مجله تازه های بیوتکنولوژی سلولی - مولکولی
دوره نهم، شماره سی و چهار - بهار ۱۳۹۸

Research Article
مقاله تحقیقی

اثر مصرف آهن بر بیان ژن Cm APX در شرایط تنش شوری در توده‌های خربزه بومی سیستان

سمیه منتظری‌نژاد[۱]، محمود سلوکی[۲]، براتعلی فاخری[۲]

۱. گروه بیوتکنولوژی کشاورزی دانشگاه زابل، زابل، ایران.
۲. گروه اصلاح نباتات و بیوتکنولوژی دانشگاه زابل، زابل، ایران

چکیده

سابقه و هدف: عناصر کم مصرف مانند آهن نقش مهمی را به‌عنوان کوفاکتور در ساختمان تعدادی از آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان ایفا می‌کنند. در مطالعه حاضر، بیان ژن آسکوربات پراکسیداز (Cm APX) در پاسخ به تنش شوری و محلول‌پاشی آهن در توده‌های خربزه بومی سیستان مورد بررسی قرار گرفت.

مواد و روش‌ها: سه توده خربزه بومی سیستان شامل سفیدک، قندک و خط‌دار، در سه سطح شوری (صفر، ۲۵۰ و ۳۵۰ میلی-مولار) و ۲ سطح محلول پاشی آهن (۲ گرم در هزار و شاهد با محلول پاشی آب مقطر) در قالب طرح بلوک کامل تصادفی به‌صورت گلدانی در سه تکرار در پژوهشکده زیست فناوری دانشگاه زابل کشت گردید. سپس بیان ژن Cm APX با استفاده از روش Real Time PCR مورد بررسی قرار گرفت.

یافته‌ها: تنش شوری و محلول پاشی آهن تأثیر معنی‌داری بر میزان بیان ژن Cm APX داشت. میزان بیان ژن Cm APX در توده قندک در شرایط تنش شوری نسبت به نمونه کنترل افزایش نشان داد و هم‌چنین با استعمال آهن نیز بیان آن افزایش یافت. اما توده خط‌دار کم‌ترین میزان بیان ژن Cm APX نسبت به نمونه کنترل را در سطح شوری ۳۵۰ میلی‌مولار نشان داد که با استعمال آهن میزان بیان آن بهبود یافت.

نتیجه‌گیری: با مصرف عنصر کم مصرف آهن، قدرت دفاعی گیاه خربزه به تنش شوری افزایش یافت. میزان افزایش بیان ژن Cm APX موید این نکته است که رقم قندک به‌عنوان رقم مقاوم و رقم خط‌دار به عنوان رقم حساس به شوری است.

واژه‌های کلیدی: آسکوربات پراکسیداز، بیان ژن، شوری، محلول‌پاشی آهن

مقدمه

به‌طور کلی، خربزه به‌عنوان گیاه نیمه متحمل به شوری شناخته شده است. خربزه در منطقه سیستان در اواخر بهار و تابستان فراوان‌ترین و پرمصرف‌ترین میوه منطقه است. خربزه-های تولیدی سیستان به‌علت گرما و خشکی هوا معطر شده و طعم شیرین و مطبوع به خود می‌گیرند و باعث افزایش کیفیت محصول می‌گردد. اما شوری خاک و آب در کاهش کیفیت و عملکرد این گیاه تأثیر بسزایی دارد (۱).

تنش‌های محیطی مانند شوری از عوامل مهم در کاهش عملکرد گیاهان زراعی به شمار می‌آیند. شوری تجمع بیش از حد املاح در خاک است به‌نحوی‌که در اثر آن گیاه در جذب آب با مشکل مواجه می‌شود. شور شدن خاک در مناطق خشک به‌طور گسترده‌تری به وقوع می‌پیوندد، زیرا در این نواحی میزان نزولات آسمانی جهت شستشوی نمک از ناحیه ریشه کافی نیست (۲۳). شوری از طریق کاهش پتانسیل آب و خاک، کاهش فشار تورژسانس سلول‌ها، به‌هم زدن تعادل عناصر غذایی در خاک و گیاه و هم‌چنین از طریق ایجاد سمیت باعث کاهش رشد گیاهان می‌گردد (۲۱).

نویسنده مسئول:
گروه بیوتکنولوژی کشاورزی دانشگاه زابل، زابل، ایران
پست الکترونیکی: montazerinezhad@gmail.com
تاریخ دریافت: ۱۳۹۳/۷/۸
تاریخ پذیرش: ۱۳۹۴/۲/۲۱

[Downloaded from ncmbjpiau.ir on 2026-11-12]
[DOR: 20.1001.1.22285458.1398.9.34.8.8]

یکی از تغییرهای بیوشیمیایی در گیاهانی که در شرایط تنش‌های محیطی قرار دارند، تولید گونه‌های اکسیژن فعال است. تنش شوری، با افزایش انتقال الکترون به مولکول اکسیژن، موجب تولید گونه‌های اکسیژن فعال مانند رادیکال سوپر اکسید (O^{-}_{2})، رادیکال هیدروکسیل (OH^{o})، پراکسید هیدروژن (H_2O_2) و اکسیژن منفرد می‌شود (۴)، بنابراین یکی از پیامدهای اجتناب‌ناپذیر تنش شوری، افزایش تولید گونه-های اکسیژن فعال در اجزای مختلف سلولی مانند کلروپلاست‌ها، پراکسی زوم‌ها و میتوکندری‌ها است (۱۰). گیاهان برای کاستن آسیب‌های ناشی از گونه‌های اکسیژن فعال دارای سازوکارهای آنتی‌اکسیدانی هستند که شامل اجزای غیرآنزیمی مانند آسکوربات، گلوتاتیون، توکفرول، کارتنوئیدها و فلاونوئیدها و آنزیم‌هایی مانند سوپراکسید دیسموتاز (Dismutase Superoxide)، کاتالاز (Catalase)، پراکسیداز (Peroxidase)، آسکوربات پراکسیداز (Ascorbate peroxidase)، گلوتاتیون ردوکتاز (Glutathione reductase) و پلی فنل اکسیداز (poly- phenol oxidase) هستند (۲). فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان نقش مهمی را در پاکسازی گونه‌های اکسیژن فعال ایفا می‌کنند. این آنزیم‌ها توانایی تحمل به تنش در گیاه را افزایش می‌دهند (۳). آنزیم-های SOD، APX و CAT از سیستم‌های فتوسنتزی گیاهانی که در معرض تنش‌های محیطی قرار گرفته‌اند، حفاظت می‌کنند (۶). گزارش شده است که آنزیم آسکوربات پراکسیداز به‌عنوان مهم‌ترین جزء سیستم آنتی‌اکسیدانی در پاسخ به تنش‌های اکسیداتیو فعال شده و نقش حفاظتی در تحمل به تنش ایفا می‌کند (۱۵). آنزیم آسکوربات پراکسیداز از مهم‌ترین آنزیم‌های خنثی کننده پراکسید هیدروژن در گیاهان است. در ساختار این آنزیم مولکول آهن به‌کار رفته است و فعالیت آن به‌طور احتمال تحت تأثیر کمبود آهن قرار می‌گیرد (۳۱).

در خاک‌های شور و قلیایی حلالیت عناصر کم نیاز نظیر آهن، منگنز، مس، روی و مولیبدن به‌دلیل باند شدن پایین بوده و در این خاک‌ها گیاهان اغلب از نظر عناصر فوق دچار کمبود هستند (۸). تغذیه برگی از راه‌های مؤثر در رفع نیاز غذایی گیاهان به عناصر کم مصرف است (۳۳). مصرف عناصر کم نیاز از طریق کاهش اثرهای منفی یون‌های سمی می‌تواند مقاومت گیاهان را در برابر تنش در آزمایش افزایش دهد (۱۱).

با توجه به نقش ساختاری عناصر ریزمغذی از جمله آهن، منگنز و روی در برخی آنزیم‌ها و هم‌چنین نقش مؤثر آن‌ها در سنتز پروتئین‌ها، با مصرف این عناصر علاوه بر افزایش عملکرد مقاومت گیاهان تحت تنش‌های محیطی مورد انتظار نیز افزایش می‌یابد (۵).

در آزمایش Emadi (2010) افزایش غلظت آهن در محلول غذایی موجب تعدیل اثرهای تنش شوری بر آفتابگردان گردید. در آزمایش دیگری روی گیاه آفتابگردان محلول‌پاشی آهن در بهبود رشد گیاه مؤثر بود (۱۲). در آزمایش El-Fouly و همکاران (2010) محلول‌پاشی عناصر آهن، منگنز و روی موجب بهبود رشد گندم تحت تنش شوری گردید. نتایج مشابهی توسط Zayed و همکاران (2011) برای برنج گزارش شد.

بررسی اثرهای تنش شوری به کمک آنزیم‌ها، می‌تواند با سرعت بیش‌تری به شناسائی پایه‌های مقاوم یک گیاه منجر شود، چراکه رابطهٔ قوی در تحمل به تنش‌های محیطی و تغییرهای غلظت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان در گیاهان فتوسنتز کننده وجود دارد و با عنایت به‌این‌که سنتز هر ماده‌ای در سلول‌ها تحت کنترل ژن‌ها است، لذا می‌توان با شناسائی ژن-های مسئول سنتز این مواد و انتقال آن به گیاهان دیگر، با سرعت بیش‌تری به تولید پایه‌های مقاوم به شوری پرداخت (۱۹).

بنابراین هدف از این تحقیق، مطالعه بیان ژن Cm APX در شرایط تنش شوری و محلول‌پاشی آهن به‌صورت برگی در توده‌های خربزه بومی سیستان است.

روش کار

مواد گیاهی و تیمارهای تنش

جهت انجام این مطالعه بذور سه توده سفیدک، قندک و خط-دار را با محلول هیپوکلریت‌سدیم ۱ درصد به‌مدت ۵ دقیقه ضدعفونی کرده و پس از شستشو با آب مقطر در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲۴ ساعت قرار داده شد. سپس ۲ بذر از هر توده به‌صورت جداگانه در گلدان‌های پلاستیکی که حاوی ماسه کامل شسته با آب مقطر بود کشت گردید و تا ظهور دومین برگ هر روز با آب مقطر به‌نحوی‌که خروج اولین قطره‌های آب از ته گلدان مشاهده شود، آبیاری شدند. آزمایش با سه تکرار و در سه سطح شوری (۲۵۰ mM و ۳۵۰ mM برای گیاهان تحت تنش و صفر برای گیاهان شاهد) و تحت سه تیمار محلول‌پاشی (۲، ۴ گرم و شاهد محلول‌پاشی آب مقطر) انجام گردید. هنگامی‌که دومین برگ ظاهر شد، به گیاهان شاهد فقط محلول هوگلند (۱۶) افزوده شد و برای اعمال تنش در مورد گیاهانی که باید به آن‌ها تنش وارد شود ابتدا گلدان‌ها به ظرف دارای دیواره منتقل شده و سپس

[Downloaded from ncmbjpiau.ir on 2026-11-12]

[DOR: 20.1001.1.22285458.1398.9.34.8.8]

محلول با سطح شوری مورد نظر را درون آن ریخته تا محلول به آرامی از لای ماسه‌ها بالا آمده و به سطح گلدان برسد؛ گیاه ۵-۴ ساعت در این شرایط باقی می‌ماند تا به‌صورت کامل یکنواخت سطح شوری مورد نظر را دریافت کند. این کار به‌مدت سه روز و به‌تدریج برای سازگار شدن گیاهان انجام گرفت. جهت محلول‌پاشی آهن نیز در طی دوران تنش محلول موردنظر به برگ‌ها اسپری گردید و سپس دومین برگ برداشت شد و در دمای ۸۰°C- تا زمان استخراج نگهداری گردید.

جداسازی RNA و ساخت cDNA

RNA کل توسط کیت CinnaPure RNA شرکت کیاژن استخراج شد. هم‌چنین جهت تعیین کیفیت RNA نیز مقدار ۵ میکروگرم از هر نمونه (بر اساس نتایج اسپکتروفتومتری محاسبه شده) روی ژل ۱/۵٪ آگارز، الکتروفورز شد تا نسبت‌به کیفیت بالای آن اطمینان حاصل شود. تشکیل دو باند مربوط به RNA ریبوزومی 18s و 28s در روی ژل نشان‌دهنده کیفیت بالای RNA تخلیص شده بود. تیوب‌ها جهت نگهداری، در دمای ۸۰- درجه سانتی‌گراد قرار داده شدند. دومین مرحله بعد از استخراج RNA سنتز DNA معکوس از روی آن جهت انجام مراحل بعدی است. جهت یکسان‌سازی در ساخت cDNA از ۱۰۰۰ نانوگرم RNA در همه نمونه‌ها استفاده شد. این واکنش با استفاده از 2-Steps RT-PCR kit ساخت شرکت Vivantis انجام گرفت.

انجام روش QRT-PCR

در این تحقیق از دستگاه Real Time PCR SetCorbett (3000) و کیت Hot Tag EvaGreen qPCR master mix (ROX) شرکت سیناژن برای ارزیابی کمی استفاده گردید. آغازگرها توسط نرم‌افزارهایAlleID7 و نرم‌افزارهای آنلاین مانندIdtdna oligo analyzer و Primer 3 از نظر محل اتصال و ویژگی‌های مطلوب مورد بررسی و آنالیز قرار گرفت، و هم‌چنین توسط NCBI Blast از یکتا بودن بودن محل جفت شدن آغازگرها اطمینان حاصل شد؛ سپس با سفارش شرکت سیناژن از شرکت Ligo-Macrogen lnc کره جنوبی تهیه گردید. آغازگرهای طراحی برای ژن Cm APX، F (ACTACCAACCCTCTCAT) و R (TCAGCAAAAAAAGCATCCTC) است. از آنجایی‌که ژن مرجع 18s rRNA نسبت‌به GAPDH و بتا اکتین ثبات بیش‌تری را از نظر بیان نشان می‌دهد ژن قابل اطمینان‌تری جهت انتخاب به‌عنوان کنترل داخلی و انجام نرمال‌سازی محسوب می‌شود (۳۵). آغازگرهای طراحی شده برای ژن 18s rRNA، F(GGACAGGATTGACAGATTGATA) و R(CTCGTTCGTTATCGGAATTAATTA) است.

۲۰ میکرولیتر مخلوط واکنش شامل یک میکرولیتر از هر یک از آغازگرهای اختصاصی پیشرو و پسرو با غلظت ۱۰ میکرومول، ۴ میکرولیتر Master mix و ۱ میکرولیتر نمونه cDNA و تا حجم ۲۰ میکرولیتر از آب مقطر استریل استفاده شد. برای هر واکنش سه تکرار در نظر گرفته شد. پس از آماده نمودن مخلوط واکنش پلیت مورد نظر به دستگاه منتقل گردید و واکنش زنجیره‌ای پلی‌مراز با شرایطی که در جدول ۱ ذکر شده است، انجام گرفت.

در ارزیابی الگوی بیان ژن‌ها از دو روش ارزیابی مطلق و ارزیابی نسبی می‌توان استفاده نمود. در ارزیابی مطلق، تعداد دقیق رونوشت هر ژن در تمامی تیمارها حتی تیمار کنترل نیز مشخص می‌شود. ولی در ارزیابی نسبی، میزان افزایش یا کاهش بیان ژن در هر تیمار به‌صورت نسبت بیان می‌شود که در این حالت امکان اندازه‌گیری میزان بیان ژن در تیمار کنترل وجود ندارد و به‌عبارت دیگر عدد یک در نظر گرفته می‌شود. بنابراین بیان نسبی ژن‌ها با روش pfaffel محاسبه گردید (۲۶). به این‌صورت‌که هر تیمار با گیاهان کنترل مربوط به توده مورد مطالعه مقایسه گردید. جهت تجزیه داده‌ها از نرم افزار REST (۲۶) استفاده شد.

جدول ۱- شرایط دمایی و زمانی واکنش Real time PCR

مرحله	دما و زمان مورد استفاده
فعال سازی ابتدایی آنزیم	۹۵ درجه سانتی‌گراد به‌مدت ۱۵ دقیقه
۴۰چرخه شامل مراحل زیر	
واسرشت شدن	۹۵ درجه سانتی‌گراد به‌مدت ۳۰ ثانیه
اتصال آغازگرها	۵۶ درجه سانتی‌گراد به‌مدت ۴۵ ثانیه
بسط ترکیبی	۷۲ درجه سانتی‌گراد به‌مدت ۳۰ ثانیه
منحنی ذوب	افزایش دما از ۵۰ درجه تا ۹۹ درجه هر ۵ ثانیه۱ درجه

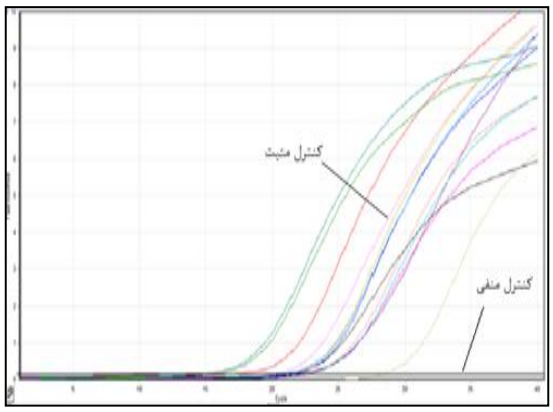
نتایج

برای هر دو ژن Cm APX و 18srRNA عمل تکثیر صورت گرفت که نتایج تکثیر برای هر دو ژن به طور جداگانه ذکر می گردد:

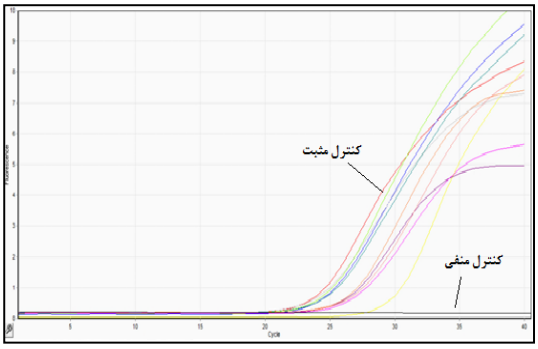
[Downloaded from ncmbjpiau.ir on 2026-11-12]

[DOR: 20.1001.1.22285458.1398.9.34.8.8]

شکل ۱- منحنی تکثیر ژن 18s rRNA.



شکل ۲- منحنی تکثیر ژن Cm.APX. در این منحنی شماره سیکل در محور افقی و شدت نور فلورسانت ساطع شده از دستگاه در محور عمودی قرار می‌گیرد.



منحنی تغییرات فلورسانت بر حسب دما برای دو ژن Cm APX و 18srRNA نیز رسم شد، کاهش ناگهانی شدت نور فلورسانت برای ژن Cm APX و 18srRNA به ترتیب در دمایی حدود ۸۷° C و ۸۶° C درجه دیده می شود. این موضوع به این معنی است که Tm محصول ژن Cm APX، C ۸۷° و برای ژن 18srRNA ، ۸۶° C است.

پس از مشتق گیری از منحنی تغییرات فلورسانس منحنی درجه دومی به دست می آید. در این منحنی هر peak نمایانگر یک محصول است که وجود یک پیک مشترک برای تمامی محصولات نشان دهنده اختصاصی بودن محصول واکنش Real time PCR است.

پس از رسم منحنی استاندارد بازده واکنش برای ژن 18s rRNA و Cm APX محاسبه گردید. بازده واکنش برای ژن 18s rRNA برابر با ۰/۹۹ و میزان R^2 برابر ۰/۹۵، و برای ژن Cm APX برابر با ۰/۹۴ و میزان R^2 برابر ۰/۹۸ به دست آمد.

جدول ۲- آنالیز بیان ژن Cm APX در توده‌های خربزه بومی سیستن تحت تیمار با تنش شوری و محلول‌پاشی با آهن با استفاده از نرم‌افزار REST 2009

توده/سطح شوری	ارزیابی نسبی بیان ژن Cm APX** تحت تیمار شوری	ارزیابی نسبی بیان ژن Cm APX** تحت تیمار شوری و محلول پاشی آهن	P(H0)
سفیدک/۳۵۰ میلی‌مولار	3.05	3.75	0.073 ns
سفیدک/۲۵۰ میلی‌مولار	3.15	4.36	0.023 *
قندک/۳۵۰ میلی مولار	4.47	4.91	0.046 *
قندک/۲۵۰ میلی‌مولار	6.39	6.88	0.033 *
خط دار/ ۳۵۰ میلی‌مولار	0.72	1.52	0.049 *
خط دار/ ۲۵۰ میلی‌مولار	2.81	3.34	0.08 ns

*، ns به ترتیب نشان دهنده تفاوت معنی دار در سطح آماری ۵٪ و عدم معنی داری است.

** در ارزیابی نسبی، میزان افزایش یا کاهش بیان ژن در هر تیمار به صورت نسبت بیان می شود که در این حالت امکان اندازه‌گیری میزان بیان ژن در تیمار کنترل وجود ندارد و به‌عبارت دیگر عدد یک در نظر گرفته می‌شود

[Downloaded from ncmbjpiau.ir on 2026-11-12]

[DOR: 20.1001.1.22285458.1398.9.34.8.8]

سپس واکنش Real Time PCR، طبق چرخه بیان شده در قسمت مواد و روش ها انجام گرفت.
پس از به‌دست آوردن Ct هر دو ژن 18srRNA و Cm APX برای تمام نمونه‌ها، آنالیز با استفاده از نرم‌افزار REST 2009 (QIAGEN GmbH, December 2009) انجام گرفت.

ژن Cm APX در توده خربزه بومی سفیدک ۳۵۰mM تحت تیمار تنش شوری ۳/۰۵ برابر نمونه شاهد بیان شد و با محلول-پاشی آهن بیان این ژن ۳/۷۵ برابر نمونه شاهد افزایش یافت که نسبت به شرایط تحت تنش افزایش بیان داشته است اما در سطح ۵٪ معنی‌دار نشد. ژن Cm APX در این توده در سطح شوری ۲۵۰mM، ۳/۱۵ برابر نمونه شاهد بیان شده است و با محلول‌پاشی آهن ۴/۳۶ برابر نمونه شاهد رسید و در سطح ۵٪ معنی‌دار بود. در توده قندک بین سطح تظاهر ژن Cm APX تحت حالات تنش شوری و کنترل تفاوت قابل ملاحظه‌ای وجود داشت. با استعمال آهن به‌صورت محلول‌پاشی در سطح ۳۵۰ میلی‌مولار از ۴/۴۷ به ۴/۹۱ برابر نمونه شاهد و در سطح ۲۵۰ میلی‌مولار از ۶/۳۹ به ۶/۸۸ برابر نمونه شاهد رسید و تفاوت هر دو تیمار شوری (۳۵۰mM، ۲۵۰mM) نسبت‌به نمونه شاهد در سطح ۵٪ معنی‌دار شد؛ به‌علاوه بیان ژن Cm APX در این توده نسبت به دیگر توده‌های مورد آزمایش افزایش بیش‌تری نشان داد. بیان ژن Cm APX در توده خط-دار در سطح شوری۲۵۰ mM، ۲/۸۱ برابر نمونه شاهد بیان شد که در سطح ۵٪ معنی‌دار نشد و با محلول‌پاشی آهن به-صورت برگی تا ۳/۴۳ برابر نمونه شاهد رسید و در سطح ۵٪ معنی‌دار بود اما توده خط‌دار نسبت‌به دیگر توده‌های مورد مطالعه نسبت‌به شوری در سطح ۳۵۰ میلی‌مولار حساس بود با محلول‌پاشی آهن میزان ژن Cm APX را در این توده افزایش یافت. بنابراین می‌توان به این نتیجه رسید که با استعمال آهن در همه توده‌ها و در همه سطوح شوری بیان ژن Cm APX افزایش یافت و در تحمل به گیاه در شرایط شوری نقش مؤثری دارد (جدول ۲).

بحث

در شرایط رشد طبیعی تولید ROS در سلول‌های گیاهی بسیار اندک است اما تحت شرایط تنش زنده و غیر زنده مانند شوری بالا هموستازی سلولی مختل شده و منجر به تولید ROS در سطح به‌نسبت بالایی می‌گردد (۲۲). رادیکال‌های آزاد اکسیژن می‌توانند خسارت زیادی به ماکرومولکول‌های حیاتی از قبیل دناتوره کردن پروتئین، موتاسیون DNA و پراکسیداسیون لیپیدها وارد کنند. گیاهان دو توع مکانیسم دفاعی آنزیمی و غیر آنزیمی برای پاک‌سازی ROS تولید شده در شرایط تنش دارند (۹). به هر حال ROS تولید شده می‌تواند توسط مکانیسم غیرآنزیمی مانند آسکوربات پراکسیداز پاکسازی شود. آسکوربات پراکسیداز (APX) در تنظیم مرگ سلولی، پیری گل‌ها، واکنش در مقابل حمله پاتوژن و حفاظت در برابر گرما، سرما، شوری، خشکی، اشعه UV، شدت نور خورشید و غیره دخالت دارد (۲۰، ۱۴).
نتایج آزمایش‌های متعدد نشان داده که مصرف عناصر کم مصرف، اثرهای تنش‌های محیطی از قبیل تنش خشکی و شوری را کاهش می‌دهند (۳۷)، زیرا عناصر کم مصرف مانند آهن، روی، مس، منیزیم و منگنز، نقش مهمی را به‌عنوان کوفاکتور در ساختمان تعدادی از آنزیم‌های آنتی اکسیدان ایفا می‌کنند. بنابراین هنگامی‌که گیاهان با کمبود این عناصر مواجه باشند، فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی کاهش می‌یابد و حساسیت به تنش‌های محیطی افزایش می‌یابد (۷).
مطالعه‌های کمی جهت ارزیابی ارتباط موجود بین عناصر غذایی و مکانیسم‌های دفاعی در گیاهان وجود دارد. در آفتابگردان، افزایش سطح H_2O_2 و در نتیجه کاهش APX، POX و SOD به‌عنوان پیامد کمبود آهن مورد بررسی قرار گرفته است (۲۹). هم‌چنین مطالعه‌های صورت گرفته بر روی چندین گونه گیاهی از قبیل خیار، چغندرقند و ذرت نشان می-دهد که آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانت تحت شرایط کمبود کاهش یافته‌اند (۲۹، ۳۲، ۳۷، ۳۸).
علی‌رغم اهمیت آهن در ایجاد تنش اکسیداتیو و تغییر فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانت، گزارش‌های زیادی در این ارتباط در گیاه خربزه وجود ندارد. شواهد اخیر در گیاهان نشان می‌دهد که آهن می‌تواند منجر به پاسخ‌های اکسیداتیو گردد. در بررسی محلول‌پاشی آهن در گندم، آسکوربات پراکسیداز به‌عنوان آنزیم آنتی‌اکسیدان افزایش یافته و در تحمل این گیاه به شرایط تنش نقش مؤثری داشته است (۳). در آزمایشی محلول‌پاشی آهن در *Nicotiana plumbaginifolia* به افزایش کاتالاز و آسکوربات پراکسیداز در برگ این گیاه منجر شده است (۱۸).
آهن در بخش هولو آنزیم APX مورد نیاز است بنابراین می-تواند در افزایش فعالیت و بیان این آنزیم نقش مؤثری داشته باشد و باعث تجمع mRNA ژن آسکوربات پراکسیداز گردد. نتایج ما در این مطالعه نیز نشان داده است که بیان ژن آسکوربات پراکسیداز با استعمال آهن به‌صورت محلول‌پاشی

[Downloaded from ncmbjpiau.ir on 2026-11-12]
[DOR: 20.1001.1.22285458.1398.9.34.8.8]

باعث تجمع mRNA این ژن در توده‌های خربزه بومی سیستان شده است. بیان آسکوربات پراکسیداز به‌عنوان یکی از آنزیم‌های شرکت کننده در مهار گونه‌های اکسیژن فعال، وابسته‌به آهن عمل می‌کند (۳۶). در آزمایشی توسط Pekker و همکاران (۲۰۰۲) محلول‌پاشی آهن باعث فعال شدن ژن APX در لوبیا گردید. در بررسی دیگری توسط Vansuyt و همکاران (۱۹۹۷) با استعمال آهن در کلزا *Brassica napus* بیان ژن APX افزایش پیدا کرد؛ مشابه نتایجی است که در این مطالعه به‌دست آورده شده‌است. هم‌چنین آهن در گیاه *Nicotiana plumbaginifolia* باعث افزایش بیان ژن APX گردید (۱۸).

ایشی کاوا و همکاران (۱۷) گزارش کرده‌اند که کمبود آهن منجر به کاهش کلی آسکوربات پراکسیداز سیتوزولی، در جلبک اوگلنا می‌شود. رادتکه و همکاران (۲۷) نیز گزارش دادند که برخی از سلول‌های گیاه اوگلنا که کمبود آهن دارند، نمی‌توانند در حضور ۱۰۰ میلی‌مولار پراکسید هیدروژن نمو یابند، درحالی‌که سلول‌های دارای مقدار کافی آهن، نسبت‌به پراکسید هیدروژن، از خود تحمل نشان دادند. بنابراین به‌نظر می‌رسد که فراوانی آهن در سلول، آسکوربات پراکسیداز را در اوگلنا کنترل می‌کند. Ramirez و همکاران نیز گزارش کردند که آهن باعث افزایش APX و GSH در گیاه آرابیدوپسیس می‌گردد (۲۸). با توجه‌به نتایج حاصل از آزمایش حاضر، به‌نظر می‌رسد که استعمال آهن به‌صورت محلول‌پاشی در توده‌های خربزه بومی مورد بررسی، در شرایط تنش شوری، باعث افزایش میزان بیان ژن آنزیم آسکوربات پراکسیداز در خربزه می‌شود.

بنابراین افزایش بیان ژن APX در اثر محلول‌پاشی آهن، به‌خصوص در شرایط تنش شوری، می‌تواند موجب حفظ و پایداری غشاهای سلولی و افزایش توان ظرفیت سیستم فتوسنتزی گیاه شود، زیرا از این طریق می‌توانند صدمات ناشی از تنش اکسیداتیو را کاهش داده که نتیجهٔ آن، افزایش عملکرد است (۳۶).

نتیجه گیری

نتایج بیانگر این نکته است که محلول‌پاشی آهن در افزایش بیان ژن Cm APX در توده‌های خربزه بومی سیستان تحت تنش شوری مؤثر است. در واقع با مصرف عنصر کم مصرف آهن، قدرت دفاعی گیاه خربزه به تنش شوری افزایش یافت. میزان افزایش بیان ژن Cm APX مؤید این نکته است که رقم قندک به‌عنوان رقم مقاوم و رقم خطدار به‌عنوان رقم حساس به شوری هستند.

سپاسگزاری

بدین وسیله از همکاری صمیمانه آقای داود نادری و سرکار خانم صالحه نادری و پژوهشکده زیست فناوری کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه زابل (بیوسنتر) تقدیر و تشکر می‌گردد.

[Downloaded from ncmbjpiau.ir on 2026-11-12]

[DOR: 20.1001.1.22285458.1398.9.34.8.8]

منابع

1. Ali Ahmadi H, Rostami H, Jahani A. Cultivation of Melons in Hamoon Lake, 2008, https://www.civilica.com/Paper-ICWC01 ICWC01_040.html
2. Agarwal S and V Pandey. Antioxidant enzyme resposes to NaCl stress in Cassia angustifolia. - Biol. Plant, 2004; 48: 555-560.
3. Alscher RG, Erturk N and Heath LS. Role of superoxide dismutase in controlling oxidative stress in plants . J. Exp. Bot, 2002; 53 (372): 1331-1341.
4. Asada K. The water–water cycle in chloroplasts: scavenging of active oxygen and dissipation of excess photons. Ann. Rev Plant Physiol. Plant Mol. Biol, 1999; 50: 601-639.
5. Cakmak I. Possible roles of zinc in protecting plant cells from damage by reactive oxygen species. New Phycologist, 2000; 146: 185-205.
6. Cavalcanti FR, Oliveira JT, Martins-Miranda A, Viegas AS and Silveira RA. Superoxide dismutase, catalase and peroxidase activities do not confer protection against oxidative damage in salt stressed cowpea leaves. New Phytol, 2004; 163: 563-71.
7. Corpas FJ, Sandalio LM, Del Rio LA and Trelease RN. Copper-zinc superoxide dismutase is a constituent enzyme of the matrix of peroxisomes in the cotyledons of oilseed plants. New Phytol, 1998; 138: 307-314
8. Cramer GR, Lauchl J, Lauchl A and Epstein E. Influx of Na, K and Ca into roots of salt stressed cotton seedlings: Effects of Supplemental Ca. PlantPhysiology, 1987; 83: 510-516.
9. Dat J, Vandenabeele S, Vranova E, Van Montagu M, Inze D and Van Breusegem F. Dual action of the active oxygen species during plant stress responses. Cell. Mol. Life Sci, 2000; 57: 779–795.
10. De Carvalho MHC. Drought stress and reactive oxygen species. Plant Signal Behav, 2008; 3(3): 156-165.
11. El-Fouly MM, Mobarak ZM and Salama ZA. Micronutrients (Fe, Mn, Zn) foliar spray for increasing salinity tolerance in wheat Triticum aestivum L. African J. Plant Science, 2010; 5: 314-322.
12. Emadi SS. Iron Nutrition Effect in Hydroponic Culture on the Response of Sunflower to Salinity. M. Sc. Thesis, Isfahan University of Technology, 2010, Isfahan (In Farsi).
13. Fathi AR, Zahedi M and Torabian SH. Effect of iron and zinc nanoparticle spraying on the activity of some antioxidant enzymes of wheat under salt stress. 2012. https://www.civilica.com/Paper-SDCONF01-SDCONF01_0363.html
14. Foyer CH, Noctor G. Ascorbate and glutathione: the heart of the redox hub. Plant Physiology, 2011; 155: 2-18.
15. Gueta-Dahan Y, Yaniv Z, Zilinskas BA and Ben-Hayyim G. Salt and oxidative stress: similar and specific responses and their relation to salt tolerance in Citrus. Planta, 1997; 203: 460–469
16. Hoagland DR and Arnon DI. The water culture method for growing plant without soil. California Agricultural Experiment Station Circular, 1950; 347:32–33.
17. Ishikawa T, Takeda T, Shigeoka S, Hirayama O and Mitsunaga T. Requirement for iron and its effect on ascorbate peroxidase in Euglena gracilis, Plant Sci, 1993; 93: 25–29.
18. Kampfenkel K, Van Montagu M and Inze D. Plant Physiol, 1995; 107: 725-735.
19. Karimi, H. 1996. Crops. University of Esfahan Publication.
20. Linster CL and Clarke SG. l-Ascorbate biosynthesis in higher plants: the role of VTC2. Trends in Plant Science, 2008; 13: 567–73.
21. Marschner H. Mineral nutrition of higher plants. 2nd Academic Press, 1995, Ltd. London
22. Mittler R. Oxidative stress, antioxidants and stress tolerance. Trends Plant Sci, 2002; 7: 405–409.
23. Owens S. Salt of the earth. genetic engineering may help to reclaim agriculture land use to Stalinization. EMBO Reports, 2001; 2: 877-879.
24. Pekker I, Tel-Or E and Mittler R. Reactive oxygen intermediates and glutathione regulate the expression of cytosolic ascorbate peroxidase during iron-mediated oxidative stress in bean. Plant Mol Biol, 2002; 49: 429–438
25. Pfaffl MW, Horgan GW and Dempfle L. Relative expression software tool (REST) for group-wise comparison and statistical analysis of relative expression results in realtime PCR. Nucleic Acids Research, 2002; 30: 36-46.

[Downloaded from ncmbjpiau.ir on 2026-11-12]

[DOR: 20.1001.1.22285458.1398.9.34.8.8]

26. Pfaffl MW. Relative quantification in: Real-time PCR, Dorak MT (ed). Taylor and Francis Group, 2007, UK.
27. Radtke K, Byrnes RW, Kerrigan P, Antholine WE and Petering DH. Requirement for endogenous iron cytotoxicity caused by hydrogen peroxide in *Euglena gracilis*. Mar. Environ. Res, 1992; 34: 339 –343.
28. Ramirez L, Guillermo Bartoli C and Lamattina L. Glutathione and ascorbic acid protect Arabidopsis plants against detrimental effects of iron deficiency. J. Experimental Botany, 2013; 10: 1-10.
29. Ranieri A, Castagna A, Baldan B and Soldatini GF. Iron deficiency differently affects peroxidase isoforms in sunflower. J. Experimental Botany, 2001; 52: 25–35.
30. Rao MV, Paliyath G and Ormerod DP. Ultraviolet-B- andozone induced biochemical changes in antioxidant enzymes of Arabidopsis thaliana. Plant Physiology, 1996; 110:125–136.
31. Shigeoka S, Ishikawa T, Tamoi M, Miyagawa Y, Takeda T and Yabuta Y. Regulation and function of ascorbate peroxidase isoenzymes. J. Exp. Bot, 2002; 53: 1305-1319.
32. Sun B, Jing Y, Chen K, Song L, Chen F and Zhang L. Protective effect of nitric oxide on iron deficiency-induced oxidative stress in maize (Zea mays). J. Plant Physiology, 2007; 164, 536–543.
33. Swiader, J. M. Micronutrient fertilizer recommendation for vegetable crop, Hortic facts, 2000; pp: 21-35.
34. Torabian SH and Zahedi M. Effects of Foliar Application of Common and Nano-sized of Iron Sulphate on the Growth of Sunflower Cultivars under Salinity. Iran J of Fie Cro Sci. 2013; 44: 109-118.
35. Tsuji N, Kamagata C, Furuya M, Kobayashi D, Yagihashi A and Morita T. Selection of an internal control gene for quantitation of mRNA in colonic tissues. Anticancer Research, 2002; 22: 4173-4178.
36. Vansuyt G, Lopez F, Inze D, Briat JF and Fourcroy P. Iron triggers a rapid induction of ascorbate peroxidase gene expression in Brassica napus. FEBS Letters, 1997; 410: 195-200.
37. Wang SH, Yang ZM, Yang H, Lu B, Li SQ and Lu YP. Copper-induced stress and antioxidative responses in roots of Brassica juncea. Bot. Bull. Academia Sinica, 2004; 45: 203-212.
38. Zaharieva T, Gogorcena Y and Abadia J. Dynamics of metabolic responses to iron deficiency in sugar beet roots. Plant Science, 2004; 166: 1045–1050.
39. Zaharieva TB and Abadia J. Iron deficiency enhances the levels of ascorbate, glutathione, and related enzymes in sugar beet roots. Protoplasma, 2003; 221: 269–275.

[Downloaded from ncmbjpiau.ir on 2026-11-12]

[DOR: 20.1001.1.22285458.1398.9.34.8.8]