برهمکنش جیبرلیک اسید و شوری بر آنزیم دهیدروژناز ریشه دانهال گواوا

زهرا پشنگه[۱]، منصوره شمیلی[۲*]
[۱] دانشجوی کارشناسی ارشد گروه علوم باغبانی، دانشگاه هرمزگان
[۲] استادیار گروه علوم باغبانی، دانشگاه هرمزگان
*نویسنده مسئول: shamili@ut.ac.ir

چکیده

فعالیت دهیدروژناز از شاخص‌های آنزیمی پر کاربرد در برآورد کیفیت و حاصلخیزی خاک محسوب می‌شود. با هدف بررسی تاثیر ترشحات ریشه نهال‌های گواوا تحت تنش شوری بر فعالیت دهیدروژناز، آزمایشی به‌صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با سه سطح شوری (۰، ۵۰ و ۱۰۰ میلی مول بر لیتر) و سه سطح تیمار هورمون جیبرلین (۰، ۲۵۰ و ۵۰۰ ppm) اجرا شد. استخراج آنزیم دهیدروژناز حاکی از اختلاف معنی‌دار بین تیمارهای بررسی شده از نظر پایداری ثبات آنزیم دهیدروژناز خاک بود. در تیمار فاقد نمک در کلیه سطوح جیبرلین، تغییر چندانی بین میزان دهیدروژناز در دو زمان سنجش وجود نداشت. در این حالت در تیمار بدون جیبرلین، مقدار دهیدروژناز در هر دو زمان کمتر بود و با افزایش میزان جیبرلین بر مقدار آن افزوده شد. با افزودن تیمار نمکی از میزان این آنزیم کاسته شد.

***کلمات کلیدی:* گواوا، فعالیت آنزیمی، دهیدروژناز، شوری، جیبرلین**

مقدمه

فعالیت آنزیمی به‌عنوان یکی از شاخص‌های مهم و حساس در ارزیابی کیفیت خاک گزارش شده است، زیرا آزاد شدن مواد غذایی برای رشد گیاهان و میکروب‌ها را کنترل می‌کنند (Burns, 1978). آنالیزهای آنزیمی به‌طور گسترده برای شناخت فرآیندهای تجزیه مواد آلی و چرخه عناصر غذایی مانند نیتروژن، فسفر و گوگرد در خاک بکار می‌روند (Dick, 1994. Dick *et al*., 1996). این ماکرو مولکول‌ها نقش حیاتی در فرآیندهای میکروبی و بیوشیمیایی خاک نظیر جریان و انتقال مواد بین اجزاء مختلف اکوسیستم، پاک‌سازی آلاینده‌ها در محیط و تجزیه مواد آلی ایفا می‌کنند (Burns, 1978). دهیدروژناز متعلق به اکسیدوردوکتازها و انتقال دهنده‌ی هیدروژن است. فعالیت دهیدروژناز به‌عنوان شاخصی برای ارزیابی سیستم زیستی اکسیداسیون و احیا، که فقط در سلول‌های زنده وجود دارد محسوب می‌شود (Tabatabai, 1982؛ Dick, 1994 ؛Bastida *et al*., 2008.).

همبستگی مثبت بین مواد آلی و فعالیت دهیدروژناز وجود دارد، با افزایش میزان مواد آلی، سوبسترای کافی برای حمایت از زیست توده میکروبی و تولید آنزیم بیشتر فراهم کند(Chodak and Niklinska, 2010. Moeskops *et al*., 2010. Romero *et al*., 2010. Zhao *et al*., 2010. Yuan and Yue, 2012). فعالیت آنزیم دهیدروژناز همچنین به کربنات کلسیم و محتوای مواد آلی مرتبط است(Zhang *et al*., 2010). تضعیف فعالیت آنزیمی در خاک با افزایش اسیدیته خاک به دلیل از بین رفتن یون‌ها و پیوند هیدروژنی در مرکز فعال آنزیم می‌باشد (Frankenberger and Johnson, 1982). بعضی پژوهش‌ها، فعالیت کم آنزیم دهیدروژناز را در pH کمتر از ۶/۶ و pH بالای ۹/۵ نشان داده است(Tervors, 1984). ازآنجاکه گزارشی از تاثیر شوری و تیمار کمکی محلول‌پاشی با جیبرلیک اسید بر میزان آنزیم دهیدروژناز موجود نمی‌باشد، تحقیق حاضر با هدف بررسی تاثیر هورمون جیبرلین بر فعالیت آنزیم دهیدروژناز تحت تاثیر ترکیب‌های مترشحه از ریشه دانهال گواوا در شرایط تنش شوری صورت پذیرفت.

مواد و روش‌ها

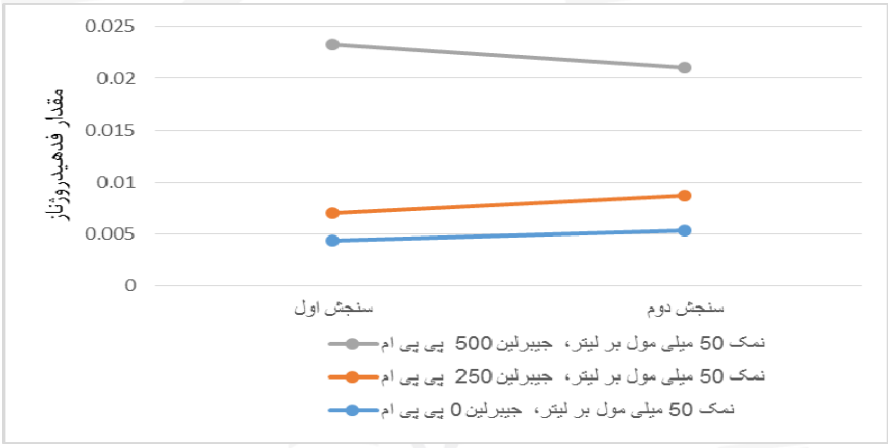
این آزمایش در سال ۱۳۹۵به‌صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با سه سطح شوری آب (۰، ۵۰ و ۱۰۰ میلی مول بر لیتر)، سه سطح تیمار هورمون جیبرلین (۰، ۲۵۰ و ۵۰۰ ppm) و سه تکرار در گروه باغبانی دانشگاه هرمزگان اجرا شد. جهت تیمار شوری صفر آبیاری با آب مقطر انجام شد. بدین منظور نهال‌های بذری یک‌ساله گواوا به طول تقریبی ۴۰-۵۰ سانتی‌متر استفاده شد. جهت انجام آزمایش نهال‌ها درون گلدان‌های بدون زهکش با خاک لومی کشت شدند. پس از استقرار نهال‌ها، هفته چهارم تیمار هورمونی انجام گردید و از هفته پنجم اعمال تنش شوری آغاز شد و به مدت ۲ ماه ادامه داشت. در هفته ششم مجدداً تیمار هورمونی تکرار گردید. به‌منظور بررسی اثر تنش شوری و تیمار جیبرلین بر میزان آنزیم دهیدروژناز از روش طباطبایی(1994) استفاده گردید. بدین منظور ۱۰ گرم نمونه خاک اطراف ریشه با ۰/۱ گرم کربنات کلسیم مخلوط و یک نمونه ۶ گرمی از این مخلوط تهیه و سپس یک میلی‌لیتر محلول ۳ درصد ماده ۲،۵،۳، تری فنیل تترازولیوم کلراید افزوده و آنگاه ۲/۵ میلی‌لیتر آب مقطر اضافه شد و در دمای ۳۷ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲۴ ساعت انکوباسیون گردید. پس از انکوباسیون، ۱۰ میلی‌لیتر متانول به این نمونه افزوده و سوسپانسیون حاصل به کمک یک فالکون حاوی کاغذ صافی و با افزودن متانول اضافی مواد رنگی حاصل به‌طور کامل به یک بالن ۱۰۰ میلی‌لیتری منتقل و به حجم رسانده شد. در مرحله اول نمونه‌ها در زمان صفر، یعنی بلافاصله بعد از استخراج آنزیم قرائت گردید و در مرحله دوم شش ساعت بعد از گذاشتن در یخچال در دمای ۷ درجه سانتی‌گراد مجدداً نمونه‌ها قرائت گردید. به‌منظور تعیین میزان آنزیم، ماده قرمزرنگ حاصل تری فنیل فرمازان در طول موج ۴۵۸ نانومتر با دستگاه اسپکتوفتومتر سنجیده و برحسب میکروگرم تری فنیل فرمازان بر گرم ساعت محاسبه شد. جهت تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها از نرم‌افزار SAS9 و MSTATC استفاده شد. رسم نمودارهای مربوطه در نرم‌افزار Excel صورت پذیرفت.

نتایج و بحث

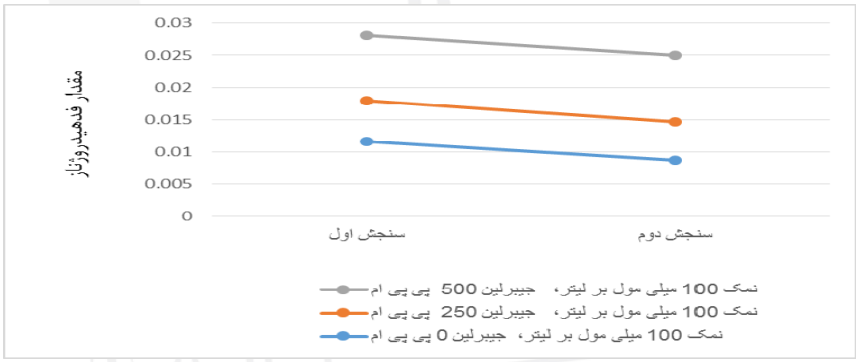
آنالیز آماری داده‌ها حاکی از اختلاف معنی‌دار بین تیمارهای بررسی شده از نظر پایداری ئ ثبات آنزیم دهیدروژناز خاک بود. شکل ۱تا ۳ تغییرات آنزیم دهیدروژناز در دو مرحله سنجش در شرایط تنش شوری نشان می‌دهند. شکل ۴ و ۵ تغییرات دهیدروژناز را با افزایش شوری و جیبرلیک اسید نشان می‌دهد.

در تیمار فاقد نمک در کلیه سطوح جیبرلین، تغییر چندانی بین میزان دهیدروژناز در دو زمان سنجش وجود نداشت. در این حالت در تیمار بدون جیبرلین مقدار آن در هر دو زمان کمتر بود و با افزایش میزان جیبرلین بر مقدار آن افزوده شده است. با افزودن تیمار نمکی از میزان این آنزیم کاسته شد. همچنان تیمار فاقد جیبرلین کمترین میزان دهیدروژناز را به خود اختصاص داد و با افزایش سطح جیبرلین بر مقدار آن افزوده شد. در بالاترین غلظت نمک، مقدار دهیدروژناز افزایش، اما در سنجش دوم همچنان روند نزولی داشت. یعنی با بروز تنش بر مقدار این آنزیم افزوده می‌شود، اما در عین حال از پایداری و ثبات آن در شرایط ریزوسفر کاسته می‌شود.

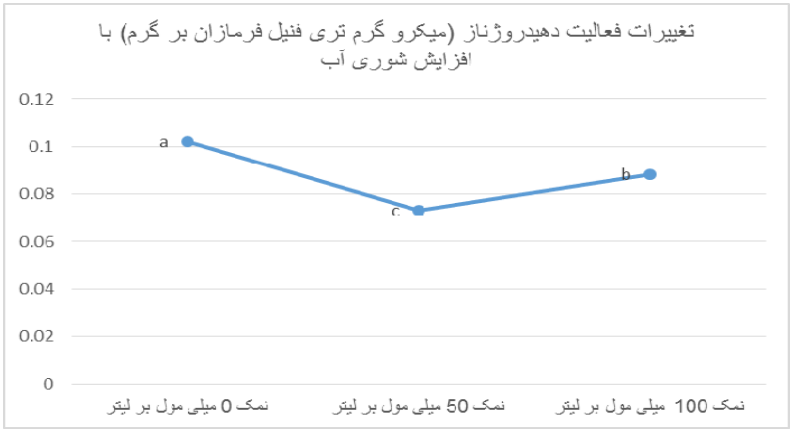
شکل۱. تفاوت فعالیت آنزیم دهیدروژناز در دو سنجش در تیمارهای مختلف جیبرلیک اسید و تیمار فاقد نمک



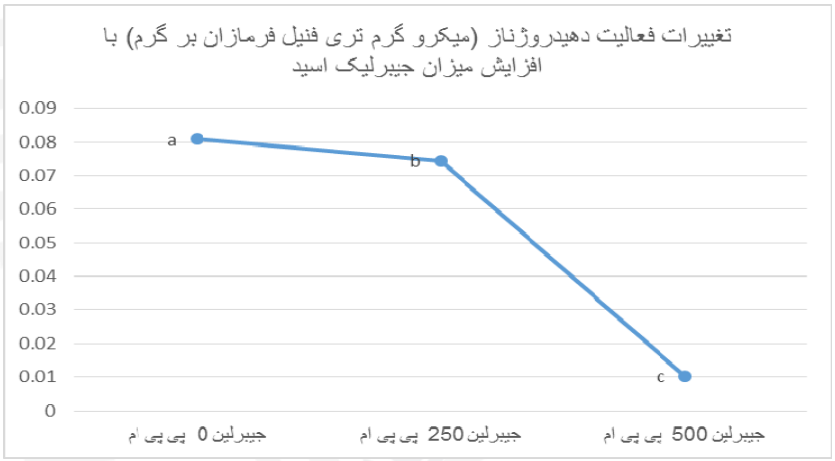
شکل۲. تفاوت فعالیت آنزیم دهیدروژناز در دو سنجش در تیمارهای مختلف جیبرلیک اسید و تیمار نمک ۵۰ میلی مول بر لیتر



شکل۳. تفاوت فعالیت آنزیم دهیدروژناز در دو سنجش در تیمارهای مختلف جیبرلیک اسید و تیمار نمک ۱۰۰ میلی مول بر لیتر



شکل ۴. تغییرات مقدار دهیدروژناز با افزایش شوری



شکل ۵. تغییرات مقدار دهیدروژناز با افزایش جیبرلیک اسید

فعالیت زیستی در خاک در ارتباط با چرخه رطوبت و زهکشی می‌باشد(Wolinska and Bennicelli, 2010). دسترسی به آب به‌شدت بر فعالیت میکروبی خاک، ترکیب جمعیت و در نتیجه، فعالیت‌های آنزیمی خاک مؤثر است. در خاک خشک با افزایش پتانسیل آب، فعالیت میکروبی و مخصوصاً فعالیت آنزیمی درون سلولی کند می‌شود (Geisseler *et al*., 2011). در خاک مرطوب با افزایش رطوبت خاک میزان مواد آلی قابل حل در محلول خاک افزایش و در نتیجه بر جمعیت باکتری‌ها افزوده می‌شود. تغییر در میزان میکروارگانیسم‌ها، بر خواص بیوشیمی خاک و در نتیجه حاصلخیزی و رشد گیاه مؤثر است(Subhani *et al*., 2001).

محتوای آب خاک تابعی از تنش آبی خاک است(Wolinska and Bennicelli, 2010). سوخت و ساز و بقای میکروارگانیسم‌های خاک به شدت با در دسترس بودن آب ارتباط دارد (Uhlirova et al., 2005). کاهش دسترسی آب، فعالیت میکروبی را از طریق کاهش پتانسیل آب درون سلولی محدود می‌کند (Wall and Heiskanen, 2003).

منابع

Alf, K., Nannipieri and Trazar-Cepada, C. 1995. Phosphatase activity. In Methods in applied soil microbiology and biochemistry. Ed Alf, K. and Nannipieri. Academic Press, London. pp:335-344.

Bastida, F., Kandeler, E., Moreno, J.L., Ros, M., Garcia, C. and Hernandez, T. 2008. Application of fresh and composted organic wastes modifies structure, size and activity of soil microbial community under semiarid climate. Applied Soil Ecol., 40:318-329.

Burns, R.G. 1978. Soil Enzymes. Academic Press, London.

Chodak, M. and Niklińska, M. 2010. Effect of Texture and Tree Species On Microbial Properties of Mine Soils. Applied Soil Ecology, 46, pp. 268-275.

Dick, R.P. 1994. Soil enzyme assays as indicators of soil quality. In: Dorn, J.W.; Coleman, D.C.; Bezdicek, D.F. and Stewart, B.A., eds. Defining soil quality for a sustainable environment. Soil Sci. Soc. Am. Special Publication, Madison. p.107-124.

Dick, R.P., Breakwell D.P. and Turco R.F. 1996. Soil enzyme activities and biodiversity measurements as integrative microbiological indicators. In: Doran J.W., Jones A.J. (eds) Methods of assessing soil quality. Soil Science Society of America, Madison, WI, pp 247–271.

Frankenberger, W. and Johanson, J. 1982. Effect of pH On Enzyme Stability in Soils. Soil Biology and Biochemistry, 14, pp. 433-437.

Geisseler, D., Horwath, W. and Scow, K. 2011. Soil Moisture and Plant Residue Addition Interact In Their Effect On Extracellular Enzyme Activity. Pedobiologia, 54, pp. 71-78.

Kiss, S., Dragan-Bularda, M. and Radulescu, D. 1975. Biological Significance of enzymes in soil. Adv. Agron. 27: 25-91.

Kumar, S., Chaudhuri, S. and Maiti, S.K. 2013. Soil Dehydrogenase Enzyme Activity in Natural and Mine Soil - A Review. Middle-East Journal of Scientific Research 13 (7): 898-906.

Marzadori, C., Ciavatta, C., Montecchio, D. and Gessa C. 1969. Effect of lead pollution on different soil enzymes activities. Biology Fertility soils, 22: 235-241.

Mersi, von, W. and F. Schinner, 1991. An improved and accurate method for determining the dehydrogenase activity of soils with iodonitrotetrazolium chloride. Biol. Fertil. Soils, 11: 216-22.

Moeskops, B., Buchan, D., Sleutel, S., Herawaty, L., Husen, E., Saraswati, R., Setyorini, D. and De Neve, S. 2010. Soil Microbial Communities and Activities Under Intensive Organic and Conventional Vegetable Farming In West Java, Indonesia. Applied Soil Ecology, 45, pp. 112-120.

Romero, E., Fernandez-Bayo, J., Diaz, J. and Nogales, R. 2010. Enzyme Activities and Diuron Persistence In Soil Amended With Vermicompost Derived From Spent Grape Marc and Treated With Urea. Applied Soil Ecology, 44, pp. 198-204.

Skujins, J. 1976. Extraceilular enzymes in soil. Crit. Rev. Microbiol. 4:383421.

Smith, E.L., Hill, R.L., Lehman, I.R., Lefkowitz, R.J., Handler, P., and White. A. 1983. Biochemistry: Mammalian Biochemistry. 7th edition. McGraw-Hill International Book Co., London/Tokyo.

Subhani, A., Changyong, H., Zhengmiao, Y., Min, L. and El-ghamry, A. 2001. Impact of Soil Environment and Agronomic Practices On Microbial/Dehydrogenase Enzyme Activity In Soil. A Review. Pakistan Journal of Biological Sciences, 4, pp. 333-338.

Tabatabai, M.A. 1982. Soil enzyme. In: Page AL (ed) Methods of soil analysis, Part 2. American Society of Agronomy, Madison, WI, pp 903–948.

Tabatabai, M.A. 1994. Soil enzymes. In: R.W. Weaver, J.S. Angle and P.J. Bottomley (Eds.), Methods of Soil Analysis. Part 2, Microbiological and Biochemical Properties. SSSA, Madison, PP: 775–833.

Trevors, J. 1984. Effect of Substrate Concentration, Inorganic Nitrogen, O_2 Concentration, Temperature and pH On Dehydrogenase Activity In Soil. Plant and Soil, 77, pp.285-293.

Uhlirova, E., Elhottova, D., Triska, J. and Santruckova, H. 2005. Physiology and Microbial Community Structure In Soil At Extreme Water Content. Folia Microbiology, 50, pp. 161- 166.

Walton, B.A., Guthrie, E.A. and Christman, R.F. 1994. Rhizosphere microbial community as a plant defense against toxic substances in soils. In: Anderson, T.A. Coats, J.R.(Eds) Bioremediation through rhizosphere technology. American chemical Society, Washington, DC, pp 82-92.

Wall, A. and Heiskanen, J. 2003. Water-Retention Characteristic and Related Physical Properties of Soil On Afforested Agricultural Land In Finland. Forest Ecology & Management, 186, pp. 21-32.

Wolińska, A. and Bennicelli, R. 2010. Dehydrogenase Activity Response to Soil Reoxidation Process Described as Varied Condition of Water Potential, Air Porosity and Oxygen Availability. Polish Journal of Environmental Studies, 19, pp. 651-657.

Yuan, B. and Yue, D. 2012. Soil Microbial and Enzymatic Activities Across a Chronosequence of Chinese Pine Plantation Development On The Loess Plateau of China. Pedosphere, 22, pp. 1-12.

Zhang, N., He, X., Gao, Y., Li, Y., Wang, H., Ma, D., Zhang, R. and Yang, S. 2010. Pedogenic Carbonate and Soil Dehydrogenase Activity In Response To Soil Organic Matter in *Artemisia ordosica* Community. Pedosphere, 20, pp. 229-235

Zhao, B., Chen, J., Zhang, J. and Qin S. 2010. Soil Microbial Biomass and Activity Response To Repeated Drying-Rewetting Cycles Along a Soil Fertility Gradient Modified By Long-Term Fertilization Management Practices. Geoderma, 160, pp. 218-224

The Interaction of Gibberellic Acid and Salinity on Dehydrogenase Enzyme Activity of Guava Seedling Root

Zahra Pashangeh[1], Mansoore Shamili[2*]
[1] MSc student,Department of Horticulture, University of Hormozgan
[2] Assistant Professor, Department of Horticulture, University of Hormozgan,
[*] Corresponding author: shamili@ut.ac.ir

Abstract

Dehydrogenase activity is used widely as an index of soil quality and fertility. To evaluate the effect of salinity on root exudates of guava seedling a factorial experiment in a completely randomized design was conducted salinity (0, 50 and 100 mmol/L) and gibberellic acid (0, 250 and 500 ppm) were the factors. Dehydrogenase activity showed significant differences among the treatments. There was no change between first and second dehydrogenase measurement among all GA levels (by lack of salt). The GA-free treatment had lower dehydrogenase activity in both time, and by adding GA dehydrogenase increased. Adding salt reduced dehydrogenase activity.
Keywords: Guava, enzyme activity, dehydrogenase, salinity