هفتمین کنگره علوم باغبانی ایران، ١٤ تا ١٧ شهریور ماه ١٣٩٠، دانشگاه صنعتی اصفهان

کاهش تنش اکسیداتیو حاصل از تنش شوری در سیب زمینی با استفاده از آسکوربیک اسید

فاطمه دانشمند(۱)، محمدجواد آروین(۲)

۱- دانشگاه پیام نور،گروه علمی زیست شناسی، تهران، ۲- گروه علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شهید باهنر کرمان

تنش شوری به علت تولید رادیکال های آزاد اکسیژن موجب تنش اکسیداتیو در گیاهان می گردد. در این مطالعه اثر آسکوربیک اسید برون زا به عنوان یک آنتی اکسیدان قوی، بر فعالیت سیستم آنتی اکسیدان آنزیمی و تنش اکسیداتیو حاصل از تنش شوری در سیب زمینی Solanum tuberosom L. cv. Carlton با روش درون شیشه ای مورد بررسی قرار گرفت. جداکشت‌های ساقه حاوی گره و برگ، در محیط کشت مایع موراشیگ و اسکوگ (MS) دارای غلظت‌های مختلف آسکوربیک اسید (ASA) (۰، ۰/۵و ۱ میلی‌مولار) و کلرید سدیم (۰ و ۷۵ میلی مولار) بود، به مدت ٤ هفته قرار گرفتند. تنش شوری موجب کاهش پارامترهای رشد و مقدار رنگیزه های فتوسنتزی گردید و پراکسیداسیون لیپیدها، مقدار پراکسید هیدروژن(H_2O_2)، نشت یونی و فعالیت لیپوکسیژناز(LOX)، سوپراکسید دیسموتاز (SOD)، کاتالاز (CAT)، گایاکل پراکسیداز (GPOD)، آسکوربات پراکسیداز (APX) و گلوتاتیون رداکتاز (GR) را افزایش داد. آسکوربیک اسید با افزایش فعالیت سیستم دفاع آنتی اکسیدانی آنزیمی نظیر SOD، CAT، GPOD، APX و GR موجب کاهش تنش اکسیداتیو، پراکسیداسیون لیپیدها، H_2O_2، نشت یونی و فعالیت LOX، و در نتیجه موجب افزایش رنگیزه های فتوسنتزی و در نهایت بهبود پارامترهای رشد گردید.

کلمات کلیدی: تنش شوری، آسکوربیک اسید، سیستم آنتی اکسیدان آنزیمی، شرایط درون شیشه ای

مقدمه

تنش شوری یکی از تنش های مهم محیطی و کاهش دهنده تولید محصول در محصولات کشاورزی است. غلظت های بالای نمک در محیط اطراف ریشه موجب کاهش پتانسیل آبی، عدم تعادل تغذیه ای، سمیت یونی، تغییر در متابولیسم سلولی، تنش اکسیداتیو و کاهش رشد و تولید محصول می گردد. گیاهان دارای مکانیسم های آنتی اکسیدانی آنزیمی و غیر آنزیمی برای مقابله با تنش اکسیداتیو حاصل از گونه های فعال اکسیژن (ROS) می باشند. آسکوربیک اسید یک آنتی اکسیدان مهم در گیاهان می باشد. آسکوربیک اسید به عنوان سوبسترای بسیاری از پراکسیدازها می باشد و یکی از اجزای اصلی چرخه آسکوربات-گلوتاتیون و چرخه آب-آب بوده که در جاروب کردن ROS بسیار موثر می باشند. در این مطالعه تاثیر آسکوربیک اسید برون زا بر کاهش اثرات ایجاد شده توسط شوری در سیب‌زمینی به‌روش درون‌شیشه‌ای در محیط کشت مایع موراشیک و اسکوگ (MS) مورد بررسی قرار گرفت. کشت‌های درون‌شیشه‌ای یک محیط جایگزین موثر برای جلوگیری از برهم‌کنشهای پیچیده‌ی محیط و خاک است که موجب بررسی دقیق‌تر پاسخ‌های بیوشیمیائی و فیزیولوژیکی گیاه به تنش شوری می‌گردد.

مواد و روش ها:

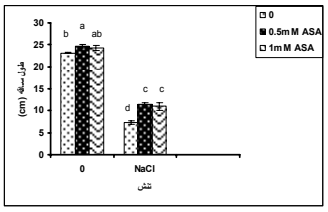
ریز گیاهان سیب زمینی رقم زراعی Carlton تهیه شده از مرکز تحقیقات ژنتیک تهران، به قطعات ۳-۲ سانتی متری تقسیم و این قطعات به ظرف های اتوکلاو شده از جنس پلی پروپیلن با نام phytacon vesseles (Sigma) حاوی محیط کشت مایع موراشیگ و اسکوگ (MS)، ۳ درصد ساکارز و بدون آگارو هورمون با pH = ۵/۷ منتقل شدند و در اتاق با دمای ۱ ± ۲۵ $^{\circ}C$ و شدت نور $120 \mu M\ m^{-2}\ S^{-1}$ منتقل و در فتوپریود ١٦ ساعت روشنایی و ٨ ساعت تاریکی قرار گرفتند و بعد از گذشت یک‌ماه از رشد گیاهان داخل این ظرف‌ها از این گیاهان برای اعمال تیمار استفاده گردید. برای اعمال تیمار غلظت های ۰، ۰/۵ و ۱ میلی

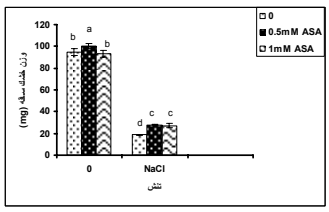
مولار آسکوربیک اسید(ASA) و غلظت های ٠و ٧٥ میلی مولار کلرید سدیم به محیط کشت مایع MS که حاوی ٣ درصد ساکارز و بدون آگار و هورمون با pH = ٥/٧ بود اضافه شد و سپس گیاهان رشد یافته (در مرحله آماده سازی)، به قطعات ٣-٢ سانتی متری تقسیم و ٣ قطعه از هر کدام داخل یک phytacon vessels در شرایط استریل انتقال یافت و در اتاق کشت با شرایط ذکر شده در بالا به مدت ٤ هفته نگهداری شد (داخل هر ظرف ٣ گیاه و برای هر تیمار ٣ تکرار) سپس اندازه گیری های زیر روی گیاهان انجام شد.

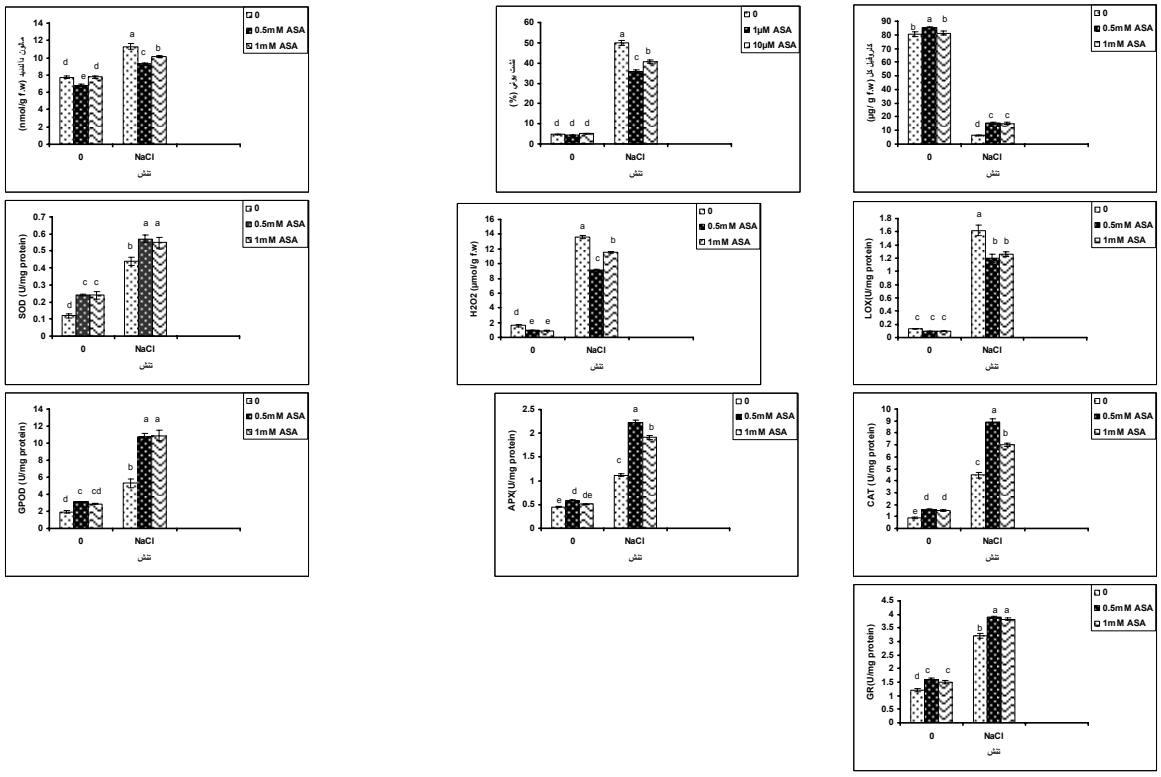
طول ساقه و وزن خشک اندام هوایی گیاهان (به عنوان پارامترهای مورفولوژیک) اندازه‌گیری گردید. برای سنجش مقدار رنگیزه‌های فتوسنتزی از روش Lichtenthaler (١٩٨٧) ، پراکسیداسیون لیپیدهای غشا (غلظت مالون‌دآلدئید (MDA)) از روش Packer و Heath (١٩٦٩) ، میزان آسیب به غشا (میزان نشت یونی) از روش Ben Hamed و همکاران (٢٠٠٧) و سنجش پراکسید هیدروژن از روش Velikova و همکاران (٢٠٠٠) استفاده شد. سنجش **فعالیت آنزیم لیپوکسیژناز (LOX)** بر اساس روش Minguez-Mosquera و همکاران (١٩٩٣) ، آنزیم سوپر اکسید دیسموتاز (SOD) با استفاده از زوشGiannopolotis و Ries (١٩٧٧)، فعالیت آنزیم کاتالاز (CAT) با استفاده با روش Dhindsa و Motowe (١٩٨١) ،فعالیت آنزیم پراکسیداز (GPOD) با استفاده از روش Plewa و همکاران (١٩٩١)، سنجش فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز (APX) با استفاده از روش Asada و Nakano(١٩٨١) و فعالیت آنزیم گلوتاتیون پراکسیداز(GR) توسط روش Foyer و Halliwell (١٩٧٦) انجام گرفت. تجزیه و تحلیل‌های آماری در این مطالعه با آزمایش فاکتوریل و طبق طرح کاملا تصادفی با سه تکرار صورت گرفته و داده‌ها با استفاده از نرم افزار SPSS تحت آنالیز واریانس دوطرفه قرار گرفته و اختلاف میانگین‌ها با استفاده از آزمون چند دامنه ای دانکن در سطح اطمینان ٩٥٪ مقایسه شدند.

نتایج

نمودارهای زیر تاثیر تیمارهای کلرید سدیم (NaCl ٧٥ میلی مولار) و آسکوربیک اسید (١ ,٠/٥,٠ میلی مولار(ASA)) را بر پارامترهای طول ساقه، وزن خشک اندام هوایی، مقدار کلروفیل، نشت یونی، مقدار مالون دآلدئید (MDA)، مقدار پراکسید هیدروژن (H_2O_2)، فعالیت آنزیم های لیپوکسیژناز (LOX)، سوپراکسید دیسموتاز (SOD)، کاتالاز (CAT)، گایاکل پراکسیداز (GPOD)، آسکوربات پراکسیداز (APX) و گلوتاتیون رداکتاز (GR) نشان می دهد.







بحث

تنش شوری در این گیاه باعث کاهش طول ساقه، وزن خشک اندام هوایی و کلروفیل گردید. کاهش مقدار کلروفیل در گیاهان تحت تنش شوری ممکن است به‌علت افزایش فعالیت آنزیم تجزیه کننده‌ی کلروفیل یعنی کلروفیلاز باشد. کاهش میزان رشد گیاه تحت تنش شوری می تواند به دلائلی چون مهار تقسیم و گسترش سلول، تحت تاثیر قرار گرفتن دستگاه فتوسنتزی گیاه، تغییر در مقدار رنگیزه های فتوسنتزی، کمبود آب و یا سمیت نمک همراه با جذب زیادی یون‌هایی مثل سدیم و کلر، عدم تعادل مواد معدنی و دخالت در فرایندهای طبیعی سلول نظیر فتوسنتز و تنفس باشد. تنش شوری به دلیل عدم تعادل متابولیکی ایجاد شده توسط سمیت یونی، کمبود مواد معدنی، تنش اسمزی و کم آبی و القای بستن روزنه ها موجب تولید گونه های فعال اکسیژن و تنش اکسیداتیو می‌گردد. از میزان پراکسیداسیون لیپید (مالون دآلدئید)، پراکسید هیدروژن و نشت یونی و فعالیت آنزیم LOX برای نشان دادن میزان تنش اکسیداتیو و آسیب به غشا استفاده می‌شود. در این بررسی، آسکوربیک اسید با افزایش فعالیت سیستم دفاع آنتی اکسیدانی آنزیمی نظیر SOD، CAT، GPOD، APX و GR موجب کاهش تنش اکسیداتیو، پراکسیداسیون لیپیدها، H_2O_2، نشت یونی و فعالیت LOX، و در نتیجه موجب افزایش رنگیزه های فتوسنتزی و در نهایت بهبود پارامترهای رشد گردید.

منابع

Afzali I, Basra SMA, Faroog M, Nawaz A (2006) Alleviation of salinity stress in spring wheat by hormonal priming with ABA, salicylic acid and ascorbic acid. Int J Agr Biol 1: 23-28

Azevedo Neto AD, Prisco JT, Eneas- Filho J, De Abreu CEB, Gomes- Filho E (2006) Effect of salt stress on antioxidative enzymes and lipid peroxidation in leaves and roots of salt tolerant and salt sensitive maize genotypes. Environ Exp Bot 56:87-94

Mahmoud E. Younis & Mohammed N. A. Hasaneen &Amany M. S. Kazamel (2010) Exogenously applied ascorbic acid ameliorates detrimentaleffects of NaCl and mannitol stress in Vicia faba seedlings. Protoplasma 239:39–48
Zahoor AS & Faheem A. (2009) Amelioration of salinity tolerance in Solanum tuberosum L.by exogenous application of ascorbic acid. In Vitro Cell.Dev.Biol.—Plant 45:540–549

Reduction of oxidative stress caused by salinity in potato by ascorbic acid

Fatemeh Daneshmand[1 *], Mohammad Javad Arvin[2]
1- Biology Department, Payame Noor University, 19395-4697- Tehran, I. R. Iran.
2- Department of Horticulture, College of Agriculture, Shahid Bahonar University of Kerman, Kerman, Islamic Republic of Iran.
***Corresponding author**: E-mail address: f.daneshmand@yahoo.com

Abstract
Salinity stress caused oxidative stress in plants by production of free oxygen radicals. In this study, the effect of exogenous ascorbic acid treatment (as a strong antioxidant) on the activity of enzumatic antioxidant system and oxidative stress was investigated in **Solanum tuberosom** L. cv. Carlton *in vitro*. Explants were cultured in liquid MS medium containing different concentrations of ascorbic acid (0, 0.5 and 1 mM) and NaCl (0 and 75 mM) for 4 weeks. NaCl stress reduced growth parameters and photosynthetic pigments and increased lipid peroxidation, electrolyte leakage, H_2O_2 level and also the activity of lipoxygenase (LOX), superoxide dismutase (SOD), guaiacol peroxidase (GPOD), ascorbate peroxidase (APX), catalase (CAT) and glutathione reductase (GR). Ascorbic acid via increasing most enzymatic antioxidants (SOD, GPOD, APX, CAT and GR), reduced lipid peroxidation, electrolyte leakage, H_2O_2 content and LOX activity and leading to promote protective reactions which were reflected in improving plants growth parameters.
Key words: Salt Stress, Ascorbic acid, Enzymatic Antioxidant Systems, *In vitro*