نهمین کنفرانس ملی و اولین کنفرانس بین‌المللی فیزیولوژی گیاهی
9th National and 1st International Conference of Plant Physiology
۲۷-۲۹ بهمن ۱۴۰۴، دانشگاه گیلان

ارزیابی اثر تنش خشکی و محلول‌پاشی کیتوزان بر فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان در گیاه اسفناج (*Spinacia oleracea* L.)

فائزه خاتمی[1*]، وحید نیکنام[1]
[1].دانشکده زیست شناسی، دانشکدگان علوم، دانشگاه تهران، تهران، ایران.
faezeh.khatami@ut.ac.ir

چکیده

گیاه اسفناج دارای میزان بالایی از ویتامین‌ها و مواد معدنی است. هدف از پژوهش حاضر بررسی اثرات کیتوزان (CS) بر فعالیت برخی آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی برای مقابله با تنش اکسیداتیو ناشی از خشکی در گیاه اسفناج بود. بدین منظور محلول‌پاشی غلظت‌های مختلف از CS در سطوح مختلف خشکی با استفاده از پلی اتیلن گلایکول (PEG) در مرحله سه برگی اعمال شد. ۲۱ روز پس از آغاز اعمال تیمارها، اندام‌های هوایی گیاهان برداشت شدند. آزمایش‌ها به صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملا تصادفی در چهار تکرار در گلخانه آموزشی-پژوهشی دانشکده زیست شناسی دانشگاه تهران انجام شد. نتایج نشان داد که بیشترین فعالیت آنزیم‌های سوپراکسید دیسموتاز، کاتالاز، پلی فنل اکسیداز و پراکسیداز در بالاترین سطح از تنش خشکی بودند. استفاده از CSدر غلظت‌های مختلف سبب بهبود فعالیت آنزیم‌های مذکور گشت. به گونه‌ای که بیشترین میزان فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی در اثر متقابل ۳۰ میلی‌گرم بر لیتر از CS و ۱۵ درصد PEG مشاهده شد. بنابراین CS یک محرک زیستی بالقوه برای افزایش رشد گیاه اسفناج و تحمل به تنش اکسیداتیو در شرایط تنش خشکی به شمار می‌آید.

مقدمه

مقدمه کمبود آب در سال‌های اخیر با ایجاد تغییرات فیزیولوژیکی، بیوشیمیایی و ژنتیکی بر کیفیت گیاهان اثر نامطلوب داشته است. یکی از پیامدهای اجتناب ناپذیر خشکسالی افزایش گونه‌های فعال اکسیژن در بافت‌های گیاهی است که سبب آسیب به لیپیدها، پروتئین‌ها و اسیدهای نوکلئیک می‌شوند که به نوبه خود بر صفات مورفولوژیک تأثیر می‌گذارند.کیتوزان یک پلیمر زیستی مشتق شده از کیتین و جزء اصلی دیواره سلولی قارچ‌ها و اسکلت بیرونی سخت پوستان است. کیتوزان و مشتقات آن به دلیل سازگاری با محیط‌زیست، عدم سمیت و تخریب‌پذیری زیستی به طور گسترده در کشاورزی، پزشکی و بیوتکنولوژی استفاده می‌شوند (Demehin *et al*., 2024). مشاهده شده است که تیمار کیتوزان با افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی موجب ایجاد مقاومت در گیاهان در طی تنش خشکی می‌گردد. در این راستا گزارشات متعددی در مورد نقش تیمار کیتوزان در افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی در گیاهان گوجه‌فرنگی، ریشه بادمجان، دو گونه از ذرت و ریحان موجود است که سبب حذف گونه‌های فعال اکسیژن و کاهش منفی اثرات تنش اکسایشی گردیده است (Boamah *et al*., 2023). هدف از پژوهش حاضر بررسی تیمار کیتوزان بر مکانیسم‌های دفاعی همچون آنزیم‌های آنتی اکسیدانی در گیاه اسفناج تحت تنش خشکی است.

مواد و روش‌ها

بذرهای گیاه اسفناج رقم شاهرودی از شرکت پاکان بذر اصفهان تهیه شدند. سپس تعدادی بذر یکنواخت و همگن انتخاب گردید و برای جلوگیری از آلودگی توسط هیپوکلریت سدیم ۵ درصد ضدعفونی شده و سپس چندین بار با آب مقطر شستشو داده شدند. پس از این مرحله بذرها درون ظروف پتری حاوی یک لایه کاغذ صافی مرطوب به آب مقطر جهت جوانه‌زنی قرار داده شدند. بذرهای جوانه‌زده شده در بازه زمانی آذر ماه به گلدان‌های حاوی پرلیت منتقل شدند. در این مرحله با هوگلند (۲/۱) محلول‌دهی شدند. گلدان‌ها در گلخانه آموزشی-پژوهشی دانشکده زیست شناسی دانشگاه تهران با رطوبت نسبی ۵۰-۴۰٪ و دمای ۲۵-۱۸°C و دوره نوری ۱۶ ساعت روشنایی با شار فتونی ۴۷ میکرومول فتون بر متر مربع در ثانیه نگه‌داری شدند.

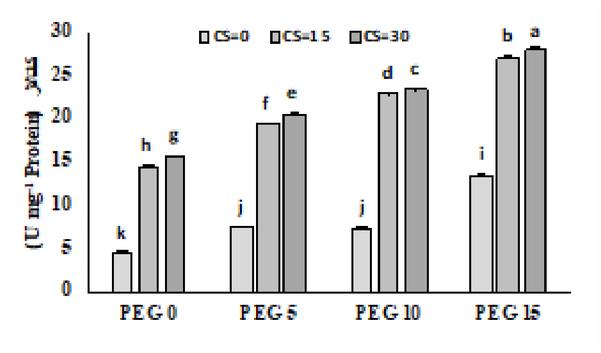
تیماردهی

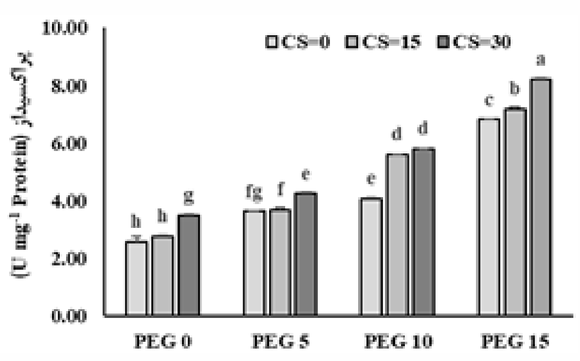
تیمار خشکی (در سطوح ۵، ۱۰ و ۱۵ درصد PEG) در محلول هوگلند نیم غلظت در مرحله سه برگی گیاهچه‌ها اعمال شد. پس از ۲۴ ساعت از اعمال تیمار خشکی، اولین تیمار کیتوزان با غلظت‌های ۱۵ و ۳۰ میلی‌گرم بر لیتر به صورت محلول‌پاشی برگی انجام گردید. دومین تیمار کیتوزان یک هفته پس از اولین مرحله محلول‌پاشی صورت گرفت. تیمار خشکی به مدت سه هفته با PEG اعمال شد. ۲۱ روز پس از آغاز اعمال تیمارها اندام‌های هوایی گیاهان برداشت شدند. غلظت تیمارها براساس بررسی منابع و پیش آزمایش‌هایی است که پیش‌تر انجام شد.

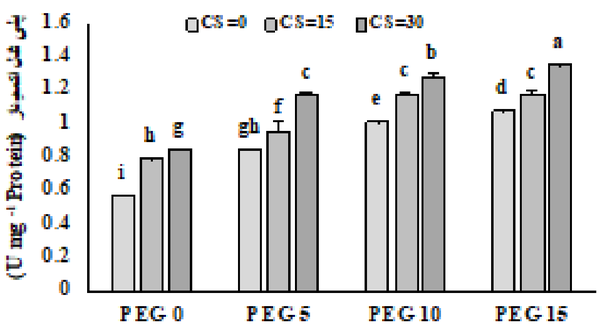
فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی

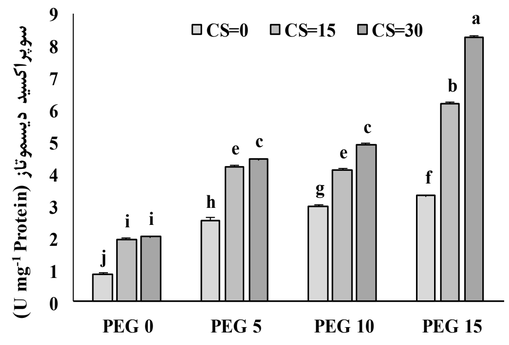
میزان فعالیت آنزیم‌های کاتالاز (CAT) با روش Aebi(۱۹۸۴)، سوپر اکسید دیسموتاز (SOD) با روش Giannopoliitis و Ries (۱۹۷۷)، پلی‌فنل اکسیداز (PPO) با روش Raymond و همکاران (۱۹۹۳) و پراکسیداز (POX) با روش Abeles و Biles (۱۹۹۱) سنجش شدند. در نهایت میزان فعالیت آنزیم‌های مذکور بر اساس واحد آنزیمی به ازای هر میلی‌گرم پروتئین (Unit mg-1 protein) محاسبه گردید.

نتایج و بحث









کیتوزان می‌تواند منجر به تقویت سیستم آنتی‌اکسیدانی بخصوص افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان در گیاه اسفناج تحت تنش خشکی شود.
کیتوزان با افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی می‌تواند موجب کاهش غلظت گونه‌های فعال اکسیژن و سپس کاهش تنش اکسیداتیو در گیاه اسفناج تحت تنش خشکی شود.
کیتوزان می‌تواند سبب بهبود تحمل به تنش خشکی در گیاه اسفناج شود.

منابع

Arumugam Vignesh, Amal, T. C., Sarvalingam, A., and Vasanth, K. (2024). A review on the influence of nutraceuticals and functional foods on health. *Food Chemistry Advances*, *5*, 100749.

Boamah, P. O., Onumah, J., and Santo, K. G. (2023). Application of depolymerized chitosan in crop production: A review. *International Journal of Biological Macromolecules*, *235*, 123858.