SID

فیلم های آموزشی

عضویت در خبرنامه

بلاگ مرکز اطلاعات علمی

کارگاه های آموزشی

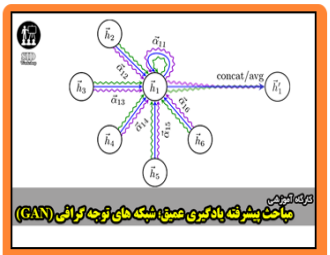
سرویس ترجمه تخصصی

سرویس های ویژه

کارگاه های آموزشی مرکز اطلاعات علمی جهاد دانشگاهی

کارگاه آنلاین مکالمه روزمره انگلیسی

کارگاه آنلاین آموزش استفاده از وب آو ساینس



مباحث پیشرفته یادگیری عمیق؛ شبکه های توجه گرافی

(Graph Attention Networks)

چهارمین همایش ملی بیوتکنولوژی جمهوری اسلامی ایران
کرمان مردادماه ۱۳۸٤

The 4th National Biotechnology congress
Islamic Republic of Iran
Kerman august 2005

International Center For Science & high Technology and Environmental Sciences

بررسی اثر سالیسیلیک اسید بر مقاومت دانه رستهای نخود (*Cicer arietinum L.*) نسبت به قارچ *Ascochyta rabiei* و برتغییرفعالیت آنزیمهای پراکسیداز وکاتالاز

مهدخت مداح*[1] ،احمد مجد[2] ، فتح ا... فلاحیان[1] ،فیروزه چلبیان[2] ،سید حسین صباغ پور[3]**

۱:دانشگاه آزاداسلامی،واحدعلوم وتحقیقات تهران،دانشکده علوم پایه،mahdokht120@yahoo.coml ۰۲۱٤۸۱۷۱۷۲ :Tel

۲: دانشگاه آزاد اسلامی، واحد تهران شمال، دانشکده علوم پایه،ahmajd@hotmail.com ،۰۲۱۲۷۱۷۲۱۱ :Tel

.۳: مؤسسه تحقیقات کشاورزی دیم sabaghpour@yahoo.com ۰۸۳۲۲۳۳۳٤۱۰ :Tel

چکیده

سالیسیلیك اسید(SA) یکی ازتنظیم کننده های مهم القای مقاومت گیاهان نسبت به عوامل بیماریزا است که باتغییرفعالیتهای متابولیکی ازجمله تغییرفعالیت آنزیمها موجب افزایش مقاومت گیاهان به عوامل بیماریزا می گردد.به منظور بررسي اثرضدقارچي SAوتاثیران برفعالیت آنزیمهاي پراکسیدازوکاتالاز،گروهي ازبذرهاي نخود(*Cicer arietinum L.*) رقم بیونیج به مدت ۳۰دقیقه درسوسپانسیون اسپورقارچ*Ascochyta rabiei* به میزان ۱۰[۶] اسپوردرهرمیلي لیتروگروه دیگردرآب مقطر سترون قرارگرفتند.سپس بذرهاي هردوگروه درپتري‌ها کشت شدند.این بررسي درقالب یك طرح کاملا تصادفي و به صورت آزمایش فاکتوریل با۳ تکرار اجرا و تجزیه وتحلیل گردید.عامل اصلي دو گروه آلودگي وعدم آلودگی به قارچ وعامل فرعي غلظتهاي صفر،۰/۱و۱/۵میلي مولارسالیسیلیك اسید بود،که سه روزوشش روزپس ازجوانه زني بذرها به هردوگروه اضافه شدند.عصاره های آنزیمی دانه رستهای ۸ روزه استخراج و مقدار پروتئین و فعالیت آنزیمهای پراکسیدازوکاتالاز عصاره ها سنجش شد. نتایج نشان داد تعداد دانه رستهاي آلوده درگیاهان تحت تیمار SA کاهش معنی‌داري درسطح یك درصد دارد.فعالیت آنزیم‌هاي پراکسیداز و کاتالازدرغلظت SA ۱/۵mM در ریشه هاکاهش و درانداممای هوایي افزایش معنی دار دارد.فعالیت آنزیمهاي پراکسیدازوکاتالازدر ریشه دانه رستهاي آلوده به قارچ بیشتر از ریشه دانه رستهاي بدون آلودگي است و در اندامهای هوایي آلوده به قارچ کمترمي‌باشد. تغییر الگوهای ایزوآنزیمي پراکسیدازریشه ها با الکتروفورز برروی ژل پلي اکریل آمید(سیستمPAGE)مورد بررسي قرارگرفت که نشان داد درپراکسیداز ریشه‌هاي آلوده به قارچ ایزوآنزیم جدیدي در ناحیه مولکولهاي سبك ظاهرمي‌شود.درنمونه های تحت تیمار SA ۰/۱mM که کمترین فعالیت آنزیم رادارند این باندحذف مي‌شود. درغلظت SA ۱/۵mMدوباند جدید یکي درناحیه مولکولهاي سنگین ودیگري درمحل مولکولهاي سبك به جاي دو باننددرناحیه مولکولهاي سنگین بوجودآمد.

واژه‌هاي کلیدي: نخود، *Cicer arietinum L.*، *Ascochytarabiei*، سالیسیلیك اسید، پراکسیداز، کاتالاز، الکتروفورز.

Effects of salicylic acid on resistance of chickpea (*Cicer arietinum* L.) seedling to *Acochyta rabiei* and on alteration of peroxidase and catalase activities Mahdokht

Maddah[1],Ahmad Majd[2], , Fatollah Fallahian[1], Firozeh Chalabian[2] , Sayyed Hossain Sabaghpour[3]

1- Islamic Azad University science & research branch,Tel:0214817170,mahdokht120@yahoo.com
2- Islamic Azad University North Tehran branch,Tel:0212717211,ahmajd@hotmail.com
3- Dried Land Agriculture Researches Institution,Tel:08322333410,sabaghpour@yahoo.com

Salicylic acid (SA) is an important regulator of induced plant resistance to pathogens. It is known as a regulator for physiological processes such as plant defense with effect on enzyme activities. Seeds of *Cicer arietinum L.* cultivar Bivanij soaked in spores suspension with 10^6spores in 1ml and water for 30 min then seeds cultivated in Petri dishes. This study was conducted as factorial experiments with randomized completed block design with 3 replications for studying effects of SA on resistance of chickpea to *Acochyta rabiei* and on alteration of peroxidase (POD) and catalase (CAT) activities. A factor was 2 groups of seeds inoculated with spores and with out infection and B factor was 3 concentration of SA 0, 0.1 and 1.5 mM seedling treated with SA tree and six days after germination.Proteins were extracted from seedling and enzyme activities were determined ,8days after germination. The results showed that SA significantly decreased infected seedlings ($p < 0.01$). POD and CAT activities, in 1.5 mM SA, significantly decreased in roots and increased in shoots. In roots POD and CAT activities were in infected seedling higher than seedling with out infection. In infected shoots enzymes activities decreased .The patterns of POD I soforms resulting from roots were determined by means of polyacrylamide gel electrophoresis. A new isoperoxidase appeared in site of light molecules in infected roots. This band disappeared in 0.1mM SA that had the least activities. In roots treated with 1.5 mM SA two new bands appeared one of them is in light and another band is in heavy molecules site that there have a little activities.

مقدمه

نخود سفید (*Cicer arietinumL.*) در بین حبوبات با اهمیت مقام سوم را در جهان و مقام اول را در مدیترانه و جنوب آسیا دارد. (صباغ پور، ۱۳۷۵). رقم بیونیج یکي از ارقام محلي و دانه درشت نخود در ایران است که به طور وسیعي در استان کرمانشاه کشت مي‌شود. اما حساس بودن این رقم به بیماري برق‌زدگي Ascochyta blight همه ساله موجب کاهش عملکرد و خسارت شدید در شرایط خنك و مرطوب مي‌گردد. این بیماري بذر زاد و عامل آن قارچ *Ascochyta rabiei* است که به اندامهاي هوایي گیاه حمله مي‌کند. (یونسي،ح.۱۳۸۲).

سالیسیلیك اسید ترکیبي رایج در قلمرو گیاهان است و تنظیم کننده فرایندهاي فیزیولوژیکي ،ازجمله گرمازایی و دفاع گیاه در برابر میکروارگانیسمهاي بیماریزامی باشد(Metraux 2002). تشخیص عامل بیماریزا توسط عصاره‌های رها شده ازپاتوژن در مکان آلودگي به سرعت با تغییراتي در جریان یونها و تولید انواع اکسیژنهاي فعال دنبال مي‌شود که شروع یك جریان نشانه براي فعال کردن نسخه‌برداري از عوامل درگیر در بروز ژنهاي مقاومت است (Metraux J.P.2002).

کاتالاز و پراکسیداز آنزیمهاي مرتبط با تنشهاي اکسیداتیو هستند و نقشي کلیدي در رفع پراکسیدهاي هیدروژن در گیاهان دارند. (Srivastava, S.2001). کاتالاز به طور عمده در حذف پراکسید هیدروژن در پراکسي زومها شرکت دارد، بنابراین حمایت کنندة سلولهاي فتوسنتزي در برابر تنش اکسیداتیو مي‌باشد (Willekens 1995). همچنین کاتالاز در تأثیرسالسیلیك اسید برای علامت رسانی در مسیر حفاظت در برابر عوامل بیماریزا دخالت دارد (Raskin I.1992).پراکسیداز اکسیداسیون گهرمایه هاي آلي متعددي را در حضور پراکسید هیدروژن انجام مي‌دهد و در فرایندهاي فیزیولوژیکي مختلفي مانند رشد ، دفاع و تشکیل دیواره سلولي نقش دارد (Strivastava 2001).

خسارت شديدبيماري برق‌زدگي نخود و تاثير ساليسيليك اسيدبرمقاوم سازی گياهان دلايلی برای انجام اين تحقيق در زمينه اثر SA بر ميزان آلودگي دانه رستهاي نخود رقم بيونيج به قارچ آسكوكيتا بود و به منظور تعيين نقش آنزيمها ، چگونگي تغيير فعاليت كمي و كيفي آنزيم پراكسيداز و فعاليت كمي كاتالاز در اين دانه رستها سنجش شد.

مواد و روشها

قارچ آسكوكيتا از تعدادي از غلافهاي آلوده نخود جداسازي وخالص شد ،پس از تشكيل پيكيندها وتكثيرآنها، سوسپاسيون اسپوربه ميزان ۱۰^٦ اسپور در هر ميلي ليتر آب مقطر تهيه گرديد. گروهي از بذرهاي نخود رقم بيونيج پس از سترون شدن با هيپوكلريت سديم ٥ درصد، به مدت۳۰ دقيقه در سوسپانسيون اسپور تهيه شده و گروهي ديگر در آب مقطر سترون قرار گرفتند. سپس بذور آلوده و سالم هر كدام به طور جداگانه در پتري‌هايي كه با دو لايه گاز استريل و كاغذ صافي پوشانيده شده بودند كشت شدند. بررسي در قالب يك طرح كاملا تصادفي به صورت آزمايش فاكتوريل در۳ تكرار اجرا و تجزيه و تحليل گرديد. عامل اصلي در دو گروه آلودگي وعدم آلودگي به قارچ و عامل فرعي غلظتهاي صفر، ۰/۱ و ۱/٥ ميلي مولار ساليسيليك اسيد بود كه۳ روز و ٦ روز پس از جوانه‌زني بذرها به مقدار ۳ml به هر دو گروه اضافه شد. تجزيه واريانس و مقايسه ميانگين ها با استفاده از آزمون دانكن توسط نرم افزار SPSS با ضريب اطمينان ۹٥% انجام شد. هشتمين روز پس از جوانه‌زني ضمن ارزيابي تعداد دانه رستهاي آلوده، ۰/٥ گرم وزن تر ريشه‌ها ونيز اندام هوايي شاهد و تيمارهاي مختلف هر دو گروه به طور جداگانه به كمك ٤ml با فراستخراج پتاسيم فسفات ۱۰۰mM (pH ۷/٥) ، در هاون ساييده شد. عصاره‌هاي حاصل به مدت ۲۰ دقيقه و در ۱۲۰۰۰g در دماي ٤C سانتريفوژ گرديد. رو مايع حاصل براي سنجش فعاليت آنزيم‌هاي پراكسيداز و كاتالاز مورد استفاده قرار گرفت. مطالعات كمّي توسط دستگاه اسپكتروفتومتر Camspec M350 انجام شد. فعاليت پراكسيداز عصاره‌ها توسط محلول رنگ‌آميزي شامل ٤ml با فراستات سديم ۰/۲M، ٤۰۰ µl آب اكسيژنه ۳% و ۲۰۰ µl بنزيدين ۰/۰۱M سنجش شد منحني افزايش جذب در طول موج ٥۳۰ نانومتر و به مدت ۳ دقيقه رسم گرديد. فعاليت آنزيم كاتالاز در ۳ml محلول شامل بافرپتاسيم فسفات ٥۰mM و ۱٥ mM H_2O_2 سنجش شد و منحني كاهش جذب در طول موج ۲٤۰nm به مدت ۱ دقيقه رسم گرديد. مقدار پروتئين عصاره‌ها به روش برادفورد (۱۹۷٦) با استفاده از سرم آلبومين گاوي بعنوان استاندارد بدست آمد و فعاليت آنزيمها برحسب واحد جذب در دقيقه به ازاء هر ميلي‌گرم وزن ترمحاسبه شد. به منظور الكتروفورز آنزيم پراكسيداز ريشه ،ژل پلي اكريل آميد ۷/٥ درصد براساس روش Davis (۱۹٦٤) تهيه گرديد و الكتروفورز با جريان ۳۰mA به مدت ٥ ساعت انجام شد. ژل حاصل در معرف شامل ۸۰ml بافراستات سديم ۰/۲ M (pH ٤/۸)، ٤ml بنزيدين ۰/۲M و ۸ml آب اكسيژنه ۳% رنگ‌آميزي و پس از ظهور باندها ، الگوهاي پراكسيدازي مورد مطالعه و عكسبرداري قرار گرفت.

نتايج و بحث

مقايسه ميانگين ها در جدول ۱ نشان مي‌دهد ساليسيليك اسيد موجب كاهش قابل توجه آلوگی دانه رستها به قارچ شده است. اين كاهش در سطح ۱ درصد معني‌دار است. Murphy و همكاران در سال ۲۰۰۰ تاخير در بروز بيماري توسط SA را در گياهان تنباكوي آلوده به قارچ *Botrytis cinerea* گزارش كردند.كاهش رشد ميسليوم قارچ *Eutypa lata* توسط SA نيز گزارش شده است(Amborabe 2002). بررسي كلي اثر غلظتهاي مختلف SA بدون توجه به آلودگي دانه رستها نشان داد فعاليت آنزيم پراكسيداز و كاتالاز ريشه تحت تاثير SA=1/5 m M كاهش مي‌يابد. اين كاهش براي آنزيم پراكسيداز در سطح ٥ درصد معني‌دار است. برعكس فعاليت آنزيم پراكسيداز وكاتالاز در اندام های هوايي تحت تاثير M SA=1/5mبه طور معني‌داري در سطح ۱ درصد افزايش مي‌يابد. (جدول۱). بدين ترتيب غلظت ۱/٥ ميلي مولار SA اثرات متفاوتي در ريشه و اندام هوايي داشته و در ريشه باعث مهار فعاليت هر دو آنزيم شده است. اين نتايج با گزارشهای Snvastava و همكاران (۲۰۰۱)بر روي گياه سس همسو مي‌باشد.Shim نيز در سال۲۰۰۲ نشان داد بين كاهش فعاليت كاتالاز و افزايش SA درونی گياهان ارتباط وجود دارد.در اندامهای هوايي SA موجب افزايش فعاليت آنزيمهاي مورد بررسي شد. افزايش فعاليت پراكسيداز در دانه رستهاي موز تحت تيمار با SA و تنش سرما توسط kang و همكاران در ۲۰۰۳ گزارش شده است.در مقايسه كلي دو گروه آلوده به قارچ و بدون آلودگي ،بدون در نظر گرفتن تيمارهاي SA مشخص گرديد كه فعاليت آنزيم پراكسيداز و كاتالاز در اندامهای هوايي تحت تاثير آلودگي به قارچ به طور معني داري كاهش می يابد(جدول۲).شايد همين عدم افزايش به موقع فعاليت آنزيمهاي پراكسيداز و كاتالاز در اندامهای هوايي دانه رستهاي رقم بيونيج باعث حساسيت شديد اين رقم و آسيب‌پذيري آن نسبت به قارچ آسكوكيتا باشد.

بررسي ايزوآنزيمهاي پراكسيدازريشه با سيستم PAGE نشان داد در دانه رستهاي آلوده به قارچ ايزوآنزيمي جديد در ناحيه مولكولهاي سبك ژل ظاهر مي‌شود كه تحت تيمار SA ۰/۱m M اين باند حذف مي گردد. اين آنزيم در اين تيمار كمترين ميزان فعاليت را نشان مي‌دهد. تحت تاثير SA در نمونه‌هاي بدون آلودگي درغلظت ۱/٥ ميلي مولار ۲ باند جديد يكي درناحيه مولكولهاي سنگين و ديگري در ناحيه مولكولهاي سبك به جاي۲باند موجود درناحيه مولكولهاي سنگين مشاهده‌شد،كمترين ميزان فعاليت پراكسيداز ريشه نيزدرهمين غلظت است.

تشكر:ازمسؤلين محترم مجتمع آزمايشگاهی واحدعلوم وتحقيقات كه مارادرانجام اين پژوهش ياری دادندكمال تشكرراداريم.

منابع:

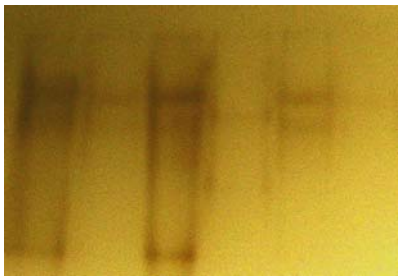
۱ - صباغ پور، سيدحسين،۱۳۷٥،ژنتيك نخود، مركز نشر آموزش، ٥٤ صفحه.
۲- يونسي، حسين۱۳۸۲ ،مجله بيماريهاي گياهي، جلد ۳۹، صفحه ۲۲۸-۲۱۳.
3- Amborabe B.E,2002. Plant physiol. Biochem. 40:1051-1060.
4-Davis B.J, 1964. Ann. N.Y. Acad. Sci.121:404-427.
5- Kang G.,2003. Environmental and Experimental Botany. 50:9-15.
6- Liman F., 1998. Phytochemistry.49:1219-1225.
7- Metraux J.P,2002. Trends in plant science.1-3.
8- Murphy A., 2000.Physiological and Molecular Plant Pathology.57:47-54
9- Raskin I., 1992. Annu. Rev. plant physiol. Plant Mol.Biol.43:439-463.
10- Shim, I.s., 2003.Plant Growth Regulation 39:285-292.
11- Srivastava. S.,2001. Plant physiol. Biochem. 39:529-538.

جدول ۱- میانگین فعالیت آنزیمهادر غلظتهای مختلف سالسیلیک اسید دردانه رست‌های آلوده و بدون آلودگی به قارچ

	پراکسیداز در ریشه	پراکسیداز در اندام هوایی	کاتالاز در ریشه	کاتالاز در اندام هوایی	درصد دانه‌رستهای آلوده
شاهد	0.636 A	0.295 C	1.064 A	0.211 C	55 A
0.1 SA mM	0.556 A	0.358 B	1.102 A	0.353 B	20 B
1.5 SA mM	0.409 B	0.421 A	0.998 A	0.653 A	21 B

جدول ۲- میانگین فعالیت آنزیمها در دو گروه دانه رست‌های آلوده به قارچ و بدون آلودگی به قارچ

	پراکسیداز در ریشه	پراکسیداز در اندام هوایی	کاتالاز در ریشه	کاتالاز در اندام هوایی
بدون آلودگی به قارچ	0.495 A	0.387 A	1.052 A	0.511 A
آلوده به قارچ	0.572 A	0.328 B	1.058 A	0.300 B



تصویر۱:ایزو آنزیمهای پراکسیداز ریشه برروی ژل پلی اکریل آمید.ازسمت راست بدون آلودگی شاهد،۰,۱، ۱,۵وآلوده به قارچ شاهد،۰,۱، ۱,۵میلی مولار SA

SID

فیلم های آموزشی

عضویت در خبرنامه

بلاگ مرکز اطلاعات علمی

کارگاه های آموزشی

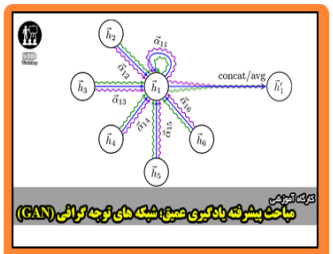
سرویس ترجمه تخصصی

سرویس های ویژه

کارگاه های آموزشی مرکز اطلاعات علمی جهاد دانشگاهی

کارگاه آنلاین مکالمه روزمره انگلیسی

کارگاه آنلاین آموزش استفاده از وب آو ساینس



مباحث پیشرفته یادگیری عمیق؛ شبکه های توجه گرافی

(Graph Attention Networks)