علوم گیاهان زراعی ایران
دورهٔ ۴۶، شمارهٔ ۲، تابستان ۱۳۹۴ (ص ۲۳۵-۲۲۷)

ارزیابی تأثیر پوتریسین در القای تحمل به خشکی و تغییر فعالیت آنزیم‌های ضداکسنده در گیاه بابونهٔ آلمانی (*Matricaria Chamomilla* L.)

حسین نظرلی[1]، علی احمدی[2*] و جواد هادیان[3]
۱ و ۲. دانشجوی دکتری، استاد گروه زراعت و اصلاح نباتات، پردیس کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه تهران، کرج
۳. استادیار پژوهشکدهٔ گیاهان و مواد اولیهٔ دارویی دانشگاه شهید بهشتی
(تاریخ دریافت: ۱۳۹۳/۱۲/۳ - تاریخ تصویب: ۱۳۹۴/۳/۱۶)

چکیده

هدف آزمایش بررسی و ارزیابی تأثیر محلول‌پاشی پوتریسین (پلی‌آمین) بر روی میزان فعالیت آنزیم‌های ضداکسنده (آنتی‌اکسیدان) در گیاه بابونهٔ آلمانی تحت تنش‌خشکی بود. تیمارهای آزمایشی شامل دو سطح شرایط (رژیم) رطوبتی (۸۷ و ۴۳ درصد ظرفیت مزرعه‌ای)، محلول‌پاشی پوتریسین (غلظت‌های ۰ و ۰/۱ میلی‌مولار) و ارقام بابونهٔ آلمانی (بادگلد و اصلاح‌شدهٔ مجاری) بود. این آزمایش به‌صورت فاکتوریل در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی در سه تکرار انجام شد. تنش‌خشکی به کاهش محتوای پروتیین محلول برگ و افزایش فعالیت آنزیم‌های ضداکسنده شامل آسکوربات پراکسیداز (APX)، کاتالاز (CAT)، گایاکول پراکسیداز (GPX) و گلوتاتیون رداکتاز (GR) منجر شد. کاربرد پوتریسین نیز به تحریک فعالیت آنزیم‌های بالا انجامید (به‌ترتیب به افزایش ۲۶/۶، ۱۷، ۲۶/۵۶ و ۸/۸۸ درصد در آنزیم‌های APX، CAT، GPX و GR منجر شد). درحالی‌که تأثیر معنی‌داری بر محتوای پروتیین محلول برگ نداشت. اثرگذاری‌های متقابل بین شرایط رطوبتی و محلول‌پاشی پوتریسین بر فعالیت آنزیم GR (در سطح احتمال ۵ درصد) معنی‌دار بود. همچنین اثرگذاری‌های متقابل بین شرایط رطوبتی و رقم تنها در آنزیم GPX معنی‌دار بود. در مقایسهٔ بین دو رقم، فعالیت آنزیم‌های GR و GPX در رقم بادگلد بالاتر بود ولی فعالیت آنزیم‌های APX ، CAT و محتوی پروتیین محلول برگ در رقم اصلاح‌شدهٔ مجاری بالاتر بود.

واژه‌های کلیدی: **آنزیم‌های ضداکسنده، بابونهٔ آلمانی، پوتریسین، تنش خشکی، محتوی پروتیین محلول.**

مقدمه

گیاه بابونه عضوی از خانوادهٔ کلاپرک‌سانان یا مرکبان[1] است و با دو رقم معمول بابونهٔ آلمانی (*Chamomilla recutita*) و بابونهٔ رومی (*Chamaemelum nobile*) شناخته می‌شود. گل‌های بابونه حاوی ترپن‌ها، فلاونوئیدها، کولین، کومارین، مالیک اسید، قند، پروتیین، لیپیدها و مواد معدنی‌اند. نزدیک به ۱۲۰ ترکیب شیمیایی در اسانس گیاه بابونهٔ آلمانی شناخته شده که شامل ۲۸ ترپن (مهم‌ترین آنها آلفابیسابیلول، کامازولن، بیسابیلول اکسید و...)، ۳۶ فلاونوئید (آپیژنین و...) و ۵۲ اسید آلی (کومارین، کولین و ...) است (Lawrence & Tobacco, 1996). در بین آنها کامازولن و آلفا-بیسابیلول شناخته‌شده‌ترند.

همهٔ تنش‌های زنده و غیرزنده در درجه‌های مختلفی

* تلفن: ۰۹۱۲۲۳۸۱۱۴۲
E-mail: ahmadia@ut.ac.ir
1. *Compositae*

باعث تنش اکسایشی (اکسیداتیو) در گیاه می‌شوند و توانایی گیاه برای کنترل سطوح اکسیدکنندگی (اکسیداسیون) همبستگی بالایی با تحمل به تنش دارد. سامانه‌های دفاع ضداکسندگی در یک کارکرد هماهنگ آبشار اکسیدکنندگی را کنترل کرده و یاخته‌های گیاه را از آسیب تنش اکسایشی با جاروبROS ها محافظت می‌کند (Gill & Tuteja, 2010).

پلی‌آمین‌ها (پوتریسین، اسپرمین و اسپرمیدین) خاصیت ضداکسندگی دارند و جاروب کردن مستقیم ROSها را انجام می‌دهند. القای تولید پلی‌آمین‌ها در واکنش به تنش به خوبی شناخته شده است. یکی از ویژگی‌های مهم پلی‌آمین‌های ترکیبی خاصیت ضداکسندگی آنها است (Mapelli *et al*., 2008). تغییر در سوخت‌وساز پلی‌آمین گیاهان در واکنش به تنش‌های مختلف غیرزنده رخ می‌دهد (Groppa & Benavides, 2008). اهمیت این فرآیند به این‌صورت اثبات می‌شود که در هنگام تنش سطح پوتریسین گیاهان به میزان ۱/۲ درصد وزن خشک می‌رسد که نزدیک به ۲۰ درصد نیتروژن کل گیاه را تشکیل می‌دهد (Galston, 1991). اگرچه علت افزایش معنی‌دار سطوح پلی‌آمین‌ها طی تنش‌های غیرزنده هنوز به‌طور کامل مشخص نیست (Alcazar *et al*., 2006; Kusano *et al*., 2007; Gill and Tuteja, 2010).

در این زمینه، شواهدی مبنی بر تعامل بین پلی‌آمین‌ها با تولید ROS و علامت‌دهی NO در پاسخ به تنش با واسطه‌گری ABA وجود دارد (Yamasaki & Cohen, 2006). تولید ROS با فرآیندهای زیست‌سوزی (کاتابولیسم) پلی‌آمین ارتباط نزدیکی دارد، چون که آمینواکسیداز تولید H_2O_2 می‌کند که این ROS در ارتباط نزدیک با پاسخ‌های دفاعی گیاه طی تنش غیرزنده است(Cona *et al*., 2006) . تحت تنش‌خشکی ممکن است میزان پلی‌آمین‌ها از دامنهٔ ۱۰-۱۰۰ میکرومولار به غلظت نزدیک میلی‌مولار و حتی میلی‌مولار افزایش پیدا کند.

القا توسط پلی‌آمین‌ها ابزار سودمندی برای به‌دست آوردن بینش جدید در سازوکارهای مولکولی در شرایط تنش خشکی فراهم می‌کند. درک کنترل فعالیت این آنزیم‌ها در یاخته‌های گیاهی همچنین فعالیت‌های زیستی (بیولوژیکی) و بیوشیمیایی آنها می‌تواند چگونگی فعالیت‌های آنزیمی و غیرآنزیمی در تنش‌های محیطی را توضیح دهد. این اطلاعات می‌تواند برای بهینه‌سازی تولید سوخت‌وسازگر (متابولیت)های ثانویه در گیاه بابونهٔ آلمانی سودمند باشد. بنابراین در این تحقیق، به سازوکار احتمالی پوتریسین یعنی تنظیم میزان فعالیت آنزیم‌های ضداکسنده و محتوای پروتیین محلول برگ در گیاه بابونهٔ آلمانی تحت شرایط تنش خشکی پرداخته شد.

مواد و روش‌ها

آزمایش در بهار ۱۳۹۲ به‌صورت فاکتوریل در قالب طرح بلوک کامل تصادفی در سه تکرار در گلخانهٔ تحقیقاتی دانشگاه تهران-پردیس کشاورزی کرج به شرح زیر اجرا شد؛ تیمارهای آزمایشی شامل دو سطح تنش خشکی و دو رقم بابونه شامل رقم بادگلد آلمانی، اصلاح‌شدهٔ مجاری و محلول‌پاشی با پلی‌آمین پوتریسین بودند. بذرهای بابونه درآغاز در ظرف‌هایی با مخلوطی از خاک لومی و ماسه (با نسبت ۳:۱) جوانه زدند. گیاهچه‌ها به شمار شش عدد پس از سی روز به گلدان‌های اصلی که حاوی خاک رسی لومی و پرلیت (با نسبت ۱:۳) منتقل شدند و پس از استقرار کامل به چهار عدد در هر گلدان کاهش داده شد.

تیمارهای رطوبتی به‌صورت ترکیبی از نشانه‌های ظاهری گیاه (درجه‌های مختلف پژمردگی) و درصد رطوبت خاک (θ) (یا درصدهای مختلف از ظرفیت زراعی خاک[1]) اعمال شد. بدین‌ترتیب، آبیاری تیمار شاهد پیش از ظهور هرگونه نشانهٔ پژمردگی و با رسیدن رطوبت خاک گلدان به ۲۰/۱ درصد انجام شد (معادل ۸۷ درصد ظرفیت زراعی). درحالی‌که آبیاری تیمار تنش شدید با ظهور نشانه‌های شدید پژمردگی و در مرحله‌ای که رطوبت خاک (θ) برابر با ۱۰ درصد بود (معادل ۴۳ درصد ظرفیت زراعی)، انجام گرفت. تیمارهای رطوبتی در مرحلهٔ وردسانی یا روزت (پیش از مرحلهٔ ساقه‌روی)، مرحله‌ای که بوته‌ها به‌طورکامل در خاک مستقر شدند، اعمال شد و تا پایان دورهٔ رشد ادامه یافت.

1. Field Capacity

محلول‌پاشی با پوتریسین با غلظت‌های ۰ و ۰/۱ میلی‌مولار انجام شد. گیاهان تیمارنشده با آب مقطر محلول‌پاشی شدند. نخستین محلول‌پاشی چهل‌وپنج روز پس از کاشت و محلول‌پاشی‌های بعدی پانزده روز یک‌بار تکرار شدند.

تعیین محتوای پروتیین محلول عصاره‌ها و محلول‌ها با روش Bradford (1976) و با استفاده از آلبومین سرم گاوی به‌عنوان استاندارد انجام پذیرفت.

اندازه‌گیری فعالیت آنزیم کاتالاز با دستگاه طیف‌سنج‌نوری (اسپکتروفتومتر) و با روش Aebi (1984) انجام شد. مخلوط واکنش برای تعیین میزان فعالیت آنزیم یادشده شامل ۳ میلی‌لیتر بافرفسفات پتاسیم (pH=7) ۵۰ میلی‌مولار، ۵ میکرولیتر H_2O_2 ۳/۴۱ مولار و ۱۰۰ میکرولیتر عصارهٔ آنزیم بود. پس از افزودن عصارهٔ آنزیمی به مخلوط واکنش، کاهش جذب در طول‌موج ۲۴۰ نانومتر به مدت دو دقیقه قرائت شد. در طول‌موج ۲۴۰ نانومتر، H_2O_2 دارای بیشینهٔ جذب است که با آغاز واکنش به‌تدریج توسط آنزیم کاتالاز تجزیه و درپی آن در این طول‌موج میزان جذب کاهش می‌یابد. فعالیت ویژهٔ آنزیم کاتالاز برحسب میکرومول پراکسیدهیدروژن در دقیقه در میلی‌گرم پروتیین ارزیابی می‌شود.

فعالیت آنزیم گلوتاتیون رداکتاز به روش Smith *et al.* (1989) و براساس احیای گلوتاتیون اکسیدشده توسط آنزیم گلوتاتیون رداکتاز با مصرف NADPH (نیکوتین آدنین‌دی نوکلئوتیدفسفات) بود. مخلوط واکنش شامل بافرفسفات پتاسیم ۲۰۰ میلی‌مولار، NADPH ۱۵ میلی‌مولار ، گلوتاتیون اکسیدشدهٔ ۵ میلی‌مولار و ۱۵۰ میکرولیتر عصارهٔ آنزیمی بود. پس از افزودن عصارهٔ آنزیمی، کاهش جذب در طول‌موج ۳۴۰ نانومتر به مدت دو دقیقه قرائت شد. فعالیت آنزیم برمبنای میکرومول NADPH مصرف‌شده در دقیقه در هر میلی‌گرم پروتیین و با استفاده از ضریب خاموشی (ε= ۶/۲۲mM^{-1} cm^{-1}) بیان شد. برابر روش Nakano & Asada (1987) فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز با طیف‌سنج‌نوری مورد سنجش قرار گرفت. طول‌موج ۲۹۰ نانومتر جایی‌است که آسکوربات بیشینهٔ جذب را دارد ولی با تجزیهٔ آسکوربات توسط آنزیم یاد شده، میزان آن کاهش یافته و به‌تبع آن میزان جذب نیز کاهش می‌یابد. ضریب خاموشی این آنزیم برابر ۲/۸ $mM^{-1}cm^{-1}$ است. شمار میکرومول H_2O_2 تجزیه‌شده در دقیقه در میلی‌گرم پروتیین برای گزارش فعالیت ویژهٔ آنزیم آسکوربات پراکسیداز است.

برحسب روش Maehly & Chance (1955) فعالیت آنزیم گایاکول پراکسیداز (GPX) در دمای اتاق سنجش شد. مواد مورد نیاز برای سنجش این آنزیم شامل: ۳ میلی‌لیتر بافر فسفات پتاسیم با pH برابر با ۷/۸ و غلظت ۵۰ میلی‌مولار، پراکسیدهیدروژن ۳/۴۱ مولار به میزان ۱۰ میکرولیتر، محلول گایاکول ۲۰۰ میلی‌مولار به میزان ۳ میکرولیتر، ۱۰۰ میکرولیتر عصارهٔ آنزیمی بودند و طول‌موج ۴۷۰ نانومتر برای دستگاه طیف‌سنج‌نوریی تعریف شد. فعالیت ویژهٔ این آنزیم توسط H_2O_2 تجزیه‌شده در دقیقه در میلی‌گرم پروتیین محاسبه شد.

نتایج

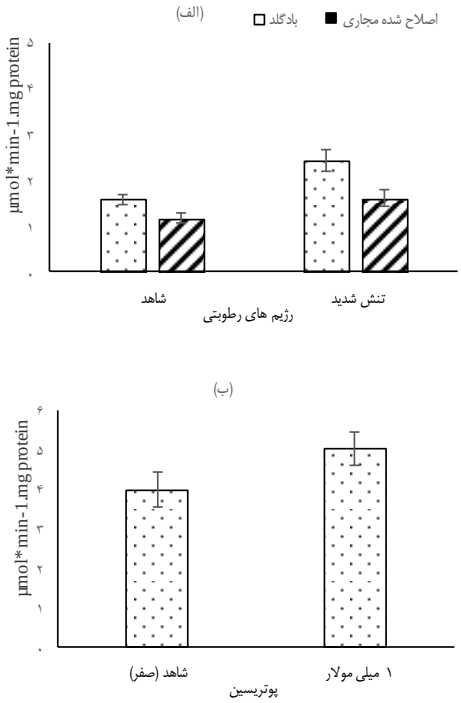
نتایج تجزیهٔ واریانس نشان داد که تأثیر تیمارهای رطوبتی و رقم در همهٔ آنزیم‌های مورد بررسی و پروتیین محلول برگ با احتمال خطای آماری ۱ درصد معنی‌دار شد. اثر محلول‌پاشی با پوتریسین در آنزیم‌های گلوتاتیون رداکتاز (GR)، گایاکول پراکسیداز (GPX)، و کاتالاز (CAT) در سطح احتمال ۱ درصد و در آنزیم آسکوربات پراکسیداز (APX) در سطح احتمال ۵ درصد معنی‌دار شد ولی تأثیر معنی‌داری روی میزان پروتیین محلول برگ نداشت. اثر متقابل آبیاری و پوتریسین در آنزیم GR در سطح احتمال ۵ درصد معنی‌دار شد. همچنین اثر متقابل آبیاری و رقم تنها در آنزیم GPX در سطح احتمال ۵ درصد معنی‌دار شد (جدول ۱).

نتایج مقایسهٔ میانگین اثر متقابل تیمارهای رطوبتی و رقم بر میزان فعالیت آنزیم گایاکول پراکسیداز در گیاه بابونه نشان داد که اعمال تنش رطوبتی در رقم بادگلد، فعالیت آنزیم گایاکول پراکسیداز را به میزان زیادی افزایش داد. اگرچه فعالیت آنزیم یادشده در مجاری نیز تا حدودی افزایش یافت. به طوری که درشرایط تنش شدید، فعالیت آنزیم گایاکول پراکسیداز در رقم بادگلد نسبت به مجاری ۱۶/۵ بالاتر بود (شکل ۱-الف). همچنین محلول‌پاشی با پوتریسین در مقایسه با تیمار شاهد به افزایش ۲۶/۵۶ درصدی آنزیم یادشده منجر شد (شکل ۱-ب).

جدول ۱. تجزیهٔ واریانس آنزیم‌های ضداکسنده در دو رقم بابونهٔ آلمانی تحت تنش خشکی و محلول‌پاشی با پوتریسین

منبع تغییرات	درجهٔ آزادی	کاتالاز	آسکوربات پراکسیداز	گایاکول پراکسیداز	گلوتاتیون رداکتاز	پروتیین محلول برگ
تکرار (R)	۲	۵/۶۸*	۵/۱۶*	۱/۱۸*	۵۸۶/۱۹**	۱۱۴۳/۲۳**
آبیاری (I)	۱	۷/۹۶**	۱۵/۸**	۲/۴۶**	۵۹۵/۲۸**	۲۶۰/۵۸**
پوتریسین (Put)	۱	۲/۱۴**	۶/۷۲*	۰/۴۶**	۱۹۹/۶۳**	۲۷/۱۴ns
رقم (C)	۱	۴/۲۷**	۹/۰۵**	۲/۲۲**	۲۸۹/۰۳**	۱۰۲/۲۱**
I × Put	۱	۰/۱۴۰ns	۰/۴۴ns	۰/۰۳ns	۸۷/۵۳*	۴۶/۷۸ns
I × C	۱	۰/۰۰۸ns	۰/۰۱ns	۰/۲۴*	۲۶/۸۳ns	۲۲/۲۸ns
Put × C	۱	۰/۰۷۳ns	۰/۰۸ ns	۰/۰۱ns	۱ ns	۲/۷۱ns
I × C × Put	۱	۰/۰۵ns	۰/۰۰ns	۰/۰۷ ns	۱/۷۷ns	۲/۷۸ns
خطا	۱۴	۰/۱۷۷	۱/۹۴	۰/۰۴۴	۱۲/۱۹	۵/۱۸
C.V. (درصد)		۱۱/۳	۲۳/۱۶	۱۳/۲۷	۹/۰۸	۴/۲۷

ns، *، ** به‌ترتیب غیرمعنی‌دار و معنی‌دار در سطوح احتمال ۵ درصد و ۰/۰۱.



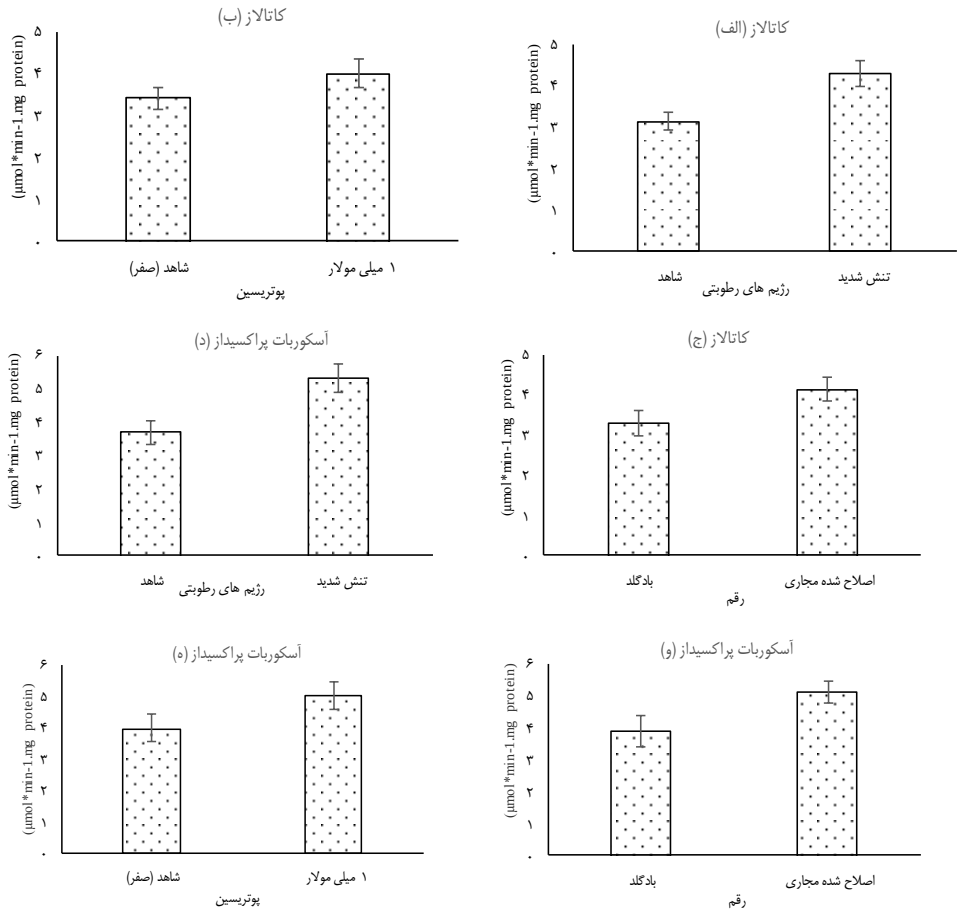
شکل ۱. فعالیت آنزیم گایاکول پراکسیداز در برگ‌های دو رقم بابونهٔ آلمانی تحت تأثیر تیمارهای رطوبتی (الف) و القا به‌وسیلهٔ پوتریسین (ب).

آنزیم‌های CAT و APX در گیاه بابونه روند افزایشی معنی‌داری را طی تیمارهای رطوبتی و محلول‌پاشی با پوتریسین نشان دادند. به‌گونه‌ای که با محلول‌پاشی پوتریسین، میزان فعالیت آنزیم‌های CAT و APX در مقایسه با تیمار شاهد، به‌ترتیب ۱۷و ۲۶/۶ درصد افزایش یافت (شکل۲. ب-ه). همچنین تیمار تنش آبیاری به افزایش ۳۶/۵ درصدی در میزان فعالیت آنزیم CAT و افزایش ۴۴ درصدی در میزان فعالیت آنزیم APX انجامید (شکل۲.الف-د). همان‌طور که در شکل۲ دیده می‌شود فعالیت آنزیم‌های CAT (۲۴/۶ درصد) و APX (۳۱/۵ درصد) در رقم مجاری در مقایسه با رقم بادگلد در سطح بالاتری قرار دارد.

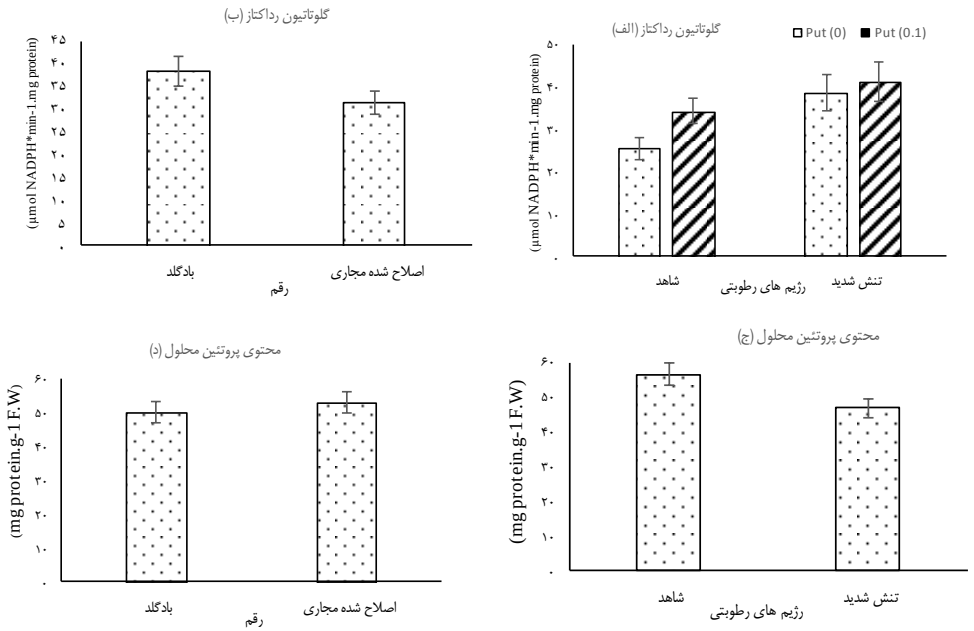
تأثیر تیمارهای رطوبتی و پوتریسین بر فعالیت آنزیم GR در شکل ۳ - الف نشان داده شده‌است. فعالیت آنزیم GR تحت تیمار پوتریسین در حالت شاهد آبیاری (۸/۸۸ درصد) بالاتر از تیمار تنش (۲/۶۶ درصد) بود. همچنین رقم بادگلد در مقایسه با رقم مجاری از لحاظ فعالیت آنزیم GR برتری نشان داد (۲۲ درصد) (شکل۳-ب).

به‌این ترتیب هم تیمار تنش خشکی و هم تیمار پوتریسین فعالیت آنزیم‌های ضداکسنده را افزایش دادند. اگرچه تأثیر تیمار تنش در افزایش فعالیت آنزیم‌ها نسبت به تیمار پوتریسین بالاتر بود.

میزان پروتیین محلول برگ تحت تأثیر تیمارهای رطوبتی قرار گرفت. همان‌طور که در شکل ۳- ج دیده می‌شود تیمار تنش شدید خشکی به کاهش ۱۷/۳۸ درصدی میزان پروتیین محلول برگ در مقایسه با تیمار شاهد منجر شد. همچنین رقم مجاری محتوای پروتیین محلول برگ بیشتری نسبت به رقم بادگلد داشت (شکل۳-د). یادآوری می‌شود که میزان پروتیین محلول برگ طی محلول‌پاشی با پوتریسین افزایش اندکی (۲ درصد) نیز نشان داد.



شکل ۲. فعالیت آنزیم‌های کاتالاز (الف-ب-ج) و آسکوبات پراکسیداز (د-ه-و) در دو رقم بابونهٔ آلمانی تحت تأثیر تیمارهای رطوبتی و القا به وسیلهٔ پوتریسین



شکل ۳. محتوای پروتیین محلول و میزان فعالیت آنزیم گلوتاتیون رداکتاز در برگ‌های دو رقم بابونهٔ آلمانی تحت تأثیر کاربرد خارجی پوتریسین و تیمار خشکی

بحث

تأثیر پلی‌آمین (پوتریسین) بر روی سامانهٔ دفاع ضداکسندگی در القای تحمل به تنش خشکی در بابونه بررسی شد. برهم‌کنش بین پلی‌آمین و یک عامل تنش‌زا ممکن است برای بهبود سازوکارهای دفاعی گیاه از طریق عامل‌های مختلف مهم باشد. تنش خشکی باعث تولید انواع گونه‌های فعال اکسیژن (ROS) می‌شود. بااین‌حال تولید ROS تحت کنترل شدید یک سامانهٔ ضداکسندگی مشترک نگه داشته می‌شود. این سامانه دارای پتانسیل بسیار بالای دفع ROS برای حفظ هموستازی کلی گیاهان است. همچنین، افزایش ROS در شرایط تنش به‌عنوان یک سیگنال هشداردهنده عمل می‌کند که پاسخ دفاعی را به‌وسیلهٔ مسیرهای انتقال سیگنال خاص که شامل H_2O_2 به‌عنوان پیامبر ثانویه است، فعال می‌کند (Cruz de Carvalho, 2008). باتوجه به افزایش قابل توجه فعالیت آنزیم‌های ضداکسنده در تیمار تنش، به نظر می‌رسد این عامل یکی از سازوکارهای تحمل به خشکی در گیاه بابونه باشد. از سوی دیگر، تیمار پوتریسین نیز به‌طور مؤثر به افزایش قابل ملاحظه فعالیت آنزیم‌های ضداکسنده در گیاه بابونه انجامید، که احتمال دارد سازوکار عمل پوتریسین برای حفاظت از تنش اکسایشی ناشی از خشکی از همین طریق باشد. نتایج این بخش از تحقیق با نتایج Alcazar *et al.* (2010)، Yiu *et al.* (2009)، Zhang *et al.* (2009) و Verma & Mishra (2005) همخوانی دارد.

سازوکارهای دیگری نیز برای چگونگی تأثیر پوتریسین گزارش شده است، از جملهٔ آنها می‌توان به نقش آن در جلوگیری از پراکسیداسیون چربی‌های غشا (Zhang *et al.*, 2009) و یا آسان‌گری عملکرد مناسب پروتیین‌های غشا اشاره کرد. در هر حال، افزایش مشاهده‌شده در فعالیت آنزیم‌های ضداکسنده در اثر کاربرد پوتریسین، نقش پوتریسین را به‌عنوان یک سامانهٔ تنظیم‌کنندهٔ آنزیم‌های یادشده نشان می‌دهد. در تأثیر فعالیت آنزیم‌های یادشده، ROSها به‌طور مستقیم حذف شده و به طور غیرمستقیم یاخته‌های گیاهی از اثرگذاری‌های سمی‌تر رادیکال‌های هیدروکسیل مصون می‌مانند. در گیاهانی که تحت تأثیر تنش‌خشکی بودند فعالیت آنزیم‌های ضداکسنده به‌طور معنی‌داری افزایش یافت، و با تیمار پوتریسین میزان فعالیت آنها بیش از پیش افزایش نشان داد. همین روند افزایشی در گیاهان شاهد (گیاهان شاهد آبیاری) که با پوتریسین تیمار شده بودند، مشاهده شد. این امر نشان می‌دهد که پوتریسین قادر به آسان‌گری زیست‌ساخت (بیوسنتز) آنزیم‌های ضداکسندگی در هر دو شرایط تیمار رطوبتی است.

تحقیقات پیشین نشان داده‌است که افزایش سطح پلی‌آمین‌ها منجر به کاهش تولید H_2O_2 و پراکسیداسیون لیپیدی شده است (Nayyar & Chander, 2004; Verma & Mishra, 2005). Yiu *et al.* (2009) گزارش کردند که کاربرد خارجی پوتریسین به کاهش رادیکال سوپراکسید ($O_2^{\cdot-}$) و محتوی H_2O_2 در گیاه تره‌فرنگی[1] تحت تنش غرقابی منجر شد. محققان یادشده بیان کردند که پوتریسین سامانه‌های ضداکسندگی و جاروب‌کنندهٔ رادیکال‌های آزاد را افزایش داده و با کاهش رادیکال‌های سوپراکسید و پراکسید هیدروژن، آسیب‌ها ضداکسندگی ناشی از تنش غرقابی را در این گیاه کاهش داد.

مشخص شده که هر دو شکل پلی‌آمین آزاد و ترکیبی آن نقش مهمی در شرایط تنش دارند (Alcazar *et al.*, 2006) و سطح بالایی از پلی‌آمین می‌تواند تحمل گیاه را نسبت به تنش غیرزنده از طریق سم‌زدایی مستقیم ROS و یا با اتصال به مولکول‌های آنزیم‌های ضداکسنده، که جاروب‌کنندهٔ رادیکال‌های آزاد هستند، افزایش دهد (Zhou *et al.*, 2006; Rider *et al.*, 2007; Groppa & Benavides, 2008). به‌عنوان مثال، Zhang *et al.* (2009) گزارش دادند که میزان پوتریسین، اسپرمین و اسپرمیدین رقم مقاوم به سرمای خیار بسیار بالاتر از رقم حساس به سرما است. یعنی سطح بالای پلی‌آمین درون‌زا عامل اصلی برای تحمل به سرما در این گیاه است. همین‌طور توانایی پلی‌آمین‌ها در افزایش تحمل خیار به سرمازدگی، به سمیت‌زدایی H_2O_2 تولیدشده در شرایط سرد نسبت داده‌شد. آنها دریافتند که کاربرد پوتریسین و اسپرمیدین خارجی می‌تواند با القای فعالیت آنزیم‌های ضداکسنده از جمله SOD، POD، APX و CAT به طور مؤثر از وارد آمدن آسیب سرمایی به گیاهچه‌های خیار جلوگیری کند. در طی تحقیقی دیگر که بر روی دانه‌رست‌های *Brassica*

1. Welsh onion

juncea، در محیط کشت هوگلن با مقادیر مختلف نمک در حضور پوتریسین و بدون پوتریسین انجام گرفت، مشخص شد که پوتریسین اثر القاکننده بر فعالیت آنزیم‌های ضداکسندگ در بافت‌های برگی تنش شوری دارد. پوتریسین با فعال کردن آنزیم‌های ضداکسندگی و افزایش محتوای ضداکسنده‌ها، اثرگذاری‌های زیان‌بار رادیکال‌های آزاد را کاهش داد (Verma & Mishra, 2005).

گزارش شده است که پلی‌آمین‌ها (به‌عنوان مولکول‌های سیگنالی) در پاسخ گیاهان به شرایط کمبود آب از طریق سوخت‌وساز ABA دخیل هستند (Alcazar *et al*., 2006; Capell *et al*., 1998). مولکول H_2O_2 تولیدی از زیست‌سوزی پلی‌آمین‌ها نقش مهمی در تنش زنده و غیرزنده به‌عنوان مولکول سیگنالی دارد و به القای بسته شدن روزنه‌ها از مسیر آبسیزیک اسید منجر می‌شود (Cona *et al*., 2006; An *et al*., 2008).

تأثیر ضداکسندگی پلی‌آمین‌ها به‌طور عمده به ویژگی کاتیونی آنها مربوط است که موجب برداشت رادیکال‌های آزاد شده و در نتیجه قادر به مهار پراکسیداسیون لیپیدها هستند. بااین حال شواهد و داده‌های ضد و نقیضی در مورد نقش ضداکسندگی پلی‌آمین‌های خارجی موجود است. در برخی موارد این ترکیب‌ها به‌عنوان اکسیدکننده و القاکنندهٔ تنش و گاهی به‌عنوان ضداکسنده و کاهش‌دهندهٔ رادیکاهای آزاد معرفی شده‌اند. دلیل تفاوت در نقش این ترکیب‌ها که بستگی به نوع پلی‌آمین و شرایط کاربرد آنها دارد، روشن نیست (Groppa & Benavides, 2008).

نتیجه‌گیری

از آنجایی‌که پلی‌آمین‌ها از جمله مولکول‌های مؤثر در مسیر علامت‌رسانی تنش‌ها به‌شمار می‌روند، محلول‌پاشی این مواد به القای پاسخ‌های دفاعی گیاه (از جمله آنزیم‌های ضداکسنده) می‌انجامد، به‌احتمال زیاد این پاسخ‌ها به افزایش تحمل گیاه بابونه به تنش خشکی منجر شده و میزان رشد و تولید زیست‌توده را در این شرایط افزایش می‌دهند.

سپاسگزاری

این تحقیق در قالب طرح پژوهشی به شمارهٔ ۷۱۰۱۰۱۹/۶/۲۹ با استفاده از اعتبارات پژوهشی دانشگاه تهران انجام شده‌است که بدین‌وسیله نویسندگان مراتب تشکر خود را از مسئولان مربوط ابراز می‌دارند.

REFERENCES

1. Aebi, H. (1984). Catalase in vitro. *Methods Enzymol*, 105, 121-126.
2. Alcazar, R., Altabella, T., Marco, F., Bortolotti, C., Reymond, M., Koncz, C., Carrasco, P. & Tiburcio, A.F. (2010). Polyamines: molecules with regulatory functions in plant abiotic stress tolerance. *Planta*, 231, 1237-1249.
3. Alcazar, R., Cuevas, J., Patron, C., Altabella, M. & Tiburcio, A. F. (2006). Abscisic acid modulates polyamine metabolism under water stress in *Arabidopsis thaliana*. *Plant Physiology*, 128, 448-455.
4. An, Z. F., Jing, W., Liu, Y. L. & Zhang, W. H. (2008). Hydrogen peroxide generated by copper amine oxidase is involved in abscisic acid-induced stomatal closure in *Vicia faba*. *Journal of Experimental Botaney*, 59, 815-825.
5. Asada, R. D. (1992). Ascorbate peroxidase – a hydrogen peroxide scavenging enzyme in plants. *Plant Physiology*, 85, 235-241.
6. Becana, M., Dalton, D. A., Moran, J. F., Iturbe, O. I., Matamoros, M. A. & Rubio, M. C. (2000). Reactive oxygen species and antioxidants in legume nodules. *Plant Physiology*, 109, 372-381.
7. Bors, W., Langebartels, C., Michel, C. & Sandermann, H. (1989). Polyamines as radical scavengers and protectants against ozone damage. *Phytochemistry*, 28, 1589-1595.
8. Bradford, M. M. (1976). A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizingthe principle of protein-dye binding. *Analytical Biochemistry*, 72, 248-254.
9. Capell, T., Bassie, L. & Christou, P. (2004). Modulation of the polyamine biosynthetic pathway in transgenic rice confers tolerance to drought stress. In: Proceeding of *National and Academy Sciences of the U.S.A*, 101, 9909-9914.
10. Capell, T., Escobar, C., Lui, H., Burtin, D., Lepri, O. & Christou, P. (1998). Over-expression of the oat arginine decarboxylase cDNA in transgenic rice (*Oryza sativa* L.) affects normal development patterns in vitro and results in putrescine accumulation in transgenic plants. *Theoretical and Applied Genetics*, 97, 246-254.

11. Chang, C. J. & Kao, C. H. (1998). H_2O_2 metabolism during senescence of rice Leaves: change in enzyme activities in light and darkness. *Plant Growth Regulation*, 25, 11-15.
12. Cona, A., Rea, G., Angelini, R., Federico, R. & Tavladoraki, P. (2006). Functions of amine oxidases in plant development and defence. *Trends Plant Science*, 11, 80-88.
13. Cruz de Carvalho, M. H. (2008). Drought stress and reactive oxygen species. *Plant Signaling and Behavior*, 3(3), 156-165.
14. Di Baccio, D., Navari-Izzo, F. & Izzo, R. (2004). Seawater irrigation: antioxidant defense responses in leaves and roots of a sunflower (*Helianthus annuus* L.) ecotype. *Journal of Plant Physiology*, 161, 1359-1366.
15. El-Wahed, A., Krima, M.S.A. & Gamal El Din, M. (2004). Stimulation of growth, flowering, biochemical constituents and essential oil of chamomile plant (*Chamomilla recutita* L., Rausch) with spermidine and stigmasterol application. *Bulgarian Journal of Plant Physiology*, 30(1-2), 89-102.
16. Foyer, C.H., Lopez-Delgado, H., Dat, J.F. & Scott, I.M. (1997). Hydrogen peroxide and glutathione-associated mechanisms of acclamatory stress tolerance and signaling. *Plant Physiology*, 100, 241- 254.
17. Galston, A. W. (1991). On the trail of a new regulatory system in plants. *New Biology*, 3, 450-453.
18. Gill, S. S. & Tuteja, N. (2010). Reactive oxygen species and antioxidant machinery in abiotic stress tolerance in crop plants. *Plant Physiology and Biochemistry*, 48, 909-930.
19. Groppa, M. D. & Benavides, M. P. (2008). Polyamines and abiotic stress: recent advance. *Amino Acids*, 34, 35-45.
20. Kusano, T. (2007). A protective role for the polyamine spermine against drought stress in Arabidopsis. Biochem. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 352, 486-490.
21. Lawrence, M. B. Tobacco, R. J. R. (1996). Progress in essential oil, *Perfumer and Flavorist*, 21, 55-68.
22. Lin, C. C. & Kao, C. H. (2000). Effect of NaCl stress on H_2O_2 metabolism in rice leaves. *Plant Growth Regulation*, 30, 151-155.
23. Maehly, A. C. & Chance, B. (1959). The Assay of Catalase and Peroxidase. In: Click D(Ed) Method of Biochemical Analysis. *Inter Sciences Publication New York*, 1, 357-425.
24. Mapelli, S., Brambilla, I. M., Radyukina, N. L., Ivanov, Y. V., Kartashov, A. V., Reggiani, R. & Kuznetsov, V. V. (2008). Free and bound polyamines changes in different plants as a consequence of UV-B light irradiation. *General and Applied Plant Physiology*, Special Issue, 34 (1-2), 55-66.
25. Nayyar, H. & Chander, S. (2004). Protective effects of polyamines against oxidative stress induced by water and cold stress in chickpea. *Journal of Agronomy and Crop Sciences*, 190, 355-365.
26. Ramamoorthy, V., Viswanathan, R., Raguchander, T., Prakasam, V. & Samiyappan, R. (2001). Induction of systemic resistance by plant growth promoting rhizobacteria in crop plants against pests and diseases. *Crop Protection*, 20, 1-11.
27. Rendon, J. L., Pardo, J. P., Hernandez, G. M., Dominquez, A. R. & Hernandez-Arana, A. (1995). Denaturing behaviour of glutathione reductase from cyanobacterium *Spirulina maxima* in guanidine hydrochloride. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 318, 264-270.
28. Rider, J. E., Hacker, A., Mackintosh, C. A., Pegg, A. E., Woster, P., Casero, M. & Jr, R. A. (2007). Spermine and spermidinemediate protection against oxidative damage caused by hydrogen peroxide. *Amino Acids*, 33, 231-240.
29. ousa, M. P., Matos, E. O., Matos, J. J. A., Machado, M. I. L. & Craveiro, A. A. (1991). *Constituintes Quı´micos Ativos de Plantas Medicinais Brasileiras*. Edic¸o˜ es UFC/Laborato´ rio de Produtos Naturais, Fortaleza, Brazil. 414p.
30. Smith, K., Vierheller, T. & Carol, A. (1989). Properties and functions of glutathione reductase in plants. *Physiologia Plantarum*, 77, 449-456.
31. Soyka, S. & Heyer, A. G. (1999). Arabidopsis knockout mutation of ADC2 gene reveals inducibility by osmotic stress. *Federation of European Biochemical Societies Letter*, 458(2), 219-23.
32. Verma, S. & Mishra, S. N. (2005). Putrescine alleviation of growth in salt stressed Brassica Juncea by inducing antioxidative defense system. *Journal of Plant Physiology*, 162, 669-677.
33. Yamaguchi, K., Takahashi, Y., Berberich, T., Imai, A., Takahashi, T., Michael, A. J. & Kusano, T. (2007). A protective role for the polyamine spermine against drought stress in Arabidopsis. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 352, 486-90.
34. Yamasaki, H. & Cohen, M. F. (2006). NO signal at the crossroads: polyamine-induced nitric oxide synthesis in plants? *Trends in Plant Science*, 11, 522-524.
35. Yiu, J., Juang, L., Fang, D., Liu, Ch. & Wu, Sh. (2009). Exogenous putrescine reduces flooding-induced oxidative damage by increasing the antioxidant properties of Welsh onion. *Scientia Horticulture*, 120(3), 306-314.
36. Zhang, W., Jiang, B., Li, W., Song, H., Yu, Y. & Chen, J. (2009). Polyamines enhance chilling tolerance of cucumber (*Cucumis sativus* L.) through modulating antioxidative system. *Scientia Horticulturae*, 122, 200-208.

37. Zhao, J., Davis, L. C. & Verpoorte, R. (2005). Elicitor signal transduction leading to production of plant secondary metabolites. *Biotechnology Advances*, 23, 283-333.
38. Zhou, Y. H., Yu, J. Q., Mao, W. H., Huang, L. F., Song, X. S. & Nogue´s, S. (2006). Genotypic variation of Rubisco expression, photosynthetic electron flow and antioxidant metabolism in the chloroplasts of chill-exposed cucumber plants. *Plant Cell Physiology*, 47, 192-199.