‌های هرز، علف‌های هرز محصولات کشاورزی و نیز گونه‌های مختلف گیاهان زراعی متمرکز شده است. توزیع ترکیبات آللوشیمیایی به درون ریزوسفر از طریق آب‌شویی از برگ‌ها و دیگر بخش‌های گیاه تراوشات ریشه‌ای و پوسیدگی بخش‌های مختلف گیاه صورت می‌گیرد(۳۲).

گیاهان اغلب از دگرآسیبی بعنوان یک فرآیند جهت افزایش توانایی رقابتی و در نتیجه افزایش درصد بقا استفاده می‌کنند. در این فرآیند یکسری از واکنش‌های شیمیایی انجام می شود که میزان و شدت آنها توسط فاکتورهای متعددی کنترل می گردد(۲٤) که از آن جمله می‌توان به دما و دوره نوری(۱۹)، میزان آب قابل دسترس(۱۸) بافت و pH خاک(۱۵) اشاره نمود.

تحقیقات نشان داده است که توانایی دگرآسیبی در گیاهان تحت شرایط نامساعد تنش‌زا تشدید می‌شود(۱٦). در واقع دگرآسیبی با تنش در تعامل با یکدیگر قرار دارند. از طرفی تنش های دیگر در گیاهان موجب حساسیت بیشتری نسبت به این ترکیبات می‌شود که اندازه‌گیری اثرات آللوشیمیایی همراه با شیب تنش به توضیح ارتباط بین دگرآسیبی و تنش کمک خواهد کرد(۲۷).

نتایج حاصل از این تحقیق نیز نشان می دهد که اعمال تیمار شوری سبب افزایش توان دگرآسیبی در گیاه کلزا می‌شود که این اثر از طریق کاهش پارامترهای رشد و نیز فعالیت برخی از آنزیم‌های کلیدی در اندام‌های مختلف گیاه سویا در عصاره‌های استخراج شده از کلزاهای تحت تنش نمودار می شود.

در گیاهان تیره براسیکاسه و از جمله کلزا ترکیباتی تحت عنوان گلوکوزینولات ها یافت می شود که در اثر فعالیت آنزیم میروزیناز به ترکیبات بازدارنده ای تحت عنوان ایزوسیانات‌ها، تیوسیانات‌ها ونیتریل‌هاتبدیل می شود (۳و۱۱) .این ترکیبات می‌توانند جوانه‌زنی و یا رشد و نمو سایر گیاهان را تحت تاثیر قرار دهند(۷و۲۱).گزارش شده است که افزایش میزان آسکوربات سبب افزایش فعالیت آنزیم میروزینازو در نتیجه افزایش میزان ترکیبات بازدارنده فوق می‌شود (۲) . نتایج حاضر نشان داد که افزایش تنش شوری مانند کاربرد آسکوربات سبب ازدیاد ترکیبات آللوپاتیک در عصاره حاصل از کلزا شده و در نتیجه موجب کاهش رشد و تغییراتی نظیر تیره و متورم شدن

www.SID.ir

Archive of SID

دانه‌ها، کاهش رشد طولی ریشه و اندام هوایی ، نکروز شدن نوک ریشه، پیچ‌خوردگی محور ریشه، و عدم تشکیل تارهای کشنده نیز و افزایش فعالیت آنزیم های آنتی اکسیدانی در دانه رست سویا می شود(۲).

گزارشاتی وجود دارد مبنی بر اینکه رشد ریشه نسبت به اندام هوایی از حساسیت بیشتری در مقابل ترکیبات آللوشیمیایی برخوردار است، زیرا ریشه‌ها ابتدا با مواد آللوشیمیایی برخورد کرده و آنها را از محیط دریافت می‌کنند(۳۲). رشد طولی دانه رست(ریشه و اندام هوایی) تحت تاثیر هورمون‌های تنظیم کننده رشد طولی سلول و نیز تقسیم سلولی، یعنی اسید جیبرلیک و اکسین قرار می‌گیرد که هرگونه اختلال در عمل این دو هورمون می‌تواند سبب بازدارندگی رشد گیاه شود.تحقیقات نشان داده اند که برخی از ترکیبات آللوشیمیایی از طریق بازدارندگی در انتقال اکسین در سطوح طبیعی این هورمون اختلال ایجاد کرده و منجر به توقف رشد و ساختار غیرطبیعی ریشه می‌شود(۵). از سوی دیگر گزارش شده است که این ترکیبات سبب مهار و کاهش فرآیندهای تنفسی گشته که در نتیجه آن میزان ATP کاهش یافته که این امر می تواند با کاهش رشد بافت‌های تیمار شده ارتباط داشته باشد(۲٦).

از سوی دیگر عصاره آبی کلزاهای رشد داده شده در تنش‌های شوری مختلف، سبب کاهش معنی‌دار مقدار کلروفیل a,b نسبت به شاهد می شود. کاهش کلروفیل توسط ترکیبات آللوشیمیایی ممکن است نتیجه توقف مسیر بیوسنتز، تحریک مکانیسم‌های تخریبی آن و یا هر دو حالت باشد. در این رابطه، گزارش شده است که ترکیبات فنولیک در فعالیت آنزیم Mg-کلاتاز، که مسوول تبدیل پروتوپرفیرین به Mg-پروتوپرفیرین، ممانعت می‌کند که این عمل منجر به کاهش مقدار کلروفیل می‌شود(۳٤). همچنین برای تخریب کلروفیل، آنزیم‌های کلروفیلازو Mg-دکلاتاز (۲۰،۱۹) دخالت می‌کنند که ترکیبات آللوشیمیایی می‌تواند سبب افزایش فعالیت آنها گردند(۳٤).

از سوی دیگر فعالیت آنزیم نیترات ردوکتاز در لپه و ریشه گیاهک سویا در تیمارهای مختلف، روند معکوس را طی می‌کند. بدین معنی که در ریشه، بیشترین فعالیت آنزیم در عصاره آبی کلزای رشد کرده در دسی زیمنس EC=10 و در لپه کمترین فعالیت آنزیم در این تیمار دیده می‌شود که این امر نشان دهنده تفاوت حساسیت آنزیم در دو بخش مختلف گیاه می‌باشد. تحقیقات نشان می دهد که فعالیت آنزیم نیترات ردوکتاز تحت شرایط تنش شوری در اندام‌های مختلف متفاوت است(۱٤).

از سوی دیگر مطالعاتی نیز وجود دارد مبنی بر اینکه ترکیبات آللوشیمیایی می‌توانند ساختار، عملکرد و نفوذپذیری غشاء را تحت تاثیر قرار دهند(۲۵). از آنجایی که محیط کشت هوگلند حاوی نمک‌های نیتراتی است، بنظر می‌رسد وجود عصاره آبی کلزای تحت تنش شوری، سبب افزایش نفوذپذیری غشاء سلول‌های ریشه گشته و افزایش میزان نیترات، موجب القاء و تحریک فعالیت نیترات ردوکتاز در این بخش از گیاه گردد.

بر اساس نتایج بدست آمده، عصاره آبی استخراج شده از کلزاهای کشت داده شده در تنش‌های شوری مختلف، سبب کاهش فعالیت پراکسیداز و کاتالاز در ریشه، ساقه و لپه گیاهک سویا در محیط کشت هیدروپونیک می‌شود. پژوهش‌های متعددی، نشان می‌دهند که در حضور مواد آللوشیمیایی، تغییراتی در سیستم‌های اکسیداسیون و احیاء در میتوکندری ایجاد شده که منجر به تشکیل گونه‌های اکسیژن فعال(ROS) می‌شود که در انتقال پیام و مکانیسم‌های دفاعی گیاهان نقش داشته و تجمع آنها در سلول‌های گیاهی در پاسخ به آلودگی حاصل از عوامل بیماری زا مطلوب بوده و لیکن بعلت پراکسیداسیون غشاء لیپیدی و از هم پاشیدن رشته DNA سبب مرگ سلول می‌شود(۱۳).

www.SID.ir

Archive of SID

همچنین مواد آللوشیمیایی فعالیت پراکسیداز، دیسموتاز و پراکسیداز گیاه گیرنده را کاهش داده که طی این عمل، رادیکال‌های آزاد اکسیژن در سلول افزایش می‌یابد. تجمع رادیکال‌های آزاد، موجب پراکسیداسیون لیپیدها و از جمله غشاء گشته و ساختار آن را متلاشی می‌سازد. رسانایی الکترونی سلول بعلت آزاد شدن یون افزایش و ساختار اندامک‌هایی نظیر کلروپلاست و میتوکندری را تخریب می کند و در نهایت کاهش فتوسنتز و افزایش تنفس، باعث کمبود میزان انرژی و در نهایت افت رشد می شود(۲۹).

نتایج حاصل از این تحقیق نیز، نشان داد که تنش شوری، سبب افزایش توان دگرآسیبی کلزا می شود. بدین معنی که عصاره آبی حاصل از کلزاهای کشت شده در تنش ملایم (EC=6 دسی زیمنس بر متر) و تنش شدید (EC=10 دسی زیمنس بر متر) سبب کاهش رشد ریشه، اپی‌کوتیل، کلروفیل a,b در لپه‌ها و نیز فعالیت آنزیم‌های پراکسیداز و کاتالاز در سه بخش لپه، ساقه و ریشه و نیز فعالیت آنزیم نیترات ردوکتاز در لپه‌های گیاهچه سویا تحت شرایط هیدروپونیک می شود.

منابع

۱- انصاری،ص.(۱۳۸٤). بررسی اثردگر آسیبی عصاره آبی و پوسانده دو رقم کلزا(Hyola401, PF) بر درصد جوانه زنی و پارامترهای رشد دانه های سویا ،گندم و جو. پایان نامه کارشناسی ارشد .دانشگاه آزاد اسلامی واحد گرگان، صفحه ۵۱.

۲-مازندرانی، م.(۱۳۸۵). بررسی اثر آسکوربات بر توان آللوپاتیکی کلزا (رقم هایولا) از طریق مطالعه درصد جوانه زنی، رشد و فعالیت آنزیم های آنتی اکسیدانی دو رقم سویا(سپیده و DPX) . . پایان نامه کارشناسی ارشد .دانشگاه آزاد اسلامی واحد گرگان،ص ۱۰۲.

3-Belles D. (2003). Glucosinolate biosynthesis, genetics and allelopathic potential. Bioagricultural science and pest management Dept. Colorado state University, Fort collins, Co 80523.

4-Bruisma, J. (1963). The quantitative analysis of chlorophyll a & b in plant extract. Photochem.photobiol. 2: 241-249.

5-Brunn, S.A., Muday, G.K and Haworth, P. (1992). Auxin transport and the interaction of phytotropins. Plant Physiole. 98: 151-157.

6-Chance, B and Maehley, A. (1955). Assay of catalases and peroxidase, Methods in enzymology, 2, 764-775.

7-Dey, P.M and Hborne, J.B. (1997). Plant biochemistry. Sandiego. Academic press. Pp: 453-458.

8-Duck, S.O., Scheffler, B.E., Dayan, F.E., Weston, L.A and Ota, E. (2001). Strategies for using transgenes to produce allelopathic crops. Weed Tech 15: 825-834.

9-Einhelling, F.A. (1996). Intractions involving allelopathy in cropping systems. Agronomy Journal. 88: 869-893.

10-Einhelling, F.A and Leather, G.R. (1998). Potentials for exploting allelopathy to enhance crop pruduction. J. Chem-Ecol. 14(10):1829-1842.

11-Fahey, J.W., Zalcmann, T and Talalay,A(2001). The chemical diversity and distribution of glucosinolate and is thiocyonates among plants. Phytochemistry. 57: 23-32.

12-Galindo, J and Dayon, F.E, (1999). Dehydrozahizanin C, a naturae sesquiterpenoide, causes rapid plasma memberane leakage phytochemistry. 52: 805-813.

13-Huckelhoven, R and kogel, K.H. (2003). Reactive oxygen intermediates in plant-microbe interactions: who is who in powdery mildew resistance. 216: 891-902.

14-Katalin, N., Omarov R.T., Evdei, L and Hermanlips S. (2000). Distribution of the Mo-enzymes. aldehyde oxidase xanthine dehydrogenase and nitrate reductase in maize (*Zea maiz* L.) nodol roots as affected by nitrogen and salining .Plant Sci. 155: 45-58.

15-Kidd, P.S and Proctor, J. (2000). The growth respense of ecotypes of *Holcus lanatus* L. from different soil types in north western europe to phenolic acids. Plant Biol. 2: 335-343.

16-Kong, C.H., Hu, F and Xu, X.H. (2002). Allelopathic potential and chemical constituents of voliatiles from *Ageratum conyzoids* under stress. J. Chem.Ecoli. 28: 1173-1182.

17-Koroi, S.A.A. (1989). Gele electrophores tishe and spectrophoto metrscho unter uchungen zomeinfiuss der tem pelature auf straktur der

www.SID.ir

Archive of SID

amylase and peroxidose isoenzyme. Physiol.Veg, 20: 15-23.

18-Li, C.W. (1998). Glassi fication and evolution of mustard crop (*Brassica juncea*) in china. Cruciferae new letter. 5: 33-36.

19-Lobon, N.C., Gallego, J.C.A., Diaz, T.S and Gracia J.C.E. (2002). Allelopathyic potential of cistrus ladanifer chemicals in response to variations of light and temperature. Chemoecology. 12: 139-143.

20-Matile, P., Hartensteiner, S., Thomas, H and Krautler, B. (1996). Chlorophyllase in the chloroplast envelope. Planta. 201: 96-99.

21-Mithen, R. (2001). Glucosinolate-biochemistry, genetics and biological activity Plant Growth Regulation. 34: 91-103.

22-Muscdo, A., panucci, M. R and Sidari, M. (2001). The effect of phenols on respiratory enzymes in seed germination respiratory enzyme activities during germination of *Pinus larico* seeds treated with phenols extracted from different forest soils. Plant growth Regu. 35: 31-35.

23-Narwal, S.S and Tauro, P. (1996). Suggested methodology for allelopathy: field observations and Methodology. P. 255-260.

24-Peng, S.L., Wen, J and Guo, F. Q. (2004). Mechanism and active variety of allelochemicals. Acta Botanica Sinica. 46(7): 757-760.

25-Politycka, B. (1999). Free and glucosinolated phenolated phenolic. Phenol.beta glucosyltransferase activity and memberane permiability in cucumber roots affected by derivatives of cinnamic and benzoic acids. Phytochemistry. 52: 805-813.

26-Rassmussen, J,A., Heji, A.M., Einhelling, F.A and thomas, J.A. (1992). Sorgoleone from root exudate inhibits mitochondriae functions. J. Chem.Ecol. 15(2): 197-207.

27-Reigosa, M.J., Pedroe, N., Sanchez, A.M and Gonzales, L. (2002). Stress and allelopathy. In: allelopathy, from molecules to ecosystem, Reigosa M.J and pedrol, N. Eds. Science publishers En field, new Hampshire.

28-Rice, E.L. (1984). Allolopathy. 2nd ed. Academic press. Orland pp: 226-291.

29-Shiming, L. (2003). Allelopathy in south china agroecosystems institute of tropical and subtropical ecology. P: 40-54.

30-Sym, G.L. (1984). Optimisation of the *invivo* assay conditions for nitrate reductase in barly. J. Sci.Food.Agri, 35: 725-730.

31-Tollsten, L and Bergstrom, G. (1998). Headscope volatiles of whole plant and macerated plant parts of *Brassica* and Sinapis. Phytochemistry. 27: 4013-1018.

32-Turk, M.A and Tawaha, A. M. (2002). Inhibitory effects of aqueous extracts of black mustard on germination and growth of lentil. Pak. J. Agronom. 1(1): 20-30.

33-Turk, M.A and Tawaha, A.M. (2003). Allelopathic effects of black mastard (*Brassica napus* L.) on germination and growth of wild oat (*Avena fatua* L.). Crop protection 22: 673-677.

34-Yang, C.M., Chang, I.F and Lin, S.J. (2004). Effect of the three allelopathic phenolics on chlorophyll accumulation of rice (*Oryza sativa*) seeding: II. Stimulation of consumption-Orientation.Bot.Bull.Acad. 45:112-125.

35-Zeng, R.S., Luo, S.M., Shi, Y.H., Shi, M.B and Tu, C.Y (2001) physiological and biochemical mechanism of allelopathy of secalonic acid of higher plants. Agronomy Journal. 93: 72-79.

www.SID.ir

Archive of SID

The effect of salinity stress on allelopathic potential of canola by studying some growth factors, chlorophyll a ,b amount, antioxidant enzyme and nitrate reductase activity of soybean seedlings in hydroponic culture.

Niakan.M,Tajari.M and Ghorbanli.M

biology Dept., Islamic Azad University, Gorgan I.R. of IRAN

Abstract

Salinity stress is one of the important factors that changes the metabolism pathways that effects the synthesis of primary and secondry metabolithes, as allelochemicals.Canola have special allelochemical compounds that are called glucosinolates. Soybean is planted after canola and is sensitive to canola allelochemicals.The aim of this research was to study the allelopathic potential of canola by studying its effect on root and epicotyl growth, chlorophyll a and b amounts and catalase, peroxidase and nitrate reductase activity in soybean seedlings in hydroponic culture.The seeds of canola(*Brassica napus* L.*cv* Hyola401) was grown in soils with salinity 0, 6 and 10 dS/m in pots and in 3-5 leaf stage of total plant was extracted.This extraction was added to Hoagland culture contain soybean seedling in %70 cocentration .The results showed with to increasing salinity, allelopathic potential of canola also was increased.The aqueous extract of canola grown in salinity soils decreased chlorophyll a and b amounts in cotyledons, length of root and epicotyl, catalase and peroxidase activity in root and shoot and nitrate reductase activity in cotyledons.

Key word: Salinity, Allelopathy, Canola, Growth Soybean

www.SID.ir