

اثر کمبود روی خاک بر فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانت و برخی پارامترهای بیوشیمیایی در

گندم نان

سید محسن نیازخانی^۱، بابک عبدالهی مندولکانی^{۲*}، مراد جعفری^۳ و میرحسن رسولی صدقیانی^۴

(۱) دانش‌آموخته دکتری اصلاح نباتات، گروه اصلاح و بیوتکنولوژی گیاهی، دانشگاه ارومیه، ارومیه، ایران.

(۲ و ۳) دانشیار گروه اصلاح و بیوتکنولوژی گیاهی، دانشگاه ارومیه، ارومیه، ایران.

(۴) استاد گروه علوم خاک، دانشگاه ارومیه، ارومیه، ایران.

* نویسنده مسئول: b.abdollahi@urmia.ac.ir

این مقاله مستخرج از رساله دکتری می‌باشد.

تاریخ پذیرش: ۱۳۹۷/۱۱/۰۶

تاریخ دریافت: ۱۳۹۷/۰۸/۰۲

چکیده

به منظور بررسی واکنش ارقام روی-کارا و روی-ناکارا گندم نان به کمبود روی (Zn) خاک، این آزمایش به صورت فاکتوریل بر پایه طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار در گلخانه اجرا گردید. فاکتورهای آزمایش شامل سطوح روی در دو شرایط روی کافی (پنج میلی گرم روی در کیلوگرم خاک) و عدم مصرف روی، ارقام روی-کارا (بیات و نیک‌نژاد) و روی-ناکارا (هیرمند و کرج ۱)، بافت (ریشه و برگ) و مرحله رشدی (۲۸ روز بعد از جوانه‌زنی و ۳۰ درصد سنبله‌دهی به ترتیب تحت عنوان مراحل رویشی و زایشی) بود. در این تحقیق فعالیت آنزیم‌های سوپراکسید دیسموتاز، کاتالاز، آسکوربات پراکسیداز، پراکسیداز و فنیل آلانین آمونیلیاز و مقدار مالون دی آلدئید، پراکسید هیدروژن، پرولین، ترکیبات فنلی و آنتی‌اکسیدانت کل اندازه‌گیری شد. نتایج تجزیه واریانس و مقایسه میانگین اثرات اصلی و برهمکنش نشان داد تحت شرایط کمبود روی، میزان فعالیت آنزیم‌های آسکوربات پراکسیداز، پراکسیداز و فنیل - آلانین آمونیلیاز افزایش و فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز به طور معنی‌داری ($P \leq 0.01$) کاهش یافت. میزان مالون دی آلدئید، پراکسید هیدروژن، فنل و پرولین تحت شرایط کمبود روی به طور معنی‌داری ($P \leq 0.01$) افزایش یافت. همچنین فعالیت آنزیم‌های سوپر اکسید دیسموتاز، کاتالاز، پراکسیداز، آسکوربات پراکسیداز، فنیل آلانین آمونیلیاز و مقدار پرولین در ارقام روی-کارا بیش‌تر و مقدار مالون دی آلدئید و پراکسید هیدروژن در این ارقام کم‌ترین مقدار را دارا بود. میزان فعالیت آنزیم کاتالاز در رقم روی-کارا بیات به طور معنی‌داری تحت شرایط کمبود روی بیش‌تر از سایر ارقام بود. به طور کلی نتایج این تحقیق نشان داد که فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانت تحت شرایط کمبود روی در گندم نان افزایش می‌یابد.

واژه‌های کلیدی: گندم نان، کاتالاز، پرولین و کمبود روی.

مقدمه

گندم نان با نام علمی *Triticum aestivum* L. از تیره غلات (Poaceae)، مهم‌ترین گیاه زراعی یک‌ساله بوده و وسیع‌ترین سطح زیرکشت دیم را در جهان دارد. گندم قسمت اعظم پروتئین، املاح و ویتامین‌های گروه B و بیش از ۴۰ درصد کالری و ۵۰ درصد پروتئین مورد نیاز جمعیت ایران را تأمین می‌کند (حلیم و همکاران، ۱۳۹۶). این گیاه یک منبع غذایی پایدار برای جمعیت در حال رشد جهان به‌شمار می‌رود و با این‌که ایران یک درصد جمعیت جهان را دارد اما ۲/۵ درصد گندم جهان را مصرف می‌کند (Bahari et al., 2013). گندم نیز همانند سایر گیاهان زراعی در طول دوره زیستی خود با محدودیت‌های محیطی متعددی مانند کمبود عناصر روی (Zn) و آهن مواجه می‌شود. این عناصر کم‌مصرف، سوخت و ساز مواد غذایی را در بدن تنظیم می‌کنند و کمبود آن‌ها، سلامت جوامع را به‌خطر می‌اندازد (Cole et al., 2010). از طرفی سوءتغذیه به‌واسطه عناصر کم‌مصرف که اغلب از آن به‌عنوان گرسنگی پنهان یاد می‌شود، بیش از دو میلیارد نفر را در سراسر جهان تحت تأثیر قرار داده است. این امر به‌ویژه در کشورهای در حال توسعه که در آن‌ها رژیم غذایی اغلب به‌صورت گیاه‌خواری است یک مشکل عمده می‌باشد. در بین عناصر کم‌مصرف، کمبود روی مهم‌ترین عامل محدود کننده تولید محصولات کشاورزی بوده و تقریباً نصف خاک‌های زیر کشت غلات در دنیا به‌ویژه خاک‌های آهکی مناطق خشک و نیمه‌خشک دچار کمبود روی هستند (Cakmak et al., 2002). به‌خاطر اینکه درصد بالایی از غذاهای تشکیل‌دهنده رژیم غذایی جمعیت جهان را غلات دارای کمبود روی تشکیل می‌دهند، کمبود این عنصر شیوع گسترده‌ای در جوامع انسانی دارد. در انسان کمبود روی باعث عقب‌افتادگی رشد و کاهش در پاسخ ایمنی همراه است. همچنین بذور با مقادیر بالاتر این عنصر، دارای قدرت جوانه‌زنی بیش‌تر بوده و سیستم ریشه‌ای بزرگ‌تری داشته و عملکرد بالاتری در خاک‌های فقیر از عناصر کم‌مصرف تولید می‌کنند (Wissuwa et al., 2006). کمبود روی علاوه بر کاهش کیفیت دانه، موجب کاهش عملکرد آن نیز می‌شود (Haydon and Cobbett, 2007). عنصر روی برای رشد و متابولیسم گیاهی ضروری بوده (Cakmak, 2008) و کمبود روی باعث کاهش استحکام غشای سلولی، حساسیت به تنش گرما و کاهش سنتز کربوهیدرات‌ها در گیاه می‌شود (Singh et al., 2005). در گیاهان، روی یک جزء ضروری برای بیش از ۳۰۰ آنزیم از جمله، RNA پلی‌مراز^۱، آلکالاین فسفاتاز^۲، الکل‌دهیدروژناز^۳ و کربنیک آنهیدراز^۴ می‌باشد (Li et al., 2013). بعضی از ژنوتیپ‌ها در خاک‌های دارای کمبود روی، ظرفیت رشد و تولید محصول خوبی دارند. ژنوتیپ‌هایی که متحمل به خاک‌های

1- RNA polymerase

2- Alkaline phosphatase (ALP)

3- Alcohol dehydrogenase (ADH)

4- Carbonic anhydrase (CA)

دارای کمبود روی هستند، اصطلاحاً روی-کارا^۱ نامیده می‌شوند (Pearson and Rengel, 1997). تنش‌های زنده و غیرزنده که به گیاهان آسیب می‌رسانند منجر به تولید رادیکال‌های آزاد و نهایتاً تنش اکسیداتیو در گیاه می‌شوند. به-طورکلی، انواع اکسیژن فعال یا واسطه‌های آن در توسعه سیستم‌های پاسخ گیاهان و جانوران نقش مهمی دارند (Bestwick et al., 1998). تنش اکسیداتیو در صورت شدید بودن باعث پراکسید شدن ترکیبات غشای سلول، از بین رفتن پلی‌ساکاریدها، غیرفعال شدن آنزیم‌ها و پارگی رشته‌های DNA و RNA می‌شود. انواع گونه‌های فعال اکسیژن^۲، با آسیب رساندن به کلروپلاست برگ، موجب زردی و پیری برگ می‌شوند. در سلول‌های گیاهی معمولاً فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانت در مواجهه با تنش‌های محیطی افزایش یافته و از این طریق گیاهان قادرند از خسارت‌های ایجاد شده گونه-های فعال اکسیژن بکاهند. سوپراکسید دیسموتاز، کاتالاز و پراکسیداز، از جمله آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانت هستند که در متابولیسم کردن ترکیبات اکسیژن فعال و جلوگیری از خسارت ناشی از تنش‌های اکسیداتیو نقش اساسی بر عهده دارند (Nikitaki et al., 2015). چون روی به‌طور مستقیم در پروسه‌های بیان ژن و سنتز پروتئین درگیر است چنین به‌نظر می‌رسد که ممکن است تنش کمبود روی باعث مهار فعالیت تعدادی از آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانت شود که مانع از آسیب آنتی‌اکسیدانتی گسترده و مؤثر به چربی‌های غشایی، پروتئین‌ها، کلروفیل و اسیدهای نوکلئیک می‌شوند (Cakmak, 2000). از طرفی آنزیم فنیل آلانین آمونیالیز اولین و کلیدی‌ترین آنزیم مسیر بیوسنتز فنیل پروپانویدها می‌باشد (Brooks et al., 2005). بیش‌تر ترکیبات فنلی (شامل لیگنین‌ها و لیگان‌ها) که در تحمل گیاهان به تنش‌های محیطی نقش دارند از مسیر فنیل پروپانوییدی سنتز می‌شوند. این ترکیبات در گیاهان نقش‌های مهمی چون حفاظت در برابر تنش‌های زنده و غیرزنده، سیگنال‌های بین سلولی، محافظت در برابر نور و به‌ویژه اشعه ماورای بنفش (UV) و همچنین حفاظت‌های مکانیکی را به‌عهده دارند. بنابراین فعالیت آنزیم فنیل آلانین آمونیالیز تحت تأثیر تنش‌های زنده و غیرزنده تغییر می‌کند و انتظار می‌رود افزایش فعالیت این آنزیم سبب افزایش تولید مواد فنیل پروپانوییدی گردد (Bagal et al., 2012). پیش از این کاهش فعالیت برخی آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانت در ارقام روی-ناکارا در شرایط کمبود روی در گیاهانی مانند برنج (Chen et al., 2009)، نخود فرنگی (Pandey et al., 2012) و گندم (Hacisalihoglu et al., 2003) گزارش شده است. با این حال مطالعه جامعی روی فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانت و آنزیم فنیل آلانین آمونیالیز و فاکتورهای بیوشیمیایی در ارقام روی - کارا و روی - ناکارای گندم نان در شرایط کمبود روی در ریشه و برگ انجام نگرفته است. هدف از این مطالعه، بررسی اثر کمبود روی خاک بر فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانت و آنزیم فنیل آلانین آمونیالیز و صفات بیوشیمیایی در ریشه و برگ در مراحل مختلف رشد، در ارقام روی-کارا و روی-ناکارای گندم نان بود.

1- Zn-efficient

2- Reactive oxygen species (ROS)

مواد و روش‌ها

این پژوهش در گلخانه تحقیقاتی دانشکده کشاورزی دانشگاه ارومیه در بهار و تابستان سال ۱۳۹۶ اجرا گردید. آزمایش، به صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار انجام شد. عامل اول شامل کاربرد عنصر روی در دو مقدار عدم مصرف روی (کمبود روی) و پنج میلی گرم روی در کیلوگرم خاک (روی کافی) از منبع سولفات روی، عامل دوم ارقام گندم شامل بیات و نیک‌نژاد (روی - کارا) و هیرمند و کرج ۱ (روی - ناکارا) (باغبان طبیعت و رسولی صدقیانی، ۱۳۹۱؛ Khoshgoftarmanesh *et al.*, 2009) عامل سوم بافت مورد نمونه برداری (ریشه و برگ) و عامل چهارم نمونه برداری در دو مرحله رشدی ۲۸ روز بعد از جوانه زنی (رویشی) و ۳۰ درصد سنبله دهی (زایشی) بود. خاک شنی مورد استفاده (جدول ۱) از بستر رودخانه فصلی خان آرخی واقع در شمال غربی دانشگاه ارومیه تهیه گردید.

جدول ۱: مشخصات فیزیکی و شیمیایی خاک شنی مورد استفاده در آزمایش

شوری	اسیدیته	آهک	ماده آلی	نیتروژن	فسفر	پتاسیم	روی	رس	سیلت	شن
(میلی موس بر سانتی متر)	(درصد)	(درصد)	(درصد)	(درصد)	(میلی گرم در کیلوگرم)	(درصد)	(درصد)	(درصد)	(درصد)	(درصد)
۱/۱۹	۷/۸	۹	۰/۶۹	۰/۰۶	۲/۴	۹/۴	۰/۱۵	۳	۱	۹۶

خاک بعد از غربال با الک دو میلی متری، پنج بار با آب معمولی کاملاً آب شویی شده و در نهایت با آب دو بار تقطیر آب-کشی گردید. بعد از آب شویی و هوا خشک شدن خاک، مواد غذایی مورد نیاز، قبل از کشت به صورت محلول تهیه و با خاک کاملاً مخلوط گردید (جدول ۲). علاوه بر مواد غذایی که به خاک داده شد، به نیمی از گلدان‌ها (ترکیبات تیماری دارای روی) عنصر روی به صورت $ZnSO_4 \cdot 7H_2O$ افزوده شد (باغبان طبیعت و رسولی صدقیانی، ۱۳۹۱).

جدول ۲: ترکیب شیمیایی محلول (مواد غذایی مورد استفاده در آزمایش

مقدار (میلی لیتر بر کیلوگرم)	غلظت (گرم بر لیتر)	اجزا
۳	(۴۸/۴۰۷) / (۳۰/۲۴۲)	K_2SO_4 / KH_2PO_4
۱	(۱۴۷/۰۱۶) / (۲۰/۵) / (۹۳)	$CaCl_2 \cdot 2H_2O / MgSO_4 \cdot 7H_2O / NH_4NO_3$
۲	(۷/۵) / (۰/۰۸۳) / (۱/۰۵) / (۰/۳۳۳)	$MnSO_4 \cdot H_2O / Na_2MoO_4 \cdot 2H_2O / CuSO_4 \cdot 5H_2O / H_3BO_3$
۱/۶۷	(۱۳/۱۴)	$ZnSO_4 \cdot 7H_2O$

به منظور کشت، بذور ارقام به مدت سه دقیقه با اتانول ۷۰ درصد و سپس به مدت پنج دقیقه با آب اکسیژنه یک درصد ضد عفونی و در نهایت با آب مقطر آب کشی شد. بذور (۱۰ عدد بذری)، در لوله های پلی اتیلنی به ارتفاع ۳۴ و قطر ۱۱ سانتی-متر، حاوی چهار کیلوگرم خاک شنی کشت و بعد از ده روز، تعداد گیاهان در هر گلدان به هفت عدد کاهش داده شد. به-منظور تأمین نیتروژن مورد نیاز گیاهان در طول فصل رشد، هر دو هفته یکبار، محلول نترات آمونیوم به همراه آب آبیاری

به گلدان‌ها اضافه گردید (جدول ۲). در طول فصل رشد، با استفاده از آب دوبار تقطیر در حد ظرفیت زراعی آبیاری انجام شد. نمونه‌برداری از ریشه و برگ گیاهان (۴ بوته) در دو مرحله رویشی (۲۸ روز بعد از جوانه‌زنی) و زایشی (۳۰ درصد سنبله‌دهی) انجام گردید. بعد از برداشت نمونه‌های گیاهی در هر مرحله، ریشه و شاخساره (برگ) از هم جدا و جهت اندازه‌گیری فعالیت آنزیم‌ها و صفات بیوشیمیایی به یخچال ۸۰- درجه سانتی‌گراد منتقل شدند. صفات اندازه‌گیری شده شامل فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانت سوپراکسید دیسموتاز^۱ (Beauchamp and Fridovich, 1971)، کاتالاز^۲ (Aebi, 1984)، آسکوربات پراکسیداز^۳ (Nakano and Asada, 1981)، پراکسیداز^۴ (MacAdam et al., 1992) و هم‌چنین آنزیم فنیل آلانین آمونیالیز^۵ (D'Cunha et al., 1996) و میزان مالون‌دی‌آلدئید^۶ (Popham and Novacky, 1991)، پراکسید هیدروژن^۷ (Velikova, 2000)، فنل^۸ (Tawaha et al., 2007)، پرولین^۹ (Bates et al., 1973) و آنتی-اکسیدانت کل^{۱۰} (Espin et al., 2000) با اندکی تغییرات بود. جهت اطمینان از صحت انتخاب ارقام روی-کارا و روی-ناکارا، شاخص‌های روی کارایی برای هر کدام از ارقام محاسبه شد. برای محاسبه این شاخص، وزن ریشه، شاخساره و هزار دانه یک رقم در شرایط کم‌بود روی اندازه‌گیری و بر وزن همان رقم در شرایط روی کافی تقسیم گردید (باغبان طبیعت و رسولی صدقیانی، ۱۳۹۱). آزمون نرمالیت داده‌ها و خطاهای آزمایشی با استفاده از نرم‌افزار MINITAB (نسخه ۱۹) انجام گرفت. تجزیه واریانس داده‌ها و مقایسه میانگین تیمارها (به‌روش دانکن در سطح یک درصد) توسط نرم‌افزار SAS (نسخه ۹/۲) انجام شد.

نتایج و بحث

شاخص روی کارایی ارقام

جهت اطمینان از صحت انتخاب ارقام مورد استفاده در این تحقیق به‌لحاظ کارایی جذب روی، شاخص روی کارایی کل برای هریک از ارقام محاسبه شد (جدول ۳). در بین ارقام مورد مطالعه، به‌طور متوسط ارقام بیات، نیک‌نژاد، کرج ۱ و هیرمند به‌ترتیب با ۰/۹۷، ۰/۹۲، ۰/۸۸ و ۰/۸۳، دارای بیش‌ترین تا کم‌ترین روی کارایی بودند. Khoshgoftarmanesh و همکاران (۲۰۰۹) شاخص روی کارایی را برای ارقام بیات، نیک‌نژاد، کرج ۱ و هیرمند به‌ترتیب ۰/۸۸، ۰/۸۵، ۰/۸۳ و ۰/۶۷

- 1- Superoxide dismutase
- 2- Catalase
- 3- Ascorbate peroxidase
- 4- Peroxidase
- 5- Phenylalanine ammonia lyase
- 6- Malondialdehyde
- 7- Hydrogen Peroxide
- 8- Phenol
- 9- Proline
- 10- DPPH: 1, 1-Diphenyl-2-picrylhydrazyl

گزارش کردند، در حالی که بر اساس نتایج باغبان طبیعت و رسولی صدقیانی (۱۳۹۱)، این مقدار برای ارقام بیات، نیک‌نژاد، کرج ۱ و هیرمند به ترتیب ۱/۲، ۱/۰۴، ۰/۸۴ و ۰/۷۳ بود.

جدول ۳: شاخص روی کارایی (Zn efficiency) ارقام گندم نان بر اساس بافت‌های مختلف فعالیت آنزیم‌های آنتی-

اکسیدانت و آنزیم فنیل آلانین آمونیلایز

ریشه	شاخساره	دانه	میانگین
بیات	۰/۹۸	۰/۹۵	۰/۹۷
نیک‌نژاد	۰/۹۴	۰/۹۴	۰/۹۲
هیرمند	۰/۷۹	۰/۸۹	۰/۸۳
کرج ۱	۰/۸۹	۰/۹۱	۰/۸۸

نتایج جدول ۴ تجزیه واریانس و مقایسه میانگین اثر اصلی روی نشان داد در شرایط کمبود روی فعالیت آنزیم‌های پراکسیداز (شکل ۱-b)، آسکوربات پراکسیداز (شکل ۱-c) و فنیل آلانین آمونیلایز (شکل ۱-d) به طور معنی‌داری ($P \leq 0.01$) افزایش، درحالی‌که فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز (شکل ۱-a) در این شرایط به طور معنی‌داری کاهش یافت. آنزیم سوپراکسید دیسموتاز یک آنزیم محتوی روی است (Chen et al., 2009) و کمبود روی خاک باعث می‌شود به طور قابل ملاحظه‌ای از فعالیت این آنزیم کاسته شود. Chen و همکاران (۲۰۰۹) گزارش کردند که فعالیت این آنزیم در هر دو ژنوتیپ روی-کارا و روی-ناکارای برنج در شرایط کمبود روی کاهش می‌یابد. نتایج مشابهی در نخود فرنگی (Pandey et al., 2012)، گندم (Hacisalihoglu et al., 2003) و نخود سیاه (Gupta et al., 2011) گزارش شده است. هم‌چنین Chen و همکاران (۲۰۰۹) گزارش کردند که فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز در ریشه ارقام روی-کارا و روی-ناکارای برنج در شرایط کمبود روی به طور معنی‌داری بیش‌تر می‌شود. البته Gupta و همکاران (۲۰۱۱)، کاهش در مقدار فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز را در شرایط کمبود روی در نخود سیاه گزارش کردند. در تحقیق دیگری که روی فعالیت آنزیم پراکسیداز در ارقام روی-کارا و روی-ناکارای برنج، تحت شرایط کمبود شدید، کمبود متوسط و مقدار کافی روی انجام گرفت، گزارش شد که فعالیت این آنزیم در شرایط کمبود متوسط روی به حداکثر می‌رسد که این افزایش نشان‌دهنده افزایش فعالیت سیستم دفاع آنتی‌اکسیدانتی در برابر شرایط تنش کمبود روی است (Chen et al., 2009).

جدول ۴ تجزیه واریانس و مقایسه میانگین برهمکنش نشان داد که فعالیت آنزیم‌های سوپراکسید دیسموتاز (شکل ۲-a)، فنیل آلانین آمونیلایز (شکل ۲-b)، کاتالاز (شکل ۲-c) و آسکوربات پراکسیداز (شکل ۲-d) به طور معنی‌داری ($P \leq 0.01$) در ارقام روی-کارا بیش‌تر از ارقام روی-ناکارا می‌باشد. قبلاً هم گزارشاتی مبنی بر وجود همبستگی بین فعالیت

آنزیم مس/روی-سوپراکسید دیسموتاز^۱ و روی کارایی در بین و داخل گونه‌های مختلف غلات ارائه شده بود (Yu et al., 1999; Pandey et al., 2012). Hacasalihoglu و همکاران (۲۰۰۳) گزارش کردند که سطوح بالاتری از فعالیت آنزیم-های حاوی روی به‌خصوص آنزیم سوپراکسید دیسموتاز در ارقام روی-کارای گندم در شرایط کمبود روی مشاهده می‌شود. جدول ۴: نتایج تجزیه واریانس اثر کمبود روی بر فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانت و آنزیم فنیل آلانین آمونیلیاز در

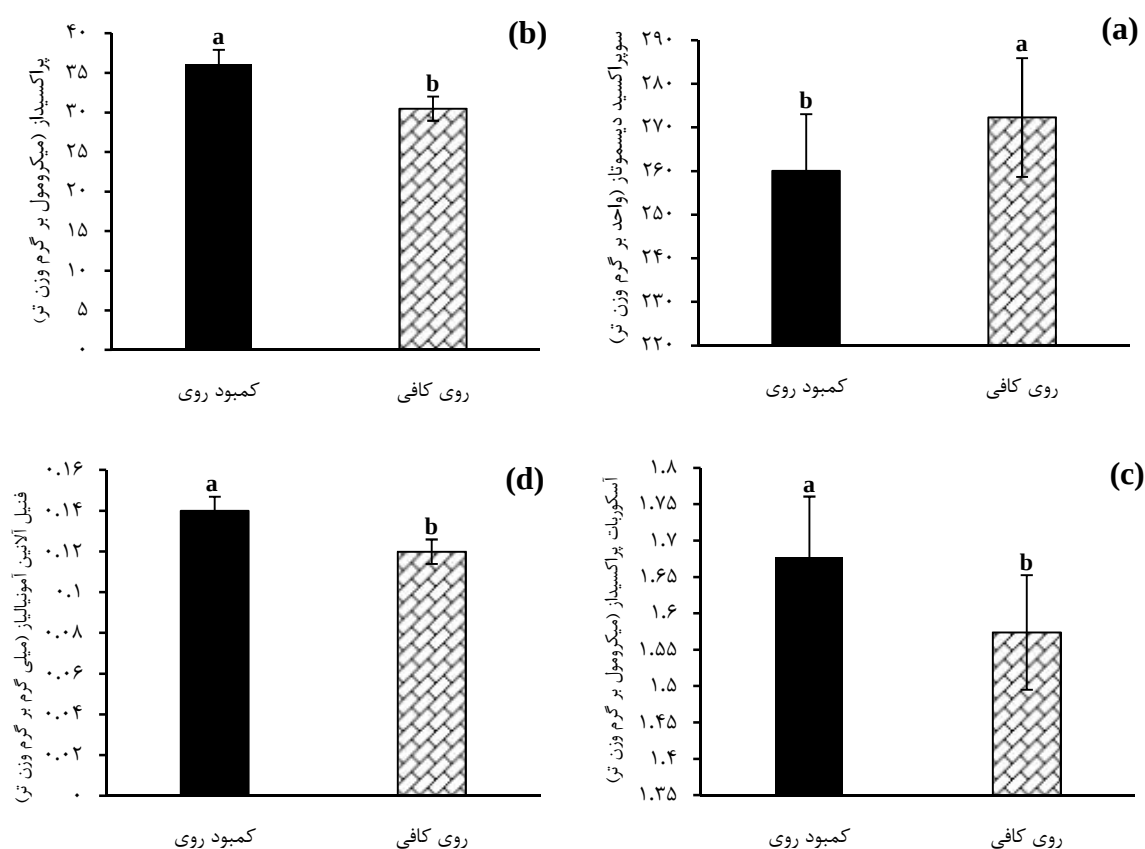
گندم نان

میانگین مربعات (MS)						
منابع تغییر	df	سوپراکسید دیسموتاز	کاتالاز	پراکسیداز	آسکوربات	فنیل آلانین-آمونیلایز
روی	۱	۳۶۰/۱۵۰**	۴/۹۹**	۷۵۸/۸۵**	۰/۳۵*	۰/۰۱*
بافت	۱	۱۵۸۱۰/۶۷**	۹/۱۲**	۱۵۶۰/۹۶**	۱۰۶/۷۹**	۱/۱۱**
رقم	۳	۲۵۸۹/۸۹**	۲/۵۴**	۱۱۳/۴۱*	۹/۱۲**	۰/۰۰۸*
مرحله	۱	۱۷۸۲۱/۵۰**	۰/۰۷ ^{ns}	۸۶۰/۴۹**	۰/۳۱ ^{ns}	۰/۲۱**
روی × بافت	۱	۱۲۱/۵۰ ^{ns}	۰/۲۸ ^{ns}	۱/۹۶ ^{ns}	۰/۰۱ ^{ns}	۰/۰۰۰۴ ^{ns}
روی × رقم	۳	۱۳۳/۸۶ ^{ns}	۱/۷۶**	۲۶/۹۳ ^{ns}	۰/۷۱ ^{ns}	۰/۰۰۳ ^{ns}
روی × مرحله	۱	۱۹۷/۳۹ ^{ns}	۰/۰۰۰۵ ^{ns}	۱۳/۸۷ ^{ns}	۰/۰۶ ^{ns}	۰/۰۰۰۸ ^{ns}
بافت × رقم	۳	۱۲۳/۷۵ ^{ns}	۰/۲۰ ^{ns}	۱۰۱/۵۵*	۷/۰۱**	۰/۰۰۴ ^{ns}
بافت × مرحله	۱	۱۰۴۷۵/۱۲**	۰/۳۹ ^{ns}	۳۸۱۳/۱۵**	۰/۳۸ ^{ns}	۰/۱۶**
رقم × مرحله	۳	۴۱۴/۹۲ ^{ns}	۰/۲۳ ^{ns}	۴۲۷/۰۱**	۳/۰۹ ^{ns}	۰/۰۰۳ ^{ns}
روی × بافت × رقم	۳	۱۰۳/۲۹ ^{ns}	۰/۴۲ ^{ns}	۳۵/۱۳ ^{ns}	۰/۷۶ ^{ns}	۰/۰۰۴ ^{ns}
روی × رقم × مرحله	۳	۱۳۴/۴۵ ^{ns}	۰/۱۵ ^{ns}	۳۱/۹۲ ^{ns}	۱/۰۹ ^{ns}	۰/۰۰۴ ^{ns}
روی × بافت × مرحله	۱	۶۰/۶۶ ^{ns}	۰/۰۹ ^{ns}	۰/۰۳ ^{ns}	۰/۰۲ ^{ns}	۰/۰۰۱ ^{ns}
بافت × رقم × مرحله	۳	۳/۲۰ ^{ns}	۰/۹۵**	۲۷۴/۲۴**	۳/۲۷ ^{ns}	۰/۰۰۳ ^{ns}
روی × بافت × رقم × مرحله	۳	۱۰۴/۳۴ ^{ns}	۰/۱۰ ^{ns}	۱۶/۱۱ ^{ns}	۰/۷۷ ^{ns}	۰/۰۰۴ ^{ns}
خطا	۶۴	۲۳۵/۵۶	۰/۱۸	۳۲/۲۲	۱/۴۱	۰/۰۰۲
ضریب تغییرات (%)		۵/۷۶	۳۵/۰۱	۱۷/۰۵	۷۳/۰۶	۳۴/۲۰

* و **: به ترتیب معنی‌دار در سطح احتمال ۵ و ۱ درصد، ^{ns}: غیرمعنی‌دار، عامل اول: عنصر روی شامل دو سطح عدم مصرف روی و کاربرد ۵ میلی-

گرم روی در کیلوگرم خاک، عامل دوم: بافت‌های نمونه‌برداری شده شامل ریشه و برگ، عامل سوم: رقم شامل ارقام روی-کارا (بیات و نیک‌نژاد) و روی-ناکارا (هیرمند و کرج ۱)، عامل چهارم: مرحله نمونه‌برداری شامل نمونه‌برداری در دو مرحله ۲۸ روز بعد از جوانه‌زنی (رویشی) و ۳۰ درصد

سنبله‌دهی (زایشی)



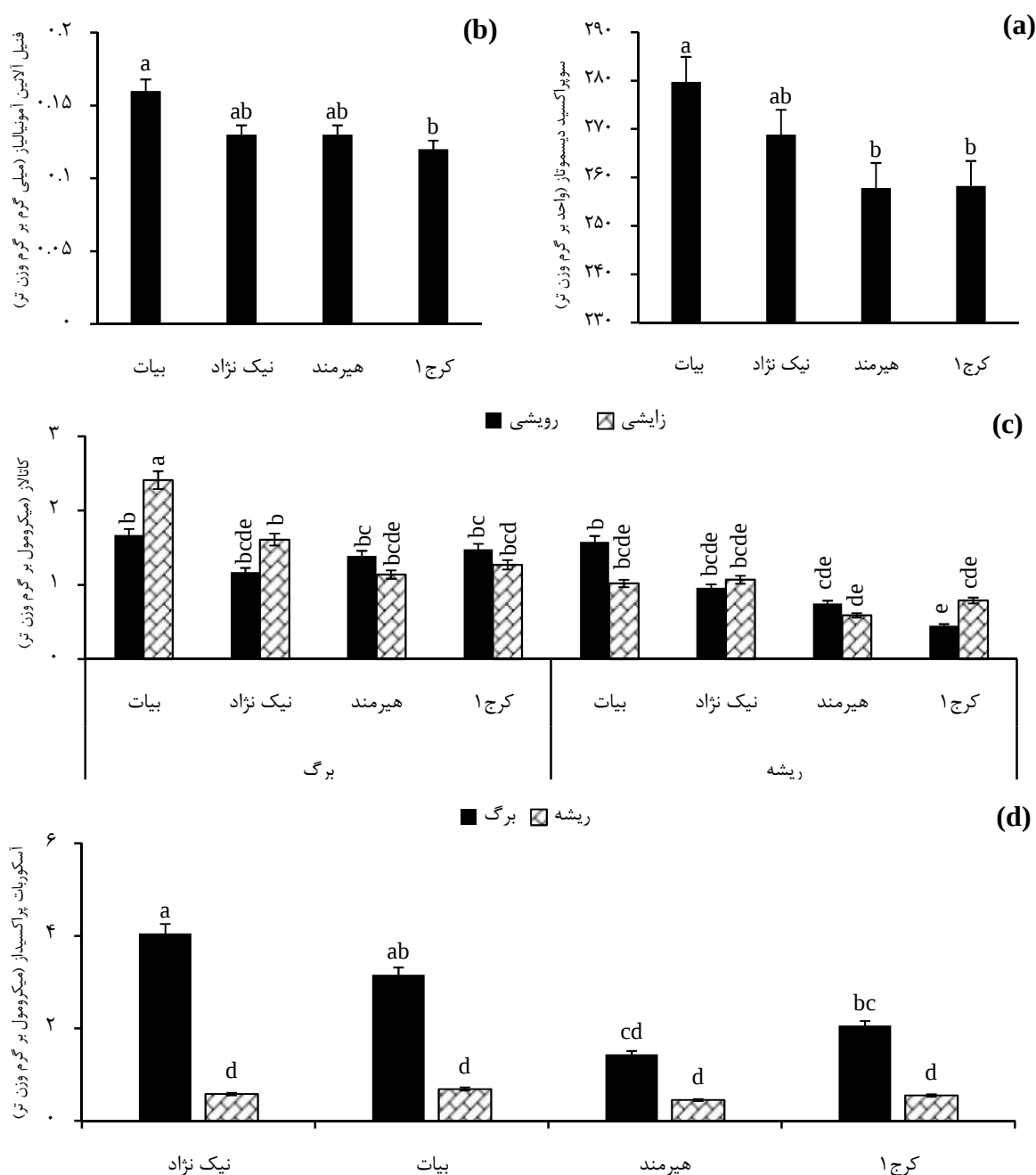
شکل ۱: مقایسه میانگین اثر اصلی سطوح روی بر فعالیت آنزیم‌های سوپراکسید دیسموتاز (a) پراکسیداز (b)، آسکوربات پراکسیداز (c) و فنیل آلانین آمونیا لایاز (d) در گندم نان

در تحقیق حاضر نیز بیش‌ترین فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز در رقم روی-کارای بیات (با متوسط روی کارایی ۹۶/۷۵ درصد) و کم‌ترین میزان فعالیت آن در رقم هیرمند (با متوسط روی کارایی ۷۷/۵ درصد) مشاهده شد. هم‌چنین آنزیم آسکوربات پراکسیداز در برگ ارقام روی-کارا نسبت به ارقام روی-ناکارا فعالیت بیش‌تری نشان داد (شکل ۲-d). در نخود فرنگی (Pandey et al., 2012) و نخود سیاه (Gupta et al., 2011) کاهش فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز در ارقام روی-ناکارا به‌عنوان عاملی برای افزایش تجمع آسکوربات^۱ و پراکسید هیدروژن^۲ در این ارقام گزارش شد. در تحقیق حاضر، فعالیت آنزیم فنیل آلانین آمونیا لایاز هم در ارقام روی-کارا بیش‌تر از ارقام روی-ناکارا بود. در مقایسه فعالیت دو آنزیم کاتالاز و آسکوربات پراکسیداز مشاهده شد که آنزیم آسکوربات پراکسیداز به‌طور قابل توجهی نسبت به کاتالاز دارای فعالیت بیش‌تری است (شکل ۲-d و شکل ۲-c). فعالیت بالای آسکوربات پراکسیداز بر اثر تنش کمبود روی می‌تواند ناشی از نقش کلیدی این آنزیم در حذف پراکسید هیدروژن باشد که نسبت به کاتالاز میل ترکیبی و حساسیت بیش‌تری به

1- Ascorbat

2- H₂O₂

پراکسید هیدروژن داشته و نقش مهمی در مدیریت گونه‌های فعال اکسیژن در شرایط تنش ایفاء می‌کند (Gill and Tuteja, 2010).



شکل ۲: مقایسه میانگین اثر رقم بر فعالیت آنزیم‌های سوپراکسید دیسموتاز (a) و فنیل آلانین آمونیلیاز (b) و

برهمکنش بافت×رقم×مرحله (c) و رقم×بافت (d) به ترتیب بر فعالیت آنزیم‌های کاتالاز و آسکوربات پراکسیداز در گندم

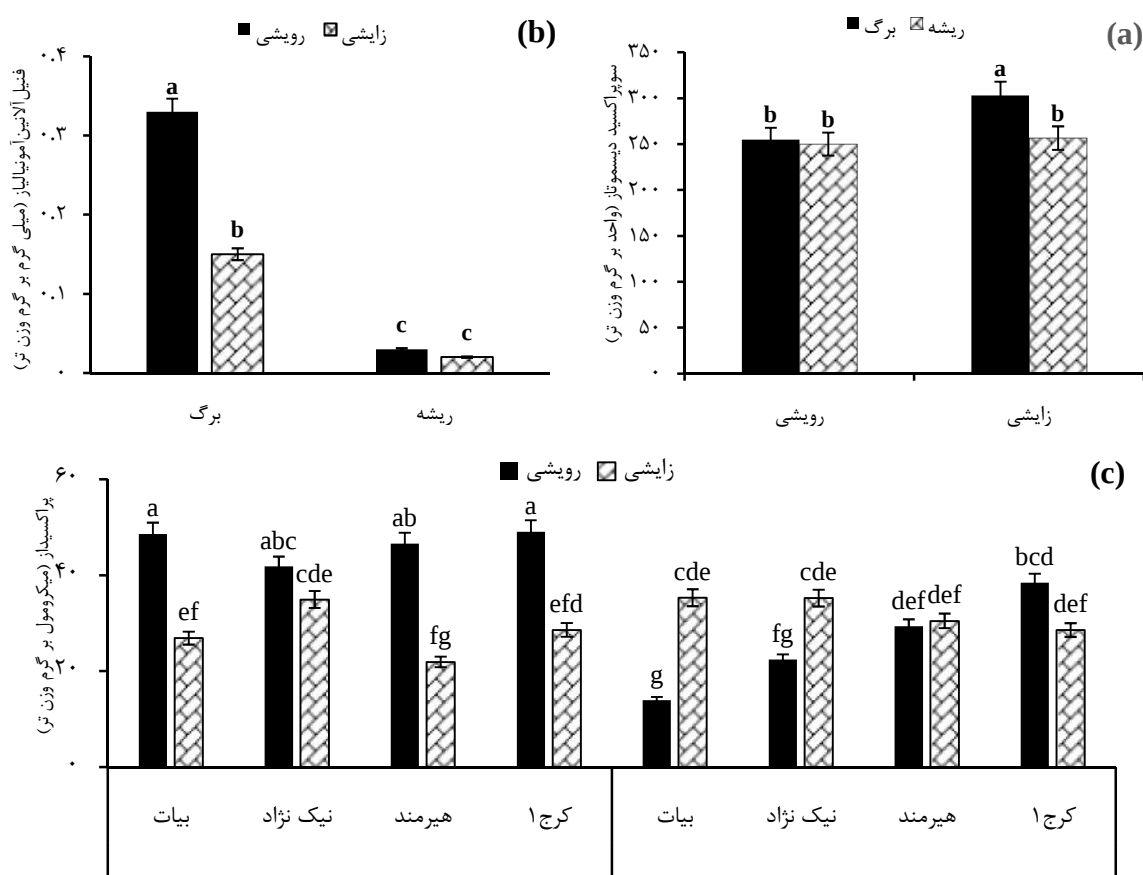
(ستون‌هایی که دارای حروف مشترک می‌باشند بر اساس آزمون چند دامنه‌ای دانکن اختلاف معنی‌داری در سطح احتمال یک درصد ندارند).

پراکسیداز به همراه سوپراکسید دیسموتاز و کاتالاز، متالوآنزیم‌های درگیر در دفاع سلولی بر علیه تنش اکسیداتیو هستند. از آنجا که آنزیم پراکسیداز، در شرایط تنش‌های زیستی و غیرزیستی تحت تأثیر قرار می‌گیرد این آنزیم می‌تواند به عنوان نشانگری برای شرایط تنش استفاده شود (Pandey et al., 2012). Chen و همکاران (۲۰۰۹) گزارش کردند که این آنزیم با فعالیت بیش‌تر در ارقام روی-کارای گندم در شرایط کمبود روی، دارای قابلیت بیش‌تری در حذف انواع گونه-های فعال اکسیژن می‌باشد. Pandey و همکاران (۲۰۱۲) گزارش کردند که تحت شرایط کمبود روی در نخود فرنگی، فعالیت آنزیم پراکسیداز در ارقام روی-کارا نسبت به ارقام روی-ناکارا به طور قابل توجهی افزایش می‌یابد. در نخود سیاه نیز افزایش فعالیت این آنزیم تحت شرایط کمبود روی گزارش شده است (Gupta et al., 2011). نتایج جدول ۴ تجزیه واریانس و مقایسه میانگین نشان داد که بیش‌ترین فعالیت آنزیم کاتالاز در رقم روی-کارای بیات در شرایط کمبود روی مشاهده شد. کم‌ترین میزان فعالیت این آنزیم در رقم روی-ناکارای کرج ۱ در شرایط روی کافی مشاهده شد (شکل ۳). در نخود فرنگی نیز کاهش شدید فعالیت آنزیم کاتالاز در ارقام روی-ناکارا، در شرایط کمبود روی گزارش شده است (Pandey et al., 2012). Chen و همکاران (۲۰۰۹) نیز نتایج مشابهی در ارقام روی-کارا و روی-ناکارای برنج گزارش کردند.



شکل ۳: مقایسه میانگین برهمکنش سطوح روی × رقم بر فعالیت آنزیم کاتالاز در گندم نان

(ستون‌هایی که دارای حروف مشترک می‌باشند بر اساس آزمون چند دامنه‌ای دانکن اختلاف معنی‌داری در سطح احتمال یک درصد ندارند). نتایج تجزیه واریانس جدول ۴ و مقایسه میانگین نشان داد که فعالیت آنزیم‌های سوپراکسید دیسموتاز (شکل ۴-ا)، کاتالاز (شکل ۴-ب)، آسکوربات پراکسیداز (شکل ۴-د) و فنیل آلانین آمونیالیز (شکل ۴-ب) در برگ نسبت به ریشه و آنزیم پراکسیداز (شکل ۴-ج) در ریشه نسبت به برگ به طور معنی‌داری ($P \leq 0.01$) بیش‌تر است. Pandey و همکاران (۲۰۱۲) نیز گزارش کردند که فعالیت آنزیم کاتالاز تحت شرایط کمبود روی در برگ ارقام نخود فرنگی بیش‌تر از ریشه می‌باشد.



شکل ۴: مقایسه میانگین برهمکنش بافت×مرحله بر فعالیت آنزیم‌های سوپراکسید دیسموتاز (a) و فنیل آلانین

آمونیاکسیداز (b) و اثر بافت×رقم×مرحله بر فعالیت آنزیم پراکسیداز (c) در گندم نان

(ستون‌هایی که دارای حروف مشترک می‌باشند بر اساس آزمون چند دامنه‌ای دانکن اختلاف معنی‌داری در سطح احتمال یک درصد ندارند).

صفات بیوشیمیایی

نتایج جدول ۵ تجزیه واریانس و مقایسه میانگین (شکل ۵-a) نشان می‌دهد در مرحله زایشی در برگ و در مرحله رویشی در ریشه اختلاف معنی‌داری بین شرایط کم‌بود روی و روی کافی به‌لحاظ مقدار آنتی‌اکسیدانت کل مشاهده نشد ولی مقدار آنتی‌اکسیدانت کل در برگ در مرحله رویشی و در ریشه در مرحله زایشی در شرایط روی کافی به‌طور معنی‌داری بیش از شرایط کم‌بود روی بود. تعادل بین تولید و سم‌زدایی گونه‌های فعال اکسیژن، عمدتاً توسط سیستم دفاع آنتی‌اکسیدانتی که شامل سیستم آنتی‌اکسیدانت‌های آنزیمی و غیرآنزیمی است ایجاد می‌شود (Mittler et al., 2004). DPPH یک رادیکال آزاد پایدار با اتم مرکزی نیتروژن بوده که با احیاء توسط فرایندهای گرفتن هیدروژن یا الکترون، رنگ آن از ارغوانی به زرد تبدیل می‌شود. ترکیباتی که قابلیت انجام این تخریب را دارند به‌عنوان یک آنتی‌اکسیدانت شناخته می‌شوند (امیرجانی و همکاران، ۱۳۹۳). نتایج نشان می‌دهد همراه با افزایش مقدار روی محیط، میزان تخریب DPPH

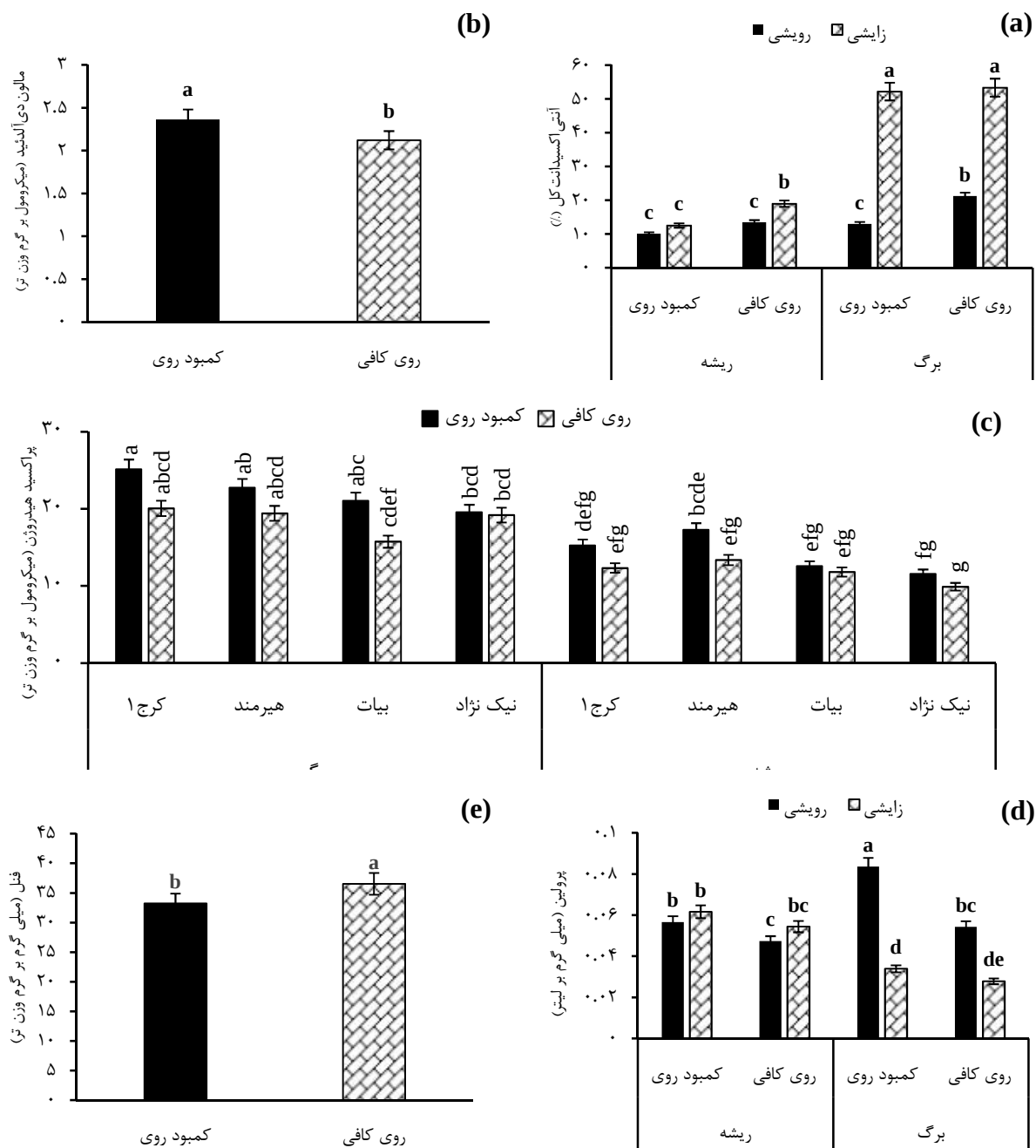
(درصد تخریب رادیکال‌های آزاد) افزایش می‌یابد. به‌نظر می‌رسد با افزایش روی، گیاه قادر به تولید آنتی‌اکسیدانت بیش‌تری بوده و در نتیجه درصد بیش‌تری از رادیکال‌های آزاد تخریب می‌شوند. بنابراین احتمالاً با افزایش میزان روی در محیط، گیاه می‌تواند سیستم دفاعی آنتی‌اکسیدانتی را تقویت و در برابر آسیب‌های ناشی از تنش‌های محیطی از خود محافظت نماید (Mittler *et al.*, 2004). نتایج بدست آمده نشان می‌دهد که مقدار مالون دی آلدئید در شرایط کمبود روی به‌طور معنی‌داری نسبت به شرایط روی کافی افزایش یافت (شکل ۵-b). تنش اکسیداتیو زمانی روی می‌دهد که تولید گونه‌های - فعال اکسیژن بیش‌تر از ظرفیت سم‌زدایی در سلول باشد. این واقعه باعث عدم تعادل در هومئوستازی و در نتیجه افزایش سریع گونه‌های فعال اکسیژن می‌شود (Sharma *et al.*, 2012). یکی از واکنش‌هایی که در حضور گونه‌های فعال اکسیژن سرعت بیش‌تری پیدا می‌کند پراکسیداسیون لیپیدهای غشایی است که باعث تولید آلدئیدهایی مثل مالون دی آلدئید می‌شود (Yan *et al.*, 1996). تنش کمبود روی از طریق القای تولید گونه‌های فعال اکسیژن باعث افزایش مالون دی آلدئید می‌شود. افزایش مالون دی آلدئید در اثر پراکسیداسیون چربی و مقدار پراکسید هیدروژن به‌عنوان شاخصی برای سنجش تنش اکسیدانتی در شرایط کمبود روی توسط Chen و همکاران (۲۰۰۹) در ارقام برنج استفاده شد. آن‌ها مشاهده کردند که در شرایط کمبود روی، پراکسیداسیون چربی به‌طور معنی‌داری در مقایسه با شاهد در تمامی ارقام افزایش پیدا می‌کند. Sharma و همکاران (۲۰۰۴)، افزایش مالون دی آلدئید در شرایط کمبود روی را در گندم نان گزارش کردند. آن‌ها مشاهده کردند با شدت یافتن کمبود روی، غلظت مالون دی آلدئید افزایش می‌یابد و با تأمین مجدد روی در محیط کشت، مقدار مالون دی آلدئید به شدت کاهش پیدا می‌کند. نتایج مقایسه میانگین نشان می‌دهد پراکسید هیدروژن به‌طور معنی‌داری ($P \leq 0.01$) در شرایط کمبود روی بیش‌تر از شرایط روی کافی بود (شکل ۵-c). در اثر تنش‌های زیستی و غیرزیستی گونه‌های فعال اکسیژن مانند پراکسید هیدروژن (H_2O_2) ایجاد می‌شود. تولید گونه‌های فعال اکسیژن در اثر تنش‌های مختلف منجر به تنش‌های اکسیداتیو می‌شود که به DNA، پروتئین، رنگیزه‌ها و همچنین پراکسیداسیون چربی‌ها آسیب رسانده و درنهایت منجر به مرگ سلول می‌گردد. در نخود سیاه مشاهده شد تحت شرایط تنش کمبود روی، غلظت پراکسید هیدروژن در هر دو مرحله نمونه‌برداری افزایش پیدا کرد (Gupta *et al.*, 2011). افزایش پراکسید هیدروژن در شرایط کمبود روی در گندم توسط Sharma و همکاران (۲۰۰۴) گزارش شده است. آن‌ها مشاهده کردند با شدت یافتن کمبود روی، غلظت پراکسید هیدروژن افزایش و افزودن روی به محیط منجر به کاهش غلظت پراکسید هیدروژن می‌شود. نتایج جدول ۵ تجزیه واریانس و مقایسه میانگین نشان می‌دهد پرولین به‌طور معنی‌داری ($P \leq 0.01$) در شرایط کمبود روی بیش‌تر از شرایط روی کافی بود (شکل ۵-d).

جدول ۵: نتایج تجزیه واریانس اثر کمبود روی بر فاکتورهای بیوشیمیایی در گندم نان

منابع تغییر	df	میانگین مربعات (MS)			
		آنتی اکسیدانت کل	فنل	برولین	پراکسید هیدروژن
روى	۱	۵۵/۹۷ ^{oo}	۲۶/۴۶ ^{oo}	۰/۰۰۴ ^{oo}	۸۷/۹۲ ^{oo}
بافت	۱	۱۰۷۴۲/۹ ^{oo}	۳۴۰۷/۸۱ ^{oo}	۰/۰۰۰۶ ^{oo}	۹۶۹/۲۶ ^{oo}
رقم	۳	۴۲/۹۳ ^o	۴۹۹/۰۱ ^{oo}	۰/۰۰۱ ^{oo}	۱۴۹/۸۳ ^{oo}
مرحله	۱	۹۴۵۲ ^{oo}	۲۵۵۰/۵۹ ^{oo}	۰/۰۰۶ ^{oo}	۳۰/۳۹ ^{ns}
روى × بافت	۱	۰/۳۷ ^{ns}	۱۱/۵۰ ^{ns}	۰/۰۰۰۵ ^{oo}	۳/۶۸ ^{ns}
روى × رقم	۳	۳۳۰/۱ ^{oo}	۲۴/۹۳ ^{ns}	۰/۰۰۰۳ ^{oo}	۵۰/۳۶ ^{oo}
روى × مرحله	۱	۱۶/۷۹ ^{ns}	۶/۷۹ ^{ns}	۰/۰۰۰۹ ^{oo}	۱۱/۹۷ ^{ns}
بافت × رقم	۳	۱۷۸/۸۳ ^{oo}	۲۲/۰۴ ^{ns}	۰/۰۰۰۱ ^o	۲۰/۱۴ ^{ns}
بافت × مرحله	۱	۵۹۷/۲۹ ^{oo}	۸۸/۲۷ ^{oo}	۰/۰۱ ^{oo}	۱۹/۱۲ ^{ns}
رقم × مرحله	۳	۹۷/۱۴ ^{oo}	۹۵/۱۶ ^{oo}	۰/۰۰۰۱ ^{ns}	۳۲/۹۳ ^o
روى × بافت × رقم	۳	۱۳۷/۶۴ ^{oo}	۳۸/۴۱ ^{ns}	۰/۰۰۱ ^{oo}	۴۸/۳۳ ^{oo}
روى × رقم × مرحله	۳	۱۱۳/۱۰ ^{oo}	۱۷/۶۹ ^{ns}	۰/۰۰۰۱ ^{oo}	۲۲/۴۹ ^{ns}
روى × بافت × مرحله	۱	۱۵۵/۱۶ ^{oo}	۷۹/۷۳ ^{ns}	۰/۰۰۰۶ ^{oo}	۰/۱۹ ^{ns}
بافت × رقم × مرحله	۳	۸۹/۸۷ ^{oo}	۶۲/۳۰ ^{ns}	۰/۰۰۰۴ ^{oo}	۱۲/۷۳ ^{ns}
روى × بافت × رقم × مرحله	۳	۳۱/۰۳ ^{ns}	۱۳/۸۴ ^{ns}	۰/۰۰۰۹ ^{oo}	۱۲/۳۳ ^{ns}
خطا	۶۴	۱۱/۵۷	۲۰/۸۲	۰/۰۰۰۶	۱۰/۳۶
ضريب تغييرات (%)		۱۳/۹۵	۱۳/۰۸	۱۴/۴۵	۱۹/۸۷

^{oo} و ^{ns}: به ترتیب معنی دار در سطح احتمال ۵ و ۱ درصد، ^{ns}: غیر معنی دار، عامل اول: عنصر روی شامل دو سطح عدم مصرف روی و کاربرد ۵ میلی گرم روی در کیلوگرم خاک، عامل دوم: بافت‌های نمونه‌برداری شده شامل ریشه و برگ،

عامل سوم: رقم شامل ارقام روی-کارا (بیات و نیک‌نژاد) و روی-ناکارا (هیرمند و کرج) و عامل چهارم: مرحله نمونه‌برداری شامل نمونه‌برداری در دو مرحله ۲۸ روز بعد از جوانه‌زنی (رویشی) و ۳۰ درصد سنبله‌دهی (زایشی)



شکل ۵: مقایسه میانگین اثر بافت × روی × مرحله بر مقدار آنتی‌اکسیدانت کل (a) اثر سطوح روی بر میزان مالون دی

آلدئید (b)، اثر بافت × رقم × روی بر پراکسید هیدروژن (c) اثر بافت × روی × مرحله بر پرولین (d) و اثر سطوح روی بر

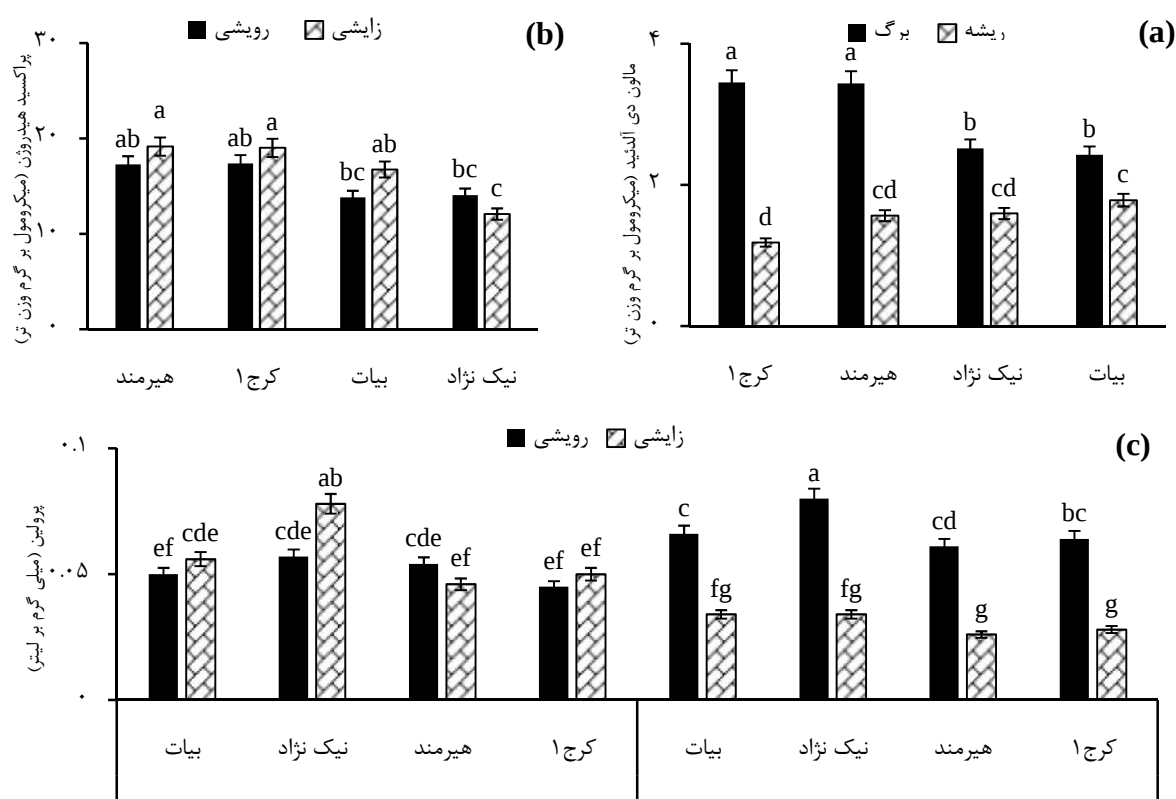
مقدار فنل (e) در گندم نان

(ستون‌هایی که دارای حروف مشترک می‌باشند بر اساس آزمون چند دامنه‌ای دانکن اختلاف معنی‌داری در سطح احتمال یک درصد ندارند).

پرولین به‌عنوان یک اسمولیت سازگار، بدون تخریب مولکول‌های بزرگ در سلول تجمع یافته (Hare et al., 1998) و

دارای نقش حفاظتی نیز می‌باشد. بدین‌صورت که در زمان تنش‌های محیطی شدید از آسیب به غشاء و واسرشتگی

پروتئین‌ها جلوگیری می‌کند (Hare et al., 1999). بنابراین احتمالاً کاهش مقدار روی محیط باعث تجمع پرولین در برگ و ریشه شده و گیاه از این طریق در صدد کاهش میزان خسارت ناشی از این تنش محیطی می‌باشد. نتایج تجزیه واریانس (جدول ۵) و مقایسه میانگین نشان می‌دهد مقدار فنل در شرایط کم‌بود روی به‌طور معنی‌داری ($P \leq 0.01$) کاهش یافت (شکل ۵-e). حجازی مهریزی و همکاران (۱۳۹۰) گزارش کردند که با افزایش مقدار روی در رزماری (*Rosmarinus officinalis* L.)، غلظت ترکیبات فنلی نیز در گیاه بالا می‌رود. اگر چه دلیل مشخصی برای این افزایش تاکنون ذکر نشده اما نقش روی در استفاده از کربن برای ساخت ترکیبات فنلی در چرخه اسید شیکمیک و استات می‌تواند یکی از دلایل این افزایش باشد (Misra et al., 2006). همچنین نتایج نشان می‌دهد که مقدار مالون دی آلدئید در برگ (شکل ۶-a) و پراکسید هیدروژن در هر دو بافت (شکل ۶-b) در ارقام روی - ناکارا نسبت به ارقام روی-کارا و مقدار پرولین در برگ ارقام روی - کارا (شکل ۶-c) به‌طور معنی‌داری ($P \leq 0.01$) بیش‌تر از ارقام روی - ناکارا بود. به‌نظر می‌رسد ارقام روی - کارا با استفاده از حداقل روی موجود در محیط، قادرند از تنش اکسیدانسی ایجاد شده در اثر افزایش گونه‌های فعال اکسیژن که موجب پراکسیداسیون چربی‌های غشایی می‌شوند جلوگیری کنند.



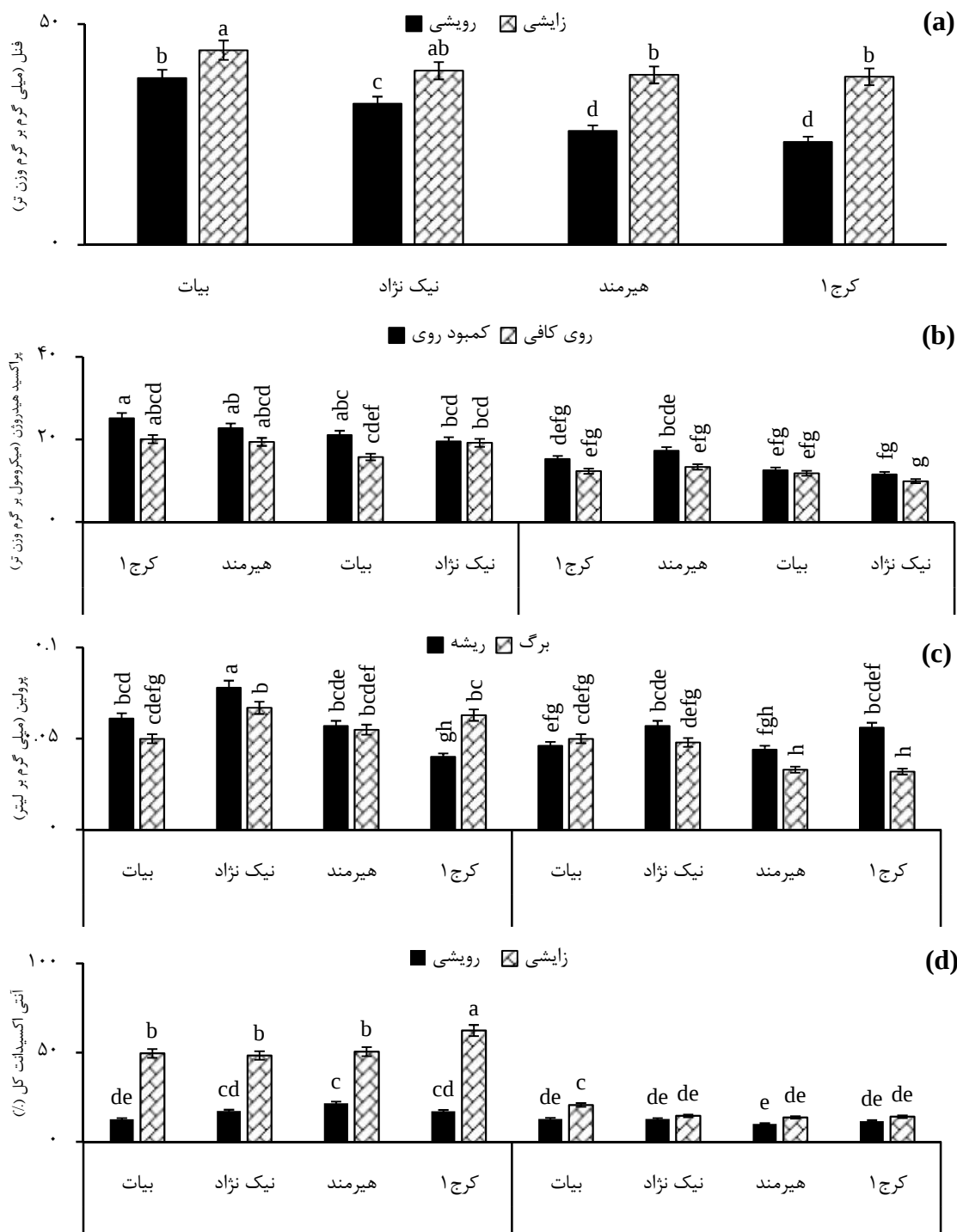
شکل ۶: مقایسه میانگین اثر رقم×بافت بر مقدار مالون دی آلدئید (a)، اثر رقم×مرحله بر مقدار پراکسید هیدروژن (b) و

اثر بافت×رقم×مرحله بر مقدار پرولین (c) در گندم نان

(ستون‌هایی که دارای حروف مشترک می‌باشند بر اساس آزمون چند دامنه‌ای دانکن اختلاف معنی‌داری در سطح احتمال یک درصد ندارند).

در مطالعه‌ای که توسط Pandey و همکاران (۲۰۱۲) روی نخود فرنگی انجام شد، مشاهده شد در ژنوتیپ روی-ناکارا، رادیکال‌های سوپراکسید و پراکسید هیدروژن در اثر فعالیت پائین آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانت سبب پراکسیداسیون شدید لیپیدی در سلول‌ها می‌گردد. همچنین آن‌ها نشان دادند در برگ‌های ژنوتیپ روی-کارا فعالیت آنزیم‌های جاروب‌کننده باعث تجمع کم پراکسید هیدروژن و پراکسیدهای لیپیدی می‌گردد که نشانگر نقش محافظتی روی در برابر تنش اکسیداتیو از طریق استفاده بهینه از روی سیتوپلاسمی برای فرایندهای بیوشیمیایی مانند سنتز و فعال‌سازی آنزیم‌ها می‌باشد. بر اساس گزارش Chen و همکاران (۲۰۰۹)، تحت شرایط کمبود روی، محتوای پراکسید هیدروژن روندی مشابه مالون دی‌آلدئید نشان می‌دهد. به‌این‌صورت که غلظت پراکسید هیدروژن در شرایط کمبود متوسط و شدید روی در رقم روی-کارای برنج بسیار کمتر از رقم روی-ناکارا می‌باشد. نتایج تجزیه واریانس (جدول ۵) و مقایسه میانگین نشان داد که در شرایط کمبود روی، مقدار پراکسید هیدروژن در ریشه و برگ ارقام روی-ناکارا (شکل Y-b) به‌طور معنی‌داری افزایش می‌یابد. مقدار فنل (شکل Y-a) نیز در ریشه و برگ و آنتی‌اکسیدانت کل (شکل Y-c) و پرولین (شکل Y-d) در ریشه ارقام روی-کارا به‌طور معنی‌داری ($P \leq 0.01$) بیش‌تر بود. Gupta و همکاران (۲۰۱۱) مشاهده کردند که آسیب اکسیداتیو تحت شرایط کمبود روی در نخود سیاه، به‌علت کاهش عملکرد آنزیم مس/روی-سوپراکسید دیسموتاز، منجر به انباشت یون‌های سوپراکسید می‌شود. این رادیکال‌های سوپراکسید ممکن است با پراکسید هیدروژن واکنش نشان دهند و رادیکال‌های بسیار سمی ایجاد کنند که سبب افزایش شدید پراکسیداسیون لیپید و آسیب اکسیداتیو در گیاهان در شرایط کمبود روی مخصوصاً در ارقام روی-ناکارا می‌شود. نتایج مشابهی توسط Chen و همکاران (۲۰۰۹) در مورد پراکسید هیدروژن در ارقام برنج با روی کارایی متفاوت گزارش شد. آن‌ها گزارش کردند که غلظت پراکسید هیدروژن در شرایط کمبود متوسط و شدید روی در رقم روی-کارای برنج بسیار کمتر از رقم روی-ناکارا می‌باشد. Pandey و همکاران (۲۰۱۲) گزارش کردند، کاهش فعالیت آسکوربات پراکسیداز در ژنوتیپ روی-ناکارا نخود فرنگی می‌تواند افزایش آسکوربات و پراکسید هیدروژن را در این ژنوتیپ توجیه کند. آن‌ها گزارش کردند که ژنوتیپ روی-ناکارا یک پاسخ منفی به کمبود روی نشان می‌دهد، بدین‌صورت که این ژنوتیپ با کاهش روی قابل‌دسترس باعث کاهش در فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانت شده و در نتیجه موجب افزایش تولید رادیکال‌های فعال اکسیژن گردیده که آن‌هم به‌نوبه خود سبب آسیب اکسیداتیو در سلول گیاهی و اختلال در رشد گیاهان می‌شود. در نخود سیاه مشاهده شد تحت شرایط تنش کمبود روی، غلظت پراکسید هیدروژن در هر دو مرحله نمونه‌برداری افزایش پیدا کرد (Gupta et al., 2011). همچنین علت افزایش ترکیبات فنلی در ارقام روی-کارا می‌تواند به‌دلیل افزایش روی قابل دسترس در این ارقام باشد. چنانچه قبلاً نیز اشاره شد فعالیت آنزیم فنیل آلانین -

آمونیا یاز در ارقام روی-کارا بالاتر از ارقام روی-ناکارا بود (شکل b-۲). هم‌چنین نتایج نشان داد میزان ترکیبات فنلی در ارقام روی-کارا به‌طور چشم‌گیری بیش‌تر از ارقام روی-ناکارا می‌باشد (شکل b-۷).

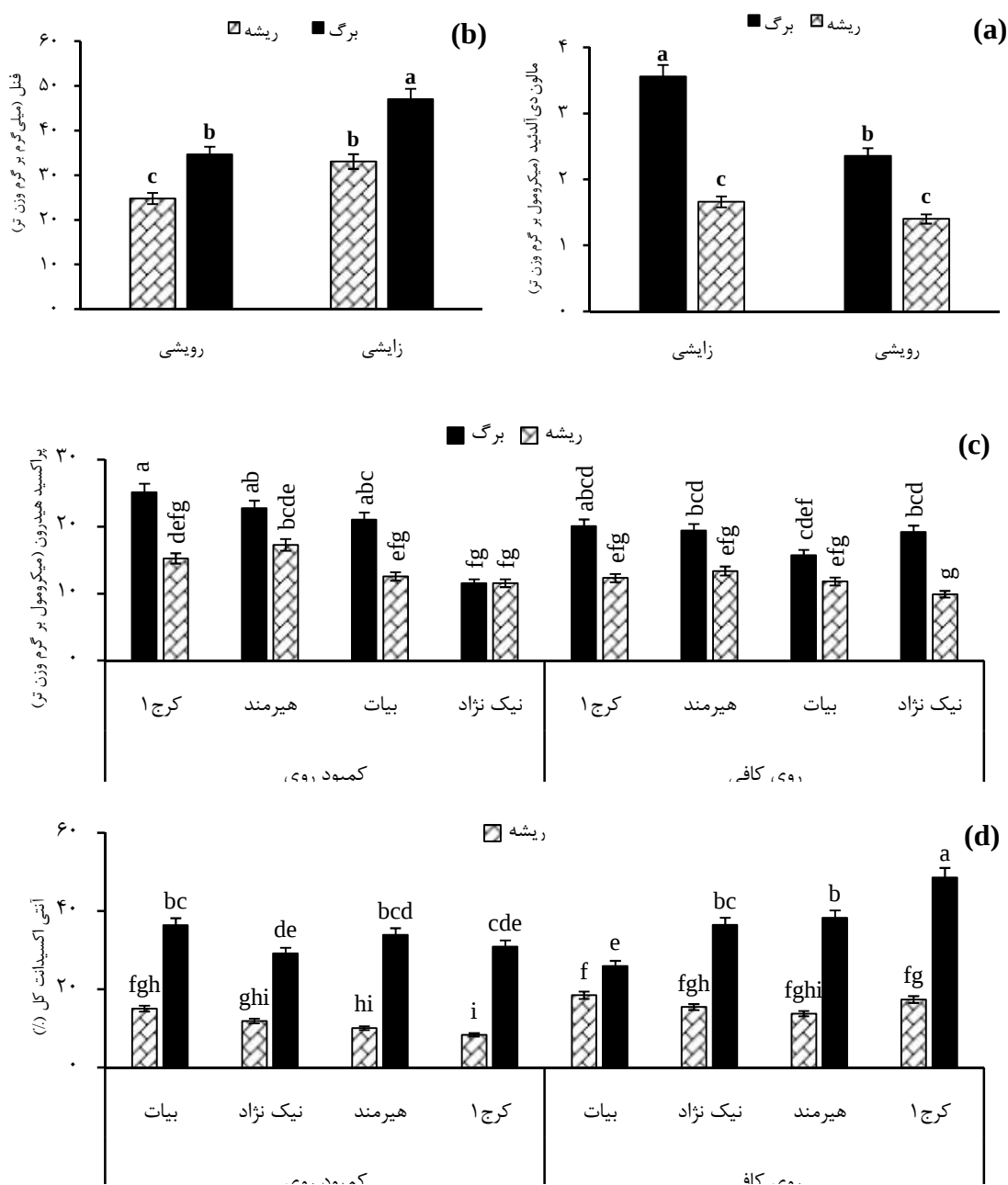


شکل ۷: مقایسه میانگین اثر رقم×مرحله بر میزان فنل (a) و اثر روی×بافت×رقم بر مقدار پراکسید هیدروژن (b) و

پروکلین (c) و اثر بافت×رقم×مرحله بر آنتی‌اکسیدانت کل (d) در گندم نان

(ستون‌هایی که دارای حروف مشترک می‌باشند بر اساس آزمون چند دامنه‌ای دانکن اختلاف معنی‌داری در سطح احتمال یک درصد ندارند).

این ارتباط دور از انتظار نیست چون آنزیم فنیل آلانین آمونیالایز، آنزیم اصلی در اتصال مسیر سنتزی اسیدهای آمینه آروماتیک و متابولیت‌های ثانویه (ترکیبات فنلی) است و نقش کلیدی در تنظیم محصولات حاصل از مسیر فنیل پروپانوئیدی ایفاء می‌کند (Bagal et al., 2012). در مطالعه حاضر مقدار مالون دی آلدئید (شکل a-8)، فنل (شکل b-8)، پراکسید هیدروژن (شکل c-8) و آنتی‌اکسیدانت کل (شکل d-8) در برگ بیش‌تر از ریشه بود.

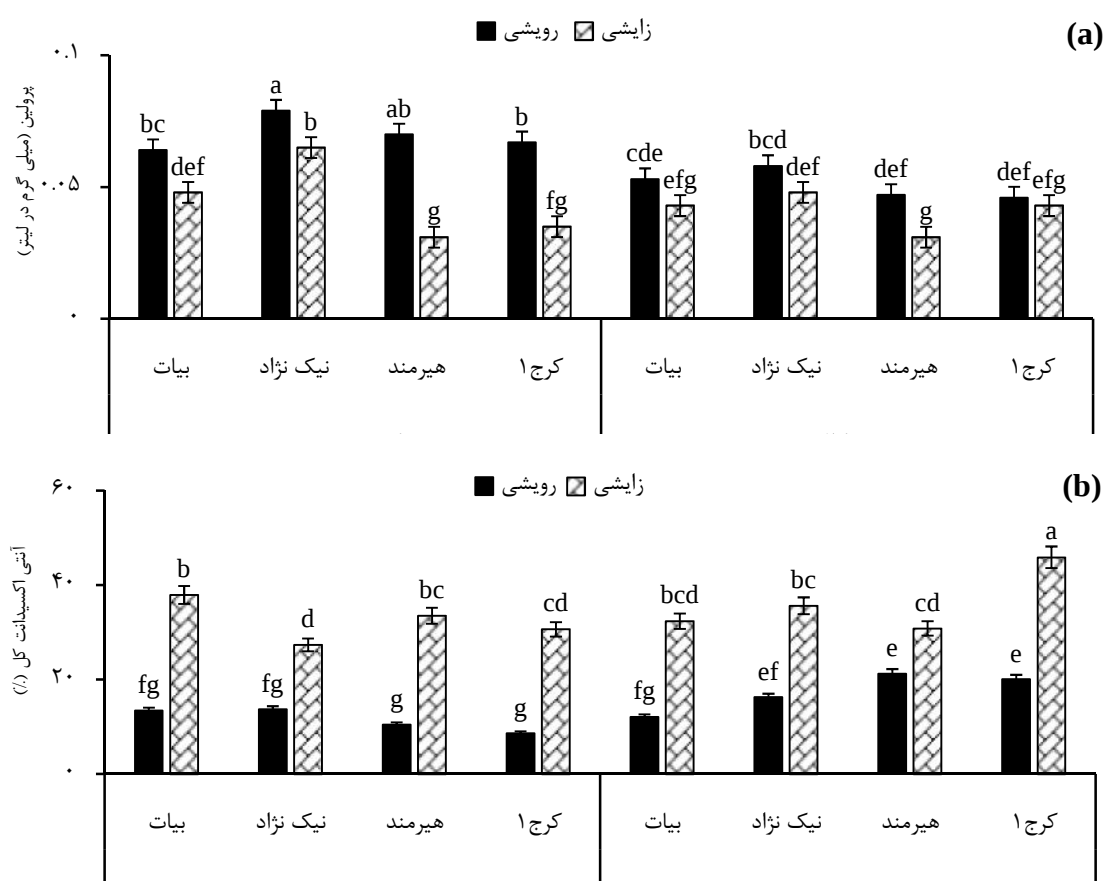


شکل ۸: مقایسه میانگین اثر بافت × مرحله بر مقدار مالون دی آلدئید (a) و فنل (b) و اثر روی × رقم × بافت بر میزان

پراکسید هیدروژن (c) و آنتی‌اکسیدانت کل (d) در ارقام گندم نان

(ستون‌هایی که دارای حروف مشترک می‌باشند بر اساس آزمون چند دامنه‌ای دانکن اختلاف معنی‌داری در سطح احتمال یک درصد ندارند).

البته مقدار مالون دی آلدئید در برگ ارقام روی-ناکارا نسبت به ارقام روی-کارا بیش تر بود (شکل ۸-a) درحالی که برخلاف برگ، ریشه ارقام روی-کارا دارای مقدار مالون دی آلدئید بیش تری بود (شکل ۶-a). علت بیش تر بودن مالون دی آلدئید در برگ ارقام روی-ناکارا احتمالاً با کاهش فعالیت آنزیمهای جاروبگر در این ارقام مرتبط باشد. همان طور که در شکل های (۲-a)، (۲-c) و (۲-d) نیز مشاهده می شود فعالیت آنزیمهای سوپراکسید دیسموتاز، کاتالاز و آسکوربات - پراکسیداز به طور معنی داری در ارقام روی-ناکارا کم تر می باشد. کمبود فعالیت این آنزیمها باعث پراکسیداسیون چربی های غشاء سلولی برگ ارقام روی-ناکارا شده و در نتیجه مقدار مالون دی آلدئید (شاخصی برای پراکسیداسیون چربی های غشایی) در شرایط کمبود روی، در برگ این ارقام بالا می رود (Chen *et al.*, 2009). نتایج به دست آمده نشان داد در شرایط کمبود روی مقدار پرولین در مرحله زایشی و مقدار آنتی اکسیدانت کل در مرحله رویشی در ارقام روی-کارا بیش تر از ارقام روی-ناکارا می باشد درحالی که در شرایط روی کافی در هر دو مرحله رویشی و زایشی مقدار پرولین در ارقام روی-کارا بیش تر از ارقام روی-ناکارا بود.



شکل ۹: مقایسه میانگین اثر روی × رقم × مرحله بر مقدار پرولین (a) و آنتی اکسیدانت کل (b) در گندم نان

(ستون هایی که دارای حروف لاتین مشترک می باشند بر اساس آزمون چند دامنه ای دانکن اختلاف معنی داری در سطح احتمال یک درصد ندارند).

نتیجه‌گیری

به‌طور کلی نتایج این پژوهش نشان داد که در شرایط کمبود روی، فعالیت آنزیم‌های آسکوربات پراکسیداز، فنیل آلانین - آمونیالیز و پراکسیداز افزایش، ولی فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز کاهش می‌یابد. همچنین میزان مالون دی آلدئید، پرولین و پراکسید هیدروژن در شرایط کمبود روی افزایش، ولی میزان فنل کاهش یافت. علاوه بر این، فعالیت آنزیم‌های سوپراکسید دیسموتاز، آسکوربات پراکسیداز و فنیل آلانین آمونیالیز در ارقام روی-کارا نسبت به ارقام روی-ناکارا بیش‌تر و مقدار مالون دی آلدئید و پراکسید هیدروژن در ارقام روی-ناکارا و پرولین در برگ ارقام روی-کارا بیش‌تر بود. همچنین در شرایط کمبود روی، فعالیت آنزیم کاتالاز در رقم روی-کارای بیات بیش‌تر از سایر ارقام بود، درحالی‌که در همین شرایط مقدار پراکسید هیدروژن در ارقام روی-ناکارا و مقدار فنل و آنتی‌اکسیدانت کل در ارقام روی-کارا بیش‌تر بود. همچنین میزان فعالیت کلیه آنزیم‌های مطالعه شده، شامل سوپراکسید دیسموتاز، کاتالاز، آسکوربات پراکسیداز و فنیل آلانین - آمونیالیز، (غیر از پراکسیداز) و مقدار مالون دی آلدئید، پراکسید هیدروژن، فنل و آنتی‌اکسیدانت کل در برگ بیش‌تر از ریشه بود. به‌طور کلی می‌توان بیان کرد که فعالیت بسیاری از آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانت مورد مطالعه در شرایط کمبود روی در ارقام گندم افزایش می‌یابد و ارقام روی-کارا از فعالیت آنزیمی و مقدار پرولین بیش‌تر و مقدار مالون دی آلدئید و پراکسید هیدروژن کم‌تری برخوردار هستند، که می‌توان از آن‌ها به‌عنوان شاخصی برای تشخیص ارقام روی-کارای گندم نان بهره برد.

منابع

- امیرجانی، م.ر.، عسگری، م. و عسگری، ف. ۱۳۹۳. بررسی تاثیر نانو اکسید روی بر میزان آلکالوئیدها، آنتی-اکسیدان‌های آنزیمی و غیر آنزیمی و برخی شاخص‌های فیزیولوژی گیاه پرپوش (*Catharantus roseus*). مجله سلول و بافت. ۵(۲): ۱۸۳-۱۷۳.
- باغبان طبیعت، س. و رسولی صدقیانی، م.ح. ۱۳۹۱. بررسی کارایی جذب و مصرف روی در ارقام مختلف گندم در شرایط گلخانه‌ای. مجله علوم و فنون کشت‌های گلخانه‌ای. ۳(۱۰): ۳۱-۱۷.
- حجازی مهریزی، م.، شریعتمداری، ح.، خوش‌گفتارمنش، ا.ح. و معطر، ف. ۱۳۹۰. تأثیر شوری و تغذیه روی بر رشد و خواص آنتی‌اکسیدانی رزماری (*Rosmarinus officinalis L.*) در یک خاک آهکی. مجله تحقیقات گیاهان دارویی و معطر ایران. ۲۷(۱): ۳۵-۲۵.
- حلیم، ق.، امام، ی و شاکری، ا. ۱۳۹۶. ارزیابی عملکرد، اجزای عملکرد و شاخص‌های تحمل به تنش در ارقام گندم نان در شرایط قطع آبیاری پس از گلدهی. مجله تولید و فراوری محصولات زراعی و باغی. ۷(۴): ۱۳۴-۱۲۱.

- Aebi, H. 1984.** Catalase in vitro. *Methods in enzymology*, (105): 21-126. Academic Press.
- Bagal, U.R., Leebens-Mack, J.H., Lorenz, W.W. and Dean, J.F. 2012.** The phenylalanine ammonia lyase (PAL) gene family shows a gymnosperm-specific lineage. *BMC genomics*, 13(3): 1471-2164.
- Bahari, N.B., Bahari Bighdilu, B. and Karpisheh, L. 2013.** Evaluation of drought tolerance of bread wheat genotypes by stress and sensitivity tolerance indices. *Annals of Biological Research*, 4(1): 43-47.
- Bates, L.S., Waldren, R.P. and Teare, I.D. 1973.** Rapid determination of free proline for water-stress studies. *Plant and Soil*, 39(1): 205-207.
- Beauchamp, C. and Fridovich, I. 1971.** Superoxide dismutase: improved assays and an assay applicable to acrylamide gels. *Analytical Biochemistry*, 44(1): 276-287.
- Bestwick, C.S., Brown, I.R. and Mansfield, J.W. 1998.** Localized changes in peroxidase activity accompany hydrogen peroxide generation during the development of a nonhost hypersensitive reaction in lettuce. *Plant Physiology*, 118(3): 1067-1078.
- Brooks, D.M., Bender, C.L. and Kunkel, B.N. 2005.** The *Pseudomonas syringae* phytotoxin coronatine promotes virulence by overcoming salicylic acid-dependent defenses in *Arabidopsis thaliana*. *Molecular Plant Pathology*, 6(6): 629-639.
- Cakmak, I. 2000.** Possible roles of zinc in protecting plant cells from damage by reactive oxygen species. *The New Phytologist*, 146(2): 185-205.
- Cakmak, I. 2008.** Enrichment of cereal grains with Zinc: agronomic or genetic biofortification? *Plant and Soil*, 302(1-2): 1-17.
- Cakmak, I., Graham, R.D. and Welch, R.M. 2002.** Agricultural and molecular genetic approaches to improving nutrition and preventing micronutrient malnutrition globally. In: Cakmak I, Welch RM (eds) *Encyclopedia of Life Support Systems*. Eolss Publishers, Oxford, 1075-1099.
- Chen, W.R., He, Z.L., Yang, X.E., and Feng, Y. 2009.** Zinc efficiency is correlated with root morphology, ultrastructure, and antioxidative enzymes in rice. *Journal of Plant Nutrition*, 32(2): 287-305.
- Cole, C.R., Grant, F.K., Swaby-Ellis, E.D., Smith, J.L., Jacques, A., Northrop-Clewes, C.A., Caldwell, K.L., Pfeiffer, C.M., and Ziegler, T.R. 2010.** Zinc and iron deficiency and their interrelations in low-income African American and Hispanic children in Atlanta. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 91(4): 1027-1034.
- D'Cunha, G.B., Satyanarayan, V., and Nair, P.M. 1996.** Purification of phenylalanine ammonia lyase from *Rhodotorula glutinis*. *Phytochemistry*, 42(1): 17-20.

- Espin, J.C., Soler-Rivas, C., and Wichers, H.J. 2000.** Characterization of the total free radical scavenger capacity of vegetable oils and oil fractions using 2, 2-diphenyl-1-picrylhydrazyl radical. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 48(3): 648-656.
- Gill, S.S., and Tuteja, N. 2010.** Reactive oxygen species and antioxidant machinery in abiotic stress tolerance in crop plants. *Plant Physiology and Biochemistry*, 48(12): 909-930.
- Gupta, B., Pathak, G.C. and Pandey, N. 2011.** Induction of oxidative stress and antioxidant responses in *Vigna mungo* by zinc stress. *Russian Journal of Plant Physiology*, 58(1): 85-91.
- Hacisalihoglu, G., Hart, J.J., Wang, Y.H., Cakmak, I., and Kochian, L.V. 2003.** Zinc efficiency is correlated with enhanced expression and activity of zinc-requiring enzymes in wheat. *Plant Physiology*, 131(2): 595-602.
- Hare, P. D., Cress, W. A., and Van Staden, J. 1998.** Dissecting the roles of osmolyte accumulation during stress. *Plant, Cell and Environment*, 21(6): 535-553.
- Hare, P. D., Cress, W. A., and Van Staden, J. 1999.** Proline synthesis and degradation: a model system for elucidating stress-related signal transduction. *Journal of Experimental Botany*, 50(333): 413-434.
- Haydon, M.J. and Cobbett, C.S. 2007.** Transporters of ligands for essential metal ions in plants. *New Phytologist*, 174(3): 499-506.
- Khoshgoftarmanesh, A.H., Sadrarhami, A., Sharifi, H.R., Afiuni, D. and Schulin, R. 2009.** Selecting Zinc-efficient wheat genotypes with high grain yield using a stress tolerance index. *Agronomy Journal*, 101(6): 1409.
- Li, S., Zhou, X., Huang, Y., Zhu, L., Zhang, S., Zhao, Y., Guo, J., Chen, J. and Chen, R. 2013.** Identification and characterization of the Zinc-regulated transporters, iron-regulated transporter-like protein (ZIP) gene family in maize. *BMC Plant Biology*, 13(1): 1.
- MacAdam, J.W., Nelson, C.J. and Sharp, R.E. 1992.** Peroxidase activity in the leaf elongation zone of tall fescue: I. spatial distribution of ionically bound peroxidase activity in genotypes differing in length of the elongation zone. *Plant Physiology*, 99(3): 872-878.
- Misra, A., Dwivedi, S., Srivastava, A.K., Tewari, D.K., Khan, A. and Kumar, R. 2006.** Low iron stress nutrition for evaluation of Fe-efficient genotype physiology, photosynthesis, and essential monoterpene oil(s) yield of *Ocimum sanctum*. *Photosynthetica*, 44(3): 474-477.
- Mittler, R., Vanderauwera, S., Gollery, M. and Van Breusegem, F. 2004.** Reactive oxygen gene network of plants. *Trends in Plant Science*, 9(10): 490-498.
- Nakano, Y. and Asada, K. 1981.** Hydrogen peroxide is scavenged by ascorbate specific peroxidase in spinach chloroplasts. *Journal of Plant Cell Physiology*, 22: 867-880.
- Nikitaki, Z., Hellweg, C.E., Georgakilas, A.G. and Ravanat, J.L. 2015.** Stress-induced DNA damage biomarkers: applications and limitations. *Frontiers in Chemistry*, 3: 1-15.

Pandey, N., Gupta, B. and Pathak, G.C. 2012. Antioxidant responses of pea genotypes to zinc deficiency. *Russian Journal of Plant Physiology*, 59(2): 198-205.

Pearson, J.N., and Rengel, Z. 1997. Mechanisms of plant resistance to nutrient deficiency stress. *Mechanisms of Environmental Stress Resistance in Plants*. Basra, A. S. and Basra, R.K. (eds.). Amsterdam: Harwood Academic Publishers, Vol. None shown, p. 213-240.

Popham, P.L. and Novacky, A. 1991. Use of dimethyl sulfoxide to detect hydroxyl radical during bacteria-induced hypersensitive reaction. *Plant Physiology*, 96: 1157-1160.

Sharma, P., Jha, A.B., Dubey, R.S. and Pessarakli, M. 2012. Reactive oxygen species, oxidative damage, and antioxidative defense mechanism in plants under stressful conditions. *Journal of Botany*.

Sharma, P.N., Kumar, P. and Tewari, R.K. 2004. Early signs of oxidative stress in wheat plants subjected to zinc deficiency. *Journal of Plant Nutrition*, 27(3): 451-463.

Singh, B., Natesan, S.K.A., Singh, B.K. and Usha, K. 2005. Improving zinc efficiency of cereals under Zinc deficiency. *Current Science*, 36-44.

Tawaha, K., Alali, F.Q., Gharaibeh, M., Mohammad, M., and El-Elimat, T. 2007. Antioxidant activity and total phenolic content of selected Jordanian plant species. *Food Chemistry*, 104(4): 1372-1378.

Velikova, V., Yordanov, 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(1): 59-66.

Wissuwa, M., Ismail, A.M., and Yanagihara, S. 2006. Effects of zinc deficiency on rice growth and genetic factors contributing to tolerance. *Plant Physiology*, 142(2): 731-741.

Yan, B., Dai, Q., Liu, X., Huang, S. and Wang, Z. 1996. Flooding-induced membrane damage, lipid oxidation and activated oxygen generation in corn leaves. *Plant and Soil*, 179(2): 261-268.

Yu, Q., Worth, C. and Rengel, Z. 1999. Using capillary electrophoresis to measure Cu/Zn-SOD concentration in leaves of wheat genotypes differing in tolerance to Zn deficiency. *Plant Science*, 143: 231-239.

Effect of soil zinc deficiency on antioxidant enzymes activity and some biochemical parameters in bread wheat

S.M. Niazkhani¹, B. Abdollahi Mandoulakani^{2*}, M. Jafari³ and M. H. Rasouli-Sadaghiani⁴

1) Ph.D of Plants Breeding, Department of Plants Breeding and Biotechnology, Urmia University, Urmia, Iran.

2 &3) Associate Professor of Department of Plants Breeding and Biotechnology, Urmia University, Urmia, Iran.

4) Professor of Department of Soil Sciences, Urmia University, Urmia, Iran.

*Corresponding author: b.abdollahi@urmia.ac.ir

This article is extracted from Ph.D thesis.

Received date: 2018.10.24

Accepted date: 2019.01.26

Abstract

In order to investigate the response of Zinc-efficient and Zinc-inefficient of bread wheat cultivars to soil Zinc (Zn) deficiency, the present factorial experiment was conducted in a greenhouse in a completely randomized design with three replications. The factors of the experiment were including Zinc levels at two conditions Zinc-adequate (five milligram Zinc per kilogram soil) and no Zinc application, Zinc-efficient cultivars (Bayat and Niknejad) and Zinc-inefficient (Hirmand and Karaj1), sampled tissues (root and leaf) and growth stage (28 days after germination and 30 percent of heading as vegetative and reproductive stages, respectively). In the present research the activity of superoxide dismutase, catalase, ascorbate peroxidase, peroxidase and phenylalanine ammonia-lyase enzymes and also the content of malondialdehyde, hydrogen peroxide, proline, phenol compounds and total antioxidants were measured. The results of variance analysis and mean comparisons for main and interaction effects revealed that under Zinc deficiency conditions, the activity rate of ascorbate peroxidase enzymes, peroxidase and phenylalanine ammonia-lyase increased while the activity of superoxide dismutase enzymes significantly ($P \leq 0.01$) declined. The content of malondialdehyde, hydrogen peroxide, phenol and proline significantly ($P \leq 0.01$) increased under Zinc deficiency conditions. Also, the enzymes activity superoxide dismutase, catalase, ascorbate peroxidase, peroxidase, phenylalanine ammonia-lyase and proline content in Zinc-efficient cultivars were higher and whereas the amount of malondialdehyde and hydrogen peroxide were minimum in these cultivars. The rate of Catalase enzyme activity in Bayat Zinc-efficient cultivar under Zinc deficiency conditions was significantly more than that of other cultivars. In conclusion, the results of the current study demonstrated the enhanced activity of the antioxidant enzymes in bread wheat under zinc deficiency conditions.

Keywords: Bread wheat, Catalase, Proline and Zinc deficiency.