

## هفدهمین کنفرانس سراسری و پنجمین کنفرانس بین المللی زیست شناسی ایران



### بررسی اثر تنش خشکی بر فعالیت فسفاتازهای اسیدی و قلیایی در دو رقم بومی و اصلاح شده خیار (*Cucumis sativus* L.)

آیت اله رضایی<sup>۱\*</sup>، یاور شرفی<sup>۱</sup>، علیرضا قنبری<sup>۱</sup>، علاءالدین کردناییج<sup>۲</sup>  
گروه علوم باغبانی، دانشکده علوم کشاورزی، دانشگاه شاهد، تهران، ایران  
گروه زراعت و اصلاح نباتات، دانشکده علوم کشاورزی، دانشگاه شاهد، تهران، ایران  
arezaei@shahed.ac.ir

**چکیده**- اثر تنش خشکی روی رشد و فعالیت آنزیمهای فسفاتاز اسیدی و قلیایی در دو رقم بومی (رقم اصفهان) و اصلاح شده (رقم Super unibit F1) بررسی گردید. تنش خشکی توسط غلظتهای مختلف مانیتول شامل ۲، ۴، ۶، ۸ و ۱۰ درصد (w/v) اعمال گردید. نتایج نشان داد که با افزایش سطح تنش به استثنای وزن خشک، صفات درصد جوانه زنی، وزن تر و محتوای آبی گیاهچه ها شدیداً کاهش یافت. فعالیت فسفاتازها با افزایش سطح تنش تا غلظت ۶ درصد مانیتول افزایش یافت. میزان فعالیت فسفاتاز اسیدی به مراتب نسبت به فعالیت فسفاتاز قلیایی تحت شرایط تنش بیشتر بود.

**کلید واژه:** تنش خشکی، خیار، رشد گیاهچه، فسفاتاز

#### مقدمه

هستند و به همین دلیل نقش فیزیولوژیک دقیق آنها در گیاهان بطور کامل شناخته نشده است. از آنجا که احتمالاً جذب فسفات به صورت فسفر آلی از خاک توسط ریشه گیاه بسیار کم است بنابراین برای جذب فسفر بایستی این عنصر از شکل آلی به شکل معدنی تبدیل شود. تنظیم فعالیت فسفاتازها توسط عوامل مختلف رشد و نمو و همچنین عوامل محیطی صورت میگیرد. به عنوان مثال جوانه زنی بذریکی از بهترین موارد رشد و نمو است که به طور مشخص القاء تولید آنها را باعث می شود (Stephen et al. 1994). ذخایر فسفات محلول نقش حیاتی در انتقال انرژی، تنظیم متابولیسم، اجزاء ساختمانی مهم مولکولهای زیستی نظیر اجسام فیتین در

سازگاری گیاهان با انواع تنش ها مستلزم مکانیسم های مختلفی شامل تغییر در الگوی ریخت، رشد و نمو و همچنین واکنش های فیزیولوژیک و بیوشیمیایی می باشد (Bohnert et al. 1995). فسفاتازها از جمله آنزیم هایی هستند که برای بسیاری از فرایندهای فیزیولوژیکی شامل تنظیم فسفر محلول مهم هستند (Yan et al. 2001). این آنزیم ها به دو دسته اسیدی و قلیایی بسته به pH مطلوب برای فعالیت (بالتر و پایین تر از pH ۷) تقسیم میشوند (Barrett-Lennard et al. 1982). فسفاتازها در گونه های مختلف گیاهی دارای تنوع

## اندازه گیری فعالیت فسفاتازها

فعالیت آنزیم های فسفاتاز اسیدی و قلیایی بعد از گذشت ۵ و ۱۰ روز از تاریخ اعمال تنش خشکی با غلظت های (۲، ۴، ۶، ۸ و ۱۰ درصد (w/v)) مانیتول در دو نوبت در گیاهچه ها اندازه گیری شد. فسفاتازها به روش (Julie et al. 1999) استخراج و فعالیت آنها اندازه گیری گردید. آزمایشات در قالب طرح کربهای کامل تصادفی و با سه تکرار انجام شدند.

## نتایج

### جوانه زنی و رشد گیاهچه ها

نتایج مربوط به اثر غلظت های مختلف مانیتول روی بذرهاى ارقام خیار نشان داد که با افزایش میزان تنش خشکی، درصد جوانه زنی در هر دو رقم کاهش یافت. در مقایسه بین ارقام، اثرات منفی تنش روی جوانه زنی رقم Super unibit F1 بیشتر بود (شکل ۱a). همچنین رشد به صورت وزن تر و محتوای آبی (نتایج نشان داده نشده) نیز با افزایش میزان تنش خشکی در هر دو رقم تقریباً با یک روند کاهش یافت (شکل ۱b). اما تغییرات وزن خشک تحت تاثیر تنش در مقایسه با وزن تر زیاد محسوس نبود و رقم بومی اصفهان در کلیه غلظت ها از وزن خشک بیشتری برخوردار بود (شکل ۱c). با توجه به شکل های ۱b و ۱c به نظر میرسد که رقم بومی اصفهان در تولید ماده خشک نسبت به رقم اصلاح شده موثرتر عمل کرده و بالاتر بودن میزان جوانه زنی آن در غلظت های ۲ الی ۶ درصد مانیتول می تواند مربوط به این ویژگی باشد چرا که سبب پایین تر نگه داشتن پتانسیل آبی در سلول ها شده و زمینه را برای جذب آب بیشتر و در نتیجه جوانه زنی بیشتر فراهم می کند.

### فعالیت فسفاتازها

فعالیت فسفاتاز اسیدی پس از گذشت ۵ روز از شروع آزمایش با افزایش غلظت مانیتول تا ۶ درصد در هر دو رقم بتدریج افزایش یافت اما در غلظتهای بالاتر کاهش نشان داد و در مقایسه ارقام مورد بررسی، سطح فعالیت این آنزیم در رقم بومی بیشتر بود (شکل ۲a). فعالیت فسفاتاز قلیایی نیز پس از گذشت ۵ روز با افزایش غلظت مانیتول تا ۶ درصد افزایش یافت ولی در غلظت های بالاتر کاهش یافت (شکل ۲a). نکته

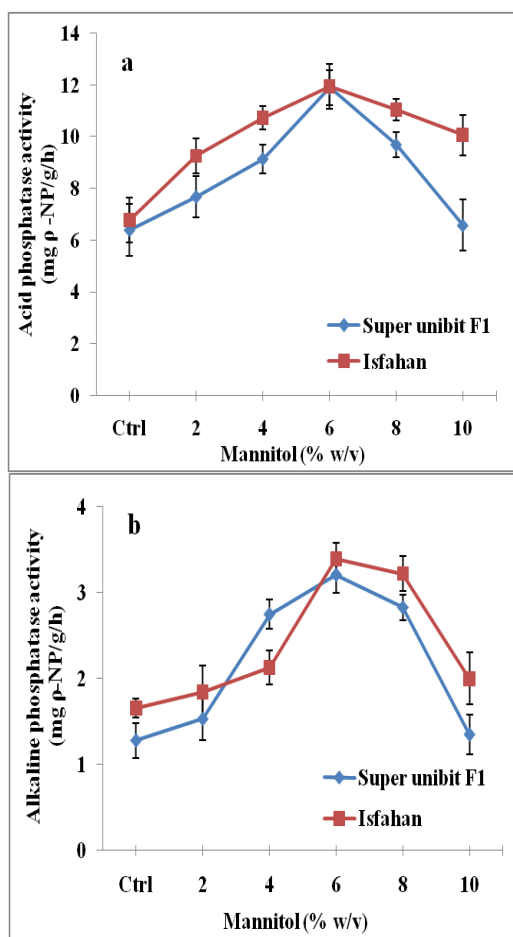
بذرهای جوانه نزده، پروتئین و فسفریلاسیون نوکلئوتید ایفا می کند (Fincher 1989). اگرچه گزارش شده است که برخی از تنش های غیر زیستی نظیر خشکی، شوری و اسمز فعالیت فسفاتازها را با ابقای سطح معینی از فسفات معدنی در سلول های گیاهی افزایش می دهند (Olmos and Hellin 1997)، اما نقش دقیق فسفاتازها در مراحل اولیه رشد که توام با استقرار گیاه می باشد هنوز مشخص نیست، زیرا که متابولیسم این ترکیبات می تواند توسط عده ای از فاکتورهای زیست محیطی نظیر نوع تنش، تابش، دما و نوع یون های موجود تحت تاثیر قرار بگیرد (Bohnert et al. 1995). نیاز به فسفر در زمان رشد و تقسیم سریع سلول نظیر مراحل اولیه رشد به طور قابل توجهی افزایش می یابد (Hegeman and Grabau 2001). عدم توانایی گیاهان در انطباق با تنش ها منجر به جوانه زنی ضعیف، کاهش رشد و نمو گیاهک و در نهایت کاهش عملکرد گیاه می شود. با توجه به نقش مهم فسفاتازها در فرایند های رشد و نمو، در این تحقیق به بررسی فعالیت آنها تحت شرایط تنش خشکی پرداخته می شود و علاوه بر این پارامترهای دیگر در ارتباط با رشد نیز اندازه گیری می شود.

## مواد و روش ها

### آزمون جوانه زنی و زیست سنجی رشد گیاهچه ها

بذور ضد عفونی شده دو رقم خیار (*Cucumis sativus*) بومی (رقم اصفهان) و اصلاح شده (رقم Super unibit F1) تحت تاثیر غلظت های مختلف مانیتول (۲، ۴، ۶، ۸ و ۱۰ درصد (w/v)) به منظور اعمال تنش خشکی قرار گرفتند. ظروف پتری حاوی بذور در ژرمیناتور در دمای ۲۵ درجه سانتیگراد قرار گرفتند. از آب دو بار تقطیر شده بعنوان تیمار شاهد استفاده گردید. در پایان آزمایش یعنی پس از گذشت ۱۰ روز، درصد جوانه زنی، وزن تر، وزن خشک و محتوای آبی بذور یا گیاهچه ها به صورت (وزن خشک/ (وزن خشک - وزن تر)) اندازه گیری شد. برای اندازه گیری وزن تر و خشک از ۱۰ عدد بذر نمونه برداری شده بصورت تصادفی استفاده گردید. هنگامی که ریشه چه کاملاً از پوشش بذر بیرون زده شد و با چشم غیرمسلح مشاهده گردید، مبنای جوانه زنی در نظر گرفته شد.

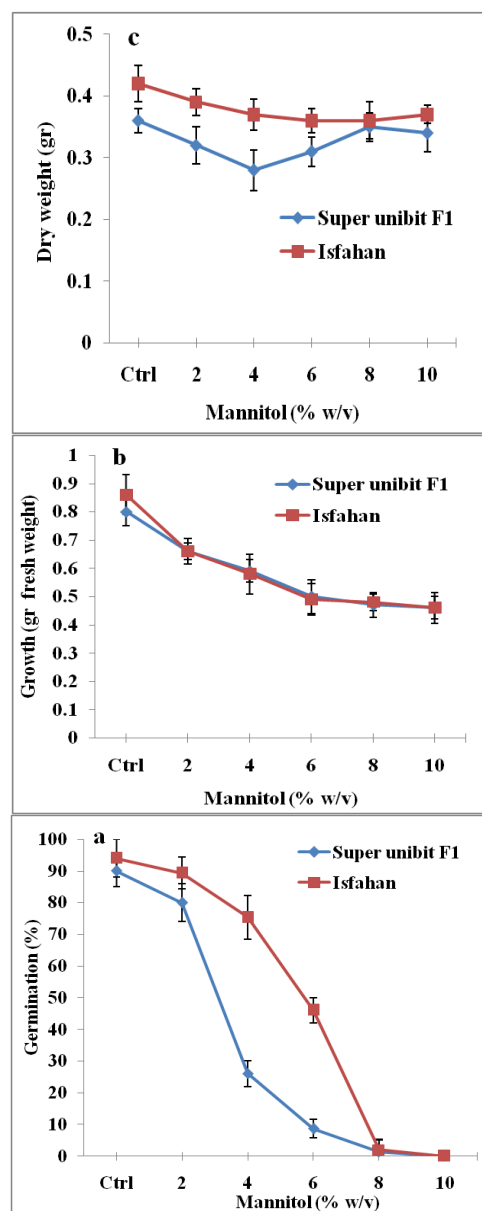
unibit F1) خیار تحت اثر غلظت های مختلف مانیتول. مقادیر نشان داده شده میانگین ۳ تکرار و  $\pm$  SD (انحراف معیار) می باشد.



شکل ۲: تغییر میزان فعالیت آنزیم های فسفاتاز اسیدی (a) و فسفاتاز قلیایی (b) گیاهچه های رقم بومی (اصفهان) و اصلاح شده (Super unibit F1) خیار ۵ روز پس از تیمار غلظت های مختلف مانیتول. مقادیر نشان داده شده میانگین ۳ تکرار و  $\pm$  SD (انحراف معیار) می باشد.

مقایسه میزان فعالیت آنزیم های فسفاتاز تحت تنش خشکی در ارقام مورد بررسی نشان داد که فسفاتاز اسیدی همواره از فعالیت بیشتری نسبت به فسفاتاز قلیایی در هر دو رقم برخوردار بود.

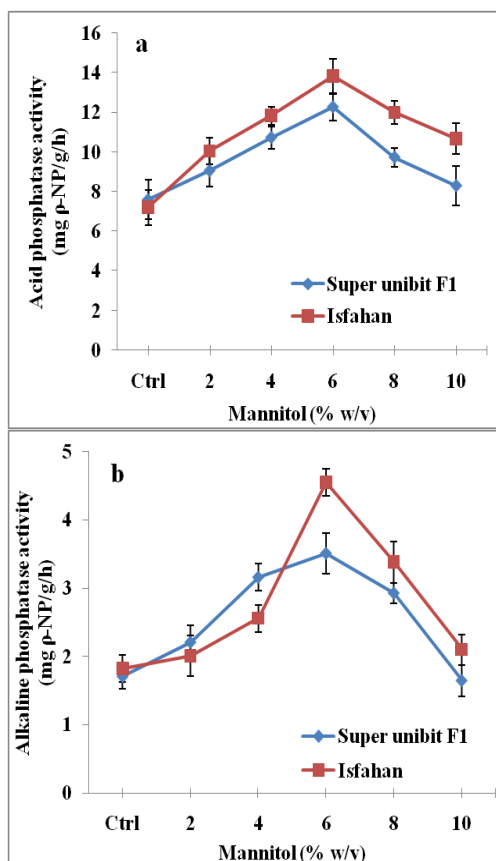
جالب توجه این بود که در سطوح بالای تنش فعالیت این آنزیمها در رقم بومی نسبت به رقم اصلاح شده بیشتر بود. در ارزیابی دیگری که از فعالیت آنزیمهای مذکور پس از گذشت ۱۰ روز از تاریخ اعمال تنش خشکی صورت گرفت نتایج مشابهی بدست آمد و فعالیت آنزیمهای مذکور با افزایش میزان تنش در رقم بومی بیشتر افزایش یافت (شکل ۳).



شکل ۳: تغییر میزان جوانه زنی بذر (a) و رشد (وزن تر (b) و وزن خشک (c)) گیاهچه های رقم بومی (اصفهان) و اصلاح شده (Super unibit F1) در اثر افزایش تنش خشکی.

## بحث

شوری در جنین افزایش یافت. بنظر می رسد تغییرات صورت گرفته در فعالیت فسفاتازها احتمالا نقش مهمی در سازگاری بذرها در حال جوانه زنی نسبت به تغییر شرایط زیست محیطی دارد.



شکل ۳: تغییر میزان فعالیت آنزیم های فسفاتاز اسیدی (a) و فسفاتاز قلیایی (b) گیاهچه های رقم بومی (اصفهان) و اصلاح شده (Super unibit F1) خیار ۱۰ روز پس از تیمار غلظت های مختلف مانیتول. مقادیر نشان داده شده میانگین ۳ تکرار و  $\pm$  SD (انحراف معیار) میباشد.

نتایج نشان داد که رقم بومی اصفهان در خصوص صفات جوانه زنی، رشد به صورت وزن خشک، فعالیت فسفاتاز اسیدی و همچنین فعالیت فسفاتاز قلیایی در سطوح بالای تنش نسبت به رقم اصلاح شده برتر بود. آزمایشات نشان داده است که طیف وسیعی از تحمل نسبت به تنش ها از جمله خشکی در بین گیاهان دیده میشود و گونه های مختلف از این نشان می متفاوتند (Robinson et al. 1997). این یافته ها نشان می دهد که تفاوت فعالیت فسفاتاز بین ارقام مورد بررسی وابسته به ژنوتیپ است. همچنین یافته ها اشاره بر آن دارند که تنش های شوری و خشکی در گونه های مختلف با توجه به درجات تحمل آنها نسبت به تنش، رشد و متابولیسم گیاه را از طریق اثرات اسمزی، عدم تعادل غذایی و یا اثرات سمی یون به صورت منفی به مقادیر متفاوتی تحت تاثیر قرار می دهد. در گیاهان حساس به خشکی و شوری، این تنش ها باعث اختلالات متابولیسمی شامل کاهش سرعت فتوسنتز، تغییر در متابولیسم پروتئین ها و اسیدهای نوکلئیک و فعالیت آنزیم ها می شود حال آنکه در گیاهان مقاوم به شوری و خشکی، فرایندهای فیزیولوژیک توسط غلظت های نمک و فشار اسمزی بالا که در گیاهان حساس بازدارنده است، افزایش یافته و یا تغییر نمی یابد (Levitt 1980).

فعالیت فسفاتازها با افزایش شدت تنش یعنی تا غلظت ۶ درصد مانیتول افزایش یافت. این نتایج نشان می دهد که با افزایش شدت تنش، فعالیت فسفاتازها که در آزادسازی و تامین فسفر مورد نیاز برای رشد و متابولیسم در بذر و گیاهچه های در حال رشد نقش دارند افزایش می یابد. این نتایج با یافته های احسان پور و امینی (۲۰۰۳) که نشان دادند فعالیت فسفاتاز اسیدی تحت شرایط تنش خشکی در دو رقم از یونجه افزایش می یابد هماهنگی نشان می دهد. شارما و همکاران (۲۰۰۴) اثر هورمون های گیاهی و تنش ها را روی فعالیت فسفاتازها در بذرها درت خوشه ای (*Sorghum bicolor*) مورد بررسی قرار دادند. آنها مشاهده کردند که فعالیت فسفاتازها به مقدار قابل توجهی تحت اثر اسید ژیریلیک و

## Effect of drought stress on acid and alkaline phosphatase activity in two native and breded cultivars of cucumber (*Cucumis sativus* L.)

Ayatollah Rezaei<sup>\*1</sup>, Yavar Sharafi<sup>1</sup>, Alireza Ghanbari<sup>1</sup>, Alaeddin Kordenaeej<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Department of Horticulture, Faculty of agricultural Sciences, Shahed University, Tehran, Iran

<sup>2</sup>Department of Agronomy and Plant Breeding, Faculty of agricultural Sciences, Shahed University, Tehran, Iran  
arezaei@shahed.ac.ir

**Abstract** - Effect of drought stress on growth and activity of acid and alkaline phosphatase enzymes in native (Isfahan cultivar) and breded (Super unibit F1 Cultivar) cultivars of cucumber was investigated. Drought stress was applied by various concentrations of mannitol containing 2, 4, 6, 8 and 10% (w/v). The results showed that by increasing stress level with the exception of dry weight, characters such as germination, seedlings fresh weight and water content strongly decreased. Phosphatases activities increased by the increase in stress level up to 6% mannitol. Acid phosphatase activity was far greater than the activity of alkaline phosphatase under stress conditions.

**Keywords:** Drought stress, Cucumber, seedling growth, Phosphatase

## References

- Levitt J. 1980.** Responses of plant to environmental stresses; water, radiation, salt and other stresses, vol. 2. Academic Press, New York.
- Olmos E., Hellin E. 1997.** Cytochemical localization of ATPase plasma membrane and acid phosphatase by cerium based in a salt-adapted cell line of *Pisum sativum*. J. Exp. Bot. 48: 1529-1535.
- Robinson M., Very A., Sanders D., Mansfield T.A. 1997.** How can stomata contribute to salt tolerance? Ann. Bot. 80: 387-393.
- Sharma AD., Thakur M., Rana M., Singh K. 2004.** Effect of plant growth hormones and abiotic stresses on germination, growth and phosphates activities in *Sorghum bicolor* L. Moench seeds. Afr. J. Biotechnol. 6: 308-312.
- Stephen M.G., Duff S.M.G., Plaxton W.C. 1994.** The role of acid phosphatases in plant phosphorus metabolism. Physiol. Plant. 90: 791-800.
- Yan X., Liao H., Trull M.C., Beebe S.E., Lynch J.P. 2001.** Induction of a major leaf acid phosphatase does not confer adaptation to low phosphorus availability in common bean. Plant Physiol. 125: 1901-1911.
- Barrett-Lennard, E.G., Robson A.D., Greenway H. 1982.** Effect of phosphorus deficiency and water deficit on phosphatase activities from wheat leaves. J. Exp. Bot. 33: 682-693.
- Bohnert H.J., Nelson D.E., Jensen R.G. 1995.** Adaptations to environmental stresses. Plant Cell. 7: 1099-1111.
- Ehsanpour A.A., Amini F. 2003.** Effect of salt and drought stress on acid phosphatase activities in alfalfa (*Medicago sativa* L.) explants under in vitro culture. Afr. J. Biotechnol. 2:133-135.
- Fincher G.B. 1989.** Molecular and cellular biology association with endosperm mobilization in germination cereal grains. Annual Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol. 40: 305-346.
- Hegeman C.E., Grabau E.A. 2001.** A novel phytase with sequence similarity to purple acid phosphatases is expressed in cotyledons of germinating soybean seedlings. Plant Physiol. 126: 1598-1608.
- Julie E.H., Richardson A.E., Simpson R.J. 1999.** Phytase and acid phosphatase activities in extracts from roots of temperate pasture grass and legum seedlings. Aus. Plant Physiol. 26: 801-809.