نشریه پژوهش‌های اکوفیزیولوژی گیاهی ایران، شماره ویژه: پژوهش‌های فیزیولوژی گیاهی، سال نهم، شماره ویژه بهار ۱۳۹۳ / صفحات: ۲۰۴-۱۹۶

بررسی اثر تنش شوری بر ویژگی‌های آنتی اکسیدانی در مراحل جوانه‌زنی، دانه رستی و نموی گیاه سویا (*Glycine max* L. *cv DPX*)

رقیه محمودی*[۱]، آرین ساطعی[۲]، مه لقا قربانلی[۳]

[۱]کارشناسی‌ارشد، گروه زیست‌شناسی، دانشگاه آزاد واحد گرگان، گرگان

[۲] استادیار، گروه زیست‌شناسی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد گرگان

[۳] استاد، گروه زیست‌شناسی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد گرگان

تاریخ دریافت: ۹۱/۷/۱۱ تاریخ پذیرش: ۹۲/۲/۲٤

چکیده

در پژوهش انجام شده،تغییرات فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدانت دانه‌های سویا رقم (*DPX*) در شرایط شوری در مراحل مختلف نمو گیاه از جمله مرحله جوانه‌زنی، دانه‌رستی، مرحله رشد رویشی و زایشي گیاه مورد بررسی قرار گرفت. براساس نتایج حاصل در مرحله جوانه‌زنی و دانه‌رستی آنزیم سوپر اکسید دیسموتاز مقاوم بود وآنزیم های پراکسیدازوکاتالاز از آنزیم‌های حساس این مراحل بودند. درمراحل رویشی و زایشی رشد گیاه، آنزیم‌های پراکسیدازوآسکوربات پراکسیداز از مقاومت نسبی و آنزیم‌های کاتالاز و سوپراکسیددیسموتاز از جمله آنزیم‌های مقاوم در نظر گرفته شدند. با توجه به نتایج بدست آمده یکی از دلایل حساسیت مراحل جوانه‌زنی و رشد رویشی به تنش شوری را می‌توان حساسیت آنزیم‌های مذکور به غلظت‌های بالای نمک و نیز اثرات سمیت اسمزی ویونی کلرور سدیم دانست.

واژه های کلیدی: آسکوربات پراکسیداز، پراکسیداز، سوپراکسیددیسموتاز، کاتالاز، *Glycine max l.cv. DPX*

مقدمه

گیاهان تیرهٔ بقولات ارزش اقتصادی زیادی دارند از جمله سویا که در رژیم غذایی اکثر مردم وجود دارد (مظفریان، ۱۳۸۳) زراعت سویا در اغلب کشورهای دنیا به منظور تولید روغن، پروتئین‌های گیاهی و علوفه صورت می‌گیرد. اهمیت جهانی سویا به‌دلیل درصد پروتئین بالای آن است. اگر ارزش غذایی شیر برابر ۱۰۰ فرض شود، ارزش غذایی گوشت برابر ۷۷ و ارزش غذایی سویا برابر ۷۱ خواهد بود. بنابراین سویا از لحاظ ارزش در جیره غذایی متداول انسان در مقام سوم قرار دارد (آلیاژی و همکاران، ۱۳۷۹).

به‌طورکلی کشور ایران با ۱٦٥ میلیون هکتار وسعت در اکثر نقاط آب و هوای خشک و بیابانی دارد. از کل مساحت ایران ۱۲۰ میلیون هکتار دارای اقلیم خشک و بیابانی و ٤۰ میلیون هکتار دارای اقلیم

*نویسنده مسئول: mahankhalkhali@yahoo.com

معتدل و ۵ میلون هکتار منطقه کوهستانی و مرتفع است. بیش از ۳۰ درصد از اراضی تحت آبیاری در ایران تحت تاثیر شوری ثانویه می‌باشند. بخش عمده مساحت ایران از نظر اقلیمی‌جزء مناطق خشک و نیمه خشک محسوب می‌شود از ویژگی‌های این گونه مناطق تبخیر زیاد و نزولات جوی اندک و پراکنده می‌باشد که در نهایت منجر به تجمع املاح مختلف در لایه سطحی بیشتر خاک‌ها گردیده است (گلدانی و لطیفی، ۱۳۷٦).

شوری سرعت رشد گیاه را کم می‌کند و این بازدارندگی معمولاً به صورت کاهش در طول سطح و حجم اندام‌های مختلف گیاهی، کاهش در تجمع ماده خشک و یا کاهش میزان رشد نسبی گیاه ظاهر می‌شود. بسیاری از گیاهان دارای مکانیسم‌های می‌باشند که یا مانع از ورود شوری به سلول‌ها گشته و یا اینکه سبب تحمل نمک توسط آنها می‌شوند. در طی هجوم و تشدید تنش شوری فرایندهای مهم از قبیل فتوسنتز، سنتز پروتئین و کاتابولیسم لیپید و انرژی تحت تاثیر قرار می‌گیرند (Tsui-Hung et al., 2008).

بیشتر تنش‌های فیزیولوژیکی منجر به اختلال در متابولیسم گیاهی شده و باعث ایجاد آسیب اکسیداتیو از طریق افزایش در تولید ROS می‌گردد (Wu et al., 2006). از آنجایی که گیاهان مکانیسم‌های محدودی جهت دوری از استرس دارند، لذا با شرایط متغیر محیطی سازگاری پیدا می‌کنند. گیاهان و سایر موجودات زنده طیف وسیعی از مکانیسم‌های دفاعی آنتی‌اکسیدانی را در برابر ROS ایجاد نموده‌اند پاسخ سلول‌ها در برابر ROS به واسطه سیستم دفاعی آنتی اکسیدانی شامل ترکیبات آنزیمی‌سوپراکسید دیسموتاز، کاتالاز، پراکسیداز، گلوتاتیون ردوکتاز، آسکوربات پراکسیداز (Unyayar and Cekic, 2005) و ترکیبات غیر آنزیمی‌آسکوربات، α-توکوفرول، کارتنوئیدها و گلوتاتیون است که نقش مهمی‌را در دفاع از گیاهان در برابر اثرات ROS بازی می‌کنند. فعالیت آنزیم‌های سیستم آنتی اکسیدانی در گیاهان، نشان دهنده مقاومت گیاه به تنش‌های محیطی است (Wu et al., 2006).

آنزیم‌های کاتالاز، گلوتاتیون ردوکتاز و آسکوربات پراکسیداز در جاروب کردن H_2O_2 به منظور ایجاد مقاومت در برابر استرس اکسیداتیوی ناشی از شوری و خشکی اهیمت دارند و مقاومت نسبی ژنوتیپ‌ها در برابر استرس آبی نشان‌دهنده پراکسیداسیون کمتر لیپیدها، ضریب پایداری بالاتر غشاء و مقادیر بیشتر کلروفیل و کاروتنوئیدها در آن بوده و به سیستم آنزیمی آنتی‌اکسیدانی آنها مربوط می‌شود (Evelin et al., 2009).

ایزوفرم‌های مختلفی از آنزیم‌های آنتی اکسیدان در بخش‌های مختلف درون سلولی وجود دارند. در یک سلول سوپراکسید دیسموتازها، اولین خط دفاعی در برابر ROS را تشکیل می‌دهند. در هر موقعیتی که زنجیره انتقال الکترون وجود دارد O^{2-} تولید می‌شود. بنابراین فعال شدن O_2 ممکن است در بخش‌های مختلف سلول مانند میتوکندری، کلورپلاست، میکروزوم، گلی اکسی زوم، پراکسی زوم‌ها، آپوپلاست و سیتوزول رخ دهد. ROSها از طریق انتقال یک الکترون با انرژی بالا به مولکول اکسیژن تولید می‌شوند. ٤ فرم اصلی آنها در بافت‌های گیاهی عبارتند از: اکسیژن منفرد، پراکسید هیدروژن، سوپراکسید و رادیکال هیدورکسیل. گیاهان با افزایش در غلظت آنتی‌اکسیدانت‌ها با اثرات مخرب ROS مقابله می‌کنند (Wu et al., 2006).

در پی افزایش تحمل گیاهان به شوری،بیشترین تلاش در جهت روشن شدن مراحل فیزیولوژیکی، بیوشیمیایی و مولکولی است که به وسیله استرس شوری تحت تاثیر قرار می‌گیرد. در حقیقت پاسخ گیاه به استرس شوری در طول ساعت‌ها، روزها و مراحل

نموی رخ می‌دهد. بررسی‌های منابع نشان می‌دهد که با وجود مطالعات چندی که صورت گرفته، ولی به دلیل اهمیت وظرافت این مسئله تلاش‌ها و تحقیقات بیشتری را می‌طلبد. اهداف پژوهش حاضر با توجه به موارد فوق شامل مطالعه تغییرات فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان در طی مراحل جوانه زنی، دانه رستی، رشد رویشی وزایشی گیاه تحت تنش شوری بود.

مواد و روش‌ها

تهیه بذر و کاشت گیاه: بذرهای سویا رقم DPX از ایستگاه تحقیقات کشاورزی استان گلستان در اوایل تیرماه سال ۱۳۹۰ تهیه گردید. سپس بذرها را به تعداد ٦ عدد به‌طور جداگانه در تاریخ ۱۵تیرماه ۱۳۹۰ داخل گلدان‌ها کشت داده شدند و گلدان‌ها در محیط آزاد و مناسبی قرار گرفتند. خاک مورد استفاده براساس آزمایش تجزیه خاک دارای بافت silt-caly-sand و PH حدود ٦/٨٣ بود. بعد از مشخص کردن هدایت‌الکتریکی (EC) خاک که حدود ۱/۲۷ بود، تیمار A با EC=0-2 یعنی بدون افزودن نمک و تیمار B با EC=4-8 که با افزودن حدود ۱۱گرم کلرید سدیم به ۷ کیلوگرم خاک و تیمار C با EC=8-12 که با افزودن ۲۱ گرم کلرید سدیم به ۷ کیلوگرم خاک تهیه می‌شدند، در نظر گرفته شد. مقدار نمک لازم برای افزودن به خاک براساس پیش آزمایش انجام شده بر روی یک کیلو خاک تخمین زده شد.

جدول ۱: پیش آزمایش انجام شده بر روی خاک برای تعیین ECمناسب برای کشت بذرها

مشخصات	وزن خاک	هدایت‌الکتریکیEC
خاک معمولی	۱کیلوگرم	۱/۲۷
خاک معمولی +۱ گرم نمک	۱کیلوگرم	٤/۷۲
خاک معمولی +۲ گرم نمک	۱کیلوگرم	۸/٤۷
خاک معمولی +۳ گرم نمک	۱کیلوگرم	۱۱/۲۲

کاشتن بذرها، همزمان با اولین آبیاری کلرور سدیم محلول در یک لیتر آب به خاک افزوده شد. آبیاری نمونه‌ها به فواصل هر ٤ الی ۵ روز انجام شد. در زمان بارندگی توسط پوششی پلاستیکی روی گلدان‌ها پوشیده شد تا آب باران تغییری در میزان شوری خاک ایجاد نکند. روز ۳۵ ام کشت، نمونه‌هایی از هر تیمار برداشت شد و سنجش‌های بیوشیمیایی بر روی آن‌ها در مرحله ی رویشی انجام گردید. سپس در زمان گلدهی نیز نمونه‌هایی هر تیمار برداشت شد تا سنجش‌ها بر روی آن‌ها انجام شود. لازم به ذکر است زمان گلدهی در تیمارها متفاوت بود.

تیمار A در تاریخ ۲۳ شهریور، تیمار B در تاریخ ۲ مهر و تیمار C در تاریخ ۱۵ مهر در مرحله زایشی برداشت شدند. در پایان در تاریخ ۲۰ آذر ۱۳۹۰ بذرهای تولید شده توسط نمونه‌های هر سه تیمار برداشت و از آن‌ها برای جوانه‌زنی مجدد در پلیت‌ها استفاده شد تا بقیه سنجش‌های بیوشیمیایی بر روی آن‌ها انجام شود.

جوانه‌زنی بذرها: تیمارهای مختلف در نظر گرفته شده شامل ۱= آب مقطر، ۲= شوری ۵۰ میلی‌مولار، ۳= شوری ۱۰۰میلی‌مولار بود. تعداد ۸۰ بذر برای هر نمونه به‌طور تصادفی انتخاب و پس ازشستشو با آب مقطر مدت ۱۰دقیقه در محلول ۱۰٪ هیپوکلریت جهت میکروب زدایی قرار گرفتند. سپس درون ظروف یک بار مصرف روی پارچه تنظیف مرطوب

پخش گردیدند. ظروف مورد نظردر دمای ۲۷ درجه اتاق قرار داده شدند و با محلول‌های تهیه شده برای هر تیمار آبیاری گشتند. بذرهای جوانه‌زده ودانه رست‌ها جهت انجام سنجش‌های بیوشیمیایی انتخاب شدند.

سنجش فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدانی

این سنجش طی ۲ مرحله صورت گرفت:

مرحله اول، استخراج عصاره آنزیمی: یک گرم نمونه با چهار میلی‌لیتر محلول عصاره‌گیری به مدت ۳۰ دقیقه همگن شدند. محلول عصاره‌گیری شامل مخلوط کردن ۱/۲ گرم تریس و ۲ گرم اسید آسکوربیک و ۳/۸ گرم بوراکس (Di–sodium tetra borate) و ۲ گرم $EDTANa_2$ و ۵۰ گرم پلی‌اتیلن گلیکول ۲۰۰۰ و رساندن به حجم ۱۰۰ میلی‌لیتر با آب مقطر (pH=7 و نگهداری در یخچال) بود. قرار دادن محلول به‌مدت ۲٤ ساعت در یخچال در دمای ٤ درجه سانتی‌گراد قرار گرفته و به‌مدت به‌مدت نیم ساعت با دور 400g سانتریفوژ شدند.

مرحله دوم: سنجش فعالیت آنزیم

سنجش فعالیت پراکسیدازی (Koroi, 1989): ۲ میلی‌لیتر تامپون استات ۰/۲ مولار، pH=5، با ۰/٤ میلی‌لیتر آب اکسیژنه ۳ درصد و ۰/۲ میلی‌لیتر بنزیدین محلول در الکل ۵۰ درجه ۰/۰۱ مولار مخلوط شد. سپس ۰/۱ میلی‌لیتر عصاره آنزیمی به آن در ظرف یخ اضافه و جذب نوری در طول موج ۵۳۰ نانومتر در مقابل شاهد دستگاه قرائت شد. فعالیت آنزیم برحسب واحد (Ab/min/g.FW) محاسبه گشت.

سنجش فعالیت کاتالازی (Chance and Maehly, 1995): تهیه مخلوط اندازه‌گیری فعالیت آنزیم شامل ۲/۵ میلی‌لیتر بافرفسفات با pH=7 و ۰/۲ میلی‌لیتر آب اکسیژنه و ۰/۲ میلی‌لیتر عصاره آنزیمی تازه استخراج شده بود که موادفوق در یخ با هم مخلوط شدند جذب نوری در طول موج ۲٤۰ نانومتر در مقابل شاهد دستگاه قرائت شد. فعالیت آنزیم بر اساس تغییرات جذب در دقیقه به ازای یک میلی گرم پروتئین (OD/min/mg protein) محاسبه گشت.

سنجش فعالیت آسکوربات پراکسیدازی (Arrigoni and Detullio, 2000): محلول اندازه گیری فعالیت آنزیم شامل۲میلی لیتر بافرفسفات با pH=6/5 و ۰/۲میلی لیتر آب اکسیژنه و۲میلی لیتر آسکوربات۵۰میکرومولاری و۰/۱ میلی‌لیتر عصاره آنزیمی تازه استخراج شده بود که مواد فوق در حمام یخ با هم مخلوط شدند. جذب نوری در طول موج۲٦۵نانومتر در مقابل شاهد دستگاه خوانده و فعالیت آنزیم بر اساس تغییرات جذب در دقیقه به ازای یک میلی گرم پروتئین (OD/min/mg protein)تعیین شد.

سنجش فعالیت سوپر اکسید دیسموتازی (Ries and Giannopolitis , 1977): محلول واکنش برای سنجش فعالیت آنزیم شامل بافر فسفات ۵۰ میلی مولار PH=7/5، متیونین ۱۳ میلی‌مولار، نیتروبلوتترازولیوم ۷۵ میکرومولار، ۰/۱EDTA میلی‌مولار، ریبوفلاوین ۲ میکرومولار بود که در تاریکی کامل نگهداری شد. جذب محلول در ۵٦۰ نانومتر و توسط دستگاه اسپکتروفتومتری که توسط محلول تاریک (نور ندیده) به‌عنوان شاهد تنظیم شده بود خوانده شد. تفاوت بین جذب هر عصاره در مدت زمان روشنایی ۱٦ دقیقه و جذب عصاره بدون آنزیم در همان زمان روشنایی در واقع نشان‌دهنده باز داشت واکنش خود به خودی تشکیل فورمازان توسط آنزیم سوپراکسیددیسموتاز است. فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز براساس واحد آنزیمی بر میلی‌گرم پروتئین برای تمام نمونه‌ها محاسبه گردید ($OD.g^{-1}.FW.16Min^{-1}$).

محاسبات آماری نمونه‌ها در قالب طرح بلوک‌های کاملاً تصادفی و با سه تکرار صورت گرفت و مقایسه میانگین داده‌ها با استفاده از روش Duncan، Tukey و Tamhane انجام شد. آنالیز واریانس یک عاملی و نیز بررسی همبستگی‌ها در p=۰/۰۵ و برخی موارد p=۰/۰۱ با استفاده از نرم‌افزار SPSS انجام شد. نمودارها با استفاده از نرم‌افزار Excel رسم گردید.

نتایج

با توجه به داده‌های جدول ۲: در دانه‌های جوانه‌زده فعالیت آنزیم‌های سوپراکسیددیسموتاز و کاتالاز تحت تنش شوری افزایش یافت و آنزیم پراکسیداز روند کاهشی داشتند و فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز چندان تغییری نیافت. در دانه رست‌ها فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدانی تحت تنش شوری تغییر معنی‌دار نیافت. فعالیت آنزیم‌های پراکسیداز و سوپراکسید دیسموتاز در تنش خشکی کاهش یافت. در ریشه فعالیت آنزیم‌های پراکسیداز در دو مرحله رشد رویشی تغییری نکرد. آسکوربات پراکسیداز در مرحله رشد رویشی کاهش یافت اما در مرحله رشد زایشی افزایش یافت. فعالیت آنزیم‌های کاتالاز در مرحله رشد رویشی افزایش یافت اما در مرحله دوم تغییری نکرد. فعالیت آنزیم سوپراکسیددیسموتاز در مرحله رشد رویشی افزایش ولی در مرحله رشد زایشی کاهش یافت.

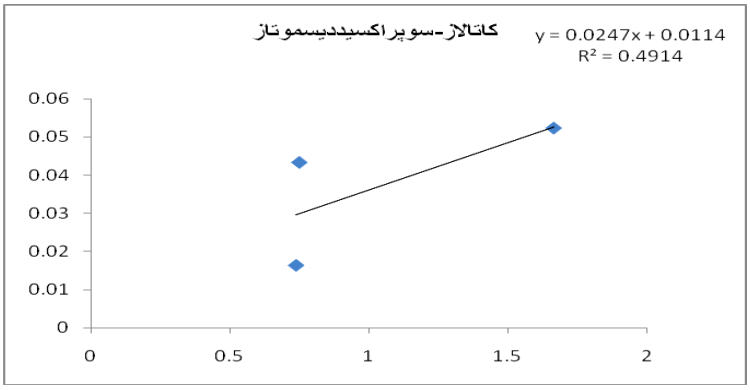
در اندام هوایی فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز و کاتالاز در رشد رویشی و زایشی تغییر معنی دار نیافت. فعالیت آنزیم پراکسیداز در رشد رویشی افزایش معنی دار یافت ولی در رشد زایشی تغییری نکرد. فعالیت آنزیم سوپراکسیددیسموتاز در هر دو مرحله نسبت به نمونه شاهد افزایش معنی‌دار یافت (جدول ۲).

جدول ۲: مقایسه میانگین فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدانت

تیمار	آنزیم	پراکسیداز $OD.min^{-1}.g^{-1}.FW$	آسکوربات پراکسیداز $OD.min^{-1}.mg^{-1}protein$	کاتالاز $OD.min^{-1}.mg^{-1}protein$	سوپراکسید دیسموتاز $OD.g^{-1}.FW.16min^{-1}$
دانه	0mM NaCl	۱,۲٤۰a	۱,۱a	a ۰,۰۱٦	۰,۷۳۷b
جوانه‌زده	50mM NaCl	۱,۱۸٦a	۱,۱۰a	۰,۰۵۲a	۱,٦٦۳a
در شوری	100mM NaCl	۱,۰۷۱ a	۱,۰۹۸ a	۰,۰٤۳ a	۰,۷٤۹ a
دانه رست ۷ روزه	0mM NaCl	۰,۱۸۲ a	۱,۰۳۹ a	۰,۰۳۱ a	۱,۰۵۷ a
	50mM NaCl	۰,۰۹۱ ab	۱,۱۰۷ a	۰,۰۳۵ a	۰,۸۱ ab
	64g/lit PEG	۰,۰۳۵ b	۱,۰۲۸ a	۰,۰۲۸ a	۰,٤۸۲ b
رشد رویشی ریشه گیاه	Ec=0-2	۰,۱۷۱a	۰,۸۱۲a	۰,۰۳۳b	۰b
	Ec=4-8	۰,۱۱۸a	۰,٦۵۵c	۰,۰۵۸a	۰,۹۵٤a
	Ec=8-12	۰,۱۵۳a	۰,۷۵٤b	۰,۰۵٦ a	۱,٤۲۳a
رشد زایشی ریشه گیاه	Ec=0-2	۰,۱۸۱a	۰,۷٦۸b	۰,۰۳۸a	۰,۷۰۲ab
	Ec=4-8	۰,۰۸۷a	۰,۹۲۳a	۰,۰۵۵a	۰,۷۷۸a
	Ec=8-12	۰,۰۹۸a	۰,۹۲۵a	۰,۰٦٤a	۰,۳۹b
رشدرویشی اندام هوایی گیاه	Ec=0-2	۰,۲۵۱ b	۱,۰۸۰ a	۰,۰۱۷ a	۰,۵۹ b
	Ec=4-8	۰,۲۸۷ b	۱,۰۸۳ a	۰,۰۲۹ a	۰,٦۷۲ ab
	Ec=8-12	۰,۵٤۱ a	۱,۰۸۹ a	۰,۰۲۷ a	۰,۷۷۹ a
رشد زایشی اندام هوایی گیاه	Ec=0-2	۰,۳۰۲ a	۱,۰۸٦ a	۰,۰٤۵ a	۰,۳۹۷ b
	Ec=4-8	۰,۳۲٤ a	۱,۰۸٤ a	۰,۰۳۸ a	۰,٦۹۹ a
	Ec=8-12	۰,٤۲۰ a	۱,۰۸۰ a	۰,۰٤۱ a	۰,۷۳۸ a

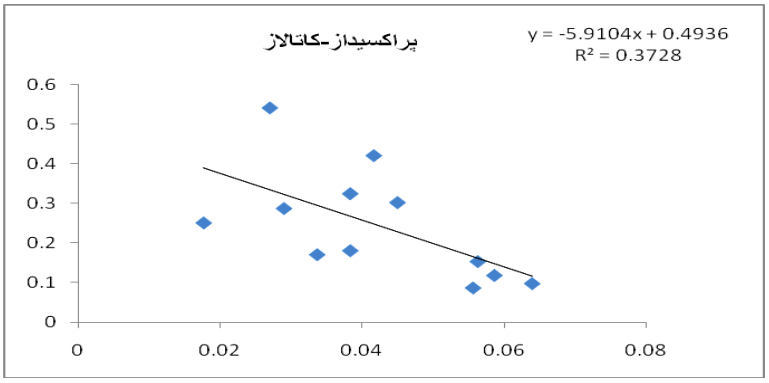
اعدادی که در هر ستون دارای حداقل یک حرف مشترک می‌باشند، فاقد اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال ۵ درصد هستند.

با بررسی ضرایب همبستگی مشخص شد که در مرحله جوانه‌زنی فعالیت آنزیم کاتالاز با آنزیم سوپراکسید دیسموتاز در سطح ۰/۰۱ همبستگی مثبت دارد.

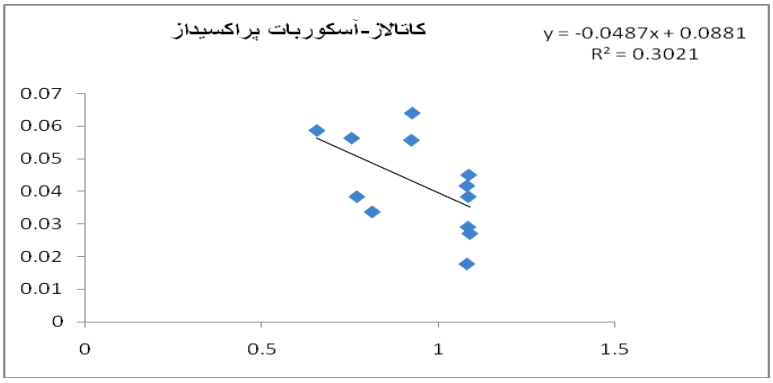


شکل ۱: همبستگی بین فعالیت دو آنزیم کاتالاز و سوپراکسید دیسموتاز

با بررسی ضرایب همبستگی مشخص شد که در مراحل رشد رویشی گیاه سویا فعالیت آنزیم کاتالاز با فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز و آنزیم پراکسیداز در سطح ۰/۰۵ همبستگی منفی دارد.



شکل۲: همبستگی بین فعالیت دو آنزیم پراکسیداز و کاتالاز



شکل۳: همبستگی بین فعالیت دو آنزیم کاتالاز وآسکوربات پراکسیداز

بحث

پژوهش حاضر نشان‌دهنده تغییرات فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی گیاه سویا در مراحل مختلف بود. آنزیم‌هایی که فعالیت آنها تحت تنش شوری تغییری نکرد و یا فعالیت آنها افزایش یافت جزء آنزیم‌های مقاوم بوده وسبب افزایش مقاومت گیاه در شرایط تنش می‌شوند، ولی آنزیم‌هایی که فعالیت آنها کاهش یافت حساس بوده و نمی‌توانند موجب افزایش تحمل گیاه در برابر شوری شوند. در این راستا گزارش شده است فعالیت آنزیم‌های سیستم آنتی‌اکسیدانی در گیاهان، نشان دهنده مقاومت گیاه نسبت به تنش‌های محیطی است (Unyayar and Cekic, 2005).

طبق نتایج حاصل از این تحقیق در مرحله جوانه‌زنی ودانه رستی آنزیم سوپر اکسید دیسموتاز مقاوم بودند. همچنین در پژوهش حاضر میزان فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز در شوری کم در مرحله جوانه‌زنی افزایش اندکی یافت. گزارش شده است که در دانه‌های سویا تحت تنش میزان فعالیت سوپراکسیددیسموتاز افزایش می‌یابد (Evelin et al., 2009).

آنزیم‌های پراکسیداز وکاتالاز از آنزیم‌های حساس در مرحله جوانه‌زنی و دانه رستی می‌باشند. فعالیت آنزیم کاتالاز در شروع جوانه‌زنی در فاز آبگیری افزایش قابل ملاحظه‌ای را نشان می‌دهد که با مطالعات انجام شده مطابقت دارد. گزارش شده که در شروع آبگیری در دانه‌ها و به واسطه فسفریلاسیون اکسیداتیو که تازه شروع می‌شود مقدار H_2O_2 افزایش چشمگیری پیدا می‌کند و فعالیت آنزیم کاتالاز نیز افزایش می‌یابد. فعالیت کاتالازی و پراکسیدازی دانه‌های در حال جوانه‌زنی سویا که به شوری حساسند نمی‌توانند در درازمدت، در افزایش تحمل شرایط شور، کمک موثری بنمایند (صلبی، ۱۳۸۵).

به نظر می‌رسد که در پژوهش حاضر درمرحله جوانه‌زنی فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز کمتر تحت تاثیر استرس محیط قرارمی‌گیردو آنزیم مقاومی‌می‌با شد. در رشد رویشی گیاه سویا آنزیم پراکسیدازنسبت به تنش شوری مقاوم بوده اما در رشد زایشی آنزیم‌های کاتالاز وآسکوربات پراکسیداز آنزیم‌های مقاوم هستند.آنزیم سوپراکسید دیسموتاز هم در مرحله جوانه‌زنی وهم در رشد رویشی وزایشی اثر گذار بوده وافزایش می‌یابد.

مشخص شده است که در تنش‌های محیطی نظیر شوری ثبات سلولی مختل شده و گونه‌های اکسیژن فعال (ROS) تولید می‌گردد. در فیزیولوژی دانه ROS اصولاً به‌عنوان مولکول سمی‌تلقی شده که تجمع آن منجر به آسیب سلول و اختلال در نمو دانه و یا فرآیندهای جوانه‌زنی می‌شود. دیده شده است که سطوح کمی از این رادیکال‌ها توسط سیستم حمایتی آنتی‌اکسیدانی دانه کنترل می‌شود، بنابراین تحت تنش شوری، سیستم‌های آنتی‌اکسیدان کارایی کافی نداشته و منجر به کاهش جوانه‌زنی و حتی مرگ دانه می‌شود که با پژوهش حاضر مطابقت دارد (Tsui-Hung, 2008).

آنالیزهای مقایسه‌ای بین کشت مقاوم به نمک، کشت نیمه مقاوم وکشت حساس به نمک ارقام سویا نشان داد که افزایش کلرید سدیم، باعث کاهش در میزان O_2^- در ریشه و برگ کشت مقاوم به نمک گردیده بر عکس، در دو کشت دیگر در همین شرایط میزان تولید O_2^- افزایش یافت (Tsui-Hung, 2008). کاهش میزان O_2^- تحت استرس نمک با افزایش فعالیت سوپراکسیددیسموتاز و آسکوربات پراکسیداز ارتباط داشت که با پژوهش حاضر مطابقت دارد.

استرس نمک باعث مهار فعالیت سوپراکسید دیسموتاز در کلروپلاست، سپس میتوکندری و در نهایت سیتوزول می‌شود. فعالیت و ترکیب

ایزوزایم‌های سوپراکسیددیسموتاز نیز تحت استرس نمک تغییر می‌کند (Chen et al., 2007).

گزارش شده است از آنجاکه برخی از آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی آنزیم‌های حاوی فلزی هستند، افزایش در میزان املاح جذب شده توسط ریشه گیاهان مایکوریزا می‌تواند سبب افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانت شود مثل افزایش فعالیت کاتالاز و آسکوربات پراکسیداز و همچنین وجود یون‌های آهن، مس، روی و منگنز در اندام هوایی گیاهان سبب افزایش فعالیت سوپر اکسید دیسموتاز می‌شود (Evelin et al., 2009).

نتیجه‌گیری نهایی

در پژوهش حاضر درمرحله جوانه‌زنی دانه آنزیم آسکوربات پراکسیداز کمتر تحت تاثیر استرس محیط قرارگرفت و می‌توان از این جهت آن را آنزیم مقاومی در نظر گرفت. در مرحله رشد رویشی در گیاه سویا آنزیم پراکسیدازنسبت به تنش شوری مقاوم بود ولیکن در رشد زایشی آنزیم‌های کاتالاز و آسکوربات پراکسیداز جزء آنزیم‌های مقاوم محسوب شدند. آنزیم سوپراکسید دیسموتاز هم در مرحله جوانه‌زنی وهم در مرحله رشد رویشی اثر گذار بوده وافزایش یافت. از دلایل حساسیت مراحل جوانه‌زنی ورشد رویشی می‌توان حساسیت آنزیم‌های مذکور نسبت به تنش شوری از جمله اثرات سمیت اسمزی ویونی کلرور سدیم دانست.

سپاسگزاری

در پایان بر خود لازم می‌دانم که از اساتید گرانقدرم جناب آقای دکتر ساطعی و سرکار خانم دکتر مه لقا قربانلی (اعضای هیات‌علمی دانشگاه آزاد گرگان) کمال قدردانی و تشکر را بنمایم که در به ثمر رساندن این مهم مرا یاری نمودند.

منابع

آلیاژی، ه.، شکاری، ف. و شکاری، ف. (۱۳۷۹). دانه‌های روغنی-زراعت و فیزیولوژی. انتشارات عمیدی تبریز، چاپ اول. صفحه۳۲۰.

گلدانی، م. و لطیفی، ن. (۱۳۷۶). بررسی اثرات سطوح شوری بر مرحله جوانه‌زنی و رشد گیاهچه ۳ رقم گندم. مجله علوم کشاورزی ومنابع طبیعی. شماره ۲. صفحات ۵۲-۴۷.

صلبی، ف. (۱۳۸۵). تاثیر تنش‌های شوری و خشکی و هورمون ژیبرلین بر جوانه‌زنی، فعالیت فسفاتاز و آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان در دانه‌های سویا. پایان‌نامه کارشناسی‌ارشد فیزیولوژی گیاهی، دانشگاه آزاد گرگان.

Arrigoni, O. and Detullio, M.C. (2000). The roll of ascorbic acid in cell metabolism: between gene-directed function and an predictable chemical reaction. Plant Physiology. 57:781-788.

Chance, B. and Maehly, C. (1955). Assay of catalase and peroxidase. Methods Enzymology. 11:764-775.

Chen, M., Wang, Q., Chen, X., Xu, Z., Li, L. and Ye, X. (2007). GmDREB2, a soybean DRE-binding transcription factor, conferred drought and high-salt tolerance in transgenic plants. Biochem. Biochemical and Biophysical Research Communications. 353: 299–305

Evelin, H., Kapoor, R. and Giri, B. (2009). Arbuscular mycorrhizal fungi in alleviation of salt stress. Annals of Botany. 104: 1263–1280.

Koroi, S.A.A. (1989). Gel elektropheres tisch and spephotometris echoe unter. Uchangen zomeinfiuss der temperature auf straktur and aktritat der amylase and peroxidase isoenzyme. Vegetable Physiology.20:15-23.

Ries, S.K. and Giannopolitis, C.N. (1977). Superoxide dismutases: I. Occurrence in higher plants. Plant Physiology. 59(2):309-14.

Tari , I. , Pauk , J., Dudits, D. and Erfei, L. (2005). Effects of osmotic stress on antioxidant enzyme activities in transgenic wheat calli bearing Ms ALRGene. Acta Biologica Szegediensis. 49(1-2):49-50.

Tsui-Hung, Ph., Guihua, Sh. and Hon-Ming, L. (2008). Salt tolerance in soybean. Journal of Integrative Plant Biology. 50 (10):1196–1212.

Unyayar, S. and Cekic, F.O. (2005). Changes in antioxidative of young and mature leaves of tomato seedling under drought stress. Turkish Journal Biology. 29: 211-216.

Wu, Q.S., Zou, Y.N., Xia, R.X. (2006). Effects of water stress and arbuscular mycorrhizal fungi on reactive oxygen metabolism and antioxidant production by citrus (Citrus tangerine) roots. European Journal of Soil Biology. 42:166–172.