تنش اکسیداتیو و واکنش گیاهان به آن

دکتر فریبا رمضانی ویشکی
دبیر زیست شناسی منطقهٔ ۸ تهران و مدرس دانشگاه

چکیده

گیاهان می‌توانند تنش‌های محیط را شناسایی کنند، به آن‌ها پاسخ دهند و مانند دیگر موجودات زنده، در واکنش به تنش‌های زیستی[1] و غیرزیستی[2]، رادیکال‌های آزاد تولید کنند. تنش اکسیداتیو اثرهای مختلفی بر متابولیسم و رشد و نمو گیاهان دارد و باعث القای تغییرات زیادی در ساختار و عملکرد آن‌ها می‌شود. آنتی اکسیدان‌ها با خنثی‌سازی رادیکال‌های آزاد فرایند اکسیداسیون را متوقف می‌کنند. در حالت طبیعی بین مقدار رادیکال‌های آزاد و میزان جاروکردن آن‌ها از سطح سلول تعادلی وجود دارد که گیاه را در موقعیت نسبتاً پایدار نگه می‌دارد. اما تنش اکسیداتیو زمانی بروز می‌کند که میزان رادیکال‌های آزادِ درون سلول از مقدار ترکیبات سم‌زدا و آنتی‌اکسیدان تجاوز کند. در واقع گیاهِ تحت تنش سعی می‌کند با افزایش سطح ترکیبات آنتی‌اکسیدانی راه‌های حفاظتی ویژه ای برای خود طراحی کند.

کلیدواژه‌ها: رادیکال آزاد، تنش اکسیداتیو، آنتی‌اکسیدان‌های آنزیمی و غیرآنزیمی.

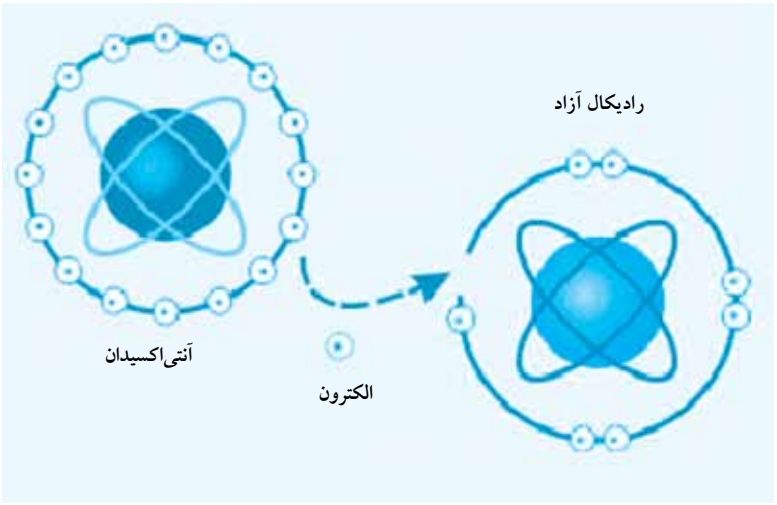
مقدمه

اکسیداسیون بخشی از زندگی هوازی و متابولیسم موجودات زنده است. اکسیژن در موقعیت‌های خاص ممکن است به‌صورت تک‌الکترونی درآید و رادیکال آزاد تولید کند. اکسیژنی که به‌صورت تک‌الکترونی درمی‌آید، گونهٔ اکسیژن واکنش‌گر (ROS)[3] نام می‌گیرد. تولید رادیکال‌های آزاد رویدادی طبیعی است که در جریان واکنش‌های طبیعی سلول‌ها از جمله تنفس و اکسیدشدن مواد به‌وجود می‌آید، اما میزان تولید آن تحت تنش افزایش می‌یابد. این ترکیبات فعال بسیار ناپایدارند و مقادیر زیادی انرژی دارند. از آنجا که همهٔ سلول‌ها دارای ساختاری اتمی شامل هسته با بار مثبت و الکترون‌ها با بار منفی به دور آن هستند، وقتی که موجود زنده در معرض تنش قرار می‌گیرد، الکترون‌ها می‌توانند از مدار خود خارج شوند. در این حالت، اتمی که الکترون از دست داده است، ناپایدار می‌شود و سعی می‌کند تا از اتم‌های نزدیک به خود الکترون بگیرد و آن را جانشین الکترون از دست رفته کند که در نتیجه واکنش‌های زنجیره‌ای اتفاق می‌افتند. رادیکال‌های آزاد شامل رادیکال‌های سوپر اکسید، رادیکال هیدروکسیل، به اضافهٔ مشتقات اکسیژن با الکترون‌های نابرابر مانند پراکسید هیدروژن، اکسیژن تنها و اسید هیپوکلروس‌اند. در حالت عادی این رادیکال‌های آزاد می‌توانند در سلول‌ها خنثی و بی‌ضرر شوند، اما عوامل مخرب محیطی مثل انواع تنش‌ها باعث می‌شوند بر تولید رادیکال‌های آزاد افزوده شود و موجود زنده نتواند با این مشکل مبارزه کند و در واقع منجر به ایجاد تنش اکسیداتیو شود که می‌تواند اثرهای مخربی بر ساختار و اجزای سلولی داشته باشد.

ROS به لیپیدهای غشای سلول، پروتئین‌های بافتی یا آنزیم‌ها، کربوهیدرات‌ها و DNA حمله می‌کند و باعث اکسیداسیون آن‌ها می‌شود که نتیجهٔ آن آسیب غشایی، تغییر در ساختار پروتئین‌ها و آسیب DNA است و آنتی اکسیدان‌ها با خنثی‌سازی رادیکال‌های آزاد فرایند اکسیداسیون را متوقف می‌کنند. برای انجام این کار خود آنتی اکسیدان‌ها اکسیده می‌شوند، به‌همین علت دائماً به وجود منابع آنتی اکسیدانی مورد نیاز است.

دفاع آنتی‌اکسیدانی

آنتی‌اکسیدان‌ها مولکول‌هایی هستند که مانع از عملکرد رادیکال‌های آزاد می‌شوند و از تخریب سلول‌ها جلوگیری می‌کنند. این مواد می‌توانند با دادن الکترون بـه رادیکال آزاد، آن‌ها را به شـکل پایدار خود تبدیل کنند و مانع از اثرهای مخرب آن‌ها شوند.



عملکرد آنتی‌اکسیدان‌ها در خنثی‌کردن رادیکال‌های آزاد

تنش‌هـای محیطـی بـر رشـد و نمو، سـاختار فیزیولوژیک گیاه، سـنتز پروتئین ها، فعالیت‌های آنزیمی و غیرآنزیمی، تنفس سـلولی و متابولیسـم سـلولی تأثیر دارند. قرارگرفتـن در معرض تنش، ممکن اسـت سـبب افزایش تولید گونهٔ اکسیژن غیرفعال و تنش اکسیداتیو شود و در نهایت به‌تسریع تشـکیل انواع اکسیژن فعال، آسیب به غشا، پروتئین‌ها و DNA، القای تغییر در رشـد و ساختار فیزیولوژیک سلول و تخریب آنزیم‌ها بینجامد.

دفـاع آنتی اکسـیدانی[۴] برای محافظت از یاخته‌هـا در برابـر تأثیرهـای خطرناک گونه‌های اکسـیژن فعال وارد عمل می‌شود. طی تنش اکسـیداتیو، وقایعـی در گیاهان صورت می‌گیرد که عبارت‌اند از افزایش تولید ROS، افزایـش بیان ژن‌هـای عمل کنندهٔ آنتی‌اکسـیدان، افزایش میـزان فعالیت‌های آنتی اکسیداتیو و آنتی‌اکسیدان‌ها و افزایش ظرفیت جاروبگرها[۵] یا پاک‌کننده‌ها که منجر به افزایـش تحمل گیاه به تنش می‌شـوند.

درجهٔ فعالیت آنتی‌اکسیدانی و میزان افزایش آنتی‌اکسـیدان‌ها در گیاهان به‌گونهٔ گیاهی، مرحلهٔ نموی، شرایط متابولیک، طول مدت و شدت تنش بستگی دارد. گیاه در پاسخ به تنش با تجمع متابولیت‌های خاص، سازگاری و مقاومـت نسـبت به عوامل تنـش‌زا ایجاد می‌کند. گیاهان سیسـتم آنتی‌اکسـیدانی مؤثـری را در مقابـل عوامل تنـش‌زا ایجاد می‌کنند. مکانیسـم‌های سمیت‌زدای ROS در همهٔ گیاهان وجود دارند که به دو دسـتهٔ آنزیمی و غیرآنزیمی طبقه بندی می‌شـوند و در گیاهـان تحت تنـش از اثرهای مخرب تنش‌ها جلوگیری می‌کنند.

● مکانیسم‌های دفاع آنزیمی

❖ سوپراکسید دیسموتاز

یکـی از آنزیم‌های دفاعی که در گیاهان تحت تنـش تولید می‌شـود، سوپراکسـید دیسموتاز (SOD)[۶] است. این آنتی‌اکسیدان آنزیمی یک آنزیم فلزی (متالوآنزیم) است که یون سوپراکسید را تجزیه می‌کند. سوپراکسید به‌عنوان یکـی از گونه‌های اصلی اکسـیژن واکنش‌گر در سـلول، شناخته شده است که سـبب تغییر ماهیت آنزیم‌ها، اکسیداسیون لیپیدها و تلاشـی DNA می‌شـود. تنظیم میـزان سوپراکسـید دیسـموتاز در تعدیل اثرهای مخرب تنش اکسـیداتیو بسیار مهم است. بنابراین سوپراکسـید دیسموتاز یکی از مهم‌تریـن آنتی‌اکسـیدان‌های دفاعی در مقابل گونه‌های اکسـیژن واکنش‌گر اسـت. در واقع ایـن آنزیم به‌عنوان آنتی‌اکسـیدان و حفاظت‌کننـدهٔ اجـزای سـلولی عمـل می‌کند. سوپراکسید دیسموتاز باعث تبدیل سوپراکسید به پراکسیدهیدروژن و اکسیژن مولکولی می‌شود.

$$O_2^- \xrightarrow{SOD} O_2$$
$$O_2 + 2H^+ \xrightarrow{SOD} H_2O_2$$

❖ کاتالاز

یکـی از آنزیم‌های دفاعـی موثر کاتالاز (CAT)[۷] اسـت که در همهٔ موجودات زنده تحت تنـش تولید می‌شـود. ایـن آنزیم با اثر مسـتقیم بر پراکسـید هیدروژن، سبب کاهش اثرهای سـمی آن می‌شود. هیدروژن پراکسـید مـاده‌ای سـمی اسـت که طی بسیاری از مکانیسم‌ها و واکنش‌های طبیعی سلول ایجاد می‌شـود. تجمع این ماده برای سلول‌ها و بافت‌ها بسـیار آسیب‌رسان است و باید بلافاصله تجزیه شـود. در واقع کاتالاز از پراکسـید هیـدروژن به‌عنوان سوبسـترا اسـتفاده می‌کند و با تجزیهٔ سریع این ماده اثرهای مخرب آن را مهار می‌کند. پراکسـید هیدروژن برای سـلول‌های گیاهی و به‌ویژه برای کلروپلاست‌ها بسـیار سمی است، چرا که در غلظت‌هـای پایین باعث مهار فعالیت آنزیم‌هـای چرخهٔ کلوین به‌ویـژه آنزیم‌های دارای گروه سـولفیدریل مثل گلیسر آلدئید ۳- فسفات دهیدروژناز و فروکتوز ۱ و ۶ بیس فسفات می‌شـود. کاتالاز فقط در پراکسیزوم وجود دارد، بنابراین دامنهٔ فعالیت آن محدود اسـت و زمانی که مقدار ROSتحت تنش، افزایش می‌یابد در سم‌زدایی شرکت می‌کند.

$$H_2O_2 \xrightarrow{CAT} H_2O + \frac{1}{2}O_2$$

❖ پراکسیدازها

پراکسـیدازها گروه بزرگی از آنزیم‌های

دفاعی هستند که در گیاهان در پاسخ به تنش‌های زیستی و غیرزیستی تولید می‌شوند. پراکسیدازها معمولاً واکنش اکسیداسیون و احیا را بین پراکسید هیدروژن به‌عنوان گیرندهٔ الکترون و انواع زیادی از سوبستراها مثل مواد فنلی، اسید اسکوربیک، آمین‌های آروماتیک و سیتوکروم c کاتالیز می‌کنند و به‌عنوان آنزیم‌های سم‌زدای گونه‌های اکسیژن واکنش‌گر عمل می‌کنند. آنزیم پراکسیداز موجب شکسته شدن هیدروژن پراکسید در سلول می‌شود و بدین شکل از تولید ROSها جلوگیری می‌کند و بنابراین با بالارفتن سطوح فعالیت این آنزیم، گیاه کمتر مورد تهاجم ROS قرار می‌گیرد. این گروه از آنزیم‌ها در سیتوزول، واکوئل، کلروپلاست و آپوپلاست وجود دارند.

❖ آسکوربات پراکسیداز

از جملهٔ پراکسیدازها می‌توان به آسکوربات پراکسیداز (APX)[8] اشاره کرد. آسکوربات پراکسیداز نقش چشمگیری در تعدیل میزان ROS تولید شده طی تنش در سلول دارد. این آنزیم از آسکوربات به عنوان عامل احیاکننده استفاده می‌کند، آب اکسیژنه را به آب و اکسیژن تجزیه می‌کند و نقش مهمی در سمیت‌زدایی پراکسیدهیدروژن به‌عهده دارد. این آنزیم در چرخهٔ آسکوربات- گلوتاتیون شرکت می‌کند. در چرخهٔ آسکوربات ـ گلوتاتیون با فعالیت آنزیم APX، آسکوربات به مونودهیدروآسکوربات اکسیده می‌شود و برای ادامهٔ چرخهٔ تولید دوبارهٔ آسکوربات لازم است. به‌همین منظور در این چرخه آنزیم‌های مونودهیدروآسکوربات ردوکتاز (MAHAR)، دهیدروآسکوربات ردوکتاز (DHAR)وگلوتاتیون ردوکتاز (GR) فعالیت می‌کنند و با استفاده از NAD(P)H و گلوتاتیون، آسکوربات را احیا می‌کنند.

$$H_2O_2 + Ascorbate \xrightarrow{APX} H_2O + Monodehydroascorbat$$
$$MDA + NAD(P)H \xrightarrow{MDAR} Ascorbate + NAD(P)^+$$
$$Dehydroascorbat + GSH \xrightarrow{DHAR} Ascorbate + GSSG$$
$$GSSG + NAD(P)H \xrightarrow{GR} GSH + NAD(P)^+$$

چرخهٔ آسکوربات ـ گلوتاتیون

❖ گلوتاتیون پراکسیداز

گلوتاتیون پراکسیداز (GP)[9] فسفولیپید هیدروپراکسید گلوتاتیون پراکسیداز (PHGPX) نیز نامیده می‌شود که آنزیمی کلیدی در حفاظت غشاهایی است که در معرض تنش اکسیداتیو قرار دارند. تولید این آنزیم طی تنش‌ها القا می‌شود. این آنزیم تولید دوبارهٔ اسیدهای چرب غیراشباع از فسفولیپید هیدروپراکسید را کاتالیز می‌کند و از نظر جایگاه در سیتوزول و غشای داخلی میتوکندری سلول‌های جانوری گزارش شده است.

❖ گایاکول پراکسیداز

گایاکول پراکسیداز (GPX)[10] از اکسیداسیون ترکیبات فنلی مثل گایاکول برای سم زدایی و تجزیهٔ آب اکسیژنه استفاده می‌کند و در سیتوزول، دیوارهٔ سلولی و واکوئل نیز دیده می‌شود. ترکیبات فنلی مثل گایاکول به عنوان دهندهٔ الکترون به پراکسید هیدروژن عمل می‌کنند.

❖ گلوتاتیون ردوکتاز

گلوتاتیون احیا برای بسیاری از عملکردهای سلولی مورد نیاز است، بنابراین تولید آن در سلول الزامی است. احیای گلوتاتیون اکسید شده (GSSG) به گلوتاتیون احیا (GSH) توسط آنزیم گلوتاتیون ردوکتاز (GR)[11] به واسطهٔ NADPH انجام می‌شود. نشان داده شده که در گیاهان تراژن، افزایش فعالیت گلوتاتیون ردوکتاز باعث مقاومت به تنش می‌شود و کاهش فعالیت این آنزیم، حساسیت گیاه را به تنش اکسیداتیو افزایش می‌دهد.

$$H_2O_2 + GSH \xrightarrow{GPX} H_2O + GSSG$$
$$GSSG + NAD(P)H \xrightarrow{GPX} GSH + NAD(P)^+$$

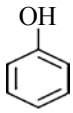
عملکرد گایاکول پراکسیداز و گلوتاتیون ردوکتاز

مکانیسم‌های دفاع غیرآنزیمی

تنش اکسیداتیو سبب تغییرات فیزیولوژیک و القای پاسخ‌های متابولیک خاص با القای سنتز برخی از ترکیبات آنتی‌اکسیدانی از جمله برخی متابولیت‌های ثانویه مانند آنتوسیانین‌ها، ترکیبات فنلی و فلاوونوئیدی و پرولین برای کنترل و خنثی‌کردن رادیکال‌های آزاد می‌شود. هر کدام از این مواد دارای ساختار و خصوصیات بیوشیمیایی منحصربه‌فرد است و با مکانیسم‌های متفاوتی در جاروکردن رادیکال‌های اکسیژن شرکت می‌کند و در نتیجه باعث افزایش مقاومت سلول در مقابل عوامل تنش‌زا می‌شود.

❖ فنل

ترکیبات فنلی یکی از آنتی‌اکسیدان‌های دفاعی در مقابل تنش اکسیداتیو هستند. تجمع ترکیبات فنلی در بافت‌های گیاهی برای تثبیت کربن فتوسنتزی و ارتقای مکانیسم‌های دفاعی بسیار مهم است. گروه‌های هیدروکسیل آزاد متصل به حلقهٔ آروماتیک فنل‌ها به‌وسیلهٔ حذف رادیکال‌ها و دیگر مکانیسم‌های دفاعی مانند فروکشی اکسیژن یکتایی با کلاته کردن فلز به‌وسیلهٔ باند شدن یون‌های سمی، از آسیب‌های اکسیداتیو می‌کاهند و به این ترتیب ساختارهای سلولی را از تأثیر منفی تنش محافظت می‌کنند. ترکیبات فنلی در واکنش به تنش به سرعت افزایش می‌یابند و به مقدار زیاد در لایهٔ اپیدرمی تجمع می‌یابند. تجمع ترکیبات فنلی در کرک‌ها، واکوئل و دیوارهٔ سلول‌های اپیدرمی از آسیب سلول‌های مزوفیلی زیرین جلوگیری می‌کند. این ترکیبات با قابلیت آنتی‌اکسیدانی و سمیت‌زدایی رادیکال‌های اکسیژن، باعث افزایش مقاومت گیاهان می‌شوند. محققان با استفاده از جهش یافته‌هایی که توانایی ساخت این ترکیبات را ندارند، اهمیت این ترکیبات را در مقاومت گیاه نسبت به تابش

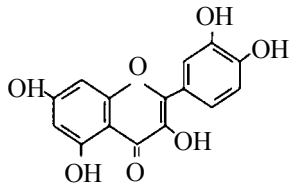


ساختار شیمیایی فنل

این اشعه نشان داده‌اند.

❖ فلاوونوئید

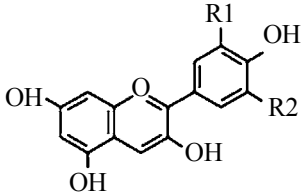
فلاوونوئیدها[12] یکی از بزرگ‌ترین گروه ترکیبات فنلی هستند که نقش دفاعی مهمی در مقابل تنش‌ها ایفا می‌کنند. گیاهان با تولید فلاوونوئیدها و تجمع آن در واکوئل سلول‌های لایهٔ اپیدرمی برگ و ساقه می‌توانند باعث کاهش اثرهای تنش اکسیداتیو شوند. یکی از دلایل افزایش فلاوونوئیدها، ایجاد محدودیت در انتقال الکترون فتوسنتزی طی تنش است که سبب ایجاد تغییرات متابولیک در گیاه از جمله منجر به القای فلاوونوئیدها برای تعدیل این وضعیت می‌شود مسیر فنیل پروپانوئید که مسئول ساخت ترکیبات فنلی مانند فلاوونوئیدها و تانن‌هاست، در شرایط تنش القا می‌شود. این عمل از طریق آنزیم فنیل آلانین آمونیا لیاز صورت می‌گیرد. کاربرد بازدارنده‌های سنتز فنیل آلانین آمونیا لیاز و مهار مسیر بیوسنتز فلاوونوئید، باعث افزایش حساسیت گیاه نسبت به تنش می‌شود.



ساختار شیمیایی فلاوونوئید

❖ آنتوسیانین

آنتوسیانین‌ها[13] یکی از مهم‌ترین ترکیبات آنتی‌اکسیدانی هستند که نه تنها رادیکال‌های آزاد را از بین می‌برند، بلکه از تولید بیشتر آن‌ها در گیاه جلوگیری می‌کنند. گیاهان با تولید و تجمع آنتوسیانین در لایه‌های اپیدرمی می‌توانند باعث کاهش اثرهای تنش اکسیداتیو شوند.

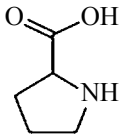


ساختار شیمیایی آنتوسیانین

❖ پرولین

تولید و تجمع پرولین[14] از سازگاری‌های مهم فیزیولوژیک در گیاهان تحت تنش اکسیداتیو است. افزایش پرولین تحت تنش می‌تواند به علت تحریک ساخت پرولین از گلوتامیک اسید باشد. در واقع پرولین می‌تواند به‌عنوان منبع ذخیرهٔ کربن و نیتروژن برای بافت‌های در حال ترمیم، یک ترکیب مؤثر در تنظیم و تعدیل فشار اسمزی، یک بافر برای تثبیت pH، یک پاک‌کنندهٔ گونهٔ اکسیژن واکنش‌گر در سلول و نیز به‌عنوان یک مولکول محافظ[15]، عمل کند و نقش مهمی را در سلول‌های گیاهی در پاسخ‌های سازگارکننده و محافظتی در مقابل تنش‌ها ایفا کند و از آسیب‌های اکسیداتیو مثل آسیب به پروتئین‌ها و تخریب[16] آنزیم‌ها، DNA ،RNA و لیپیدهای غشایی جلوگیری کند و سبب افزایش بردباری و مقاومت گیاه در برابر تنش‌ها شود.

افزایش این ماده در شرایط تنش، علاوه بر گیاهان در دامنهٔ وسیعی از موجودات دیگر از جمله باکتری‌ها، مخمرها، بی مهرگان دریایی و جلبک‌ها نیز گزارش شده است.



ساختار شیمیایی پرولین

دفاع آنتی‌اکسیدانی برای محافظت از یاخته‌ها در برابر تأثیرهای خطرناک گونه‌های اکسیژن فعال وارد عمل می‌شود

❖ نتیجه

تنش اکسیداتیو زمانی رخ می‌دهد که تعادل بین میزان تولید ROS و دفاع آنتی‌اکسیدانی به‌هم‌خورده و تولید رادیکال‌های آزاد بیش از ظرفیت حفاظت بخشی دفاع آنتی‌اکسیدانی باشد. دفاع آنتی‌اکسیدانی برای محافظت از یاخته‌ها در برابر تأثیرات خطرناک گونه‌های اکسیژن فعال وارد عمل می‌شود. درجهٔ فعالیت آنتی‌اکسیدانی و میزان افزایش آنتی‌اکسیدان‌ها در گیاهان به‌گونهٔ گیاهی، مرحلهٔ نموی، شرایط متابولیک، طول مدت و شدت تنش بستگی دارد. گیاهان در پاسخ به تنش با سیستم‌های آنتی‌اکسیدانی مؤثر آنزیمی و غیرآنزیمی اثرهای مخرب تنش‌ها را تعدیل یا مهار می‌کنند.

پی‌نوشت

1. Biotic stress
2. Abiotic stress
3. Reactive oxygen species
4. Antioxidant defence
5. Scavenger
6. Superoxid dismutase
7. Catalase
8. Ascorbat peroxidase
9. Glutation peroxidase
10. Gayacol peroxidase
11. Glutation reductase
12. Flavonoid
13. Anthocyanin
14. Proline
15. Chaperon
16. Denaturation

منابع

1. Allen RD (2008) Dissection of oxidative stress tolerance using transgenic plants. Plant Physiol. 107:1049–1054.
2. Apel K , Hirt H (2004) Reactive oxygen species: Metabolism, oxidative stress, and signal transduction. Plant Biol.55:373-399.
3. Blokina O, virolainen E, fagersted K. (2003). Antioxidant, oxidative damage and oxygen deprivation stress. Ann Bot.91: 179-194
4. Hare PD, Cress WA (2007) Metabolic implications of stress-induced accumulation in plants. Plant Growth Regulation.21:79–103.
5. Lewitt. J.(2009) Response of plant to environmental stress. Academic .New york. 2 283-364.
6. Mittler R (2004) Oxidative stress, antioxidants and stress tolerance. Trends in Plant Science.7: 405-410.