تغییرات اجزای سیستم آنتی اکسیدانی و الگوی پروتئین‌ها در چهار رقم انجیر در شرایط تنش خشکی

مهدیه غلامی [۱*]، مجید راحمی [۲]
۱- استادیار گروه علوم باغبانی، دانشگاه صنعتی اصفهان. ۲- استاد گروه علوم باغبانی، دانشگاه شیراز.

چکیده

تنش خشکی یکی از مهمترین فاکتورهای محدود کننده رشد و تولید انجیر (*Ficus carica* L.) در ایران است. اطلاعات دقیق در خصوص پاسخ بیوشیمیایی انجیرهای بومی ایران نسبت به تنش خشکی می‌تواند در موفقیت برنامه‌های کاشت و توسعه انجیر نقش بسزا داشته باشد. یک مطالعه مقدماتی برای تعیین اثرات تنش آبی بر چهار رقم انجیر ('دیم دهدز'، 'سبز استهبان'، 'سیاه' و 'شاه انجیر') انجام شد. گیاهان گلدانی که در شرایط گلخانه پرورش یافته بودند با قطع آبیاری به مدت ۱۴ روز در معرض تنش خشکی قرار گرفتند. گیاهان تنش دیده مجدداً برای ۷ روز آبیاری شدند و اثرات بهبود در آنها مطالعه شد. گیاهان شاهد روزانه آبیاری می‌شدند و رطوبت آنها در حد ظرفیت مزرعه حفظ شد. میزان رنگدانه‌ها، آنتی اکسیدان‌های آنزیمی و غیرآنزیمی، مقدار پروتئین‌ها اندازه‌گیری و تغییر الگوی پروتئین‌ها در الکتروفورز دو بعدی بررسی شد. نتایج نشان داد چهار رقم انجیر مورد مطالعه تفاوت واضحی در نحوه پاسخ به تنش آبی از خود نشان دادند. در شرایط تنش خشکی، رقم دیم دهدز میزان رنگدانه بیشتر و فعالیت آنزیمی بیشتری نسبت به سایر ارقام داشت. همچنین مشخص شد آنزیم کاتالاز فعالیت آنتی اکسیدانی مؤثری در ارقام مورد بررسی نداشت. تنش آبی به طور معنی‌داری میزان α-توکوفرول را در هر چهار رقم انجیر افزایش داد ولی باعث کاهش معنی‌دار غلظت اسید اسکوربیک در آنها شد. بیشترین میزان بیان پروتئین در رقم دیم دهدز در شرایط تنش در آزمایشات الکتروفورز دو بعدی، مقاومت بهتر این رقم به شرایط کم آبی را تأیید کرد.

مقدمه

پاسخ درختان میوه به کمبود آب دربرگیرنده مکانیسم‌های گوناگونی است که در مجموع عمل و رفتار گیاه را در آن شرایط بهبود می-بخشد. پاسخ‌های سازگاری به کمبود آب شامل مکانیسم‌های کاهش در میزان رشد، طول شاخه، سطح و زاویه برگ (Jung, 2004)، کاهش در میزان فتوسنتز و هدایت روزنه‌ای (Gholami and Rahemi, 2009)، اجتناب از از دست دادن آب (تجمع مواد اسمزی) (Patakas et al., 2002)، مکانیسم‌هایی برای حفاظت از اجزای سلول (تغییرات کمی و کیفی در رنگدانه‌ها) و مکانیسم‌های ترمیم بخش‌های آسیب دیده (زدودن گونه‌های فعال اکسیژن) می‌باشد (Sircelj et al., 2005). گونه‌های فعال اکسیژن فرم‌های احیا شده مولکول اکسیژن هستند که در اثر برانگیختگی مولکول اکسیژن (تشکیل اکسیژن نوزاد) یا از انتقال یک، دو و یا سه الکترون به مولکول اکسیژن (به ترتیب تشکیل سوپراکسید، پراکسید هیدروژن و رادیکال هیدروکسیل) به وجود می‌آیند (Hodges et al., 2004). این گونه‌های فعال اکسیژن می‌توانند آغازگر فرایندهای مخرب از قبیل پراکسیداسیون چربی‌ها، از بین رفتن کلروفیل، اکسیداسیون پروتئین‌ها و آسیب به اسیدهای نوکلئیک باشند (Terzi and Kadioglu, 2006). گیاهان به منظور دفاع در برابر این گونه‌ها مکانیزم‌های مختلفی، ازجمله تولید آنتی اکسیدانت‌های آنزیمی و غیر آنزیمی در درجات مختلف دارند (Sudhakar et al., 2001). برای شناسایی مکانیسم‌های مولکولی رفتار سلولی و واکنش‌های زیستی، لازم است پروتئین‌هایی که در یک سلول بیان می‌شوند، تغییرات آنها در شرایط مختلف، عملکرد آنها و همچنین برهمکنش های بین پروتئین‌های مختلف در یک سلول، بررسی شود. سنجش مقایسه‌ای پروتئین‌ها به صورت جامع در یک مقیاس وسیع موضوع علم پروتئوم یا پروتئومیکس می‌باشد. پروتئومیکس تکنیک قدرتمندی برای جداسازی ترکیبات پیچیده پروتئینی است. تغییرات در پروفایل پروتئین‌ها در پاسخ به اثرات محیطی را می‌توان به این روش شناسایی کرد (Beranova-Giorgianna, 2003).

تنش آبی در اثر سال‌های کم باران متمادی اخیر محدودیت عمده تولید انجیر سبز استهبان گشته است. بیشتر مطالعاتی که بر روی درخت انجیر در شرایط تنش خشکی صورت گرفته است عمدتاً به بررسی پاسخ‌های فیزیولوژیکی از قبیل فتوسنتز و تنفس (Kutlu et al., 2000)، رشد رویشی و پتانسیل آب (Oukabli et al., 2008)، یا سطح برگ و ضخامت آن و پارامترهای تبادل تنفسی (Gonzalez-Rodriguez and Peters, 2010) پرداخته اند. به منظور بررسی پاسخ فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی این ارقام در شرایط تنش خشکی، میزان آنتی اکسیدانت‌های آنزیمی و غیرآنزیمی در این ارقام مورد مطالعه قرار گرفت. به علاوه از آنجا که دانش در خصوص تغییرات پروتئین‌ها در شرایط تنش به ما کمک می‌کند مکانیزم مولکولی تحمل به تنش را در سطح ترجمه به جای سطح رونویسی درک کنیم، قسمتی از این پروژه به هدف تعیین پروتئین‌های ویژه‌ای که در شرایط تنش خشکی بیان می‌شوند و تغییرات پروتئین‌ها در زمان تنش در چهار رقم انجیر دیم انجام شد.

مواد و روش‌ها

آزمایش با انتخاب ۴۰ گلدان یکنواخت حاوی قلمه‌های ریشه دار و خو گرفته یکساله برای هر رقم شروع شد. در هر رقم ۴۰ گلدان به دو گروه ۲۰تایی تقسیم شد. گروه اول گلدان‌هایی بودند که در معرض تنش خشکی قرار می‌گرفتند. گروه دوم هر روز تا FC آبیاری می‌شدند. تنش خشکی در ۲۰ گلدان اول با قطع آبیاری در آنها شروع شد و تا زمانی که گیاهان کاهش شدید در تورژسانس برگ‌ها از خود نشان دادند و برگ‌ها بی‌رنگ و پژمرده شدند ادامه یافت. پس از آن گلدان‌ها مجدداً برای ۷ روز آبیاری و رطوبت آنها در حد ظرفیت مزرعه حفظ شد.کلروفیل و کارتنوئید با توجه به روش Ben Ghnaya و همکاران (۲۰۰۷)، آنتوسیانین با استفاده از روش مورد استفاده Alexieva و همکاران (۲۰۰۱)، α-توکوفرول با توجه به روش Chong و همکاران (۲۰۰۴)، گلوتاتیون با استفاده از روش Moron و همکاران (۱۹۷۹)، اسید اسکوربیک از روش استفاده شده توسط Omaye و همکاران (۱۹۷۹)، فعالیت آنزیم‌های اسکوربات پراکسیداز و کاتالاز مطابق با روش گزارش شده توسط Jiang و Zhang (۲۰۰۲)، فعالیت گایاکول پراکسیداز از روش Castillo و همکاران (۱۹۸۴)، فعالیت آنزیم سوپراکسید دسموتاز براساس دستورالعمل Dhindsa و همکاران (۱۹۸۱) و استخراج پروتئین از نمونه‌ها بر اساس روش Damerval و همکاران (۱۹۸۶) اندازه‌گیری شدند.

نتایج و بحث

پس از ۱۴ روز از زمان قطع آبیاری میزان کلروفیل کل برگ در رقم دیم دهدز تا ۱۹/۱ درصد و در سبز استهبان تا ۱۶/۴ درصد بیشتر از میزان گیاهان شاهد افزایش داشت. از نظر آماری هیچ تفاوت معنی‌داری بین غلظت کارتنوئید برگهای تحت تیمار خشکی و گیاهان تیمار آبیاری کامل ارقام سبز استهبان، سیاه و شاه انجیر وجود نداشت. همچنین میزان آنتوسیانین برگ گیاهان شاهد و تیمار بدون آبیاری ارقام سیاه و شاه انجیر با هم اختلاف معنی‌داری نشان ندادند. کمبود آب طی دوره خشکی با افزایش قابل توجهی در میزان α-توکوفرول برگ در تمام ارقام مورد مطالعه همراه بود. در شرایط تنش خشکی، غلظت گلوتاتیون برگ در رقم دیم دهدز تا ۳۱ درصد، در رقم سیاه تا ۴۲/۴ درصد و در شاه انجیر تا ۹/۸ درصد نسبت به گیاهان شاهد خود کاهش داشت. در تمام ارقام مورد مطالعه میزان اسید اسکوربیک برگ گیاهان تحت تیمار تنش خشکی کاهش معنی‌داری نسبت به گیاهان تیمار آبیاری منظم نشان داد. تیمار تنش آبی به طور معنی‌داری فعالیت آنزیم اسکوربات پراکسیداز را در دو رقم دیم دهدز و سبز استهبان افزایش داد. در دوره تنش خشکی، فعالیت آنزیم کاتالاز در هر چهار رقم مورد بررسی کاهش نشان داد. در رقم شاه انجیر فعالیت آنزیم گایاکول پراکسیداز در تیمار خشکی تغییر معنی داری در مقایسه با گیاهان شاهد نشان نداد. شرایط تنش خشکی فعالیت آنزیم سوپراکسید دسموتاز را در گیاهان

تحت تنش خشکی ارقام سیاه و شاه انجیر به طور معنی دار کاهش و در رقم دیم دهدز به طور معنی دار نسبت به شاهد افزایش داد. نتایج کمیت‌سنجی با استفاده از کیت 2D-Quant kit نشان داد در رقم دیم دهدز غلظت پروتئین از سایر ارقام در همه‌ی زمان‌های اندازه‌گیری بیشتر است ولی غلظت پروتئین بین زمان‌های اندازه‌گیری در این رقم تفاوت معنی‌دار نداشت. رقم سیاه کمترین غلظت پروتئین را داشت. در رقم دیم دهدز تعداد پروتئین بیشتری و در رقم سیاه کمترین تعداد پروتئین در زمان تنش بیان شد.

افزایش در میزان رنگدانه‌ها، آنتی اکسیدان‌های آنزیمی و غیر آنزیمی در این مطالعه نشان داد تیمار خشکی باعث القای تنش اکسیداتیو در گیاهان انجیر شده است و برای اولین بار نشان داد که افزایش در میزان آنتی اکسیدان‌ها در انجیر در شرایط خشکی ممکن است در توانایی این گیاه برای بقا در شرایط محیطی نامناسب شرکت داشته باشد. اما، به داده‌های بیان ژن طی تنش اکسیداتیو القا شده در اثر خشکی در انجیر و همین طور تحقیقات بیشتر برای حمایت از این فرضیه نیاز است. بر اساس داده‌های آزمایشات فیزیولوژیک به دست آمده، مشخص شد متحمل‌ترین رقم دیم دهدز بود و پس از آن رقم سبز استهبان از تحمل نسبی برخوردار بود. سپس رقم سیاه در این رتبه بندی قرار داشت و رقم شاه انجیر حساس‌ترین رقم مورد مطالعه بود. نتایج آزمایشات الکتروفورز دوبعدی در تأیید نتایج اندازه گیری‌های قبل نشان داد رقم دیم دهدز با افزایش بیان تعداد بیشتری پروتئین در زمان تنش توانایی بهتری در تحمل به تنش دارد. این امکان وجود دارد که تحمل بهتر دیم دهدز در برابر خشکی، با توانایی این رقم در القای فعالیت آنتی اکسیدان‌های آنزیمی و غلظت-های بالاتر رنگدانه‌ها و آنتی اکسیدان‌های غیرآنزیمی همراه باشد. تنش شدید خشکی به میزان زیادی فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدان و غلظت آنتی اکسیدان‌های غیر آنزیمی را در رقم شاه انجیر کاهش داد که نشان می‌دهد وظیفه‌ی تنظیف آنتی اکسیدان‌ها در این رقم در اثر خشکی مختل شده بود.

برخی از منابع مورد استفاده

Gonzalez-Rodriguez, A.M. and J. Peters. 2010. Strategies of leaf expansion in *Ficus carica* under semiarid conditions. Plant Biol. 12: 469–474.

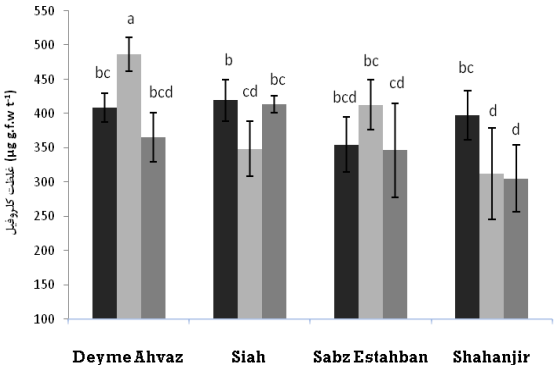
Hodges, D.M., G.E. Lester, K.D. Munro and P.M.A. Toivonen. 2004. Oxidative stress: importance for postharvest quality. HortScience 39: 924-929.

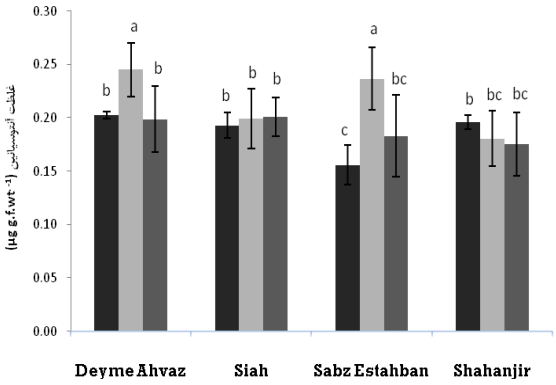
Jung, S. 2004. Variation in antioxidant metabolism of young and mature leaves of *Arabidopsis thaliana* subjected to drought. Plant Sci. 166: 459-466.

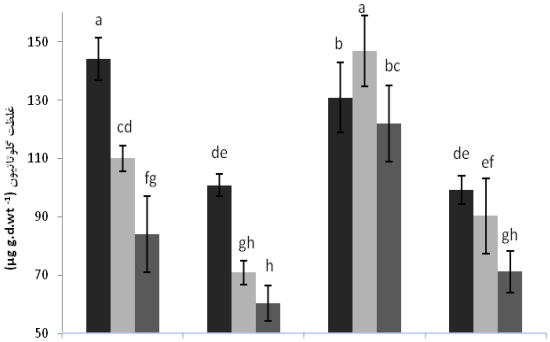
Oukabli, A., A. Mekaoui, M. Ibnouali-El-Aloui and A. Bari. 2008. Contribution to identification of fig (*Ficus carica*) genotypes tolerant to drought. Acta Hort. 798: 87-93.

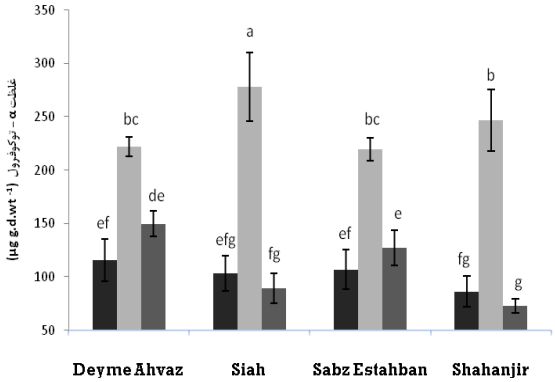
Sircelj, H., M. Tausz, D. Grill, and F. Batic. 2005. Biochemical responses in leaves of two apple tree cultivars subjected to progressing drought. J. Plant Physiol. 162: 1308-1315.

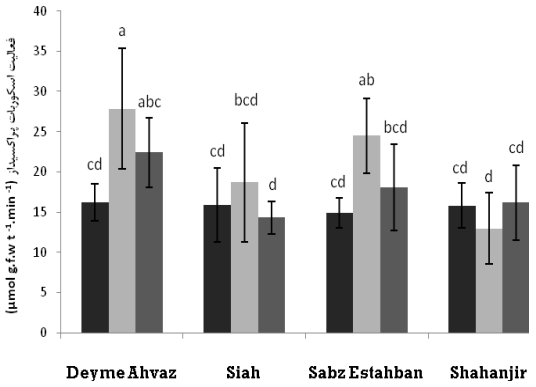
برخی از شکل‌ها (نتایج)

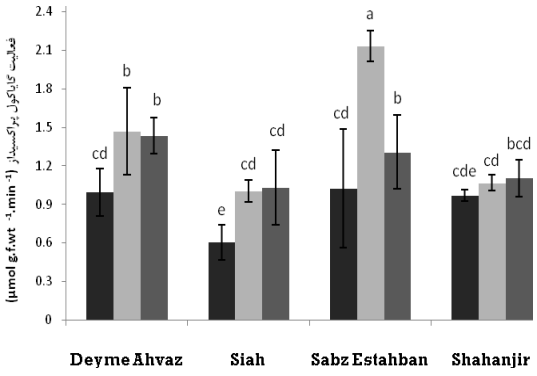


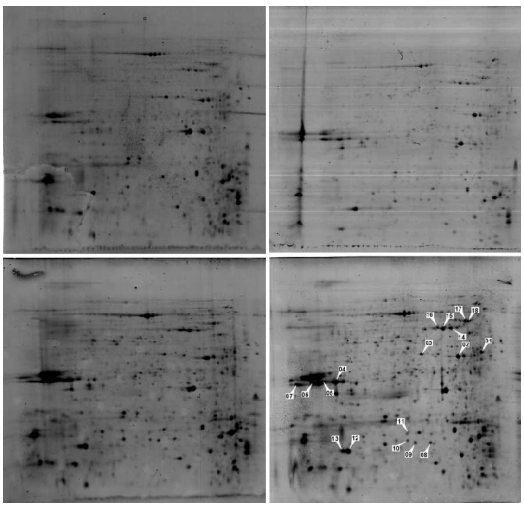


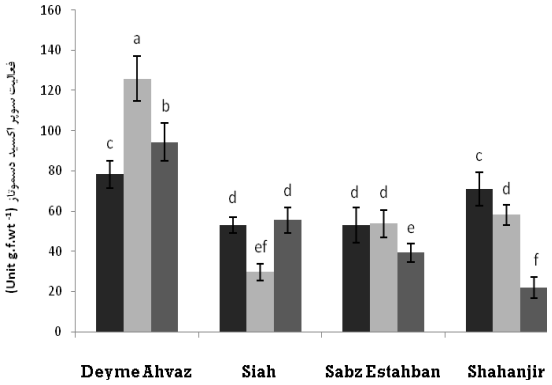












Change in antioxidants and protein profile in four fig cultivars in response to drought stress.

M. Gholami[1*] and M. Rahemi[2]

1- Corresponding author, Dept. of Horticultural Sciences, Isfahan University of Technology. 2- Dept. of Horticultural Sciences, Shiraz University

Abstract

Drought stress is one of the most important factors limiting the growth and productivity of fig (Ficus carica L.) in Iran. Detailed knowledge about the biochemical responses of native figs to drought stress could contribute to the success of vegetation programs. A preliminary study was conducted to determine the effects of water stress on four fig cultivars (F. carica L., 'Deyme Dehdez', 'Sabz Estahban', 'Siah' and 'Shahanjir'). Potted plants, growing under greenhouse conditions were subjected to drought by withholding irrigation for 14 days. Stressed plants were reirrigated and the recovery was studied for 7 days. Control plants were irrigated daily maintaining soil water content at about field capacity. The levels of pigments and non-enzymatic antioxidants as well as the activities of antioxidant enzymes were quantified. The results demonstrate that the four investigated fig cultivars showed a clear difference in their response to water stress and recovery. Under drought conditions, Deyme Dehdez exhibited higher pigments content and activities of antioxidant enzymes than other cultivars. Catalase had no major antioxidative function in fig. Water stress treatment significantly increased α-tocopherol concentration but decreased ascorbic acid content in the studied cultivars. Higher protein expression under drought conditions in Deyme Dehdez in 2-D electrophoresis experiment confirmed the better ability of this cultivar to withstand water stress.