تغییر نفوذپذیری غشاهای زیستی و فعالیت آنزیمهای آنتی اکسیدانی گیاه سویا در پاسخ به دمای پایین

لیلا زینالی یادگاری*، رضا حیدری و ژیرایر کاراپتیان

ارومیه، دانشگاه ارومیه، دانشکده علوم، گروه زیست شناسی

تاریخ دریافت: 86/12/21 تاریخ پذیرش: 87/9/3

چکیده

گیاه سویا (*Glycine max*) یکی از گیاهان بومی مناطق گرمسیری است که در مناطق معتدله نیز به فراوانی کشت می شود . به علت اهمیت غذایی و دارویی این گیاه و نیز حساس بودن آن نسبت به دمای محیط رشد و حیاتی بودن سلامت غشا های زیستی در ادامه رشد و تولید محصول، اثر پیش تیمار دمای پایین غیر انجمادی و پاسخ گیاه به این دما مورد بررسی قرار گرفت. ابتدا گروهی از دانه رستهای 10 روزه سویا به دمای 15 درجه سانتی گراد (پیش تیمار سرما) و گروهی دیگر به دمای 25 درجه سانتی گراد (بدون پیش تیمار سرما) برای 24 ساعت منتقل شدند. سپس هر دو دسته به دمای 4 درجه سانتی گراد (تیمار سرما) انتقال یافتند . پس از 24 ساعت همه گیاهان به دمای 25 درجه سانتی گراد(فاز بهبودی) منتقل شده و بعد از 24 ساعت نمونه برداری انجام شد. نمونه برداری هر 24 ساعت یکبار و بطور منظم از تیمارها و گروه شاهد در سه تکرار انجام گرفت. با اندازه گیری فعالیت آنزیمهای آسکوربات پراکسیداز(APX)، گایاکل پراکسیداز(GPX) و میزان هدایت الکترولیتی غشا، مشخص شد که اعمال پیش تیمار سرما ، باعث افزایش مقاومت گیاه در برابر سرمای متعاقب آن شده و توان زیستی گیاه را به میزان زیادی افزایش می دهد و نیز گیاهان پیش تیمار دیده سریعتر از گیاهان بدون پیش تیمار به حالت عادی بر می گردند.

واژه های کلیدی: آنتی اکسیدان، آسکوربات پراکسیداز، پیش تیمار سرما، گایاکل پراکسیداز، هدایت الکترولیتی

* نویسنده مسئول، تلفن تماس: 09141498593 ، پست الکترونیکی: zeinali_l@yahoo.com

مقدمه

هر گیاه دارای نیازهای دمایی منحصر بفردی است که برای رشد ونمو بهینه آن گیاه لازم است . دمای پایین یکی از تنشهای غیر زیستی محیطی است که منجر به وارد آمدن صدمات فراوان و گاه جبران ناپذیری به گیاهان در سراسر جهان می شود و میانگین تولید محصولات زراعی را به مقدار زیادی کاهش می دهد (۴). بسیاری از گیاهان بخصوص آنهایی که بومی مناطق گرمسیری هستند ، علائم صدمات ناشی از دماهای پایین را نشان می دهند (۱۸). گیاهانی مثل ذرت (*Zea mays*) ، سویا (*Glycine max*) ، کتان (*Gossypium hirsutum*)، گوجه فرنگی (*Lycopersicon esculentum*) و موز (*Muza sp.*) به دماهای زیر 15-10 درجه سانتی گراد حساسند و علایم ناشی از صدمات سرمایی را نشان می دهند(6، 12 و 18). این علایم بین 48 تا 72 ساعت بعد از قرار گرفتن در معرض سرما بروز می کنند. این مدت زمان از یک گیاه به گیاه دیگر متغیر است. همچنین به میزان حساسیت گیاه به دماهای پایین نیز بستگی دارد(۲۲). این حالت شبیه فرآیندی است که در گیاهان چند ساله در پاییز رخ می دهد(۸). محققان زیادی اثر دما های پایین را روی گیاهان مختلف و چگونگی سازگاری آنها بررسی کرده اند (۱۰، 15، 27). در تمام تنشهای اکسیداتیو گونه های فعال اکسیژن، در اندامکهای مختلف سلولی تولید می شود که

Archive of SID
www.SID.ir

گاهی بر بخشهای مختلف سلول صدمات جبران ناپذیری وارد می کند(7، 21). این صدمات عبارتند از :

1- مهار آنزیمهای حساس

2- تخریب کروفیل یا اصطلاحاً بیرنگ شدن

3- پراکسید اسیون لیپید توسط رادیکال های آزاد، H_2O_2 و اکسیژن منفرد به اسیدهای چرب غیر اشباع حمله کرده و تولید هیدروپراکسیدهای لیپید می کند و در حضور کاتالیستهای فلزی ، رادیکالهای آلکوکسیل و پراکسیل می دهد که واکنشهای زنجیره ای تخریبی را در غشا به راه می اندازد و باعث تغییر و تخریب ساختار لیپیدی و سازمان بندی غشا می شوند(2 و 28). بعلاوه برخی آلدئیدها و هیدروکربنهای حاصل از پراکسیداسیون لیپیدی اثرات سمیت سلولی در سیستمهای جانوری دارد (9).

4- حمله نا محسوس رادیکالهای هیدروکسیل به مولکولهای آلی مثل DNA و گروهی از ماکرو مولکولهای اکسید شده در اثر حمله $OH^{\cdot}$ قابل تشخیص و باعث تغییر و شکست زنجیره می شود که ممکن است تعمیر آن مشکل و یا تحمل آن دشوار باشد (14).

پروتئینها در معرض $OH^{\cdot}$ تغییرات شاخصی یافته که شامل تغییر اسید آمینه های ویژه، قطعه قطعه شدن پلی پپتید، رسوب، تخریب و تجزیه پروتئین می باشد (26).

سازگاری به سرما یکی از راههای کاهش این آسیبها ست وازآنجا که سویا گیاهی حساس به سرماست و خطر سرمای ناگهانی بهاره و پاییزه آن را تهدید می کند، لذا در این تحقیق اثر پیش تیمار سرما و نقش آن در سازگاری این گیاه اقتصادی به دماهای پایین با ارزیابی فعالیت آنزیمهای آسکوربات پراکسیداز، گایاکل پراکسیداز و تمامیت غشاها و میزان آسیب وارده به این غشاها بررسی شده است.

مواد و روشها

آماده سازی و اعمال تیمارها: بذرهای سویا از شرکت دانه های روغنی مرکز اردبیل خریداری گردید. بذر های سالم و هم اندازه بوسیله مایع ضد عفونی کننده (آب ژاول) 3 درصد چند دقیقه ضد عفونی و سپس به مدت 6 ساعت در آب مقطر خیسانده شده و در پتری دیشهای حاوی کاغذ صافی دو لایه در فواصل منظم قرار گرفته و به هر پتری دیش 15 میلی لیتر آب مقطر اضافه شد. برای جوانه زنی 48 ساعت در آون 23 درجه سانتی گراد قرار گرفت. سپس به گلدانهای حاوی ماسه شسته شده منتقل و بطور مرتب با محلول غذایی هوگلند نیم قدرت (محلول هوگلند و آب مقطر به نسبت ۱:۱) ، آبیاری شدند. گیاهان در شدت نور $۲۵۰\ \mu mol\ m^{-2}s^{-1}$ و رطوبت نسبی ۷۰ درصد رشد یافتند. گروهی از دانه رستهای 10 روزه سویا به دمای 15 درجه سانتی گراد (پیش تیمار سرما) و گروهی دیگر به دمای 25 درجه سانتی گراد (بدون پیش تیمار سرما) برای 24 ساعت منتقل شدند. سپس هر دو دسته به دمای 4 درجه سانتی گراد (تیمار سرما) انتقال یافتند . پس از 24 ساعت همه گیاهان به دمای 25 درجه سانتی گراد (فاز بهبودی) منتقل شده و بعد از 24 ساعت نمونه برداری انجام شد. نمونه برداری هر 24 ساعت یکبار و بطور منظم از تیمارها و گروه شاهد در سه تکرار انجام گردید.

تهیه عصاره گیاهی برای اندازه گیری فعالیت آنزیمها: برای تهیه عصاره گیاهی از روش Chang وKao با اندکی تغییر استفاده شد(۵). ۰/۵گرم از وزن تر بافت گیاهی (ریشه واندام هوایی) به طور جداگانه از کلیه تیمارها توزین و در هاون سرد به همراه 3 میلی لیتر از بافر (شامل : بافر تریس- HCl ۰/۰۵ مولار با pH 7.5 ، $MgCl_2$ 3 میلی مولار ، EDTA 1 مولار) ساییده شده و به لوله آزمایش منتقل گردید. مجدداً هاون با 3 میلی لیتر بافر شستشو و محتویات آن به همان لوله منتقل شد. بافر استخراجی برای اندازه گیری فعالیت آنزیم آسکوربات

Archive of SID

www.SID.ir

پراکسیداز (APX) حاوی 2 میلی مولار آسکوربات نیز بود. سپس محلول حاصله بمدت 20 دقیقه درg 5000 سانتریفوژشد. محلول رویی حاصله برای اندازه گیری فعالیت آنزیمهای آنتی اکسیدانتی مورد استفاده قرار گرفت.

اندازه گیری فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز ریشه و اندام هوایی: فعالیت آنزیم APX در تمام تیمارها و تکرارها با استفاده از روش Asada با اندکی تغییرات، اندازه گیری شد (3). 2/5 میلی لیتر بافر فسفات 50 میلی مولار با pH7 (شامل : EDTA 0/1 میلی مولار، آسکوربات 0/5 میلی مولار و 0/2 میلی لیتر H_2O_2 1 درصد W/V) برداشته و روی آن 0/4 میلی لیتر عصاره آنزیمی استخراج شده اضافه، سپس فعالیت آنزیم از طریق اکسیداسیون آسکوربات توسط دستگاه اسپکتروفتو متر (مدل WPA S2100) در طول موج 240 نانومتر اندازه گیری شد که با کاهش جذب در طی یک دقیقه همراه بود.

Units (mM/min) = dOD /min (slope) × Vol. of assay (0.0004) / mM Extinction coefficient (13.4)

اندازه گیری فعالیت آنزیم گایاکل پر اکسیداز(GPX): فعالیت آنزیم گایاکل پراکسیداز در کلیه تیمارها و تکرارها با استفاده از روش Chang و همکاران انجام گرفت (6).

2/5 میلی لیتر از بافر فسفات 50 میلی مولار برداشته و روی آن 1 میلی لیتر H_2O_2 1 درصد (w/v) ،1 میلی لیتر گایاکل 1 درصد و 0/3 میلی لیتر عصاره آنزیم استخراجی اضافه گردید و فعالیت آنزیم در یک دقیقه با اسپکتروفتومتر در طول موج 420 نانومتر اندازه گیری شد

.

Units (mM /min) = dOD / min (slope) × Vol. of assay (0.0003L) / mM Extinction coefficient (26.6)

سنجش هدایت الکترولیتی: برای هر تیمار 6 برگ از سه گیاه جهت اندازه گیری میزان نشت الکترولیت مورد استفاده قرار گرفت . برگهای نمونه برداری شده با آب دوبار تقطیر برای زدودن هر گونه یونهای احتمالی موجود در سطح برگی، شستشو داده شدند. دیسکهای برگی به قطر 7 میلی متر و ریشه های کامل هر گیاه در لوله های آزمایش قرار گرفتند. در هر لوله 15 میلی لیتر آب مقطر اضافه شده و به مدت 24 ساعت به حال خود رها شدند. بعد از آن میزان هدایت محلولها توسط دستگاه هدایت سنج اندازه گیری شد. محلولها برای یک ساعت در بن ماری جوشان قرار گرفتند تا دیواره های سلولی کاملاً تخریب شود. میزان هدایت محلولها بعد از آن ثبت گردید. دومین اندازه گیری برای به دست آوردن هدایت خالص غشا می باشد. درصد هدایت الکترولیتی با تقسیم هدایت اولیه بر هدایت ثانویه بدست آمد (۱۳).

نتایج و بحث

گیاه سویا با منشاء گرمسیری به طور طبیعی حساس به سرما می باشد (19). نتایج این تحقیق نشان داد که اعمال پیش تیمار 15 درجه به دانه رستهای آن باعث افزایش مقاومت گیاه به سرما (4 درجه سانتی گراد) می شود و نیز این دسته از گیاهان در فاز بهبودی ، سریعتر و بهتر از گیاهان بدون پیش تیمار سرما (در مقایسه با گیاهان شاهد)، به حالت عادی نزدیک می شوند. این بدان معنی است که گیاه سویا توانسته است در مواجهه با دمای 15 درجه سانتی گراد توانایی لازم جهت مقاومت در دمای 4 درجه سانتی گراد را کسب کند.

تحقیقات نشان می دهند که در طی استرس اکسیداتیو از جمله استرس سرما ، گونه های فعال اکسیژن (ROS) تولید می شود (11 و 25). از این گونه های فعال اکسیژن می توان به آنیونهای سوپر اکسید(O_2^-) و هیدروژن پراکسید($H_2O_2^-$) که از احیا مولکول اکسیژن (O_2) تولید و رادیکالهای هیدروکسیل (OH^-) که از واکنش بین H_2O_2 و O_2^- تولید می شوند ، اشاره کرد. ROS با اکسیداسیون ترکیبات سلولی باعث آسیب به آنها می شود (16). میزان ROS در گیاهان با قرار گرفتن آنها در معرض دماهای پایین و خشکی و شدت نور بالا و سایر استرسهای اکسیداتیو افزایش می یابد (3). همچنین بین تحمل به

Archive of SID

www.SID.ir

دماهای پایین و بیوسنتز و آرایش مجدد غشاهای زیستی در پاسخ به دما ، ارتباط تنگاتنگی وجود دارد. مهمترین اثر دمای پایین، آسیب شدید غشاهای زیستی می باشد (23 و 24). این آسیب عمدتاً به خاطر دهیدراسیون وابسته به سرما است . لیپیدهای غشا از دو نوع اسید چرب غیر اشباع و اسید چرب اشباع تشکیل یافته است. اسیدهای چرب غیر اشباع دارای یک یا بیشتر باند دوگانه بین دو اتم کربن خود هستند در حالی که اسیدهای چرب اشباع فاقد باند دوگانه اند. این امر شناخته شده است که لیپیدهای حاوی اسیدهای چرب اشباع در دماهای بالا بیشتر از لیپیدهای حاوی اسیدهای چرب غیر اشباع به حالت سخت در می آیند. بنابراین اسیدهای چرب غیر اشباع در ایجاد حالت سیالی غشاها نقش به سزایی دارند (24). عموماً بخش اعظم غشای گیاهان حساس به سرما را اسیدهای چرب اشباع تشکیل می دهد بنابراین دمای گذر آنها (Transition Temperature) یعنی دمایی که در آن یک غشا از حالت نیمه سیال به حالت نیمه کریستالی در می آید، بالاتر می باشد. گونه های مقاوم به سرما اسیدهای چرب غیراشباع بیشتری دارند ، در نتیجه دمای گذر آنها پایین تر است.

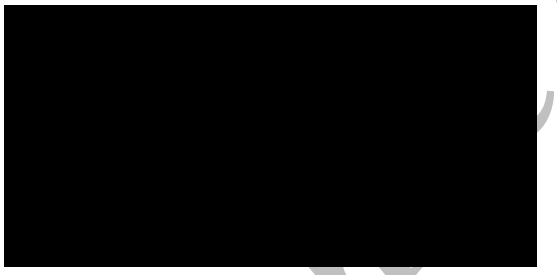
در طی دوره سرما ، رادیکالهای هیدروکسیل ضمن فرآیندی بنام پراکسیداسیون لیپیدها ، صدماتی را به غشاها وارد می کنند . پر اکسیدهای لیپیدی در حضور یون Fe^{+2} و سایر یونهای فلزی احیا شده (مثل Cu^{+}) ناپایدارند، به طوری که با شرکت در واکنش فنتون ، منجر به تشکیل رادیکال آلکوکسی فعال می گردند.

$$ROOH + Fe^{+2} \rightarrow OH^{-} + Fe^{+3} + RO^{\cdot}$$

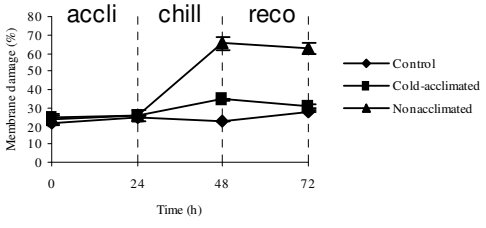
این رادیکال آلکوکسی همان اثر تخریبی رادیکالهای هیدروکسیل را داراست و باعث به راه افتادن آبشاری از واکنشهای اکسیداتیو می شود (1). لذا غشاهای زیستی آسیب دیده و قابلیت نفوذ پذیری آنها مختل می شود. همین امر باعث نشت الکترولیتها به خارج سلول می شوند.

اما پیش تیمار سرما این واکنشهای تخریبی را کاهش داده توان مقابله گیاه در سرما را بالا می برد.

همانطور که از نمودارها پیداست، با قرار گرفتن گیاه (هم ریشه و هم برگ) در دمای 15 درجه، نفوذپذیری غشاها تغییر چندانی نشان نداد. با انتقال به دمای 4 درجه سانتی گراد نفوذپذیری غشاها بطور کاملاً بارز افزایش یافت .این افزایش در مورد گیاهانی که مستقیما از 25 درجه سانتی گراد به 4 درجه سانتی گراد منتقل شده بودند (هم ریشه وهم برگ) بسیار قابل توجه بود واختلاف معنی داری را با گروه شاهد نشان داد. این موضوع در مورد گیاهان پیش تیمار دیده نیز مشاهده شد ولی اختلاف به اندازه گروه بدون پیش تیمار نبود. در فاز بهبودی گیاهان پیش تیمار سرما دیده در مقایسه با گروه بدون پیش تیمار تقریبا توانستند بخوبی به شرایط طبیعی بازگردند (نمودارهای 1و2).



نمودار1- تغییرات نفوذ پذیری غشا (درصد) در ریشه های گیاه سویا با پیش تیمار سرما (15 درجه سانتی گراد) و بدون پیش تیمار سرما (25 درجه سانتی گراد) در طی دوره سازگاری (15 درجه سانتی گراد) فاز سرما (4 درجه سانتی گراد) و فاز بهبودی (25 درجه سانتی گراد). میانگین 3 تکرار ±SE .



نمودار2- تغییرات نفوذپذیری غشا (درصد) در برگ های گیاه سویا با پیش تیمار سرما (15 درجه سانتی گراد) و بدون پیش تیمار سرما

Archive of SID
www.SID.ir

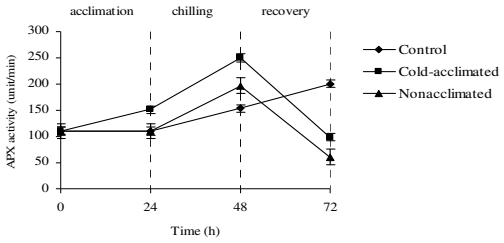
(25 درجه سانتی گراد) در طی دوره سازگاری (15 درجه سانتی گراد) از سرما (4 درجه سانتی گراد) و فاز بهبودی (25 درجه سانتی گراد). میانگین 3 تکرار ±SE .

گایاکل پراکسیداز یکی از آنزیمهای آنتی اکسیدان موجود در گیاهان است که در کنار سایر آنزیمهای آنتی اکسیدان از جمله آسکوربات پراکسیداز و کاتالاز مسئولیت حفاظت از گیاه را در برابر تنشهای اکسیداتیو به عهده دارد. این آنزیم در آپوپلاست و واکوئل ، آب اکسیژنه را از محیط سلول زدوده و از L – آسکوربیک اسید به عنوان دهنده الکترون استفاده می کند و در محیط غیر زنده از مواد فنلیک مثل گایاکل به عنوان واسطه ردوکس استفاده می کند. آسکوربات پراکسیداز ترکیب کلیدی سیستم جاروب کننده آب اکسیژنه در سیتوزول و کلروپلاست گیاهان عالی است. کاتالاز آنزیم دیگری است که پر اکسید هیدروژن را به آب تبدیل می کند. فعالیت همه این آنزیمهای آنتی اکسیدان در تنش سرما افزایش می یابد (8).

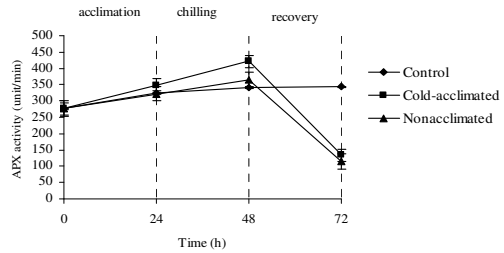
O'Kan و همکاران در سال 1996 نشان دادند که با قرار دادن آرابیدوپسیس در معرض سرما ، H_2O_2 در سلولها انباشته شده ودر نتیجه فعالیت APX وGR و GPX افزایش می یابد(20). Kuk و همکاران نیز در سال 2003 به این نتیجه رسیدند که وقتی گیاهان برنج در دمای 5 درجه سانتی گراد قرار می گیرند فعالیت آنزیمهای APX و CAT و GR افزایش می یابد(17).

در این تحقیق فعالیت APX در ریشه های قرار گرفته در دمای 15 درجه سانتی گراد نسبت به گروه شاهد ، افزایش نشان داد. وقتی همین گیاهان به دمای 4 درجه سانتی گراد منتقل شدند ، این افزایش ادامه داشت و در فاز بهبودی ، کاهش داشت . هنگامیکه گیاهان مستقیما از دمای 25 درجه سانتی گراد به دمای 4 درجه سانتی گراد منتقل شدند فعالیت APX نسبت به گروه شاهد بطور ناگهانی و معنی دار افزایش یافت. هر دو گروه گیاهی در فاز بهبودی ، کاهش فعالیت APX را نشان دادند (نمودار3). همین وضعیت در برگها نیز مشاهده شد با این تفاوت که افزایش فعالیت نسبت به برگهای گروه شاهد اختلاف زیادی نداشت، ولی در فاز بهبودی از فعالیت APX به میزان زیادی کاسته شد (نمودار4).

در ریشه ها و برگهای گیاهانی که از ۱۵ درجه سانتی گراد به ۴ درجه سانتی گراد منتقل شده بودند فعالیت GPX نسبت به گروه شاهد افزایش نشان داد. اختلاف بین این دو گروه معنی دار بود. همچنین بین میزان فعالیت GPX در 24 ساعت اول در گروهی که از ۱۵ درجه سانتی گراد به ۴ درجه سانتی گراد منتقل شده بودند نیز اختلاف معنی دار بود. بین 24 ساعت اول ، دوم و سوم هم این اختلاف معنی دار مشاهده شد (نمودارهای 5 و 6).

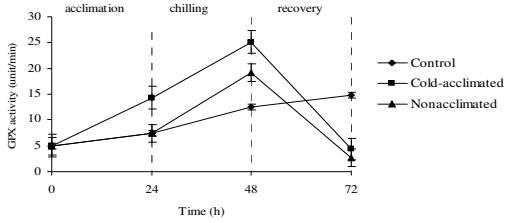


نمودار3- تغییرات فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز(APX) در ریشه های گیاه سویا با پیش تیمار سرما (15 درجه سانتی گراد) و بدون پیش تیمار سرما (25 درجه سانتی گراد) در طی دوره سازگاری (15 درجه سانتی گراد) فاز سرما (4 درجه سانتی گراد) و فاز بهبودی (25 درجه سانتی گراد). میانگین 3 تکرار ±SE .

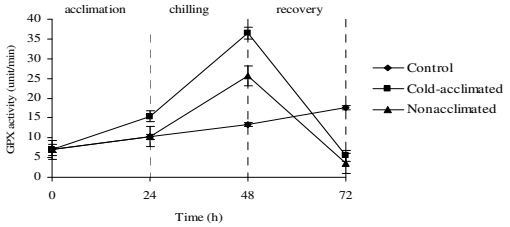


نمودار4- تغییرات فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز(APX) در برگ های گیاه سویا با پیش تیمار سرما (15 درجه سانتی گراد) و بدون پیش تیمار سرما (25 درجه سانتی گراد) در طی دوره سازگاری (15 درجه سانتی گراد) فاز سرما (4 درجه سانتی گراد) و فاز بهبودی (25 درجه سانتی گراد). میانگین 3 تکرار ±SE .

Archive of SID
www.SID.ir



نمودار5- تغییرات فعالیت آنزیم گایاکل پراکسیداز(GPX) در ریشه های گیاه سویا با پیش تیمار سرما (15 درجه سانتی گراد) و بدون پیش تیمار سرما (25 درجه سانتی گراد) در طی دوره سازگاری (15 درجه سانتی گراد) فاز سرما (4 درجه سانتی گراد) و فاز بهبودی (25 درجه سانتی گراد). میانگین 3 تکرار ±SE .



نمودار6 - تغییرات فعالیت آنزیم گایاکل پراکسیداز(GPX) در برگ های گیاه سویا با پیش تیمار سرما (15 درجه سانتی گراد) و بدون پیش تیمار سرما (25 درجه سانتی گراد) در طی دوره سازگاری (15 درجه سانتی گراد) فاز سرما (4 درجه سانتی گراد) و فاز بهبودی (25 درجه سانتی گراد). میانگین 3 تکرار ±SE .

همانطور که نتایج نشان می دهد، فعالیت دو آنزیم آنتی اکسیدانAPX وGPX در اثر سرما افزایش یافته و این افزایش فعالیت نشان دهنده میزان تولید گونه های فعال اکسیژن از جمله پراکسید هیدروژن و رادیکالهای هیدروکسیل افزایش یافته است .نتایج در فاز بهبودی نشان می دهد که سیستم آنتی اکسیدانی گروه پیش تیمار دیده کارآمدتر از گروه بدون پیش تیمار بوده به طوری که گروه پیش تیمار دیده توانسته است در این فاز سریعتر و بهتر از گروه دوم به شرایط عادی باز گردد. این امر با کاهش صدمات غشایی در فاز بهبودی نیز تأیید می شود.

منابع

1. Ajay Arora, R.K.Sairam and G.C.Srivastava. 2002. Oxidative stress and antioxidative system in plants.Current Science.82:10-25.
2. Anderson M.D., T.K. Prasad, and C.R. Stewart 1995. Changes in isozyme profiles of catalase, peroxidase, and glutathione reductase during acclimation to chilling in mesocotyls of maize seedlings. Plant Physiol. 109:1247-1257
3. Asada K., 1997. Oxidative stress and the molecular biology of antioxidant defences, ed. JG Scandalios, New York: Cold Spring Harbor Lab. Press.715-35.
4. Bray E.A., J. Bailey-serres, E. Wweretilnyk, 2000. Responses to abiotic stresses, in: W. Gruissem, B. Buchannan, R. Jones (Eds.) Biochemistry and Molecular Biology of Plants, American Society of Plant Biologists, Rockville. MD, pp.158-1249.
5. Chang C.J., Kao C.H., 1998. H_2O_2 metabolism during senescence of rice leaves: changes in enzyme activities in light and darkness. Plant Growth Regulation. 25:11-15.
6. Chang M.Y., Chen S.L., Lee C.F., Chen Y.M., 2000. Cold-acclimation and root temperature protection from chilling injury in chilling-sensitive mungbean (*Vigna radiate* L.)seedlings. Bot. Bull. Acad. Sin, 42:53-60.
7. Chang M.Y., S.L. Chen, C.F. Lee, and Y.M. Chen, 2000. Cold-acclimation and root temperature protection from chilling injury in chilling-sensitive mungbean (*Vigna radiate* L.)seedlings. Bot. Bull. Acad.Sin, 42:53-60.
8. Daie J., and W.F. Campbell, 1981. Response of tomato plants to stressful temperatures: Increase in abscisic acid concentrations. Plant Physiol, 67:26-29.
9. Elstner E.F., 1991. Mechanisms of oxygen activation in different compartments of plant cells. In E.J. Pell and K.L. Steffen, (eds), Active oxygen/oxidative stress and plant metabolism, American Society of Plant Physiologists, Rockville. 13-25.
10. Funatsuki H., S. Matsuba, K. Kawaguchi, T. Murakami, and Y. Sato, 2004. Methods for evaluation of soybean chilling tolerance at the reproductive stage under artificial climate conditions.Plant Breeding, 123:558-563.
11. Gilmour, S.J., R.K. Hajera, and M.F.Thomashow 1988. Cold acclimation in Arabidopsis thaliana. Plant Physiol. 87:745-750.

Archive of SID
www.SID.ir

12. Hopkins W.G., 1999. The physiology of plants under stress, In: Introduction to Plant Physiology, second ed., Wiley, New York, pp.451-475.

13. Huixia Shou, P.bordallo, J. Fan, J.M. Yeakley, M.Bibikova,J. Sheen and K. Wang 2004. Expression of an active tobacco mitogen-activated protein kinase enhances freezing tolerance in transgenic maize.PNAS101:3298-3303.

14. Kacperska A., 1989. Metabolic concequences of low temperature stress in chilling – insensitive plants, in : P.H. Li (Ed) , Low temperature Stress Physiology in Crops , CRC Press , Boca Raton , FL , pp.27-40

15. Kee-Young Kim, S.W. Park, Y.S. Chung, C.H. Chung, J.I. Kim, and J.H. Lee, 2004. Molecular cloning of low-temperature-inducable ribosomal proteins from soybean, 55:1153-1155.

16. Koh Iba, 2002. Acclimation response to temperature stress in higher plants: Approach of gene engineering for temperature tolerance.Annu. Rev. Plant Biol.53:225-45.

17. Kuk Y.I., Ji San Shin, Nilda R. Burgos , Tay Eak Hwang, Oksoo, Baik Ho Cho, Sunyo Jung, Ja Ock Guh, 2003. Antioxidative enzymes offer protection from chilling damage in rice plants. Crop Sci .43:2109-2117

18. Lynch D.V., 1990. Chilling injury in plants: the relevance of membrane lipids, In: F.Katterman (Ed.), Enviromental Injury to Plants, Academic press, New York, pp.17-34.

19. Muthalif M.M., Rowland L., 1994. Identification of dehydrin-like proteins responsive to chilling of floral buds of bluberry (Vaccinium, section *Cyanoceccus*). Plant Physiol. 104:1439-1447.

20. O´Kane,D.,Gill.V.,Boyd,P., and Burdun,R. 1996.Chilling,oxidative stress and antioxidant responses in *Arabidopsis thaliana* callus. Planta, 198:371-377.

21. Prasad, T.K. 1996. Mechanisms of chilling-induced oxidative stress injury and tolerance: Changes in antioxidant system, oxidation of proteins and lipids and protease activities. Plant J. 10:1017-1026.

22. Shilpi Mahajan, Narendra Tuteja, 2005.Cold, salinity and drought stresses: An overview.10.018

23. Steponkus P.L., 1984. Role of the plasma membrane in freezing injury and cold acclimation, Annu. Rev. Plant Physiol. 35:543-584.

24. Steponkus P.L., M.Uemura, M.S. Webb, 1993. A contrast of the cryostability of the plasms membrane of winter rye and spring oat-two species that widely differ in their freezing tolerance and plasma membrane lipid composition, in : P.L.Steponkus (Ed.), Advances in Low-Temperature Biology, JAI Press, London, 2: 211-312.

25. Venema J.H., L.Villerius, and P.R.Van Hasselt 2000. Effect of acclimation to suboptimal temperature on chilling-induced photo-damage: Comparison between a domestic and a high-altitude Wilde Lycopersicon species. Plant Sci.152:153-163.

26. Wisniewski,M.E., Bassett, C.L., Artlip, T.S., Webb, R.P., Janisiewicz, W.J., Norelli,J.L., Goldway, M., Droby, S., 2003.Characterization of a defensin in bark and fruit tissues of peach and antimicrobial activity of a recombinant defensin in the yeast, *Pichia postoris*. Physiol Plant, 119: 563-572.

27. Yong In Kuk, Ji San Shin, Nilda R. Burgos , Tay Eak Hwang, Oksoo, Baik Ho Cho, Sunyo Jung, and Ja Ock Guh 2003. Antioxidative enzymes offer protection from chilling damage in rice plants. Crop Sci .43:2109-2117

28. Yu , X-M., Griffith, M., Wiseman, S.B., 2001. Ethylene induces antifreeze activity in winter rye leaves. Plant Physiol., 126: 1232-1240.

Archive of SID

www.SID.ir

Changes in Membrane permeability and Antioxidative Enzymes Activity in Response to Low Temperature in Soybean Seedlings

Zeinali Yadegari L., Heidari R., and Carapetian J.

Biology Dept., Faculty of Sciences, Uremia University, Uremia, I.R. of IRAN

Abstract

Soybean (*Glycine max*) is one of the tropical plants that is also cultivated in temperate regions. Because of the nutritional and medical importance of this crop and its sensitivity to growth medium temperature and vital role of impact biomembranes, the effect of low non-freezing temperature and plants response to it was investigated. Plants were exposed to 15°C (cold-acclimated) or 25°C (nonacclimated) for 24h, under 250 µmol $m^{-2}s^{-1}$ photo synthetically active radiations (PAR). Then all plants were exposed to 4°C (chilling temperature) for 24h and allowed to recover at 25°C for 24h. We analyzed the activity of ascorbate peroxidase (APX) and guaiacol peroxidase (GPX), electrolyte leakage in leaves and roots. Chilling sensitive soybean plants can be made tolerant to cold by cold acclimation via exposing the plants to nonfreezing low temperatures.

Keywords: APX, chilling, cold acclimation, electrolyte leakage, GPX.

Archive of SID

www.SID.ir