

اثر غلظت‌های مختلف روی و مس بر فعالیت آنزیم کاتالاز و میزان پروتئین محلول کل در برگ گیاه کدو-خورشیدی

فاطمه عابدینی^۱، دکتر فرهاد بهتاش^۱، دکتر احمد آقایی^{۲*}

۱- دانشگاه مراغه، دانشکده کشاورزی، گروه علوم باغبانی ۲- دانشگاه مراغه، دانشکده علوم پایه، گروه زیست‌شناسی

*نویسنده مسئول: Aghaee2001@yahoo.com

چکیده

محیط زیست به طور مداوم تحت تأثیر آلودگی فلزات سنگین قرار دارد. این موضوع تأثیر منفی بر روی سلامتی انسان می‌گذارد. پژوهش حاضر به منظور بررسی اثرات متقابل غلظت‌های مختلف روی و مس بر فعالیت آنزیم آنتی‌اکسیداتیو و میزان پروتئین محلول کل در برگ گیاه کدوخورشتی می‌باشد. غلظت‌های مس (۰،۰۵، ۰،۱ و ۰،۲) و غلظت‌های روی (۰،۲۲، ۰،۵ و ۱) میلی‌گرم بر لیتر می‌باشند. میزان بالای مس در این گیاه موجب افزایش فعالیت آنزیم کاتالاز و کاهش میزان پروتئین در برگ گیاه کدو-خورشتی می‌شود. فعالیت آنزیم کاتالاز در تیمار $(Zn_3 + Cu_2)$ نسبت به شاهد روند رو به افزایش را نشان می‌دهد و میزان پروتئین محلول کل در تیمار $(Zn_2 + Cu_2)$ نسبت به شاهد افزایش یافته است.

کلمات کلیدی: کدوخورشتی، کاتالاز، پروتئین محلول کل، مس، روی

مقدمه

کدوخورشتی از نظر علم گیاه‌شناسی یک میوه تابستانه محسوب می‌شود که ارزش تغذیه‌ای زیادی دارد. امروزه به دلیل افزایش استفاده از سموم و حشره کش‌ها در کشت گلخانه‌ای جهت کنترل آفات و بیماری‌ها میزان آلوده شدن گیاهان به فلزات سنگین به خصوص مس بیشتر می‌باشد. تجمع فلزات سنگین نگرانی‌های زیادی را برای کشاورزان بوجود آورده است. این یک تهدید بزرگ برای بخش کشاورزی و مصرف‌کننده اولیه و ثانویه و در نهایت برای انسان می‌باشد (5). میزان سمیت بستگی به غلظت فلزات سنگین دارد. عناصر مس و روی جزء عناصر غذایی ریز مغذی می‌باشند و وجود آنها برای گیاهان به مقادیر کم ضروری است، اما مقادیر زیاد آنها موجب ایجاد سمیت در گیاه می‌شود. مس که در فرایندهای مهم بیوشیمیایی وجود دارد اما در غلظت‌های سمی تداخل در فرایندهای فیزیولوژیکی گیاه ایجاد می‌کند (3). هدف از انجام این پژوهش بررسی اثرات متقابل غلظت‌های مختلف روی و مس بر فعالیت آنزیم آنتی‌اکسیداتیو آسکوربات پراکسیداز و ترکیب مالون‌دی‌آلدهید در برگ گیاه کدوخورشتی می‌باشد.

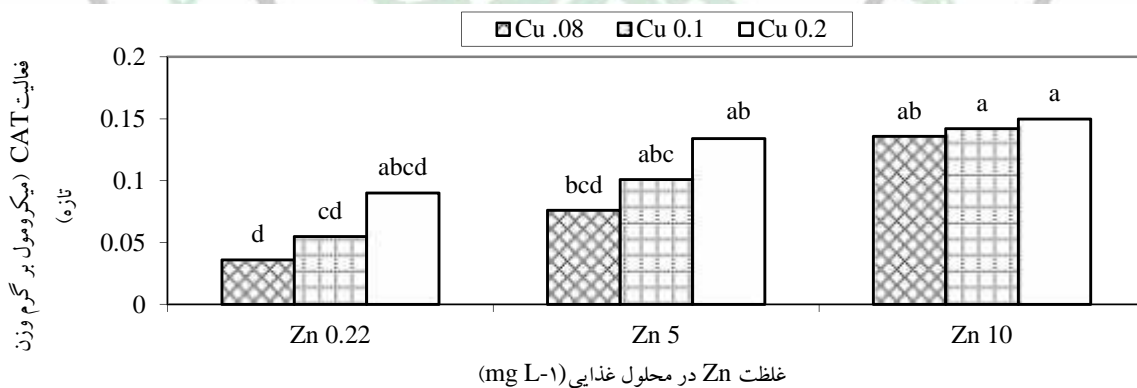
مواد و روش‌ها

به منظور بررسی اثرات غلظت‌های مختلف روی و مس بر روی گیاه کدو خورشیدی، آزمایش گلخانه‌ای به صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با سه سطح روی (۰،۲۲، ۰،۵ و ۱) میلی‌گرم بر لیتر از منبع سولفات روی و سه سطح مس (۰،۰۵، ۰،۱ و ۰،۲) میلی‌گرم بر لیتر از منبع سولفات مس در ۳ تکرار و ۹ تیمار انجام گردید. محلول غذایی مورد استفاده محلول هوگلند بود. در مورد تیمار شاهد فقط از محلول هوگلند استفاده شد و در سایر تیمارها مقادیر یاد شده مس و روی به محلول هوگلند اضافه شد و سپس مصرف گردید. تیمارهای مس و روی در مرحله چهاربرگی گیاهان اعمال گردید. بعد از سپری شدن یک ماه از اعمال تیمارها میزان فعالیت آنزیم کاتالاز و پروتئین محلول کل سنجیده شد. فعالیت آنزیم CAT با روش معرفی شده در مقاله Aebi (۱۹۸۴) اندازه

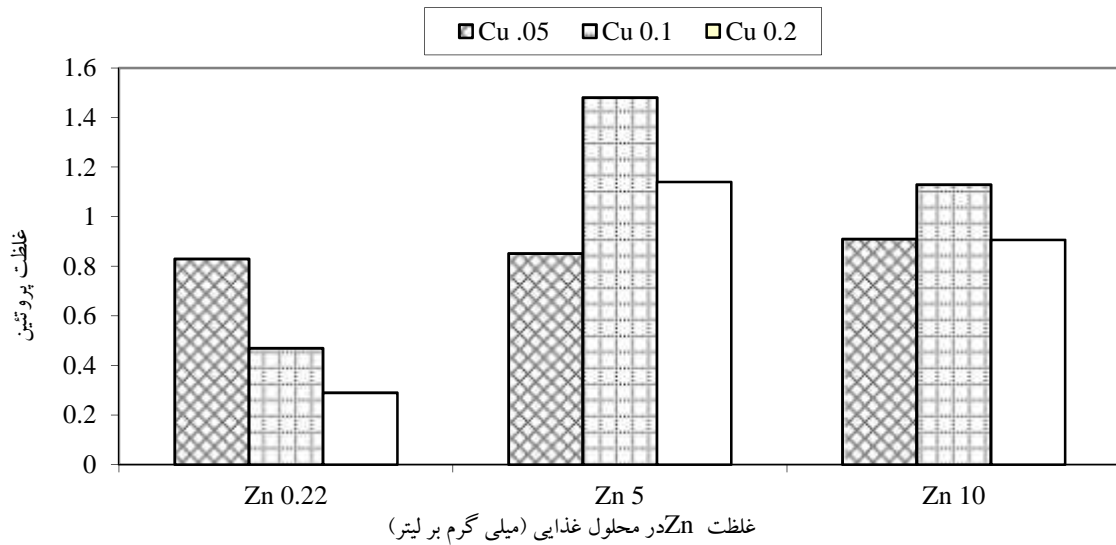
گیری شد (۱). مخلوط واکنش شامل ۷۰۰ میکرولیتر بافر فسفات پتاسیم ۱۰۰ میلی لیتر (pH=7)، ۷۵۰ میکرولیتر پراکسید هیدروژن (H_2O_2) ۷۰ میلی مولار و ۲۰ میکرولیتر عصاره گیاهی بود. واکنش با اضافه نمودن H_2O_2 به مخلوط مورد نظر آغاز شد و فعالیت آنزیم به دلیل مصرف پراکسید هیدروژن (H_2O_2) با کاهش جذب در طول موج ۲۴۰ نانو متر اندازه گیری شد. ضریب خاموشی معادل $39,4 \text{ mM}^{-1} \text{ cm}$ در محاسبه آنزیم در نظر گرفته شد. میزان پروتئین محلول کل به روش Bradford (۱۹۷۶) اندازه گیری شد (۲). جذب نمونه‌ها در طول موج ۵۹۵ نانومتر با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر اندازه گیری شد. آلبوم سرم گاوی (BSA) جهت ترسیم منحنی استاندارد مورد استفاده قرار گرفت (شکل ۳)

نتایج و بحث

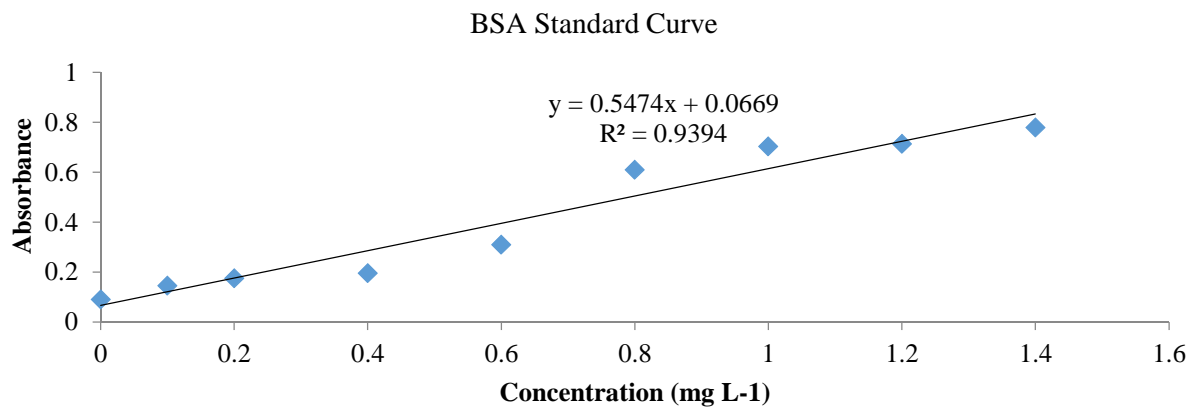
سلول‌های گیاهی با دارا بودن سیستم‌های آنتی‌اکسیدانی آنزیمی و غیر آنزیمی، می‌توانند اثرات مخرب ROS‌های (رادیکال‌های - آزاد اکسیژن) تولید شده را برطرف کنند. این سیستم آنزیمی شامل آنزیم‌های سوپراکسید دیسموتاز (SOD)، کاتالاز (CAT)، آسکوربات پراکسیداز (APX)، و پراکسیدازها (POD) و سیستم غیر آنزیمی شامل ترکیبات (آسکوربات، گلوکاتینون، آلفا توکوفرول و کارتنوئیدها) می‌باشد (4 و 6). با توجه به نتایج به دست آمده از پژوهش حاضر، با افزایش غلظت مس افزایش معنی داری در فعالیت آنزیم کاتالاز و کاهش در میزان پروتئین محلول کل مشاهده شد. با توجه به نمودارها افزایش فعالیت آنزیم کاتالاز در تیمار (Zn 10+ Cu 0.1) می‌باشد که نشان می‌دهد روی به کار رفته نتوانسته اثر سمیت مس را کاهش دهد و افزایش فعالیت آنزیم کاتالاز به خاطر افزایش میزان روی می‌باشد (شکل ۱). در حالی که در تیمار (Zn₂ + Cu₁) اثر سمیت مس کاهش یافته و روند رو به کاهش را در فعالیت آنزیم کاتالاز و افزایش در میزان پروتئین محلول کل در تیمار (Zn₂ + Cu₂) نسبت به تیمار (Zn₃ + Cu₁) و (Zn₃ + Cu₂) نشان می‌دهد (شکل ۱). غلظت روی به کار رفته در سطح ۵ موجب افزایش میزان پروتئین محلول کل و کاهش فعالیت آنزیم کاتالاز و در نهایت موجب کاهش اثرات سمی مس نسبت به سایر تیمارها شده است (شکل ۲ و ۳).



شکل ۱- تغییرات فعالیت آنزیم کاتالاز در برگ گیاه کدو خورشیدی بر اساس غلظت‌های مختلف روی و مس



شکل ۲- تغییرات محتوی پروتئین محلول کل در برگ گیاه کدو خورشتی بر اساس غلظت‌های مختلف روی و مس



شکل ۳- منحنی استاندارد آلومین سرم گاوی (BSA)

منابع

1. Aebi, H. (1984). *Catalase in vitro*. *Methods in Enzymology*. 105:121-126
2. Bradford, M.M. (1976). A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Analytical Biochemistry*. 72: 248-254
3. H. M EL-shora. (2003). Activities of antioxidative enzyme and senescence in detached cucurbita pepo under cu- and oxidative stress by H₂O₂. 577.15
4. Mishra, S., Srivastava, S., Tripathi, R. D., Govindarajan, R., Kuriakose, S. V. and Prasad, M. N. V. (2006). Phytochelatin synthesis and response of antioxidants during cadmium stress in *Bacopa monnieri* L. *Plant Physiology and Biochemistry* 44: 25-37
5. Subin M.P. and Steffy Francis. (2013). Phytotoxic Effects of Cadmium on Seed Germination, Early Seedling Growth and Antioxidant Enzyme Activities in *Cucurbita maxima* Duchesne. *Journal of Biological Sciences*: 2(9), 40-47, September.
6. Cui X.M. Zhang Y.K., Wu X.B. and Liu C.S. (2010). The investigation of the alleviated effect of copper toxicity by exogenous nitric oxide in tomato plants. 274-281.

Effect of different concentration of Zinc and Copper on CAT enzyme activity and amount of total protein in leaf of summer squash (*Cucurbita pepo* L. cv. *Nickerson Zwaan*)F.Abedini¹, F. Behtash¹, A. Aghae^{2*}

1- Department of Horticultural Sciences, Faculty of Agriculture, University of Maragheh, Maragheh, Iran. 2- Department of Biology, Faculty of Basic Sciences, University of Maragheh, Maragheh, Iran.

*Corresponding author: Aghae2001@yahoo.com

Abstract

The environment is constantly being polluted by the accumulation of heavy metal contaminants. This is a matter of serious concern as it adversely affects the health of humans. This research has done in order to investigate the interaction effects of different concentration of zinc and copper on antioxidative enzyme activities in leaf of summer squash. The Copper concentration is (0.05, 0.1, 0.2) mg/l and the Zinc concentration (0.22, 5, 10) mg/l. The high amount of Copper in summer squash (*Cucurbita pepo*) rises CAT enzyme activity in leaves of this plant. While, using the Zinc treatment in high concentration decreases total solution protein content. The CAT enzyme activity in ($Zn_3 + Cu_2$) treatment in comparison with control treatment is increased and amount of total solution protein in ($Zn_2 + Cu_2$) treatment is decreased.

Key words: Summer Squash, CAT, Total solution protein, Copper, Zinc

