

اثر غلظت‌های مختلف روی و مس بر فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز و ترکیب مالون‌دی‌آلدهید در برگ گیاه کدوخورشتی

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: Aghae2001@yahoo.com

چکیده

در بسیاری از نقاط جهان، به ویژه در نزدیکی مناطق شهری و صنعتی، بر اثر فعالیت‌های انسانی، میزان آلوده شدن خاک‌ها به فلزات سنگین افزایش می‌یابد. پژوهش حاضر به منظور بررسی اثرات متقابل غلظت‌های مختلف روی و مس بر فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز و ترکیب مالون‌دی‌آلدهید در برگ گیاه کدوخورشتی می‌باشد. غلظت‌های مس (۰٫۰۵، ۰٫۱، ۰٫۲) و غلظت‌های روی (۰٫۲۲، ۰٫۵، ۱٫۰) میلی‌گرم برلیتر می‌باشند. نتایج نشان می‌دهد با افزایش غلظت روی در تیمار ($Zn_3 + Cu_1$) میزان فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز نسبت به سایر تیمارها افزایش یافته و در تیمار ($Zn_3 + Cu_3$) میزان فعالیت APX کاهش می‌یابد. و با افزایش غلظت مس در تیمار ($Zn_1 + Cu_3$) میزان ترکیب مالون‌دی‌آلدهید نسبت به شاهد افزایش و در تیمار ($Zn_2 + Cu_1$) میزان فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز کاهش یافته است.

کلمات کلیدی: مس، روی، آسکوربات پراکسیداز، مالون‌دی‌آلدهید، کدوخورشتی

مقدمه

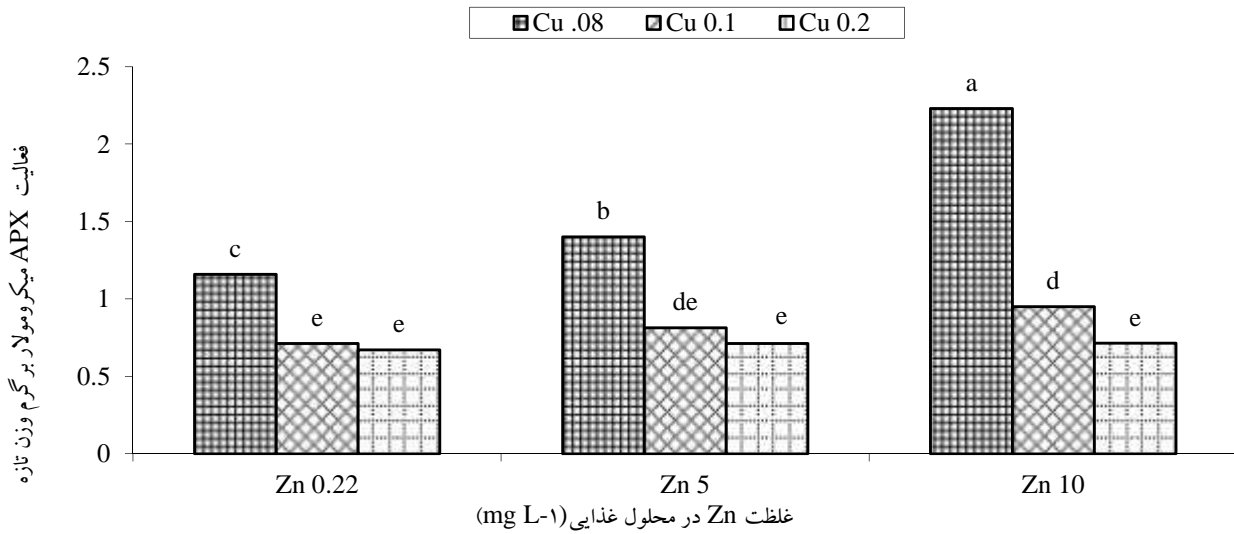
برخی از فلزات سنگین شامل کادمیوم، مس، روی، جیوه و سرب می‌باشند. یکی از ویژگی‌های قابل توجه برخی از گیاهانی که تحت شرایط تنش فلزات سنگین قرار دارند جذب بیش از حد فلز در اندام خاصی از گیاه می‌باشد. این عناصر می‌توانند به برگ‌ها از طریق آوند چوبی انتقال یابند. از آنجا که روی و مس جز عناصر ریزمغذی گیاه می‌باشند برای عملکرد طبیعی گیاه ضروری هستند چراکه این فلزات از اجزای ساختمانی بسیاری از آنزیم‌ها و پروتئین‌ها می‌باشند. به عنوان مثال، فلز روی جزء سازنده بسیاری از آنزیم‌ها شامل دهیدروژناز، پروتئیناز و پپتیداز است و در متابولیسم کربوهیدرات‌ها، پروتئین‌ها، فسفات‌ها و اکسین‌ها و نیز در تشکیل ریبوزوم و RNA در گیاهان مشارکت دارد. مس در تعدادی از فرآیندهای فیزیولوژیکی گیاه شامل فتوسنتز، تنفس، توزیع کربوهیدرات‌ها، متابولیسم نیتروژن و دیواره سلولی و تولید دانه، که در مقاومت گیاه نسبت به بیماری‌ها نقش دارند، سهمیم است. به هر حال، زمانی که این فلزات با غلظت‌های بالا در خاک وجود داشته باشند اثرات سمی و مخربی را بر سلول‌ها ایجاد خواهند کرد. آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان برای دفاع از گیاه در برابر سمیت ایجاد شده توسط عناصر مس و روی، نقش عمده‌ای را بازی می‌کنند (۳). 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

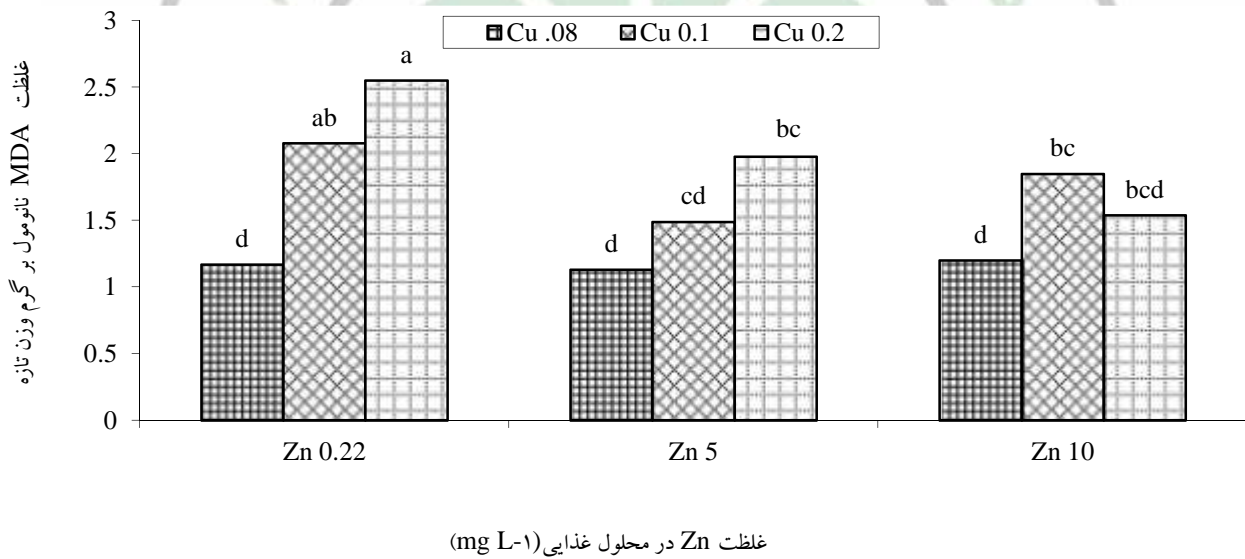
به منظور بررسی اثرات غلظت‌های مختلف روی و مس بر روی گیاه کدو خورشتی، آزمایش گلخانه‌ای به صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با سه سطح روی (۰,۲۲ و ۰,۵ و ۱) میلی‌گرم بر لیتر از منبع سولفات روی و سه سطح مس (۰,۰۵ و ۰,۱ و ۰,۲) میلی‌گرم بر لیتر از منبع سولفات مس در ۳ تکرار و ۹ تیمار انجام گردید. محلول 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 آسکوربات پراکسیداز و ترکیب مالون‌دی‌آلدهید سنجیده شد. فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز (APX) با روش معرفی شده در مقاله Asach, Nakano (۱۹۸۷) اندازه‌گیری شد (۲). مخلوط واکنش شامل ۲۰۰ میکرولیتر آسکوربات (۲ میلی‌مولار) محلول در بافر فسفات پتاسیم ۱۰۰ میلی‌لیتر (pH=7)، ۲۰۰ میکرولیتر پراکسید هیدروژن (H_2O_2) ۲ میلی‌مولار 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 ۲۹۰ نانومتر اندازه‌گیری شد. ضریب خاموشی معادل $2.8 \text{ mM}^{-1} \text{ cm}$ در محاسبه آنزیم در نظر گرفته شد. همچنین برای محاسبه مالون‌دی‌آلدهید به عنوان محصول پراکسیداسیون لیپیدها به روش Heath و Packer (۱۹۶۸) انجام شد. ۰/۱ گرم ماده گیاهی در هاون چینی (بر روی یخ و دمای ۴ درجه سانتی‌گراد) ساییده شد. روی ماده گیاهی کاملاً پودر شده ۱/۵ میلی‌لیتر TCA ۱٪ اضافه شد. محلول حاصله در شرایط $10000 \text{ g}^* \text{ g}$ و به مدت ۱۰ دقیقه در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد سانتریفیوژ شد. به ۰/۵ میلی‌لیتر از محلول رویی، ۱ میلی‌لیتر حاوی ۰/۵٪ تیوباریوتیک اسید (TBA) اضافه شد (۱).

نتایج و بحث

گیاهان برای محافظت از خود در برابر مسمومیت فلزی باید مکانیسمی را توسعه دهند که به وسیله آن، فلز وارد سیتوزول شده و در انجا یا فوراً به بیرون رانده شود و یا پیوند برقرار کرده و غیر فعال گردد و بدین طریق از غیر فعال شدن آنزیم‌ها یا پروتئین‌های ساختاری توسط فلز جلوگیری به عمل آید. با توجه به نتایج بدست آمده از پژوهش حاضر، با افزایش غلظت روی در تیمار (Zn_{3+}) میزان فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز نسبت به سایر تیمارها افزایش یافته و در صورت به کار بردن روی و مس (Zn_{3+} و Cu_1) با بالاترین غلظت، میزان فعالیت آنزیم APX کاهش می‌یابد (شکل ۱). با توجه به شکل ۲ با افزایش غلظت مس در تیمار (Zn و Cu_3) میزان ترکیب مالون‌دی‌آلدهید نسبت به شاهد افزایش یافته و در تیمار ($Zn_2 + Cu_1$) ترکیب مالون‌دی‌آلدهید نسبت شاهد کاهش یافته است.



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



شکل ۲- تغییرات مالون‌دی‌آلدهید در برگ گیاه کدو خورشیدی بر اساس غلظت‌های مختلف روی و مس

منابع

1. Heath, R.L. and Packer, L. 1968. Photoperoxidation in isolated chloroplasts. I. Kinetics and stoichiometry of fatty acid peroxidation. Archives of Biochemistry and Biophysics. 125: 189-198.
2. Nakano, Y. and Asada, K. 1981. Hydrogen peroxide is scavenged by ascorbate specific peroxidase in Spinach chloroplasts. Plant Cell Physiology. 22:867-880.
3. H. Sbartai, M.R. Djebbar, R. Rouabhi, I. Sbartai and H. Berrebbah, 2011. Antioxidative Response in Tomato Plants *Lycopersicon esculentum* L. Roots and Leaves to Zinc. American-Eurasian Journal of Toxicological Sciences 3 (1): 41-46.

Effect of different concentration of Zinc and Copper on APX enzyme activity and MDA component 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

In many districts of the world especially in town and industrial areas, pollution of the earth is increased due mainly to human activities. This research has been done in order to investigate the interaction effects of different concentration of zinc and copper on APX enzyme activity and MDA component 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. Cu 0.1) treatment is decreased. The results show that when the concentration of the ZN element in ($Zn_3 + Cu_1$) treatment is increased the APX enzyme activity in contrast other treatments are also increased. And in ($Zn_3 + Cu_1$) treatment the APX activity is decreased. In addition to, when the concentration of the Cu in ($Zn_1 + Cu_3$) treatment the amount of MDA enzyme in contrast the control is increased and in ($Zn_2 + Cu_1$) treatment APX is decreased.

Key words: Copper, Zinc, APX, MDA, Summer squash

