تولیدات گیاهی (مجله علمی کشاورزی)، جلد ۳۷ شماره ۲، تابستان ۹۳

اثر تنش سرما بر فعالیت آنزیم های آنتی اکسیدان گیاهچه دو رقم برنج (*Oryza sativa L.*)

زهرا حسن نژاد[۱]، سید منصور سیدنژاد *[۲]، عبد العلی گیلانی[۳] و پیمان حسیبی[۴]

۱- دانشجوی کارشناسی ارشد، گروه زیست شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه شهید چمران اهواز

۲* - **نویسنده مسوول:** دانشیار گروه زیست شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه شهید چمران اهواز (SM.Seyyednejad@gmail.com)

۳- استادیار مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی خوزستان، اهواز

۴- استادیارگروه زراعت و اصلاح نباتات، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شهید چمران اهواز

تاریخ دریافت: ۹۰/۱۲/۱۵ تاریخ پذیرش: ۹۱/۹/۱۵

چکیده

به منظور بررسی فعالیت سیستم آنتی اکسیدانی دو رقم برنج (چمپا و دلار)، در هنگام مواجه با تنش سرما و نیز تنش اکسیداتیو متعاقب آن، آزمایشی در اسفند سال ۱۳۸۹ در مزرعه واحد تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی خوزستان انجام شد. آزمایش به صورت کرت های یک بار خرد شده در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی با سه تکرار انجام گرفت. عامل اصلی شامل سه تاریخ کشت اول، دهم و بیستم اسفند، عامل فرعی شامل دو رقم چمپا و دلار بود. نتایج این آزمایش نشان داد که دمای پایین باعث کاهش فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدان پراکسیداز، کاتالاز و آسکوربات پر اکسیداز در برگ و ریشه هر دو رقم گردید. کمترین میزان فعالیت آنزیم‌ها در برگ و ریشه رقم دلار مشاهده شد. میزان مالون د آلدئید در طی تنش سرما افزایش معنی دار داشت. بیشترین میزان مالون د آلدئید در تاریخ کشت اول در برگ و ریشه رقم دلار (۵۹/۸ و ۲۰/۹۵ میلی‌مول بر گرم وزن تر) بود. همچنین تنش سرما باعث کاهش معنی دار پروتئین‌های محلول برگ و ریشه در هر دو رقم گردید. بنابر این رقم چمپا به دلیل داشتن سیستم آنتی اکسیدانی آنزیمی فعال‌تر نسبت به رقم دلار و نیز کاهش میزان مالون د آلدئید متحمل‌تر از رقم دلار عمل کرد.

کلید واژه ها: برنج، آسکوربات پراکسیداز، تنش سرما، پراکسیداز، پروتئین، کاتالاز و مالون‌دی‌آلدئید

مقدمه

برنج (*Oryza sativa L.*) گیاهی تک لپه متعلق به خانواده *Poaceae* بوده و پس ازگندم دومین محصول مهم زراعی دنیا محسوب می شود. این گیاه غذای بیش از نیمی از مردم جهان را تشکیل می دهد (حسیبی، ۱۳۸۶). این گیاه، بومی مناطق گرمسیری و نیمه گرمسیری بوده و یکی از مهمترین عوامل محدود کننده رشد آن دمای پایین هوا (سرما) می‌باشد (بانکارر و همکاران[۱]، ۲۰۰۵). به طور کلی تنش دمای پایین را می-توان به دو بخش تقسیم کرد: تنش سرما[۲] (به دماهای بین ۰ – ۲۰ درجه سانتی‌گراد گفته می‌شود). تنش یخ زدگی[۳] (که به دماهای پایین‌تر از صفر درجه‌ی سانتی-گراد گفته می‌شود)، (زنگ و همکاران[۴]، ۲۰۰۷). معمولاً گونه‌های گیاهی نواحی گرمسیری و نیمه گرمسیری به خسارات تنش سرما حساسیت بیشتری داشته و وقتی در معرض دماهای ۱۰ تا ۱۵ درجه سانتیگراد قرار می‌گیرند، دچار تنش سرمازدگی می‌شوند (کافی و همکاران، ۱۳۸۸). تنش سرما به عنوان یک تنش اولیه می‌تواند زمینه ساز ایجاد تنش های ثانویه نیز باشد که از جمله آنها می‌توان به تنش اکسیداتیو (تولید گونه‌های فعال اکسیژن)

1- Bonnecarrere *et al.*
2- Chilling stress
3- Freezing stress
4- Zhang *et al.*

اشاره کرد (بک و همکاران[1]، ۲۰۰۷). تحقیقات نشان داده است که با تغییر خصوصیات غشاهای زیستی در هنگام تنش سرما، تعادل متابولیسمی در سلول بهم خورده که منجر به ایجاد متابولیت‌های ثانویه سمی و آسیب‌های ثانویه در گیاه می‌شود (زینالی و همکاران، ۱۳۸۸). یکی از مهمترین متابولیت‌های سمی تولید شده در شرایط تنش سرما گونه‌های فعال اکسیژن[2](ROS) می‌باشند (مورسی و همکاران[3]، ۲۰۰۷). گونه‌های فعال اکسیژن محل‌های اثر مختلفی دارند که از جمله آنها می‌توان به لیپیدها، رنگدانه‌ها، پروتئین‌ها و اسیدهای نوکلئیک اشاره کرد که با تخریب آنها آسیب‌های جدی به سلول وارد آمده و به این ترتیب سلول با نوع تازه‌ای از تنش به نام تنش اکسیداتیو مواجه می‌شود (سونگ و همکاران[4]، ۲۰۰۳). با انتقال یک الکترون به اکسیژن مولکولی رادیکال سوپراکسید (O_2^-) با انتقال دو الکترون به اکسیژن مولکولی رادیکال پراکسید (H_2O_2) و با انتقال سه الکترون به اکسیژن رادیکال هیدروکسیل (OH^-) تشکیل می‌شود (حسیبی، ۱۳۸۶). گیاهان در هنگام مواجه با تنش‌های اکسیداتیو از یک سیستم دفاعی آنتی اکسیدانی استفاده کرده و تا حد امکان از خسارات ایجاد شده در چنین شرایطی می‌کاهند (چاینوسامی[5]، ۲۰۱۱). این سیستم محافظتی شامل ترکیبات آنتی اکسیدان با وزن مولکولی پایین و آنزیم-های رفع مسمومیت از ROS و خنثی کردن آنها می‌باشد (کوچک، ۱۳۹۰). از مهمترین آنزیم‌های آنتی اکسیدان می‌توان به کاتالاز (CAT)، پراکسیداز (POX) و آسکوربات پراکسیداز (APX) اشاره کرد که یک مکانیزم دفاعی علیه تولید و تجمع غلظت‌های مضر ROS فراهم می‌کنند (کیم و تای[6]، ۲۰۱۱). اتم‌های هیدروژن با پیوندهای غیر اشباع موجود در ساختمان لیپیدهای غشایی شدیداً به حمله‌های اکسیداتیو حساس هستند رخداد پراکسیداسیون در لیپیدهای غشایی نمایانگر رخ داد تنش‌های اکسیداتیو در گیاهان است که می‌تواند تحت تأثیر رادیکال‌های آزاد یا گونه‌های فعال اکسیژن ایجاد شده باشد (مایتلر[7]، ۲۰۰۶). پراکسیداسیون لیپیدها منجر به تخریب غشاهای زیستی می‌گردد (قربانی و همکاران، ۱۳۸۸). در اثر تخریب پراکسیدهای اسیدهای چرب اشباع نشده غشاها، مالون‌دآلدئید (MDA) تولید می‌شود که به عنوان یک نشانگر مناسب برای مشخص کردن شدت و مقدار صدمات اکسیداتیو وارد آمده به غشاهای زیستی مورد سنجش قرارمی‌گیرد (کیم و تای، ۲۰۱۱).

در این مطالعه فعالیت آنزیم های آنتی اکسیدان دو رقم برنج (*Oryza sativa L.*) به نام‌های چمپا و دلار در هنگام مواجه با تنش سرما و نیز تنش اکسیداتیو متعاقب آن مورد بررسی قرار گرفت.

مواد و روش‌ها

این تحقیق در اسفند ماه سال ۱۳۸۹ در مزرعه شماره ۱ مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی استان خوزستان واقع در ایستگاه تحقیقاتی شاوور در ۷۰ کیلومتری شمال اهواز به اجرا درآمد. آزمایش با دو عامل تاریخ کاشت (دما) و رقم به صورت کرت های یک بار خرد شده[8] در قالب طرح بلوک های کامل تصادفی در سه تکرار انجام شد. عامل تاریخ کاشت با هدف قرار گرفتن ارقام در معرض دماهای مختلف (در مرحله گیاهچه‌ای) در فواصل زمانی ده روزه در تاریخ های اول، ده و بیست اسفند ماه، در کرت های اصلی و بذر های ارقام برنج مورد بررسی (چمپا و دلار) در کرت های فرعی کشت گردید. نمونه برداری در مرحله گیاهچه‌ای (چهار برگی) و به شکل کاملا تصادفی صورت گرفت و نمونه‌ها پس از انتقال به محیط

1- Beck *et al.*
2- Reactive oxygen species
3- Morsy *et al.*
4- Sung *et al.*
5- Chinnusamy *et al.*
6- Kim & Tai
7- Mittler
8- Split plat design

آزمایشگاه به دمای منفی ۷۰ درجه سانتی گراد منتقل شدند.

مشخصات ارقام مورد آزمایش

رقم چمپا: رقم مورد استفاده در این بررسی انتخابی از توده چمپای رامهرمز بوده که رقمی با پنجه دهی متوسط، ارتفاع بوته ۱۵۰-۱۴۵ سانتی متر، با میانگین تولید ۴/۵-۴ تن در هکتار شلتوک می باشد (گیلانی، ۱۳۸۸).

رقم دلار: منشا این رقم هند بوده و حاصل تلاقی دو رقم DUMAI/LARKOCH، ارسالی از موسسه IRRI می باشد. متوسط قد بوته ۱۰۱ سانتی‌متر و متوسط عملکرد آن در هکتار ۲ تن است (گیلانی، ۱۳۸۸).

عصاره گیری به منظور استخراج پروتئین-های سیتوپلاسمی: ۰/۵ گرم از نمونه‌های گیاهی بر روی حمام یخ در هاون چینی به کمک ۱۰ میلی‌لیتر بافر فسفات پتاسیم ۰/۱ مولار به خوبی ساییده شد. سپس با استفاده از دستگاه سانتریفیوژ یخچال دار (Hettich ZENTRIFUGEN-EBA 12R) در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد در ۱۵۰۰۰ دور در دقیقه به مدت ۲۰ دقیقه سانتریفیوژ شد (کوچک، ۱۳۹۰).

سنجش پروتئین‌های محلول: برای این منظور ۱۵ میلی‌لیتر ازمعرف A (۱۰۰ گرم Na_2Co_3 حل شده در یک لیتر سود ۰/۵ نرمال)، ۰/۷۵ میلی‌لیتر از معرف B (یک گرم $5\ H_2O$ و $CuSo_4$ حل شده در ۱۰۰ میلی لیتر آب مقطر) و ۰/۷۵ میلی‌لیتر از معرف C (۴/۹۱ گرم سدیم پتاسیم تارتارات حل شده در ۱۰۰ میلی لیتر آب مقطر) با یکدیگر مخلوط و سپس ۵ میلی‌لیتر از آن به ۱ میلی‌لیتر از عصاره پروتئینی اضافه گردیده، سپس ۳ میلی‌لیتر معرف فولن ۲N رقیق شده اضافه گردید. و جذب نمونه‌ها در طول موج ۶۶۰ نانومتر خوانده شد (لوری و همکاران، ۱۹۵۱)[1].

سنجش فعالیت آنزیم پراکسیداز (POX) : ۲ میلی لیتر بافر استات ۰/۲ مولار با ۰/۱ میلی لیتر آب اکسیژنه ۰/۳ درصد و ۰/۱ میلی لیتر بنزیدین ۰/۰۲ مولار محلول در متانول ۵۰ درصد مخلوط شدند و سپس ۰/۱ میلی لیتر عصاره آنزیمی به آن اضافه شد و جذب نمونه-ها در طول موج ۵۳۰ نانومتر به مدت ۵ دقیقه ثبت گردید. فعالیت آنزیم بر حسب تغییرات واحد جذب در دقیقه به ازای هر میلی‌گرم پروتئین محاسبه وگزارش شد (هالی[2]، ۱۹۷۲).

سنجش فعالیت آنزیم کاتالاز (CAT) : ۴۰۰ میکرولیتر از بافر فسفات پتاسیم ۰/۰۵ مولار با ۱۰۰ میکرولیتر آب اکسیژنه ۳٪ رقیق شده و به ۱۰۰ میکرولیتر عصاره آنزیمی اضافه شد. منحنی تغییرات جذب در طول موج ۲۴۰ نانومتر در مدت زمان ۵ دقیقه رسم گردید. فعالیت آنزیم بر حسب تغییرات واحد جذب در دقیقه به ازای هر میلی‌گرم پروتئین گزارش شد (ابی[3]، ۱۹۸۴).

سنجش فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز (APX): بر روی ۱۰۰ میکرولیتر عصاره آنزیمی، ۱۰۰ میکرولیتر آسکوربات ۰/۵ میلی‌مولار، ۲/۵ میلی لیتر بافر فسفات پتاسیم ۰/۰۵ مولار ، ۱۰۰ میکرولیتر EDTA ۰/۱ میلی‌مولار و ۱۰۰ میکرولیتر آب اکسیژنه یک درصد اضافه شد. سپس فعالیت آنزیم در طول موج ۲۹۰ نانومتر در ۳ دقیقه اندازه‌گیری شد. فعالیت آنزیم بر حسب تغییرات واحد جذب در دقیقه به ازای هر میلی‌گرم پروتئین محاسبه گردید (چن و آسادا[4]، ۱۹۸۹؛ بانکارر و همکاران، ۲۰۰۵).

سنجش میزان مالون‌دآلدئید (MDA): به ۱ میلی‌لیتر عصاره استخراج شده، ۱ میلی‌لیتر محلول ۰/۵ درصد اسیدتیوباربیتوریک که حاوی اسید تری کلرواستیک ۲۰ درصد است، اضافه گردید. مخلوط حاصل در حمام آب دمای ۹۵ درجه سانتی‌گراد برای ۳۰ دقیقه حرارت داده شد و سپس درون حمام یخ قرار گرفت. مخلوط حاصل با ۱۰۰۰ دور در دقیقه به مدت ۲۰

1- Lowry *et al.*

2- Hoyle
3- Aebi
4- Chen & Asad

دقیقه سانتریفیوژ گردید. سپس جذب آن به کمک دستگاه اسپکتروفتومتر WPA (Biowave) biochrom ساخت انگلستان در دو طول موج ۵۳۲ و ۶۰۰ نانومتر اندازه‌گیری و سپس در ضریب خاموشی $mM^{-1}Cm^{-1}$ ۱۵۵ ضرب شد (حسیبی، ۱۳۸۷). نتایج بدست آمده با استفاده از نرم افزار MSTATC مورد تجزیه آماری قرار گرفت. میانگین‌ها نیز با استفاده از آزمون چند دامنه‌ای دانکن مقایسه و نمودارها به کمک نرم افزار Excel رسم شدند.

نتایج و بحث

گیاهان بومی مناطق گرمسیری و نیمه گرمسیری مانند برنج که در معرض دماهای پایین اما بالاتر از دمای یخ-زدگی قرار می‌گیرند، علائم و خسارات ناشی از تنش سرما را بروز می‌دهند. (بک و همکاران، ۲۰۰۷). نتایج این تحقیق نشان داد که میزان مالون د آلدئید (MDA) برگ و ریشه در تیمارD1 (سردترین تاریخ کشت) در مقایسه با تیمارهای D2 وD3 دارای افزایش معنی‌دار بود، (جدول ۲). بیشترین میزان مالون د آلدئید در تاریخ کشت اول و در برگ و ریشه رقم دلار (V2) مشاهده شد، (نمودار ۱). دمای پایین فعالیت آنزیم‌هایی همچون آنزیم روبیسکو را کاهش می‌دهد (کوچک، ۱۳۸۹). کاهش فعالیت کربوکسیلازی روبیسکو، باعث کاهش عملکرد چرخه کالوین می‌شود. از آنجایی که محصولات مرحله نوری فتوسنتز از جمله $NADPH_2$ در چرخه کالوین مصرف می شوند، بنابراین در تنش سرما این محصولات کاهش می‌یابند و انتقال الکترون‌ها از فرودوکسین به اکسیژن انجام گرفته و رادیکال‌های فعال اکسیژن تولید می‌شوند (قربانی و همکاران ۱۳۸۸). اندامک‌های میتوکندری، کلروپلاست، پراکسیزوم و نیز گلی اکسیزوم‌های سیتوپلاسمی مهمترین مکان‌های تولید رادیکال های فعال اکسیژن در سلول‌های گیاهی می‌باشند (نیک نژاد، ۱۳۸۸). گسترده ترین و شاید بتوان گفت مهمترین بخش از خسارات ناشی از تنش اکسیداتیو و تولید ROS مربوط به پراکسیداسیون لیپیدهای غشایی است که باعث تولید مالون‌دی‌آلدئید (MDA) می‌شود (حسیبی، ۱۳۸۶). گزارش شده است که گونه های مقاوم به سرما دارای محتوای اسیدهای چرب غیر اشباع بیشتری نسبت به گونه‌های حساس به سرما می‌باشند (هونگ و گو[1]، ۲۰۰۵). درطی دوره سرما رادیکال‌های هیدروکسیل با حمله به این اسیدهای چرب غیر اشباع و پراکسیداسیون آن‌ها باعث صدمه دیدن غشاهای سلولی (پلاسمایی و اندامکی) شده و باعث ازهم گسیختگی و مختل شدن عملکرد طبیعی کانال‌ها و پمپ‌ها و ناقل‌های موجود در غشاها می‌شوند (زینالی و همکاران ۱۳۸۸). بر اساس نتایج بدست آمده در این تحقیق تغییرات میزان فعالیت آنزیم POX برگ دارای اختلاف آماری معنی-دار نبوده اما در ریشه‌ها در D1 نسبت به D2 و D3، کاهش معنی دار یافت، (جدول ۴). بیشترین میزان فعالیت این آنزیم در D3 و مربوط به ریشه رقم چمپا بود، (نمودار ۲). میزان فعالیت آنزیم CAT برگ و ریشه در D1 نسبت به D2 و D3 دارای کاهش معنی داری بود، (جدول ۲و۴). کمترین میزان فعالیت این آنزیم ها در برگ رقم دلار و ریشه رقم چمپا مشاهده شد (نمودار ۳). همچنین میزان فعالیت آنزیم APX برگ دارای اختلاف آماری معنی‌دار نبوده اما در ریشه‌ها در D1 نسبت به D2 و D3، کاهش معنی داری یافت، (جدول ۴).

نتایج بدست آمده از این بررسی نشان داد که تنش سرما منجر به کاهش معنی دار میزان پروتئین‌های محلول در برگ و ریشه ارقام مورد بررسی گردید (جدول ۱و۳). سیستم دفاعی آنزیمی گیاهان شامل آنزیم‌های رفع مسمومیت از رادیکال‌های آزاد ROS و از بین بردن و خنثی کردن آنها می‌باشد (تکورا و همکاران[2]، ۲۰۱۰). از مهمترین آنزیم‌های آنتی اکسیدان می‌توان به کاتالاز (CAT)، پراکسیداز (POX) و همچنین آسکوربات

1- Huang & Guo
2- Thakura *et al.*

پراکسیداز (APX) اشاره کرد. بین میزان فعالیت CAT،APX و POX در تعیین سطح رادیکال‌های پراکسید هیدروژن تعادل برقرار است (حسیبی، ۱۳۸۶). آنزیم APX که در سرتاسر سیتوزول و کلروپلاست ها توزیع شده و از L- آسکوربیک اسید عنوان دهنده الکترون استفاده می کند (زینالی، ۱۳۸۸)، به غلظت‌های پایین‌تری از رادیکال پراکسید حساس بوده و در حفظ و نگهداری از آنتی اکسیدان‌ها در وضعیت احیاشدگی نقش دارد. آنزیم‌های CAT و POX در غلظت‌های بالاتری از رادیکال پراکسید فعالیت کرده و از انباشت مولکول پراکسید هیدروژن در سلول جلوگیری می کنند (جوانی، ۱۳۷۸).

جدول ۱- خلاصه نتایج تجزیه واریانس میانگین مربعات (MS) پروتئین محلول، ملاون د آلدئید، پراکسیداز، کاتالاز و آسکوربات پراکسیداز برگ دو رقم برنج

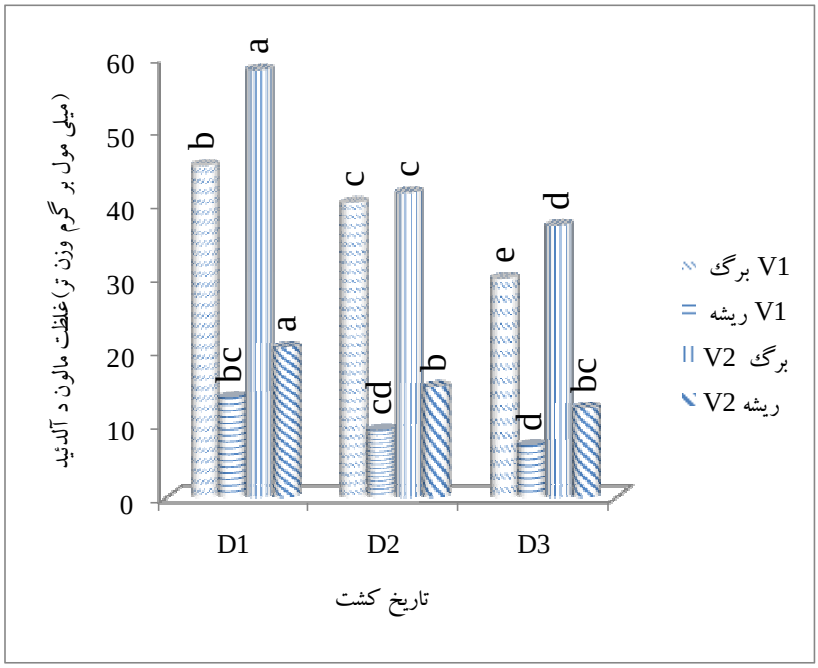
منابع تغییرات S.O.V	درجه آزادی	پروتئین محلول	مالون د آلدئید	پراکسیداز	کاتالاز	آسکوربات پراکسیداز
تکرار	۲	۰/۵۹۶ ns	۴/۰۴۲ ns	۰/۴۵۹ ns	۰/۲۰۹ ns	۰/۰۰۰ ns
تاریخ کشت (A)	۲	۲۲۱/۰۹۶ **	۵۰۷/۹۵۸ **	۲/۱۷۷ ns	۵/۶۳۰ **	۰/۱۰۷ *
خطا (a)	۴	۰/۸۸۹	۲/۸۷۲	۰/۳۹۹	۰/۲۶۵	۰/۰۰۸
رقم (B)	۱	۱۵۹/۶۰۹ **	۲۳۳/۲۰۸ **	۱۱/۷۷۳ **	۱۰/۱۲۵ **	۱/۵۰۹ **
اثر متقابل A و B	۲	۰/۳۷۶ ns	۵۱/۱۳۱ **	۰/۳۲۸ ns	۱/۴۷۰ **	۰/۰۰۱ ns
خطا (B)	۶	۱/۰۶۷	۱/۶۶۰	۰/۳۱۹	۰/۱۱۵	۰/۰۰۸
ضریب تغیرات (CV)٪		۳/۰۳	۳/۰۷	۷/۰۷	۱۴/۳۵	۱۰/۰۲

* و ** به ترتیب معنی دار در سطح آماری ۵ و ۱ ٪ و ns به منزله عدم وجود اختلاف معنی دار در آزمون چند دامنه‌ای دانکن می باشد.

جدول ۲- مقایسه میانگین پروتئین محلول (میلی‌گرم بر گرم وزن تر)، مالون د آلدئید (میلی مول بر گرم وزن تر)، پراکسیداز (تغییرات واحد جذب در دقیقه به ازای هر میلی‌گرم پروتئین)، کاتالاز(تغییرات واحد جذب در دقیقه به ازای هر میلی‌گرم پروتئین) و آسکوربات پراکسیداز(تغییرات واحد جذب در دقیقه به ازای هر میلی‌گرم پروتئین) ، به روش چند دامنه‌ای دانکن در برگ

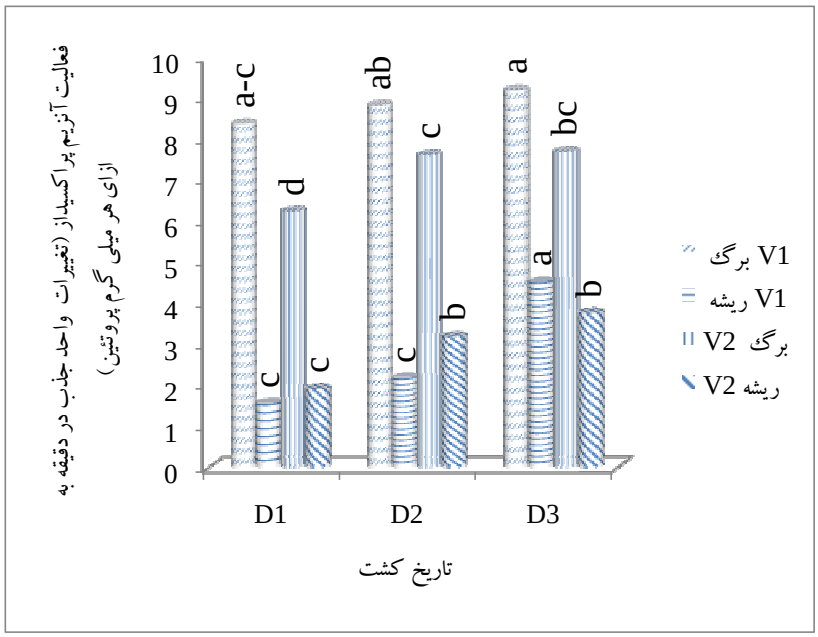
عوامل آزمایش	پروتئین محلول	مالون د آلدئید	پراکسیداز	کاتالاز	آسکوربات پراکسیداز
تاریخ کاشت					
۸۹/۱۲/۱ D_1	۲۷/۴۷ c	۵۱/۶۷ a	۷/۳۰۵ b	۱/۵۹۷ b	۰/۷۳۸ b
۸۹/۱۲/۱۰ D_2	۳۵/۵۰ b	۴۰/۷۶ b	۸/۲۲۰ ab	۲/۰۳۳ b	۰/۹۴۱ a
۸۹/۱۲/۲۰ D_3	۳۹/۳۷ a	۳۳/۳۸ c	۸/۴۴۱ a	۳/۴۵۰ a	۰/۹۹۱ a
ارقام					
چمپا (V_1)	۱۱/۶۸ a	۸/۷۹۳ a	۳/۴۶۲ a	۰/۳۲۵۰ a	۰/۰۶۲۷۸ a
دلار (V_2)	۹/۵۶۹ b	۱۰/۲۳ b	۲/۹۵۰ b	۰/۶۹۰۰ b	۰/۰۶۴۴۴ b

حروف مشابه به لحاظ آماری در سطح آماری ۵٪ با آزمون چند دامنه ای دانکن معنی دار نمی‌باشد



نمودار ۱- اثرمتقابل تاریخ کشت و رقم بر غلظت مالون د آلدئید (MDA) برگ و ریشه دو رقم چمپا (V1) و دلار (V2) در سه تاریخ کشتD1 (۸۹/۱۲/۰۱)، D2 (۸۹/۱۲/۱۰) وD3 (۸۹/۱۲/۲۰).

حروف مشابه به لحاظ آماری در سطح آماری ۵٪ با آزمون چند دامنه ای دانکن معنی دار نمی‌باشد



حروف مشابه به لحاظ آماری در سطح آماری ۵٪ با آزمون چند دامنه ای دانکن معنی دار نمی‌باشد

نمودار ۲ - اثرمتقابل تاریخ کشت و رقم بر فعالیت آنزیم پراکسیداز برگ و ریشه دو رقم چمپا (V1) و دلار (V2) در سه تاریخ کشت D1 (۸۹/۱۲/۰۱)، D2 (۸۹/۱۲/۱۰) و D3 (۸۹/۱۲/۲۰)

جدول۳- خلاصه نتایج تجزیه واریانس میانگین مربعات (MS) پروتئین محلول، ملاون د آلدئید، پراکسیداز، کاتالاز و آسکوربات پراکسیداز ریشه دو رقم برنج

منابع تغییرات S.O.V	درجه آزادی	پروتئین محلول	مالون د آلدئید	پراکسیداز	کاتالاز	آسکوربات پراکسیداز
تکرار	۲	۰/۲۶۹ ns	۸/۷۱۰ ns	۰/۰۳۲ ns	۰/۰۰۳ ns	۰/۰۰۰ ns
تاریخ کشت (A)	۲	۷۴/۳۱۷ **	۱۳۴/۵۴۸ **	۳۷/۷۷۹ **	۰/۲۴۷**	۰/۰۰۳ *
خطا (a)	۴	۰/۳۵۳	۳/۵۳۰	۰/۰۳۵	۰/۰۰۳	۰/۰۰۰
رقم (B)	۱	۷/۶۳۷ **	۷۲/۴۹۸ **	۱/۹۳۷ **	۰/۲۲۵ **	۰/۰۰۰ *
اثر متقابل A و B	۲	۰/۱۱۳ ns	۳/۱۳۹ *	۱/۵۹۸ **	۰/۰۳۷ **	۰/۰۰۰ ns
خطا (B)	۶	۰/۱۴۳	۲/۸۴۱	۰/۰۷۸	۰/۰۰۳	۰/۰۰۰
ضریب تغیرات ٪(CV)		۳/۶۶	۱۴/۶۱	۸/۳۷	۱۲/۸۸	۲۲/۵۵

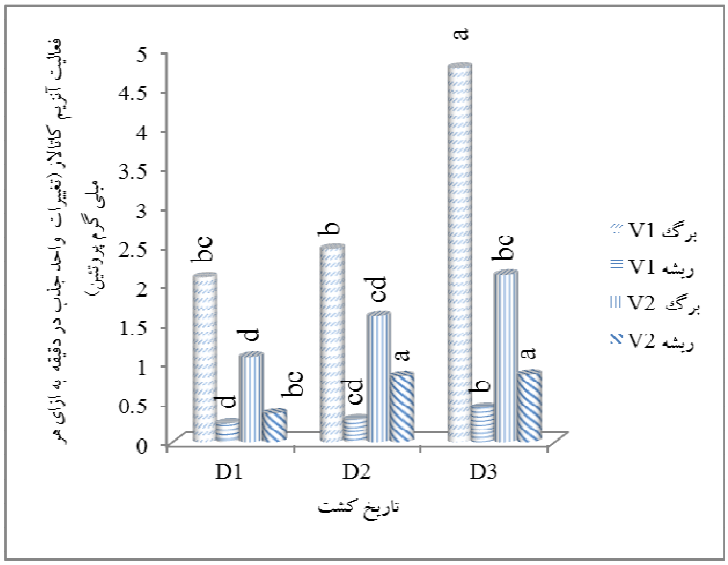
* و ** به ترتیب معنی دار در سطح آماری ۵ و ۱ ٪ و ns به منزله عدم وجود اختلاف معنی دار در آزمون چند دامنه‌ای دانکن می باشد.

جدول ٤- مقایسه میانگین پروتئین محلول (میلی‌گرم بر گرم وزن تر)، مالون د آلدئید (میلی مول بر گرم وزن تر)، پراکسیداز (تغییرات واحد جذب در دقیقه به ازای هر میلی‌گرم پروتئین)، کاتالاز(تغییرات واحد جذب در دقیقه به ازای هر میلی‌گرم پروتئین) و آسکوربات پراکسیداز(تغییرات واحد جذب در دقیقه به ازای هر میلی‌گرم پروتئین) ، به روش چند دامنه‌ای دانکن در برگ

عوامل آزمایش	پروتئین محلول	مالون د آلدئید	پراکسیداز	کاتالاز	آسکوربات پراکسیداز
تاریخ کاشت					
۸۹/۱۲/۱ D1	۸/۱۴۷ c	۱۶/۹۵ a	۱/۷۳۰ c	۰/۳۰۲ b	۰/۰۴۸ c
۸۹/۱۲/۱۰ D_2	۱۱/۳۰ b	۱۲/۰۴ b	۲/۶۷۳ b	۰/۵۶۷ a	۰/۰۶۵ b
۸۹/۱۲/۲۰ D_3	۱۲/۴۵ a	۹/۵۵۸ c	۴/۱۳۷ a	۰/۶۵۲ a	۰/۰۷۷ a
ارقام					
چمپا (V_3)	۱۱/۶۸ a	۸/۷۹۳ a	۳/۴۶۲ a	۰/۳۲۵۰ a	۰/۰۶۲۷۸ a
دلار (V_5)	۹/۵۶۹ b	۱۰/۲۳ b	۲/۹۵۰ a	۰/۶۹۰۰ b	۰/۰۶۴۴۴ a

حروف مشابه به لحاظ آماری در سطح آماری ۵٪ با آزمون چند دامنه ای دانکن معنی دار نمی‌باشد.

هر چه توانایی گیاه در کنترل تنش اکسیداتیو پایین تر باشد به دلیل وسعت خسارات ایجاد شده سایر اعمال فیزیولوژیکی سلول نیز مختل شده و گیاه دیگر قادر به ادامه رشد در شرایط تنش نخواهد بود (زنگ و همکاران، ۲۰۰۷). نتایج این بررسی با یافته‌های حاصل از بررسی هونگ و گو (۲۰۰۵) ، بر روی گیاهچه برنج مطابقت دارد آن‌ها میزان فعالیت آنزیم آنتی اکسیدان، آسکوربات پراکسیداز را در رقم متحمل بیشتر از رقم حساس گزارش کردند. همچنین میزان MDA و نشت الکترولیتی در رقم حساس بالاتر از رقم متحمل گزارش کردند.



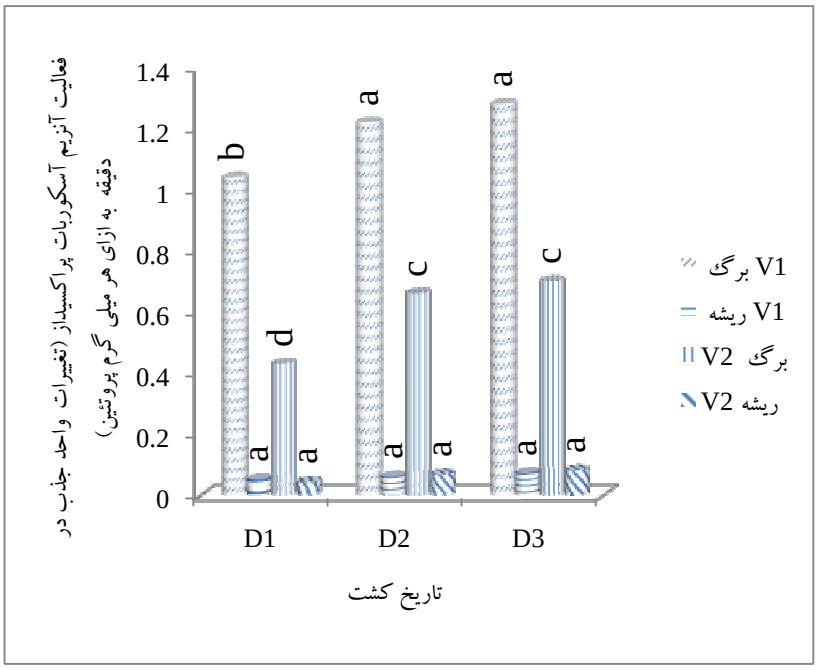
حروف مشابه به لحاظ آماری در سطح آماری ۵٪ با آزمون چند دامنه ای دانکن معنی دار نمی‌باشد

نمودار ۳- اثرمتقابل تاریخ کشت و رقم بر فعالیت آنزیم کاتالاز برگ و ریشه دو رقم چمپا (V1) و دلار (V2) در سه تاریخ کشت D1 (۸۹/۱۲/۰۱)، D2 (۸۹/۱۲/۱۰) وD3 (۸۹/۱۲/۲۰)

زنگ و همکاران (۲۰۰۷)، میزان فعالیتCAT و POX را در ارقام متحمل برنج بالاتر از ارقام حساس گزارش کردند. میزان مالون د آلدئید نیز در ارقام متحمل در تیمار سرما کمتر از ارقام حساس گزارش شد که یافته‌های حاصل از این بررسی را تأیید می‌کند. یافته‌های حسیبی و همکاران، (۱۳۷۸) نیز که به بررسی اثر دمای پایین بر روی سه ژنوتیپ برنج صورت گرفت داده‌های حاصل از این بررسی را تأیید می‌کند.

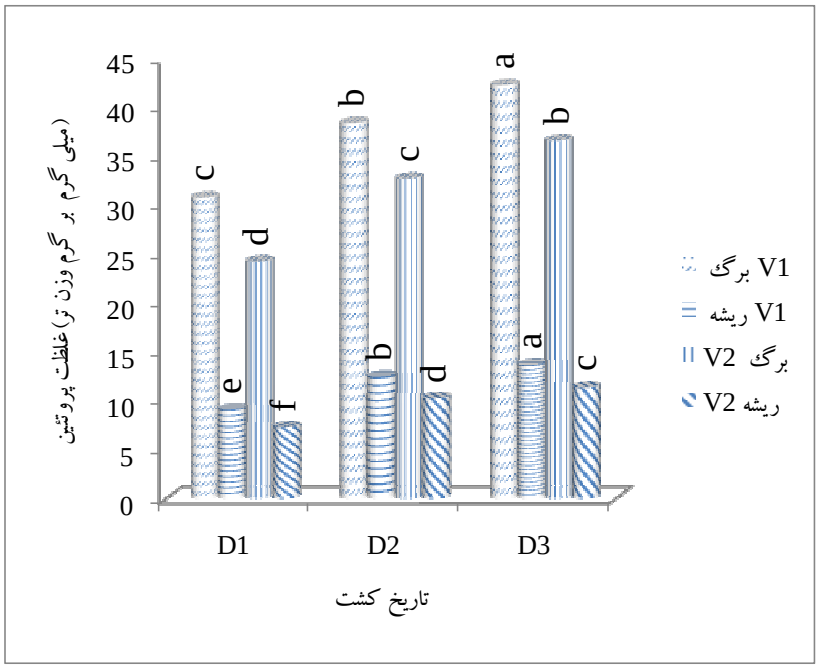
قربانی و همکاران (۱۳۸۸)، با بررسی دو رقم متحمل و حساس برنج در مرحله گیاهچه‌ای، میزان MDA در رقم حساس را بسیار بالاتر از رقم متحمل گزارش کردند. مورسی و همکاران (۲۰۰۷) در آمریکا با بررسی دو رقم برنج حساس و متحمل به سرما در مرحله گیاهچه‌ای بیان کردند که این دو رقم پاسخ‌هایی با شدت‌های متفاوت به تنش سرما داده، فعالیت آنزیم POX در طی تنش سرما تغییر چندانی نداشته و اما فعالیت آنزیم CAT در رقم متحمل افزایش و در رقم حساس کاهش یافت. بانکارر و همکاران (۲۰۱۱)، دو رقم حساس و متحمل برنج را در ابتدایی‌ترین مراحل رشد گیاهچه‌ای در معرض تنش سرما قرار داده و گزارش کردند که در مواجهه با تنش سرما در ابتدا فعالیت آنزیم‌های SOD، APX وCAT در هر دو رقم به شدت افزایش پیدا کرده و سپس بعد از گذشت ۲۴ ساعت به شدت کاهش پیدا کرد و حتی از تیمار شاهد نیز کمتر گردید. بنابراین بر اساس داده‌های بدست آمده در این بررسی می‌توان گفت که تنش سرما باعث کاهش در فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدان کاتالاز، پراکسیداز و آسکوربات پراکسیداز شده و میزان MDA را افزایش داده است.

رقم چمپا در شرایط تنش سرما دارای آنزیم‌های آنتی اکسیدان فعال‌تری نسبت به رقم دلار بود که علامت کارآمدی سیستم آنزیمی آنتی اکسیدانی آن در شرایط تنش و دلیل اصلی متحمل بودن آن می‌تواند باشد. میزان مالون د آلدئید نیز در رقم چمپا در D1 کمتر از رقم دلار بود که نتایج بدست آمده از سنجش فعالیت آنزیمی را تأیید می‌کند. به نظر می‌رسد که به دلیل توانایی این رقم در بالا نگه داشتن میزان فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدان، پاکسازی رادیکال‌های فعال تولید شده در طی تنش سرما با موفقیت بهتری انجام شده و این امر از پراکسیداسیون و تخریب لیپیدهای غشایی نسبت به رقم دلار کاسته است. با توجه به اینکه در تاریخ کشت سوم



حروف مشابه به لحاظ آماری در سطح آماری ۵٪ با آزمون چند دامنه ای دانکن معنی دار نمی‌باشد

نمودار ٤- اثر متقابل تاریخ کشت و رقم بر فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز برگ و ریشه دو رقم چمپا (V1) و دلار (V2) در سه تاریخ کشتD1 (۸۹/۱۲/۰۱)، D2 (۸۹/۱۲/۱۰) وD3 (۸۹/۱۲/۲۰)



حروف مشابه به لحاظ آماری در سطح آماری ۵٪ با آزمون چند دامنه ای دانکن معنی دار نمی‌باشد

نمودار ٥- اثر متقابل تاریخ کشت و رقم بر غلظت پروتئین در برگ و ریشه دو رقم چمپا (V1) و دلار (V2) در سه تاریخ کشت D1 (۸۹/۱۲/۰۱)، D2 (۸۹/۱۲/۱۰) وD3 (۸۹/۱۲/۲۰)

فعالیت سیستم آنزیمی آنتی اکسیدانی در هر دو رقم افزایش نشان می دهد این تاریخ کشت را می توان به عنوان مناسب ترین گستره دمایی در اسفند ماه برای کشت برنج در استان خوزستان معرفی کرد.

منابع

۱. جوانی جونی، ف. عبدالمالکی، پ. و قناتی، ف. ۱۳۸۷. بررسی اثر میدان مغناطیسی ایستا بر فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدانت و محتوای فلاوونوئیدی در گیاه باقلا (*Vicia faba L*).مجله علمی - پژوهشی دانشگاه اصفهان (علوم پایه)، ۳۵ (۶): ۱۹۵- ۲۰۸.

۲. حسیبی، پ. ۱۳۸۶. بررسی فیزیولوژیکی اثر تنش سرما در مرحله گیاهچه ای ژنوتیپ های مختلف برنج. پایان نامه دکتری فیزیولوژی گیاهان زراعی از دانشگاه شهید چمران اهواز، صص: ۳-۴، ۱۱-۲۰ و ۱۱۰-۱۱۵.

۳. حسیبی، پ.، مرادی، ف. و نبی پور، م. ۱۳۸۷. اثر دمای پایین بر سازوکار آنتی اکسیدان های ژنوتیپ های حساس و متحمل برنج (*Oryza sativa L.*) در مرحله گیاهچه ای. مجله علوم زراعی ایران، ۱۰(۳): ۲۶۲- ۲۷۹.

۴. زینالی یادگاری، ل.، حیدری، ر. و کاراپتیان، ژ. ۱۳۸۸. تغییر نفوذپذیری غشاهای زیستی و فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدانی گیاه سویا در پاسخ به دمای پایین. مجله زیست شناسی ایران، ۲۲ (۲) : ۲۲۹- ۲۳۵.

۵. قربانی، آ. زرین کمر، ف. و فلاح، آ. ۱۳۸۸. اثر تنش سرما بر صفات مورفولوژیک گیاهچه ای دو رقم برنج. پژوهش نامه تولیدات گیاهان زراعی، ۱ (۱): ۶۵- ۵۰.

۶. کافی، م.، زند، ا.، کامکار، ب.، مهدوی دامغانی، ع.، عباسی، ف. و شریفی، ح. ۱۳۸۸. فیزیولوژی گیاهی ۲. تایز، لینکلن و زایگر، ادوارد. جلد ۱. چاپ اول، انتشارات جهاد دانشگاهی مشهد، مشهد، صص: ۶۰۰- ۶۰۷.

۷. کوچک، ه. ۱۳۸۹. بررسی بردباری گیاهان به آلودگی نفتی در اراضی اطراف حوضچه‌های تبخیر پساب یکی از واحد های نفتی جنوب. پایان نامه کارشناسی ارشد رشته فیزیولوژی گیاهی از دانشگاه شهید چمران اهواز، صص: ۱۵۷-۱۶۷ و۱۷۲-۱۷۸.

۸. گیلانی، ع. ۱۳۸۸. تعیین مکانیزم تحمل و اثرات فیزیولوژیکی تنش گرما در ارقام برنج خوزستان. پایان نامه دکتری زراعت از دانشگاه کشاورزی و منابع طبیعی رامین، صص: ۵۵- ۵۶ و ۹- ۱۵.

۹. نیک نژاد، م. ۱۳۸۸. مطالعه اثر آلودگی هوا بر خصوصیات آناتومیکی-بیوشیمیایی دو گونه گیاهی *Callistemon citinus* و *Albizla lebbeck* در منطقه ویژه پتروشیمی ماهشهر در استان خوزستان. پایان نامه کارشناسی ارشد رشته علوم گیاهی از دانشگاه پیام نور اصفهان، صص: ۱۸- ۲۲.

10. Aebi, H. 1984. Catalase *in vitro*. Methods Enzymol, 105: 121-126.

11. Beck, E.H., Fetting, S., Knake, C., Harting, K., and Bhattarai, T. 2007. Specific and unspecific responses of plants to cold and drought stress. Journal of Bioscience, 32: 501-510.

12. Bonnecarrere, V., Borsani, O., Diaz, P.,Capdevielle, F., Blanco, P., and Monza, J. 2011. Response to photoxidative stress induced by cold in japonica rice is genotype dependent. Plant Science, 180: 726-732.

13. Chen, G.N., and Asada, K. 1989. Ascorbate peroxidase in tea leaves: Occurrence of two isozymes and differences in their enzymatic and molecular properties. Plant and cell Physiology, 30: 987-998.

14. Chinnusamy, V., Zhu, J., and Zhu, J.K. 2007. Cold stress regulation of gene expression in plants. Trends in Plant Science, 12(10): 444-451.

15. Hoyle, M.C. 1972. Indoleacetic acid oxidase: A dual catalytic enzyme. Plant Physiology, 50: 15-18.

16. Huang, m., and Guo, Z. 2005. Responsees of antioxidative system to chilling stress in two rice cultivars differing in sensitivity. Biologia Plantarum, 49(1): 81-84.

17. Kim, S.I., and Tai, T.H. 2011. Evaluation of seedling cold tolerance in rice cultivars: a comparison of visual ratings and quantitative indicators of physiological changes. Euphytica, 178: 437-447.

18. Lowry, O.H., Rosebriugh, N.J., Ferr, A.L., and Randall, R.J. 1951. Protein measurement with the Folin phenol reagent. Journal Biological Chemistry, 193: 265-275.

19. Mittler, R. 2006. Abiotic stress, the field environment and stress combination. Trends in Plant Science, 11(1): 15-19.

20. Morsy, M.R., Jouve, L., Hausman, J., Hoffmann, L., and Stewart, J.M. 2007. Alteration of oxidative and carbohydrate metabolism under abiotic stress in two rice (*Oryza sativa L.*) genotypes contrasting in chilling tolerance. Journal of Plant Physiology, 164: 157-167.

21. Sung, D.Y., Kaplan, F., Lee K.J., and Guy, L. 2003. Acquired tolerance to temperature extremes.Trends in Plant Science, 8(4): 179-187.

22. Thakura, P., Kumar, S., Malik, J.A., Berger, J.D., and Nayyar, H. 2010. Cold stress effects on reproductive development in grain crops: An overview. Environmental and Experimental Botany, 67: 429–443.

23. Zhang, H.Q., Zou, Y.B., Xiao, G.C., and Xiong, Y.F. 2007. Effect and Mechanism of Cold Tolerant Seed-Coating Agents on the Cold Tolerance of Early *lndica* Rice Seedlings. Agricultural Sciences in China, 6 (7): 792-801.