اثر نیتروپروساید بر آنزیمهای آنتی اکسیدان و کمیت وکیفیت ماده موثرۀ (*Cucurbita pepo* L. var .oleifera Pietsch) تحت تنش خشکی

حسین ربی انگورانی
پژوهشکده فناوریهای نوین زیستی-دانشگاه زنجان – زنجان-ایران
نویسنده مسئول:Rabbihosein@znu.ac.ir

چکیده

به منظور بررسی اثرات سدیم نیتروپروساید بر افزایش تحمل به خشکی بر روی کدوی دارویی رقم oleifera طرح آزمایشی به صورت فاکتوریل در قالب طرح بلوک های کامل تصادفی در سه تکرار با بررسی اثر دو فاکتور هر یک در ۴ سطح انجام گرفت در این آزمایش سدیم نیتروپروساید (SNP) در چهار سطح صفر، ۵۰، ۱۰۰ و۲۰۰ میکرومول در لیتر به‌عنوان فاکتور اول و تنش خشکی نیز در ۴ سطح شاهد ،(تنش ملایم)، (تنش متوسط) و (تنش شدید) به ترتیب تنظیم شده در پتانسیل مکش های ۰/۱- ، ۰/۵- ، ۱/۰- ، ۱/۵- مگا پاسکال) بودند، نتایج نشان داد که تنش خشکی عملکرد روغن را کاهش داد در مقابل موجب افزایش بتاسیتوسترول و پراکسیداسیون لیپیدها و نشت یونی گردید و فعالیت آنزیم های آنتی اکسیدان نظیر کاتالاز و پراکسیداز را بالا برد، در حالی که تیمار سدیم نیتروپروساید از طریق افزایش بیشتر فعالیت آنزیمهای آنتی اکسیدان نظیر کاتالاز و پراکسیداز و تجمع پرولین، تنش اکسیداتیو را کاهش داد و موجب افزایش عملکرد روغن و بتاسیتوسترول گردید، که نشان دهندۀ افزایش مقاومت گیاه به خشکی در نتیجۀ کاربرد سدیم نیتروپروساید می‌باشد.

کلمات کلیدی: تنش اکسیداتیو، پراکسیداز، کاتالاز، پرولین، بتاسیتوسترول.

مقدمه:

کدوی طبی یا کدوی پوست کاغذی[1] گیاهی علفی، یک ساله و متعلق به تیره کدوئیان می باشد که در دو واریته styriaca[1] و oleifera[2] موجود است که روغن و مادۀ موثرۀ آن (بتاسیتوسترول) کاربرد وسیعی در پیشگیری سرطان پروستات و و درمان سوزش مجاری ادراری دارد تنش خشکی ازمهمترین عوامل محیطی کاهش رشد و عملکرد گیاهان زراعی در مناطق خشک و نیمه خشک دنیا محسوب می‌شود (۳۹)، شرایط تنش باعث شکل گیری رادیکال سوپر اکسید O_2 و پراکسید هیدروژن H_2O_2 و رادیکال هیدروکسیل (OH)می‌گردند که گونه های فعال اکسیژن[2](ROS) نامیده می-شوند (Yordanova *et al*., 2007) . فعالیت این گونه‌ها باعث بروز صدماتی مثل اکسید شدن چربیها و تغییر ساختار غشاء و از هم پاشیدگی یکپارچگی آن و تغییر ساختار پروتئین‌ها و غیر فعال شدن آنزیم‌ها و از بین رفتن رنگدانه هایی مثل کلروفیل و بسیاری از فرآیندهای مخرب دیگر می‌گرد(El-Yazeid., 2011) . نیتریک اکساید یک مولکول گازی نسبتا پایدار کوچک، قابل‌حل در آب و چربی و به‌عنوان یک پیام‌بر زیستی مهم در گیاهان می‌باشد که در تنظیم بسیاری ازفرآیندهای فیزیولوژیکی گیاه از تحریک جوانه‌زنی تا تنظیم فتوسنتز و گلدهی (Tan *et al*., 2008) وارد عمل می‌شود، اخیرا مشخص شده کهNO بعنوان یک مولکول پیام‌رسان کلیدی در واکنش گیاه به تنش‌های زنده و غیر زنده به‌عنوان واسطه و انتقال پیام در عمل تنظیم کننده‌های رشد گیاهی شرکت می‌کند (Xiong *et al*., 2012).

[1]-*Cucurbita pepo L. var . Styriaca Greb.*
[2]-*Cucurbita pepo L. var .oleifera Pietsch*
[2] -*Reactive oxygen speices(ROS)*

IrHC2019

مواد و روش‌ها:

دراین تحقیق از رقم کدوی تخم کاغذی رقم oleifera که از گروه گیاهان دارویی دانشگاه کوروینوس مجارستان تهیه گردید استفاده شد، طرح آزمایشی به صورت فاکتوریل در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی در سال ۱۳۹۵ درمزرعه تحقیقاتی دانشگاه زنجان در سه تکرار با بررسی اثر دو فاکتور هر یک در ۴ سطح، (مجموعا ۱۶ تیمار) پیش بینی شد ، محلول‌پاشی با سدیم نیتروپروساید (SNP) بعنوان دهنده اکسید نیتریک (NO) در چهار سطح صفر، ۵۰، ۱۰۰ و ۲۰۰ میکرومول در لیتر به عنوان فاکتور اول و تنش خشکی نیز در ۴ سطح (شاهد۱۰۰=٪ ظرفیت زراعی آبیاری کامل)، (تنش ملایم)=۸۵٪ ظرفیت زراعی)، (تنش متوسط= ۷۰٪ ظرفیت زراعی) و(تنش شدید =۵۵٪ ظرفیت زراعی)که به ترتیب تنظیم شده در پتانسیل ماتریکهای ۰,۱- ، ۰,۵- ، ۱/۰- ، ۱/۵- مگا پاسکال) بودند. اعمال تیمار تنش خشکی با شروع ظهور گل ها صورت گرفت و برای دستیابی به سطوح مختلف تنش خشکی در خاک، از روش پرهیز از آبیاری استفاده شد (Noborio *et al*., 1999) . برای اندازه‌گیری میزان رطوبت خاک و تعیین زمان آبیاری از دستگاه تی دی آر [3] استفاده شد.. محلولپاشی سدیم نیتروپروساید در زمان تمام گل در ساعات اولیه صبح انجام و مقدار آن به اندازه‌ای بود که به حد ریزش قطرات محلول‌ها بعد از خیسی کامل برگ‌ها رسید (Liu *et al*., 2011). فعالیت آنزیم پراکسیداز بر اساس روش چانس و مهلی (۱۹۵۵)، برای تعیین فعالیت آنزیم کاتالاز از روش آبی (۱۹۸۴)، جهت سنجش پرولین برگ از روش بیتس (۱۹۷۳) استفاده گردید و برای استخراج روغن و محاسبه میزان فیتواسترول از روش چانهو (۲۰۱۱) استفاده شد (Rabbi Angourani *et al*., 2017). جهت تجزیه و تحلیل داده‌ها، از نرم افزار آماری SAS استفاده گردید.

نتایج و بحث

۱-فعالیت آنزیم پراکسیداز:

طبق نتایج جدول مقایسه میانگین در اثر متقابل دو فاکتور تنش خشکی و محلولپاشی سدیم نیتروپروساید در سطح ۱ درصد اثر معنی‌داری برفعالیت این آنزیم مشاهده گردید در اثر متقابل این دو فاکتور بهترین تیمارها شامل a_2b_3 ، a_3b_3 ، a_2b_2 و a_3b_4 بوده است و کمترین تاثیر مربوط به تیمارهای شاهد، a_1b_2 و a_4b_1 بود، بررسی مقایسه میانگین‌ها نشان داد که میزان فعالیت آنزیم پراکسداز که موثر در تجزیهٔ پراکسید هیدروژن می‌باشد تحت تنش خشکی افزایش یافت که نشان دهندهٔ تلاش گیاه در غلبه بر پراکسید هیدروژن داشت، علاوه بر این سدیم نیتروپروساید نیز در سطوح ۰/۵، ۱ میلی گرم در لیتر موجب افزایش فعالیت این آنزیم شد ولی فعالیت در سطح ۱/۵ میلی گرم در لیتر با کاهش نسبت به تیمارهای قبل همراه بود که تأثیر سیستم آنتی اکسیدان در فرآیند خنثی سازی آثار تنش اکسیداتیو ناشی از خشکی با بکار بردن اسید سالسیلیک به صورت خارجی در شرایط تنش فعالیت آنزیمهای آنتی اکسیدان از جمله سوپر اکسید دیسموتاز و پراکسیداز را بهبود بخشید.

۲- فعالیت آنزیم کاتالاز:

طبق نتایج جدول مقایسه میانگین در اثر متقابل دو فاکتور تنش خشکی و محلولپاشی سدیم نیتروپروساید در سطح ۵ درصد اثر معنی‌داری برفعالیت این آنزیم مشاهده گردید، بهترین تیمارها شامل a_2b_3 ، a_2b_4، و a_3b_3 بوده است

[3] .*Time Domain Reflectomtry*

IrHC2019

وکمترین تاثیر مربوط به تیمارهای شاهد و a_1b_2 بود، بررسی مقایسه میانگین‌ها نشان داد که میزان فعالیت آنزیم کاتالاز که موثر در تجزیهٔ پراکسید هیدروژن به آب و اکسیژن می‌باشد تحت تنش خشکی افزایش یافت، علاوه بر این سدیم نیتروپروساید نیز در سطوح ۰/۵ ، ۱ میلی گرم در لیتر موجب حداکثر تاثیردر فعالیت این آنزیم داشت ولی فعالیت در سطح ۱/۵ میلی گرم در لیتر با کاهش نسبت به تیمارهای قبل همراه بود که به نظر می‌رسد که سدیم نیتروپروسایدسنتز ترکیبات آنتی اکسیدان را طی تنش های محیطی تنظیم می کند که در تحمل در برابر تنش خشکی در گیاهان مؤثر است (Liu *et al.*, 2011).

جدول ۱–مقایسه میانگین مربوط به تاثیر سطوح مختلف تنش خشکی و سدیم نیتروپروسایدبر روی آنزیمهای آنتی اکسیدان و برخی صفات فیزیولوژیکی در گیاه کدوی طبی

تیمار	پرکسیداز (µmol*min-۱/ml)	کاتالاز (µmol*min-۱/ml)	پرولین (µmol.g-1 F.W)	بتاسیتوسترول (میلی لیتر در ۱۰۰ گرم وزن خشک)	عملکرد روغن هرکرت (میلی لیتر)
a1b1	۰/۳۷۸۳ f	۰/۷۹۳۸ i	۳۲/۱۵۹ j	۰/۴۲۹۵۴ g	۳۱۰/۷ def.
a1b2	۰/۴۷۴۱۲ ef	۰/۹۴۱۸	۳۷/۷۶۱ h	۰/۴۶۴۰۸ g	۲۷۶/۹۲ def.
a1b3	۰/۵۷۸۴۲ de	۱/۱۸۸ fg	۴۴/۸۴۷ efg	۰/۷۳۷۵۷ ef	۲۷۵/۶۶ def.
a1b4	۰/۶۸۰۳۵ bc	۱/۱۸۸۷ fg	۴۸/۱۵۸ def.	۰/۸۰۸۱۸ e	۲۲۸/۰۹ f
a2b1	۰/۷۶۴۳۵ bc	۱/۲۵۶۱ efg	۴۱/۵۸۵ ghi	۱/۰۴۳۰۲ cd	۴۵۴/۲۴ a
a2b2	۰/۸۳۱۵ b	۱/۳۴۳۲ def.	۵۷/۹۲۴ ab	۱/۳۱۰۴۶ a	۴۴۳/۰۷ ab
a2b3	۰/۹۱۴۵۷ a	۱/۸۷۳۵ a	۶۳/۱۲ a	۱/۱۹۴۷۳ ab	۳۹۳/۸۳ abc
a2b4	۰/۸۶۲۴۶ b	۱/۶۵۵۱ b	۶۲/۸۲۵ a	۱/۰۸۵۵۶ bcd	۳۲۲/۵ cde
a3b1	۰/۷۷۳۴۱ bc	۱/۲۹۹ efg	۴۲/۴۵۴ fgh	۰/۹۶۲۱۶ d	۳۶۴/۴۳ bcd
a3b2	۰/۸۶۱۵۲ b	۱/۴۸۱۱ cde	۴۴/۳۲۹ fgh	۱/۱۶۳۹ bc	۳۵۱/۳۸ cde
a3b3	۰/۹۵۷۷ a	۱/۹۶۴۲ a	۵۰/۵۳ cde	۱/۰۳۷۵۴ d	۳۶۳/۰۷ bcd
a3b4	۰/۸۵۵۵۶ b	۱/۵۳۸ bcd	۵۶/۰۲۷ bc	۱/۰۱۸۴۷ d	۳۵۴/۳۳ cde
a4b1	۰/۳۷۳ ef	۱/۰۳۶۲ gh	۳۹/۳۱۸ hi	۰/۵۴۰۴۵ g	۳۰۳/۸۵ def.
a4b2	۰/۴۷۰۱۵ de	۱/۳۰۸۴ cde	۴۲/۳۸۳ ghi	۰/۶۳۶۵۸ f	۳۱۵/۰۵ def.
a4b3	۰/۴۷۱۱۱ de	۱/۲۱۵۲ def.	۴۶/۹۸۴ efg	۰/۶۴۶۷۸ f	۲۶۶/۰۱ ef
a4b4	۰/۴۳۱۸۸ e	۱/۴۷۳۷ bc	۵۳/۸۰۹ bcd	۰/۹۶۴۳ d	۲۳۰/۲۲ f

*. در هر ستون میانگین هایی که دارای حروف مشابهی هستند از لحاظ آماری با استفاده از آزمون دانکن در سطح ۵ ٪ معنی دار نبوده اند.

*. تیمارهای تنش خشکی به ترتیب از a_1 الی a_4 (تنظیم شده در پتانسیل مکش های ۰,۱- ، ۰,۵- ، ۱,۰- ، ۱,۵- مگا پاسکال) و تیمارهای سدیم نیتروپروسایدبه ترتیب از b_1 الی b_4 (صفر، ۰/۵، ۱و ۱/۵ میلی گرم در لیتر) می باشد.

۳-تجمع پرولین:

طبق نتایج جدول مقایسه میانگین در اثر متقابل دو فاکتور تنش خشکی و محلولپاشی سدیم نیتروپروساید در سطح ۱ درصد اثر معنی‌داری برمیزان پرولین مشاهده گردید، بهترین تیمارها شامل a_2b_2 ،a_2b_3 و a_2b_4 بوده است وکمترین تاثیر مربوط به تیمارهای شاهد و a_1b_2 بود، بررسی مقایسه میانگین ها نشان داد که میزان تجمع پرولین تحت تنش خشکی افزایش یافت، علاوه بر این سدیم نیتروپروساید نیز در سطوح ۰/۵ ، ۱ میلی گرم در لیتر موجب افزایش پرولین

IrHC2019

شد ولی فعالیت در سطح ۱/۵ میلی گرم در لیتر با کاهش نسبت به تیمارهای قبل همراه بود، با توجه به اینکه سدیم نیتروپروساید توسعه ریشه و متابولیسم ازت را بهبود می‌بخشد و پرولین نیز در ادامه مسیر متابولیسم ازت به همراه دیگر رنگیزه‌های فتوسنتزی و اسیدهای آمینه در مسیر ساخت قرار دارد و به عنوان منبع مهم نیتروژن در شرایط تنش به شمار می رود (Liu *et al.*, 2011).

۴- ماده موثره (بتاسیتوسترول):

طبق نتایج جدول مقایسه میانگین در اثر متقابل دو فاکتور تنش خشکی و محلولپاشی سدیم نیتروپروساید در سطح ۱ درصد اثر معنی‌داری بود، بهترین تیمارها شامل a_2b_2 و a_2b_3 و کمترین مقدار مربوط به شاهد بود با افزایش تنش خشکی میزان بتاسیتوسترول افزایش یافت که نشان می دهد کاربرد رژیم‌های رطوبتی خاص باعث افزایش متابولیت‌های ثانویه دربرخی گیاهان دارویی می‌گردد که این موضوع با نتایج در روی گیاه برنج مطابقت داشت که مقدار فیتواسترولها بویژه بتاسیتوسترول در مواجهه گیاه با تنش خشکی افزایش می‌یابد (Popova *et al.*, 2003). و همچنین با نتایج آزمایشی در گیاه کدوی تخمه کاغذی رقم استریکا تحت تنش شوری مطابقت داشت که موجب افزایش مقدار بتاسیتوسترول شده بود (۱). همچنین سدیم نیتروپروساید نیز موجب افزایش بیشتر این ماده گردید بطوریکه در غلظت ۰،۵ میلی گرم در لیتر در شرایط تنش خشکی بیشترین مقادیر را موجب گردید که با نتایج یافت شده در گیاه رازیانه درشرایط تنش خشکی مطابقت داشت که محلولپاشی اسید سالسیلیک موجب افزایش آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان و عملکرد اسانس و کاهش خسارت اکسیداتیو را گردیده بود (kumar *et al.*, 2015).

۵-عملکرد روغن در کرت:

طبق نتایج جدول مقایسه میانگین در اثر متقابل دو فاکتور تنش خشکی و محلولپاشی سدیم نیتروپروساید در سطح ۵ درصد اثر معنی‌داری بر این صفت داشتند، بهترین تیمارها شامل a_2b_1و a_2b_2 بود وکمترین مقادیر به تیمارهای a_1b_4و a_4b_4 بود، بررسی مقایسه میانگین‌ها نشان داد که که تنش خشکی موجب کاهش عملکرد روغن گردید که با نتایج مطابقت داشت که در بررسی گیاه ماریتیغال تحت تنش کمبود آب مشاهده کردند که درصد روغن دانه با افزایش تنش خشکی کاهش یافت (۳۲)، در مقابل سدیم نیتروپروسایدبویژه در سطح ۰/۵میلی گرم در لیتر موجب افزایش گردید در سطوح موجب افزایش فعالیت این آنزیم شد ولی عملکرد روغن در سطح ۱/۵ میلی گرم در لیتر با کاهش نسبت به تیمارهای قبل همراه بود.

نتیجه‌گیری:

بکارگیری تنش خشکی و محلولپاشی سدیم نیتروپروسایدموجب توسعه متوازن مادۀ موثره (بتاسیتوسترول) و بالا بردن هماهنگ این مادۀ ارزشمند تحت تاثیر مثبت تنش خشکی و سدیم نیتروپروسایدگردید که با به کارگیری این دو فاکتور اثرات کاهشی عملکرد روغن نیز در سطوح سدیم نیتروپروسایدجبران شد که ناشی از تاثیر این ماده در بهبود آثار تنش اکسیداتیو بوسیلۀ افزایش فعالیت آنزیمهای آنتی اکسیدان و متابولیت سازگاری مانند پرولین بود بهترین نتایج در تیمارهایی با سطوح ۰/۵ و ۱ میلی گرم در لیتر سدیم نیتروپروسایدو (تنش ملایم معادل ۸۵٪ ظرفیت زراعی،

IrHC2019

تنظیم شده در پتانسیل ماتریکهای ، ۰/۵- مگا پاسکال) و (تنش متوسط معادل ۷۰٪ ظرفیت زراعی، ترتیب تنظیم شده در پتانسیل ماتریکهای ۱/۰- مگا پاسکال) بود.

منابع

El-Yazeid, A. 2011. Effect of Foliar Application of Salicylic Acid and Chelated Zinc on Growth and Productivity of sweet pepper (*Capsicum annuum* L.) Under Autumn Planting. Research Journal of Agriculture and Biological Sciences, 7(6): 423-433.

Kumar MS, Ali K, Dahuja A and Tyagi A .2015. Role of phytosterols in drought stress tolerance in rice.Plant Physiology and Biochemistry. 96: 83–89.

Liu,C. Liu,Y. Guo,K. Fan,D. Li,G. Zheng,Y. Yu,L. and Yang,R . 2011. Effect of drought on pigments, osmotic adjustment and antioxidant enzymes in six woody plant species in karst habitats of southwestern China. Environmental and Experimental Botany 71: 174–183.

Noborio, K., Horton, R. and Tan. And C.S. 1999. Time domain reflectometry probe for simultaneous measurement of soil matric potential and water content. Soil Science Societies American Journal, 63:1500–1505.

Popova, L., Ananieva, V., Hristova, V ,.Christov, K., Georgieva, K., Alexieva, V. and Stoinova, Zh. 2003. Salicylic acid-and Methyl jasmonate–induced protection on photosynthesis to paraquat oxidative stress. Bulgarian Journal of Plant Physiology, 14: 133-152.

Rabbi Angourani, H., PanahandeYangajeh,J., BolandNazar,S., Saba,J. and Zare Nahandi,F. 2017. The effects of exogenous salicylic acid on some quantitative and qualitative attributes of Medicinal pumpkin (*Cucurbitapepo* L. var. Styriaca) under drought stress. Advances in Bioresearch. 8 (2): 2017

Reddy,A.R., K.Y.Chaitanya. and M.Vivekanandan. 2004 Drought induced resposes of photosynthesis and antioxidant metabolism in higher plants .Journal of Plant Physiology. 1189:161-1202.

Stevens, J., Senaratna, T. and Sivasithamparam, K. 2006. Salicylic Acid Induces Salinity Tolerance in Tomato (*Lycopersicon esculentum* cv. Roma): Associated Changes in Gas Exchange, Water Relations and Membrane Stabilisation. Journal of Plant Growth Regulation, 49: 77-83.

Tan,J.,Zhao H., Hong, J.,Han,Y and Zhao,W .2008. Effects of exogenous nitric oxide on photosynthesis, antioxidant capacity and proline accumulation in wheat seedlings subjected to osmotic stress. World Journal of Agricultural Sciences. 4 (3): 307-313.

Xiong, J., Zhang, L., Fu, G,Yang Y, Zhu, C and Tao, L .2012. Drought-induced proline accumulation isuninvolved with increased nitric oxide,which alleviates drought stress by decreasing transpiration in rice. Journal of Plant Research. 125:155-164.

Yazici, I., Turkan, F., Sekmen, A.H. and Demiral, T. 2007. Salinity tolerance of purslane (Portulaca oleracea L.) is achieved by enhanced antioxidative system, lower level of lipid peroxidation and proline accumulation. Environmental Experimental Botany 61(1): 49-57.

Yordanova R and Popova L. 2007. Effect of exogenous treatment with salicylic acid on photosynthetic activity and antioxidant capacity of chilled wheat plants, Gen. Appl. Plant Physiology. 33: 155-170.

IrHC2019

Effect of nitroproside on antioxidant enzymes and quantity and quality of active ingredient of (*Cucurbita pepo* L. var .oleifera Pietsch) under drought stress

Hossein Rabbi Angourani*

Research Institue of Modern Biological Techniques(RIMBT), University of Zanjan, Zanjan, Iran.

**Corresponding Author: Rabbihosein@znu.ac.ir*

Abstract:

In order to investigate the effects of sodium nitroprusside on the increase of drought tolerance on drug pumpkin oleifera The experimental design was a factorial based on a randomized complete block design with three replications. Two factors were investigated in four levels. In this experiment, sodium nitroprusside (SNP) at four levels of 0, 50, 100 and 200 µmol / L as First factor and drought stress in 4 levels of control (mild stress), (medium stress) and (severe stress) were adjusted in the suction potential of 0.1-, 0.5-, 1.0-, 1.5-mega-Pascal), results Showed that drought stress reduced oil yield and increased beta-sitosterol and increases the activity of antioxidant enzymes such as catalase and peroxidase, while sodium nitroprusside Due to the increased activity of antioxidant enzymes such as catalase and peroxidase and proline accumulation, it reduced oxidative stress and increased the yield of oil and beta-cytosterol, indicating the increased resistance of the plant to drought as a result of the use of sodium nitroprusside.

***Keywords**:* Oxidative stress, peroxidase, catalase, proline, beta-cytosterol.

IrHC2019