پاسخ های فیزیولوژیکی دانه رست های کنجد به پلی اتیلن گلیکول ۶۰۰۰

فائزه فاضلی[۱*]

تاریخ دریافت ۹۳/۲/۲۲
تاریخ تصویب ۹٤/۳/۲٦

چکیده

تحمل به تنش آبی تقریباً در تمام گونه ها یا ارقام گیاهی مشاهده می شود، ولی میزان این تحمل از گونه به گونه یا رقم به رقم متفاوت است. کنجد (*Sesamum indicum* L.) یک گیاه زراعی روغنی مهم است. هدف این پژوهش بررسی اثرات اکسیداتیو و پاسخ های آنتی اکسیدانی در دو رقم داراب ۱۴ و یکتا تحت تاثیر سطوح مختلف پلی اتیلن گلیکول ۶۰۰۰ بوده است. تیمارهای پلی اتیلن گلیکول شامل پتانسیل های اسمزی معادل ۰، ۰/۳-، ۰/۶- و ۰/۹- مگاپاسکال بود. نتایج نشان داد که با افزایش پتانسیل اسمزی، جوانه زنی بذر، طول دانه رست ها، وزن تر و خشک، محتوای نسبی آب و پروتئین کاهش، ولی محتوای هیدروژن پراکسید، مالون دی آلدهید و پرولین افزایش می یابد. همچنین فعالیت آنزیم های آنتی اکسیدان شامل سوپراکسیددیسموتاز،

۱*دانشیار، دانشگاه تربیت دبیر شهید رجائی، دانشکده علوم پایه،گروه محیط زیست (نویسنده مسئول Fazeli@srttu.edu)

پراکسیداز، کاتالاز و آسکوربات پراکسیداز دانه رست های هر دو رقم با افزایش کمبود آب افزایش یافت. بر اساس این پژوهش، دانه رست های رقم یکتا از رقم داراب ۱۴ نسبت به کمبود آب بردبارترند.

واژه های کلیدی: *آنزیم های آنتی اکسیدان، پلی اتیلن گلیکول ۶۰۰۰، کنجد، مالون دی آلدهید، هیدروژن پراکسید*

مقدمه

گیاهان در معرض تنش های سخت محیطی هستند (Lawlor, (2002. عوامل متعدد زیستی (حشرات، باکتری ها، قارچ ها و ویروس ها) و غیرزیستی (نور، دما، قابلیت دسترسی به آب، غذا و ساختار خاک) رشد گیاهان عالی را تحت تاثیر قرار می دهند (Reddy et al., (2004. در میان آنها، کمبود آب یک عامل غیرزیستی مهم است که تولید محصول زراعی را محدود می کند (Cabuslay et al., (2002); Reddy et al., (2004).

تحمل به تنش آبی تقریباً در تمام گونه ها یا ارقام گیاهی مشاهده می شود، ولی میزان این تحمل از گونه به گونه یا رقم به رقم متفاوت است (Reddy et al., (2004. گیاهانی که در معرض خشکی قرار می گیرند، انواع اکسیژن واکنشگر(ROS) را تولید می نمایند (Sgherri et al., (2004; (Cia et al., (2012); Zhang et al., (2014).

اثر زیان آور ROS بر ساختارهای زیستی شامل تخریب DNA، اکسیداسیون پروتئین و پراکسیداسیون لیپید است (Asada, 1999; Johnson et al., 2003; Liu et al., 2011). گیاهان برای کاهش این اثرات زیان آور، دارای آنزیم های آنتی اکسیدانی از قبیل سوپراکسیددیسموتاز (SOD)، آسکوربات پراکسیداز (APX)، گلوتاتیون ردوکتاز (GR)، کاتالاز (CAT)، پراکسیداز (POX) و جاروبگرهای غیرآنزیمی مانند گلوتاتیون، آسکوربیک اسید و کاروتنوئیدها می باشند (Vranova et al., 2002; Dalmia and Sawhney, 2004).

به نظر می رسد تولید متابولیت های با وزن مولکولی کم، پاسخ عمومی به تنش باشد. عمومی ترین فرضیه در توضیح نقش این مولکول ها در بردباری به تنش آن است که وقتی سلول ها با پتانسیل اسمزی پائین مواجه می شوند، آنها به عنوان اسمولیت در تنظیم اسمزی کمک می

نمایند (Gilbert et al., (1997.
کنجد (*Sesamum indicum* L.) یک گیاه زراعی روغنی مهم است که در مناطق گرمسیری و نیمه گرمسیری کشت می شود (Isshiki and Umezaki, (1997. مطالعات محدودی در مورد تنش خشکی و اثرات آن بر گیاه کنجد انجام شده است. از جمله گلستانی و پاک نیت (۱۳۸٦) به بررسی تنوع ژنتیکی هشت ژنوتیپ کنجد با آبیاری معمولی و خشکی در شرایط مزرعه ای پرداخته و ژنوتیپ های متحمل و نسبتا متحمل را معرفی نموده اند. همچنین، شکوه فر و یعقوبی نژاد (۱۳۹۱) در بررسی و مقایسه مزرعه ای که بر روی پنج رقم کنجد در شرایط معمولی آبیاری و خشکی انجام دادند، بیان کردند که رقم داراب ۱٤ از نظر صفات زراعی مانند عملکرد محصول، نسبت به سایر ارقام تحمل بیشتری به خشکی داشته است. آئین (۱۳۹۲) تعداد کپسول، تعداد دانه درکپسول، وزن هزار دانه و عملکرد محصول در شرایط مزرعه ای دو رقم کنجد را در پنج سطح آبیاری مقایسه نموده و نتیجه گرفته است که این صفات در هر دو ژنوتیپ کاهش نشان داده ولی رقم محلی جیرفت در این موارد عملکرد دانه کمتری نسبت به ژنوتیپ های لاین JL-I3 داشته است.

از اینرو، هدف این پژوهش، مطالعه اثر سطوح مختلف کمبود آب با استفاده از ٦۰۰۰ PEG بر برخی پارامترهای فیزیولوژیکی در دانه رست های دو رقم کنجد است.

مواد و روش ها

کشت گیاهان و اعمال تیمارها

بذرهای کنجد(*Sesamum indicum* L.) ارقام داراب ۱٤ و یکتا از موسسه تحقیقات اصلاح نهال و بذر کرج تهیه گردید. بذور به مدت ۱ دقیقه با اتانل ۷۰% و سپس سدیم هیپوکلریت ۱۰% به مدت ۲۰ دقیقه ضدعفونی شده، سپس با آب مقطر سترون شده، شستشو داده شدند.

بذرهای هر رقم به پتری دیش های دارای کاغذ صافی حاوی ۱۰ میلی لیتر آب مقطر سترون شده یا محلول ٦۰۰۰ PEG انتقال یافت. پتانسیل اسمزی محلول های PEG ۰/۳-، ۰/٦- و ۰/۹- مگاپاسکال بود. این محلول ها بر اساس روش Michel و Kaufmann (۱۹۷۳) تهیه گردید. پتانسیل اسمزی محلول های فوق پس از تهیه با اسمومتر نیز اندازه گیری شد. پس از هفت روز درصد جوانه زنی بذرها بررسی شد. بیست بذر یکنواخت از هر رقم انتخاب و به مدت یک هفته در پتری دیش های حاوی ۱۰ میلی لیتر از ٦۰۰۰ PEG با پتانسیل اسمزی مشابه قرار داده شد. جوانه زنی و رشد گیاهان در شرایط کنترل شده دوره نوری ۱٦ ساعت روشنایی و ۸ ساعت تاریکی، شدت روشنایی ٤٦ میکرومول برمترمربع

بـر ثانیـه، دمـای ۲۲/۲۵ درجـه سـانتی گـراد روز/ شـب و رطوبـت نسـبی ۳۵-۳۰ درصـد انجـام شـد.

ارزیابی ها و جمع آوری داده ها

وزن خشـک دانـه رسـت هـا پـس از خشـک کـردن نمونـه هـا در دمـای ٦٠ درجـه سـانتی گـراد بـه مـدت ٤٨ سـاعت انـدازه گیـری شـد. محتـوای نسـبی آب (RWC) دانـه رسـت هـا بـا اسـتفاده از فرمـول/ (TW - DW) ×100 (FW - DW) محاسـبه شـد، FW وزن تـر، DW وزن خشـک و TW وزن آمـاس دانـه رسـت هـا پـس از قرارگیـری آنهـا در دمـای ٤ درجـه سـانتی گـراد بـه مـدت ٢٤-٢٠ سـاعت در تاریکـی اسـت (Bajji et al., 2001).

محتـوای هیـدروژن پراکسـید بـر اسـاس روش Jana و Chudhuri (۱۹۸۱) انـدازه گیـری شـد. نمونـه هـای تـر در پتاسـیم فسـفات ٥٠ میلـی مـولار بـا pH ٦/٥ سـائیده شـد و بـه مـدت ٢٥ دقیقـه در ۱۰۰۰۰g سـانتریفوژ گردیـد. عصـاره حاصـل بـا تیتانیـوم کلریـد(v/v)%1 محلـول در هیدروکلریـک اسـید غلیـظ مخلـوط شـده و جـذب روشـناور در ٤١٠ نانومتـر انـدازه گیری گردیـد و محتـوای H_2O_2 در ضریـب خاموشـی ۰/۲۸ میکرومـولار در سـانتی متـر محاسـبه شـد.

بـه منظـور سـنجش محتـوای مالـون دی آلدهیـد، بـه عنوان شـاخصی از پراکسیداسـیون لیپیـد از روش Heath و Packer (۱۹٦۸) اسـتفاده شـد. در ایـن روش ۰/۲گـرم نمونـه تـر گیاهـی در ٥ میلـی لیتـر تـری کلـرو اسـتیک اسـید (TCA) ۰/۱ درصـد (w/v) سـائیده شـد، عصـاره حاصـل بـه مـدت ٥ دقیقـه در g ۱۰۰۰۰ سـانتریفوژ شـد. بـه یـک میلـی لیتـر از محلـول رویـی حاصـل از سـانتریفوژ٤ میلـی لیتـر محلـول TCA ٢٠ درصـد کـه حـاوی ۰/٥ درصـد (v/v) تیوباربیتوریـک اسـید (TBA) بـود، اضافـه شـد. مخلـوط حاصـل پـس از آن کـه بـه مـدت ۳۰ دقیقـه دردمـای ۹٥ درجـه سـانتی گـراد حمـام آبگـرم حـرارت داده شـد، در g ۱۰۰۰۰ سـانتریفوژ گردیـد. شـدت جـذب ایـن محلـول بـا اسـتفاده از اسـپکتروفتومتر در طـول مـوج ٥٣٢ نانومتـر خوانـده شـد. مـاده مـورد نظـر بـرای جـذب در ایـن طـول مـوج، کمپلکـس قرمـز (TBA – MDA) اسـت، جـذب بقیـه رنگیـزه هـای غیـر اختصاصـی در ٦٠٠ نانومتـر تعییـن و از ایـن مقـدار کسـر گردیـد. بـرای محاسـبه غلظـت (MDA) از ضریـب خاموشـی معـادل 155 M -1 1-cm اسـتفاده شـد.

بـرای تعییـن محتـوای پروتئیـن کل و فعالیـت آنزیمـی، یـک گـرم از بافـت گیاهـی را بـا ٥ میلـی لیتـر از بافر اسـتخراج تریـس HCl – یـک مـولار بـا pH معـادل ٦/٨ سـائیده شـد. آنـگاه مخلـوط بدسـت آمـده بـه مـدت ٢٠ دقیقـه در g۱۳۰۰۰ در ٤ درجـه سـانتی گـراد سـانتریفوژ گردیـد. سـپس محلـول رو شـناور بـه منظـور سـنجش پروتئیـن بـا اسـتفاده از روش Brad-

ford (۱۹۷٦) مورد استفاده قرار گرفت. استخراج و سنجش محتوای پرولین با استفاده از ۰/۵ گرم بافت تر در محلول سولفوسالیسیلیک اسید ۳ درصد (w/v) و معرف نین هیدرین بر اساس روش Bates و همکاران (۱۹۷۳) انجام شد. جذب پس از بکار بردن تولوئن در ۵۲۰ نانومتر تعیین گردید.

فعالیت سوپراکسیددیسموتاز (SOD; EC 1.15.1.1.)با اندازه گیری قابلیت هرعصاره در بازداشت واکنش احیای فتوشیمیایی نیتروبلوتترازولیوم (NBT) بر طبق روش Beauchamp و Fridovich(۱۹۷۱) تعیین شد. محلول واکنش برای سنجش فعالیت آنزیم شامل ۰/۱ میلی لیتر عصاره آنزیمی، بافر فسفات ۵۰ میلی مولار با pH معادل ۷/۸ ، متیونین ۱۳ میلی مولار، NBT ۷۵ میکرومولار، EDTA ۰/۱ میلی مولار و ریبوفلاوین ۲ میکرومولار می باشد که در تاریکی کامل نگهداری شد. لوله های آزمایش محتوی مخلوط مزبور، تکان داده شد و در فاصله ۳۰ سانتی متری سیستم نوری قرار گرفت. سپس احیای NBT توسط جذب در ۵٦۰ نانومتر خوانده شد. از آنجا که یک واحد آنزیم مذکور عبارت است از میزانی از آنزیم که ۵۰ درصد بازدارندگی ایجاد می کند، فعالیت آنزیم سوپراکسیددیسموتاز بر اساس واحد آنزیمی به ازای هر میلی گرم پروتئین برای تمام نمونه ها محاسبه شد.

فعالیت آنزیم پراکسیداز (POX; EC 1.11.1.7)با استفاده از روش Abeles و Biles (۱۹۹۱) ارزیابی شد. مخلوط واکنش شامل ٤ میلی لیتر بافر استات ۰/۲ مولار با pH ٤/۸ ، ۰/٤ میلی لیتر پراکسید هیدروژن (۳ درصد)، ۰/۲ میلی لیتر بنزیدین بود. مواد فوق در یک لوله آزمایش و درمحیط واجد یخ با ۰/۰۵ میلی لیتر عصاره آنزیمی مخلوط و منحنی تغییرات جذب در طول موج ۵۳۰ نانومتر با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر خوانده شد. فعالیت آنزیمی برحسب تغییرات جذب در دقیقه به ازای هر میلی گرم پروتئین و بر اساس تغییرات جذب در دقیقه به ازای هر گرم وزن تر بافت گیاهی محاسبه گردید.

فعالیت آنزیم کاتالاز (CAT; EC 1.11.1.6) با کاهش در جذب H_2O_2 در طول موج ۲٤۰ نانومتر تعیین گردید (Aebi, 1974). مخلوط واکنش شامل ۲/۵ میلی لیتر از بافر فسفات پتاسیم ۵۰ میلی مولار (۷/۰pH)، ۰/۳ میلی لیتر H_2O_2 (۳ درصد) و ۰/۰۵ میلی لیتر عصاره آنزیمی بود.

به منظور سنجش فعالیت سینتیکی آنزیم آسکوربات پراکسیداز (APOX; EC 1.11.11) بر طبق روش Nakano و Asada (۱۹۸۱) مخلوط واکنش شامل بافر فسفات پتاسیم ۵۰ میلی مولار با pH معادل ۷، پراکسید هیدروژن ۰/۱ میلی مولار، آسکوربات ۰/۵

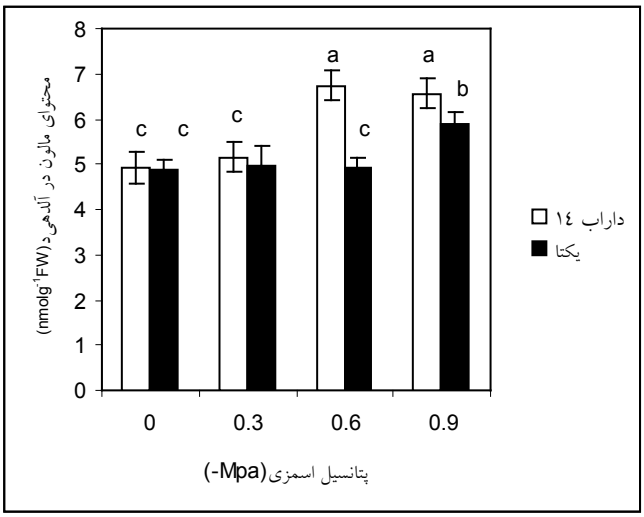
میلی مولار، EDTA ۰/۱ میلی مولار و ۰/۰۵ میلی لیتر عصاره آنزیمی استفاده شد. منحنی تغییرات جذب در طول موج ۲۹۰ نانومتر خوانده شد. فعالیت آنزیمی بر حسب تغییرات جذب در دقیقه به ازای هر میلی گرم پروتئین و سپس براساس تغییرات جذب در دقیقه به ازای هر گرم وزن تر بافت گیاهی محاسبه گردید.

طرح آزمایشی و تجزیه و تحلیل داده ها

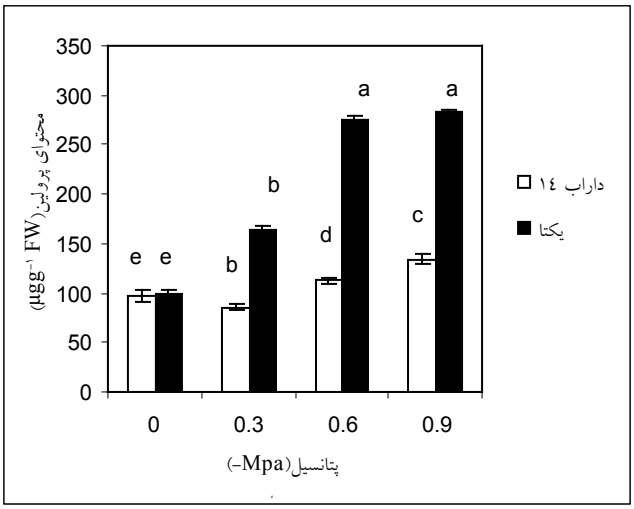
جدول ۱: درصد جوانه زنی (%)، طول دانه رست (Cm)، وزن تر و خشک (mg)، RWC(%)، محتوای پروتئین ($mgg^{-1}FW$) و H_2O_2 در دانه رست های دو رقم کنجد (*Sesamum indicum* L.) در پتانسیل های اسمزی مختلف ایجاد شده به وسیله PEG. ۶۰۰۰ مقادیر، میانگین سه تکرار ± خطای معیار است ($P \leq 0/05$).

عامل مورد بررسی	ارقام	پتانسیل اسمزی (Mpa)			
		0	-0/3	-0/6	-0/9
جوانه زنی	داراب 14	100/00 ± 0/000a	75/00 ± 1/830d	67/50 ± 1/190e	57/50 ±2/100f
	یکتا	100/00 ± 0/000a	100/00 ± 0/000a	95/00± 0/710b	90/00 ±0/910c
طول	داراب 14	7/53 ±1/239a	6/33 ± 1/626a	3/15 ± 0/661b	2/35 ±0/542b
	یکتا	7/00 ± 1/312a	7/05 ± 1/168a	3/50 ± 0/857b	3/03 ± 0/754b
وزن تر	داراب 14	0/77 ±0/863abc	0/79 ± 0/071ab	0/70 ± 0/052c	0/39 ± 0/049d
	یکتا	0/82 ±0/079a	0/82 ± 0/088a	0/72 ±0/100bc	0/46 ±0/082d
وزن خشک	داراب 14	0/03 ±0/003a	0/03 ± 0/003a	0/03± 0/002a	0/02 ±0/001a
	یکتا	0/04 ±0/004a	0/04 ±0/004a	0/04 ± 0/003a	0/02 ± 0/003a
RWC	داراب 14	98/00 ±1/225ab	88/25 ± 2/136b	74/00 ± 3/559c	68/50 ± 5/605c
	یکتا	100/00 ± 0/000a	94/50 ± 2/500ab	75/75 ± 3/902c	70/25 ± 5/154c
پروتئین	داراب 14	0/57 ± 0/048cd	0/55 ± 0/028cd	0/45 ±0/030de	0/37 ± 0/060e
	یکتا	2/20 ± 0/159a	0/74 ± 0/093b	0/61 ± 0/061bcd	0/64 ± 0/097bc
H_2O_2	داراب 14	14/24 ± 0/199d	20/27 ±0/451b	24/97 ±0/241a	24/97 ± 0/718a
	یکتا	18/15 ± 0/531cd	18/16 ± 0/243cd	18/66 ± 0/478c	19/18± 0/476bc

حروف یکسان بیانگرعدم اختلاف معنی دار با استفاده ار آزمون دانکن در سطح $p \leq ۰/۰۵$ است.



شکل ۱ : محتوای مالون دی آلدهید در دانه رست های دو رقم کنجد (*Sesamum indicum* L.) در پتانسیل های اسمزی مختلف ایجاد شده به وسیله PEG. ٦٠٠٠ مقادیر، میانگین سه تکرار ± خطای معیار می باشد (p≤۰/۰۵). حروف یکسان بیانگرعدم اختلاف معنی دار با استفاده ار آزمون دانکن در سطح p≤۰/۰۵ است.



شکل ۲: محتوای پرولین در دانه رست های دو رقم کنجد (*Sesamum indicum* L.) در پتانسیل های اسمزی مختلف ایجاد شده به وسیله PEG. ٦٠٠٠ مقادیر، میانگین سه تکرار ± خطای معیار می باشد (p≤۰/۰۵). حروف یکسان بیانگرعدم اختلاف معنی دار با استفاده ار آزمون دانکن در سطح p≤۰/۰۵ است.

آزمایش ها براساس طرح فاکتوریل در قالب بلوک های کامل تصادفی با سه تکرار انجام شد. داده های حاصل از اندازه گیری ها بوسیله نرم افزار آماری MSTATC مورد تجزیه وتحلیل قرار گرفت. مقایسه میانگین داده ها در سطح خطای ٥ درصد (P ≤0/05) با آزمون دانکن (DMRT) انجام شد.

نتایج

بررسی نتایج بدست آمده نشان داد که

جدول ۲- فعالیت آنزیم های سوپراکسیددیسموتاز (ΔA560 g-1FW min-1)، پراکسیداز (ΔA530 g-1FW min-1)، کاتالاز(ΔA240 g-1FW min-1)، آسکوربات پراکسیداز(ΔA560 g-1FW min-1) در دانه رست های دو رقم کنجد (*Sesamum indicum* L.) در پتانسیل های اسمزی مختلف ایجاد شده به وسیله ۶۰۰۰ PEG. مقادیر، میانگین سه تکرار ± خطای معیار است (p≤0/05).

عامل مورد بررسی	ارقام	پتانسیل اسمزی (Mpa)			
		0	-0/3	-0/6	-0/9
SOD	داراب 14	8/63 ± 0/173f	15/13 ± 0/113d	15/24 ± 0/142d	17/63 ±0/156b
	یکتا	10/10 ± 0/139e	16/72 ± 0/146c	17/89± 0/223b	23/92 ±0/170a
POX	داراب 14	10/68 ± 0/721e	16/13 ± 0/945d	18/28 ± 0/687c	19/37 ±0/629abc
	یکتا	10/76 ± 0/468e	19 /10 ± 0/396bc	20/96 ± 0/606ab	21/26 ± 0/534a
CAT	داراب 14	5/29 ±0/070d	5/39 ± 0/072d	5/38 ± 0/109d	6/58 ± 0/091b
	یکتا	5/30 ±0/060d	5/95 ± 0/066c	6/45 ±0/095b	7/58 ±0/067a
APOX	داراب 14	8/56 ±0/321e	14/59 ± 0/306c	14/38± 0/392c	16/08 ±0/199b
	یکتا	10/09 ±0/181d	15/77 ±0/324b	16/08 ± 0/182b	21/27 ± 0/255a

حروف یکسان بیانگرعدم اختلاف معنی دار با استفاده ار آزمون دانکن در سطح p≤۰/۰۵ است.

درصد جوانه زنی در بذرهای رقم داراب ۱٤ در تمام سطوح فشار اسمزی و در رقم یکتا در ۰/٦- تا ۰/۹- مگاپاسکال بطور معنی داری نسبت به شاهد کاهش یافت (جدول ۱).

طول دانه رست ها در هر دو رقم در سطح ۰/٦- و ۰/۹- مگاپاسکال بطور معنی داری نسبت به شاهد کاهش یافت. وزن تر در دانه رست های داراب ۱٤ در بالاترین سطح فشار اسمزی و در رقم یکتا در ۰/٦- و ۰/۹- مگاپاسکال بطور معنی داری کاهش یافت. وزن خشک در هر دو رقم تغییری نداشت (جدول ۱).

محتوای RWC در هر دو رقم در سطوح ۰/٦- و ۰/۹- مگاپاسکال بطور معنی داری نسبت به شاهد کاهش یافت (جدول ۱).

محتوای پروتئین در دانه رست های داراب ۱٤ در بالاترین فشار اسمزی و در رقم یکتا در تمام سطوح فشار اسمزی بطور معنی داری نسبت به شاهد کاهش داشت.

محتوای H_2O_2 در دانه رست های داراب ۱٤ در تمام غلظت های پلی اتیلن گلیکول بطور معنی دار تغییر داشت. در حالی که در رقم یکتا، افزایش محتوای H_2O_2 معنی دار نشد (جدول ۱).

محتوای MDA در فشار اسمزی ۰/٦- و ۰/۹- مگاپاسکال در داراب ۱٤ و در یکتا در بالاترین فشار اسمزی بطور معنی داری تغییر کرد (شکل ۱).

محتوای پرولین در تمام تیمارها در رقم داراب ۱٤ و در ۰/٦- و ۰/۹- مگاپاسکال در یکتا بطور معنی داری نسبت به شاهد افزایش یافت(شکل ۲).

فعالیت های POX، SOD و APOX در دانه رست های دو رقم در تمام سطوح تیمارها بطور معنی داری تغییر کرد. فعالیت CAT در دانه رست های داراب ۱٤ در ۰/۹- مگاپاسکال و در یکتا در تمام سطوح تیمارها بطور معنی داری تغییر یافت (جدول ۲).

بحث

خشکی یکی از مهم ترین عواملی است که اثرات گوناگون فیزیولوژیکی و متابولیکی بر گیاهان می گذارد. کمبود آب موجب کاهش رشد دانه رست های کنجد (جوانه زنی، طول، وزن تر و خشک) شد. این نتایج مشابه با یافته های Keles و Öncel (2002) در گندم و Türkan و همکاران (2005) در لوبیا می باشد. مرحله اول در فرایند جوانه زدن، جذب آب توسط پوسته بذر می باشد. تنش آب، این مرحله را طولانی تر می نماید و به همین دلیل درصد جوانه زدن کاهش می یابد Wang et al., (2009). Bolda-ji و همکاران (2012) در مقایسه ای که در مورد اثر سطوح مختلف PEG 6000 بر درصد جوانه زدن ارقام یونجه انجام دادند، دریافتند که رقم یزدی بالاترین و قرایونجه پائین ترین درصد جوانه زدن را در سطوح یکسان تنش آب دارند. از اینرو آنها نتیجه گرفتند که رقم یزدی نسبت به تنش اسمزی متحمل، در صورتی که رقم قرایونجه حساس می باشند. این محققین همچنین مشاهده کردند که وزن خشک ریشه و اندام هوایی ارقام یزدی و قرایونجه با افزایش پتانسیل آب، کاهش یافته، ولی این کاهش در رقم قرایونجه بیش از رقم یزدی بود. آنها بیان کردند که این کاهش، نتیجه نقصان میزان فتوسنتز یه دنبال بسته شدن روزنه ها یا کاهش سطح برگ در پاسخ به تنش آب، و پائین آمدن جذب کربن دی اکسید می باشد.

کمبود آب، محتوای نسبی آب در دانه رست های کنجد را کاهش داد. این یافته ها با گزارشات Jain و همکاران Pan، (2006) و همکاران (2006) و Slama و همکاران (2006) همخوانی دارد. از طرفی محتوای نسبی آب در رقم یکتا در مقایسه با رقم داراب ۱٤ بالاتر بوده است و احتمالاً تیمار

PEG به مقدار کم موجب از دست دادن آب در رقم یکتا شده است Castonguay and Markhart, 1991 ; 1992). محتوای آب در ارقام موز نیز پس از اعمال تنش کاهش یافت که این کاهش در ژنوتیپ Bergman بیش از ژنوتیپ Mas بود (Chai et al., 2005).

نتایج این پژوهش نشان داد، محتوای پروتئین در هر دو رقم کاهش می یابد. Dell' aquila و Bewley (1989) در دانه رست های نخود رشد یافته در PEG کاهش سنتز پروتئین را مشاهده کردند.Najaphy و همکاران (2014) نیز بیان داشتند که محتوای پروتئین های محلول در شرایط کمبود آب، در نخود زراعی در مقایسه با شرایط آبیاری معمولی کاهش می یابد. این کاهش در مقدار پروتئین می تواند به علت کاهش در تعداد پلی زوم ها در شرایط کمبود آب باشد (Creelman et al., 1990). نتایج پژوهش حاضر نشان داد که تولید H_2O_2 و MDA در هر دو رقم افزایش می یابد. بنابراین، می توان گفت، تنش اکسیداتیو به صورت خسارت غشایی آشکار شده است. در رقم یکتا محتوای H_2O_2 و MDA پایین تر بود. این نتایج در توافق با نتایج Celikkol Akcay و همکاران (2010) در بادام زمینی، Liu و همکاران (2009) در خیار و Zhang و همکاران (2014) در پنبه تحت تنش خشکی است. H_2O_2 یک اکسیدان قوی است که بطور معمول از جاروب شدن رادیکال سوپراکسید حاصل شده و غلظت بالای آن موجب صدمه زدن به سلول ها می شود، که منجر به آسیب اکسیداتیو، پراکسیداسیون لیپید، اختلال در عمل متابولیک و از بین رفتن انسجام سلولی می گردد Jain et al., (2006); Sairam et al., (2005) ; Srivalli (2003) ; Velikova et al., (2000) ; Foyer et al., (1997).

غلظت MDA به عنوان مقیاس پراکسیداسیون لیپید در دانه رست ها در نظر گرفته شده است. Pan و همکاران (2006) دریافتند که کمبود آب القا شده به وسیله PEG 6000 سبب افزایش قابل ملاحظه در محتوای MDA در سلول های شیرین بیان (Glycyrrhiza uralensis Fisch.) می شود. Chai و همکاران (2005) نشان دادند که تنش آب در ارقام موز تیمار شده با PEG صدمه اکسیداتیو را موجب گردید. چنین نتایجی توسط Zlat-ev و همکاران (2006) بر روی ارقام لوبیا نیز بدست آمده است. در پژوهش حاضر، افزایش ناچیز MDA مشاهد شده در دانه رست های رقم یکتای تیمار شده با PEG، حفاظت بهتر این رقم را در برابر آسیب اکسیداتیو پیشنهاد می نماید (Zlatev et al., 2005). به نظر می رسد دانه رست های رقم یکتا سامانه آنتی اکسیداتیو کارآمدتری دارند، در حالی که افزایش معنی دار مقدار

MDA در دانه رست های داراب ۱٤ حاکی از فعالیت کاهش یافته برخی آنزیم ها می باشد. این نتایج به خوبی در توافق با نتیجه Türkan و همکاران (۲۰۰۵) است. آنها دریافتند که بین فعالیت آنزیم های آنتی اکسیدان و کاهش پراکسیداسیون لیپید در لوبیای بردبار به خشکی (Phaseolus acutifolius) تحت تیمار PEG همبستگی وجود دارد (Türkan et al., (2005. از سوی دیگر، محتوای MDA در یکی از ژنوتیپ های موز نشان می دهد که این مطلب می تواند موجب حفاظت بهتر غشای سلولی در مقابل صدمه ناشی از تیمار PEG شود، این یکی از ویژگی های گیاهان بردبار به خشکی است (Chai et al., (2005.

//پژوهش های دیگر ، پیشنهاد می کند که پرولین با کاهش محتوای رادیکال های آزاد تشکیل شده در طول تنش، از گیاهان حفاظت می کند Smirnoff and Cumbes, (1989). نتایج پژوهش حاضر نشان داد که در شرایط تنش قوی القا شده توسط PEG (۰/۹- مگاپاسکال) ارتباط بین پرولین و محتوای MDA آشکار می گردد. نتایج بسیاری از تجربیات بیان می کند که این آمینواسید اثرات منفی از دست دادن آب را کاهش داده و از این طریق موجب بردباری به تنش می شود Kavi Koshor et al.,; (1995) ;Bandurska, (2000) Roy et al.,(2009). تجمع پرولین بوسیله افزایش سنتز و کاهش اکسیداسیون این آمینواسید حاصل می گردد (Yoshiba et al., (1997. در رقم یکتا تحت این شرایط تنش، مقدار زیادی پرولین تجمع کرده، ولی محتوای پایین تری از MDA در آن وجود داشته است. تجمع پرولین پاسخ عمومی بسیاری از گونه های گیاهی به کمبود آب است (Heuer, (1994. علاوه بر این، Rensburg و همکاران (1993) نشان دادند که رقم بردبار به خشکی توتون ظرفیت بالاتری برای تجمع پرولین داشته است.

اثرات کمبود آب بر ارتباط بین آنزیم های اکسیداتیو و تولید ROS در بسیاری از گونه های گیاهی توضیح داده شده است Li et al., 2004; Singh et al., (2012). نتایج این پژوهش نشان می دهد که PEG موجب تغییر در فعالیت آنزیم های آنتی اکسیدان دانه رست های هر دو رقم کنجد شده است. این می تواند به افزایش رادیکال ها یا دیگر ترکیبات ROS در سلول های گیاهی مربوط باشد و با هماهنگی موقت تولید H_2O_2 از طریق SOD و تجزیه این پراکسید توسط POX ، APOX و CAT همبستگی دارد. دیگر محققین نیز در مورد افزایش فعالیت SOD در گیاهان تحت تنش اکسیداتیو گزارش داده اند Pan et al., (2006) ;Levent .Tuna et al., (2008); Liu et al., (2009) فعالیت APOX ، CAT و POX در پاسخ به H_2O_2 در سلول افزایش می یابد (Inzé and

Van montague, (1995) ; Morita et al., (1999). در توافق با نتایج حاصل بر روی دانه رست های کنجد، مطالعات Srivalli و همکاران (*2003*) نشان داد که CAT یک آنزیم مهم در از بین بردن تنش اکسیداتیو ناشی از خشکی است. توانایی دانه رست های برنج در افزایش فعالیت SOD و CAT با افزایش تنش نشان داد که این آنزیم ها می توانند اولین خط دفاعی در طول فرایند خوگیری به خشکی باشند Srivalli et al., (2003) . در دانه رست های رقم یکتای کنجد نیز در بالاترین سطح MDA ، PEG پایین تر، همچنین فعالیت بالاتر SOD، CAT، POX و APOX در مقایسه با رقم داراب ۱٤ مشاهده شد. این نتیجه درباره فعالیت آنزیم های آنتی اکسیدان در ژنوتیپ های بردبار به کمبود آب در توافق با نتایج Chai و همکاران (2005) روی موز، Sairam و همکاران (2005) بر روی گندم و Srivalli و همکاران (2003) بر روی برنج می باشد.

نتایج

بطورکلی، براساس تقریبا تمام نتایج حاصل از پژوهش حاضرمی توان گفت که رقم یکتا نسبت به شرایط تنش اسمزی نسبت به رقم داراب ۱٤ بردبارتر می باشد. این احتمال وجود دارد که بردباری بهتر به تنش آب در رقم یکتا با فعالیت بالاتر آنزیم های SOD، CAT، POX و APOX ، همچنین محتوای بیشتر پرولین همراه باشد. تمام این موارد پیشنهاد می کند که مجموع ویژگی هایی نظیر فعالیت بالای آنتی اکسیدانی و تنظیم اسمزی بهتر، موجب تنش اکسیداتیو کمتر می گردد.

سپاسگزاری

این پژوهش با حمایت مالی دانشگاه تربیت دبیر شهید رجایی طبق قرارداد شماره ۲۲۵۷۳/۷ مورخ ۸۸/۸/۲٦ انجام گردیده است.

منابع

آئین، ا. (۱۳۹۲). اثر حذف آبیاری در مراحل مختلف رشد بر عملکرد دانه و برخی صفات زراعی دو ژنوتیپ کنجد. مجله به زراعی نهال و بذر ۲۹: ۷۹-۶۷.

شکوه فر، ع.ر.، یعقوبی نژاد، س. (۱۳۹۱). اثر تنش خشکی بر اجزاء عملکرد ارقام مختلف کنجد. مجله زراعت و اصلاح نبات ٤: ۲۹-۱۹.

گلستانی، م.، پاک نیت، ح. (۱۳۸٦). ارزیابی شاخص های تحمل به خشکی در لاین های کنجد. مجله علوم و فنون کشاورزی و منابع طبیعی ٤۱: ۱٤۹-۱٤۱.

Abeles, F.B. and Biles, C.L. (1991). Characterization of peroxidase in lignifying peach fruit endocarp. Plant Physiology 95: 269-273.

Aebi, H. (1974). Catalases. In: Methods of Enzymatic Analysis. (ed. Bergmeyer, H.U.) Vol. 2. Academic Press, New York.

Asada, K. (1999). The water-water cycle in chloroplasts: scavenging of active oxygens and dissipation of excess photons. Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology 50: 601-639.

Bajji, M., Lutts, S. and Kinet, J. M. (2001). Water deficit effects on solute contribution to osmotic adjustment as a function of leaf ageing in three durum wheat (*Triticum durum Desf.*) cultivars performing differently in arid conditions. Plant Science 160: 669-681.

Bandurska, H. (2000). Dose proline accumulated in leaves of water deficit stressed barley plants confine cell membrane injury? I. Free proline accumulation and membrane injury index in drought and osmotically stressed plants. Acta physiologia Plantarum 4: 409-415.

Bates, L. S., Waldren, R.P. and Teare, I.D. (1973). Rapid determination of free proline for water-stress studies. Plant Soil 39: 205-207.

Beauchamp, C. and Fridovich, I. (1971). Superoxide dismutase: improved assays and assay applicable to acrylamide gels. Annals Biochemistry 44: 276-278.

Boldaji, S.A.H., Khavari-Nejad, R.A., Sajedi, R.H., Fahimi, H., Saadatmand, S. (2012). Water availability effects on antioxidant enzyme activities, lipid

peroxidation, and reducing sugar contents of alfalfa (*Medicago sativ*a L.). Acta Physiologia Plantarum 34: 1177-1186.

Bradford, M.M. (1976). A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. Annals Biochemistry 72: 255-260.

Cabuslay, G. S., Ito, O. and Alejar, A. A. (2002). Physiological evaluation of responses of rice (*Oryza sativa* L.) to water deficit. Plant Science 163: 815-827.

Castonguay, Y. and Markhart, A. H. (1991). Saturated rates of photosynthesis in water-stressed leaves of Phaseolus vulgaris and P. acutifolius. Crop Science 31: 1605-1611.

Castonguay, Y. and Markhart, A. H. (1992). Leaf gas exchange in water stressed common bean and tepary bean. Crop Science 32: 980-986.

Celikkol Akcay, U., Ercan, O. and Kavas, Y. (2010). Drought – induced oxidative damage and antioxidant responses in peanut (*Arachis hypogaea* L.) seedlings. Plant Growth Regultion 61: 21 – 28.

Chai, T., Fadzillah, N. M., Kusnsn, M. and Mahmood, M. (2005). Water stress-induced oxidative damage and antioxidant responses in micropropagated banana plantlets. Biologia Plantarum 49: 153-156.

Cia, M.C., Guimaráes, A.C.R., Medici, L.O., Chabregus, S.M. and Azevedo, R.A. (2012). Antioxidant responses to water deficit by drought-tolerant and sensitive sugarcane varieties. Annals of applied Biology 3: 313-324.

Creelman, R. A., Mason, H. G., Bensen, R. K., Boyer, J. S. and Mullet, J. E. (1990). Water deficit and abscisic acid cause differential inhibition of shoot versus root growth in soybean seedlings: Analysis of growth, sugar accumulation and gene expression. Plant Physiology 92: 205-214.

Dalmia, A. and Sawhney, V. (2004). Antioxidant defense mechanism under drought stress in wheat seedlings. Physiology and Molecular Biology of Plants 10: 109-114.

Dell'Aquila, A. and Bewley, J. D. (1989). Protein synthesis in the axes of poly-

ethylene glycol-treated pea seed and during subsequent germination. Journal of Experimental Botany 40: 1001-1007.

Foyer, C. H., Lopez-Delgado, H., Dat, J. F. and Scott, I. M. (1997). Hydrogen peroxide and glutathione – associated mechanisms of acclimatory stress tolerance and signalling. Physiologia Plantarum 100: 241-254.

Gilbert, G. A., Wilson, C. and Madore, M. A. (1997). Root zone salinity alters raffinose oligosaccharide metabolism and transport in Coleus. Plant Physiology 115: 1267-1276.

Heath, R.L. and Packer, L. (1968). Photoperoxidation in isolated chloroplasts I. Kinetics and stoichiometry of fatty acid peroxidation. Archive Biochemistry and Biophysic 125: 189-198.

Heuer, B. (1994). Osmoregulatory role of proline in water- and salt-stressed plants. In: Handbook of plant and Crop Stress (ed. Pessarakli, M.): Marcel Dekker, Inc., New York.

Inzé, D. and van montague, M. (1995). Oxidative stress in plants. Current of Opinion Biotechecnology 6: 153-158.

Isshiki, S. and Umezaki, T. (1997). Genetic variation of isozymes in cultivated sesame (*Sesamum indicum* L.). Euphytica 93: 357-377.

Jain, M., Nandwal, A. S., Kundu, B. S., Kumar, B., Sheoran, I. S., Kumar, N., Mann, A. and Kukreja, S. (2006). Water relations, activities of antioxidants, ethylene evolution and membrane integrity of pigeonpea roots as affected by soil moisture. Biologia Plantarum 50: 303-306.

Jana, S. and Choudhuri, M. A. (1981). Glycolate metabolism of three submerged aquatic angiosperms during aging. Aqautic Botany 12: 345-354.

Johnson, S. M., Doherty, S. J. and Croy, R. R. D. (2003). Biphasic superoxide generation in potato tubers. A self amplifying response to stress. Plant Physiology 13: 1440-1449.

Kavi Koshor, P. B., Hong, Z., Miao, G-H., Hu, C. and Verma, D P. S. (1995). Overexpression of Δ1-pyrroline-5-carboxlase synthetase increases proline production and confers osmotolerance in transgenic plants. Plant Physiol-

ogy 108: 1387-1394.

Keles, Y. and Öncel, I. (2002). Response of antioxidative defence system to temperature and water stress combinations in wheat seedlings. Plant Science 163: 783-790.

Lawlor, D. W. (2002). Limitation of photosynthesis in water- stressed leaves. Stomate vs. metabolism and the role of ATP. Annals of Botany 89:871-885.

Levent Tuna, A., Kaya C., Dikilitas, M. and Higgs, D. (2008). The combined effects of gibberellic acid and salinity on some oxidant enzyme activities, plant growth parameters and nutritional status in maize plants. Environmental and Experimental Botany 62: 1- 9.

Li, M., Wang, G. X. and Lin, J. Sh. (2004). Calcium stimulates the adaption of cultured liquorice cells to PEG-induced water stress. Russian Journal of Plant Physiology 4: 518-524.

Liu, Z., Zhang, X., Bai, J., Suo, B. and Wang, L. (2009). Exogenus paraquat changes antioxidant enzyme activities and lipid peroxidation in drought – stressed cucumber leaves. Scientia Horticultura 121: 138 – 143.

Liu, C., Liu, Y., Guo, K., Fan, D., Li, G., Zheng, Y., Yu, L., Yang, 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.

Michel, B.E, Kaufmann, M.R, (1973). The osmotic potential of Polyethylene glycol 6000. Plant physiology 51: 914-916.

Morita, S., Kaminaka, PH., Masumura, T. and tanaka, K. (1999). Induction of rice cytosolic ascorbate peroxidase mRNA by oxidative stress: The involvement of hydrogen peroxide in oxidative stress signaling. Plant and Cell Physiology.40: 417-422.

Najaphy, A., Moradpour, K., Mansourifar, C., Mostafaie, A. (2014). Terminal drought induced changes in leaf protein pattern of wheat. International of Plant, Animal and Environmental Sciences 2: 23-26.

Nakano, Y. and Asada, K. (1981). Hydrogen peroxide is scavenged by ascor-

bate-specific peroxidase spinach chloroplasts. Plant, Cell and Environment 20: 1193-1198.

Pan, P.Y., Wu, L. J. and Yu, Z. L. (2006). Effect of salt and drought stress on antioxidant enzymes activities and SOD isoenzymes of liquorice (*Glycyrrhiza uralensis Fisch*). Plant Growth Regulation 49: 157-165.

Reddy, A. R., Chaitanya, K. V. and Vivekanadan, M. (2004). Drought-induced responses of photosynthesis and antioxidant metabolism in higher plants. Journal of Plant Physiology 161: 1189-1202.

Rensburg, L., Krüger, G. H. J. and Krüger, H. (1993). Proline accumulation as drought-tolerant selection criterion: its relationship to membrane integrity and chloroplast ultrastructure in *Nicotina tabacum* L. Journal of Plant Physiology 141: 188-194.

Roy, R., Mazumder, P.B. and Sharma, G.D. (2009). Proline, catalase and root traits as indices of drought resistance in bold grained rice (*Oryza sativa*) genotypes. African Journal Biotechnology 8: 6521 – 6528.

Sairam, P. K., Srivastava, G. C., Agarwal, S. and Meena, R. C. (2005). Differences in antioxidant activity in response to salinity stress in tolerant and susceptible wheat genotypes. Biologia Plantarum 49: 85-91.

Sgherri, C., Stevanovic, B. and Navari-Izzo, F. (2004). Role of phenolic in the antioxidative status of the resurrection plant Ramonda serbica during dehydration and rehydration. Physiologia Plantarum 122: 478-485.

Singh, S., Gupta, A. K. and Kaur, N. (2012). Differential Responses of Antioxidative defence dystem to long-term field drought in wheat (*Triticum aestivum* L.) genotypes differing in drought tolerance. Journal of Agronomy and Crop Science 3: 185 – 195.

Slama, I., Messedi, D., Ghanaya, T., Savoure, A. and Abdely, C. (2006). Effects of water deficit on growth and proline metabolism in Sesuvium *portulacastrum*. Environmental and Experimental Botany 56: 231-238.

Smirnoff, N. and Cumbes, Q. J. (1989). Hydroxyl radical scavenging activity of compatible solutes. Phytochemistry 28: 1057-1060.

Srivalli, B., Sharma, G. and Khanna-Chopra, R. (2003). Antioxidative defense system in an upland rice cultivar subjected to increasing intensity of water stress followed by recovery. Physiologia Plantarum 119: 503-512.

Türkan, İ., Melike, B., Özdemir, F. and Koca, H. (2005). Differential responses of lipid peroxidation and antioxidants in the leaves of drought-tolerant P. acutifolius Gray and drought-sensitive P. *vulgaris* L. subjected to polyethylene glycol mediated water stress. Plant Science 168: 223-231.

Velikova, V., Yordanova, I. and Edreva, A. (2000). Oxidative stress and some antioxidant systems in acid rain-treated bean plants. Protective role of exogenous polyamines. Plant Science 151: 59-66.

Vranova, E., Inzé, D. and Van Breusegem, F. (2002). Signal transduction during oxidative stress. Journal of Experimental Botany 53: 1227-1236.

Wang, B.W., Kim, Y.H., Lee, H.S., Kim, K.Y., Deng, X.P. (2009). Analysis of antioxidant enzyme activity during germination of alfalfa under salt and drought stresses. Plant Physiology Biochemistry 47: 570-577.

Yoshiba, Y., Kiyosue, T., Nakashima, K., Yamaguchi-Shinozaki, K. and Shinizaki, K. (1997). Regulation of levels of proline as an osmolyte in plants under water stress. Plant and Cell Physiology. 18: 1095-1102.

Zhang, L., Peng, J., Chen, T. T., Zhao, X. H., Zhang, S. P., Liu, S. D., Dong, H. L., Feng L., Yu. S. X. (2014). Effect of drought stress on lipid peroxidation and proline content in cotton. The Journal of Animal and Plant Sciences 6: 1729-1736.

Zlatev, Z. S., Lidon, F. C., Ramalho, J. C. and Yordanov, I. T. (2006). Comparison of resistance to drought of three bean cultivars. Biologia Plantarum 50: 389-394.