پاسخ آنزیم‌های ضد اکسایشی پراکسیداز و سوپر اکسید دیسموتاز، مقدار پروتئین و کربوهیدارت‌های محلول کل چمن لولیوم (*Lolium perenne*) به تنش شوری و کاربرد گاما آمینوبوتیریک اسید

فرزاد نظری*، فخریه احمدی و ناصر قادری
گروه علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه کردستان.
*نویسنده مسئول: f.nazari@uok.ac.ir

چکیده

چمن‌ها یکی از اجزای کلیدی فضای سبز هستند که نقش مهمی در زیباسازی آن دارند. محدودیت دسترسی به آب شیرین و نیز تنش شوری، از مهمترین عوامل محدود کننده رشد و نمو آن‌ها می باشند. این تنش با ایجاد اختلال در تعادل بین تولید گونه‌های فعال اکسیژن و فعالیت‌های دفاعی آنتی اکسیدانی گیاه، ایجاد تنش اکسیداتیو می‌کند. گاما آمینوبوتیریک اسید (GABA) به تازگی برای افزایش تحمل گیاهان در برابر تنش‌های محیطی از جمله تنش شوری به کار برده شده است. بنابراین، این پژوهش به منظور بررسی اثر گاما آمینوبوتیریک اسید بر فعالت آنزیم‌های ضد اکسایشی پراکسیداز و سوپراکسید دیسموتاز، پروتئین و کربوهیدرات‌های محلول کل در چمن لولیوم تحت تنش شوری مورد بررسی قرار گرفت. آزمایش به‌صورت فاکتوریل در قالب طرح به‌طور کامل تصادفی با دو فاکتور تنش شوری (شاهد، شوری ۵۰ و ۱۰۰ میلی‌مولار) و GABA (صفر، ۵۰ و ۱۰۰ میلی مولار) هر کدام در ۳ سطح با ۴ تکرار انجام شد. نتایج نشان داد که تنش شوری سبب کاهش کربوهیدارت‌های محلول کل و افزایش فعالیت آنزیم‌های ضد اکسایشی پراکسیداز و سوپر اکسید دیسموتاز و مقدار پروتئین می‌شود. همچنین کاربرد ۵۰ و ۱۰۰ میلی‌مولار GABA در طی تنش شوری سبب بهبود این ویژگی‌ها در مقایسه با شاهد (بدون کاربرد GABA) شد.

کلمات کلیدی: آنزیم های ضد اکسایشی، تنش شوری، چمن.

مقدمه

تنش شوری ممکن است از طریق انباشت گونه‌های فعال اکسیژن (ROS) ، سمیت یونی، اختلال در سیستم‌های دفاع ضد اکسایشی، عملکرد نورساخت و عدم تعادل هورمون‌ها سبب آسیب به فرآیند فیزیولوژیکی گیاهی شود، همچنین شوری موجب کاهش هدایت روزنه‌ای شده و تبادل گازی را مهار می‌کند (Kim *et al*., 2016). گاما-آمینو بوتیریک اسید [۴-آمینو بوتیرات (GABA)] یک اسیدآمینه‌ی چهار کربنه‌ی غیرپروتئینی و جزء پلی‌آمین‌هاست و اولین بار در سال ۱۸۸۳ شناخته شد (Shelp *et al*., 2012). GABA به‌عنوان یک مولکول پیام‌دهنده‌ی درون‌زا شناخته می‌شود که نقش مهمی در تنظیم پاسخ به تنش‌ها، رشد و نمو گیاه ایفا می‌کند. GABA در پاسخ به تنش گیاهان، نقش‌های متعددی ازجمله: پیام دهنده، هدایت یاخته‌ای، دفاع در برابر حشرات، تنظیم pH یاخته، تنظیم اکسیداسیون و احیا، تعادل انرژی و متابولیسم نیتروژن و کربن ایفا می‌کند. پژوهش‌های مختلف نشان داده که GABA در پاسخ به تنش‌های زنده و غیرزنده ازجمله خشکی، شوری، شرایط غرقابی، شوک حرارتی و بیماری‌زاها به سرعت در گیاهان تجمع می‌یابد (Krishnan *et al*., 2013). گزارش شده که تحت تنش شوری، افزایش میزان GABA در گوجه‌فرنگی میزان قند محلول و پرولین را افزایش می‌دهد و این افزایش سبب تحمل تنش شوری می‌شود همچنین در پایان دوره‌ی تنش شوری، تجمع قند محلول سه برابر بیشتر از ارقام متحمل به شوری بود (Harborne, 1997). ارزیابی متابولیسم گیاه تراریخته چمن آگروستیس با محتوای سیتوکینین بالا تحت شرایط خشکی نشان داده که گیاهان مقاوم به خشکی دارای میزان بیشتری از GABA انباشته‌شده در مقایسه با گیاهان حساس به خشکی می‌باشند (Merewitz *et al*., 2012). در بیشتر گیاهان، غلظت‌های بالای NaCl، سبب کاهش رشد می‌شود.کمبود بارش، فرورفت سفره آب‌های زیرزمینی، کیفیت نامناسب آب آبیاری و نمک حاصل از کودها سبب افزایش شوری خاک می‌شوند که یک مشکل رایج در مدیریت چمن‌ها به ویژه در مناطق جنوب کشور است. به دلیل شوری زمین‌های کشاورزی و استفاده از

IrHC2019

آب شور برای آبیاری چمن‌ها، چمن‌ها نیز به طور فزاینده‌ای تنش شوری را تجربه می‌کنند. بنابراین هدف از این پژوهش ارزیابی اثر GABA بر برخی ویژگی‌های فیزیولوژیکی چمن لولیوم در شرایط تنش شوری و تعیین سطح مناسب GABA در این شرایط بر این گونه چمن است.

مواد و روش‌ها

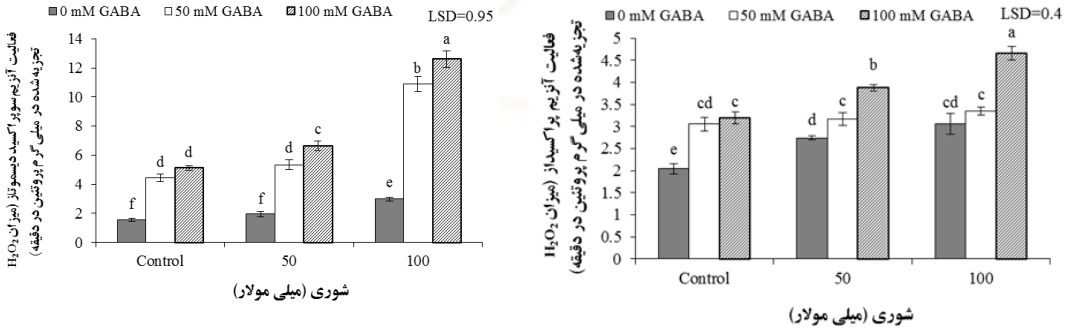
پژوهش حاضر در گلخانه‌ی گروه علوم باغبانی دانشکده‌ی کشاورزی دانشگاه کردستان به‌صورت فاکتوریل در قالب طرح به‌طور کامل تصادفی با دو فاکتور تنش شوری (شاهد، شوری ۵۰ و ۱۰۰ میلی‌مولار) و GABA (صفر، ۵۰ و ۱۰۰ میلی مولار) هر کدام در ۳ سطح با ۴ تکرار انجام شد. با کشت بذرها در آمیخته‌ی خاکی (خاک، کود حیوانی و ماسه به نسبت حجمی یکسان)، پس از یک هفته بذرها سبز شده و تا اعمال تنش شوری ۵ بار سرزنی انجام شد. پس از سرزنی چمن، تیمارها اعمال شدند. در زمان اعمال تیمارها، گیاهان یک روز در میان با آب شور ۵۰ و ۱۰۰ میلی‌مولار آبیاری شده و جهت حفظ سطح شوری در گلدان‌ها بعد از اعمال چند مرحله شوری، EC زه‌آب گلدان‌ها اندازه‌گیری شد. در طول اعمال شوری بعد از هر ۳ بار شوری، یک بار با آب، آبیاری شدند. یک هفته قبل از اعمال تنش شوری محلول پاشی GABA شروع شد. پس از ۳ ماه از اعمال تنش شوری، فعالت آنزیم‌های ضد اکسایشی پراکسیداز و سوپراکسید دیسموتاز و نیز مقدار پروتئین و کربوهیدرات‌های محلول کل در برگ های این چمن اندازه‌گیری شد.

نتایج و بحث

فعالیت آنزیم پراکسیداز (POD) و سوپر اکسید دیسموتاز (SOD)

بر اساس نتایج مقایسه میانگین‌ها تنش شوری بر میزان فعالیت آنزیم های POD و SOD اثر افزایشی داشته و کاربرد GABA نیز میزان فعالیت آنها را افزایش داد. در تیمار شاهد، غلظت صفر میلی‌مولار GABA کمترین میزان POD و SOD را دارا بوده و بین غلظت ۵۰ و ۱۰۰ میلی‌مولار اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد. در هر دو سطح شوری، غلظت صفر میلی‌مولار GABA کمترین میزان فعالیت این دو آنزیم را دارا بوده و با افزایش غلظت GABA، فعالیت آنزیم‌ها افزایش یافت (شکل ۱).

در این پژوهش افزایش فعالیت آنزیم POD و SOD تحت تنش شوری مشاهده شد و کاربرد GABA سبب افزایش بیشتر فعالیت این آنزیم‌ها شد. گیاهان با تحریک فعالیت آنزیم‌های ضد اکسایشی ازجمله POD و SOD در برابر ROS ها در شرایط تنش دفاع می‌کنند. POD بخشی از سیستم دفاع آنزیمی یاخته‌های گیاهی است که سبب تبدیل H_2O_2 به آب و O_2 می‌شود. افزایش فعالیت POD در شرایط تنش با حفاظت از آسیب اکسیداتیو مرتبط است. آنزیم SOD اولین خط دفاعی یاخته در برابر حمله رادیکال‌های آزاد است. افزایش فعالیت آنزیم SOD در شرایط تنش ممکن است به‌واسطه‌ی نقش حیاتی این آنزیم در حفظ بقاء گیاه در شرایط تنش باشد (Kumari and Vishnuvardhan, 2015).



شکل ۱- مقایسه میانگین مربوط به اثر تنش شوری و گاما- آمینو بوتیریک اسید بر فعالیت آنزیم پراکسیداز (سمت راست) و سوپر اکسید دیسموتاز (سمت راست) در چمن لولیوم (ستون‌های دارای حرف مشترک در سطح احتمال ۵٪ آزمون LSD، اختلاف معنی‌داری ندارند).

پروتئین و کربوهیدرات‌های محلول کل

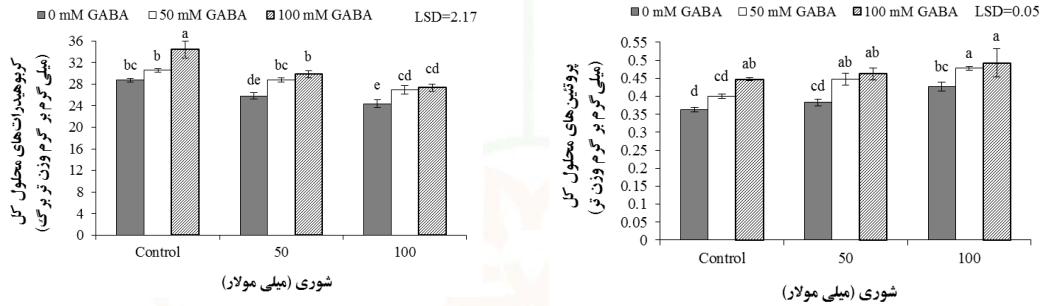
تنش شوری به ترتیب سبب افزایش و کاهش میزان پروتئین‌ها و کربوهیدارات های محلول کل شد و کاربرد GABA در هر دو ویژگی نیز سبب افزایش میزان آن‌ها در مقایسه با شاهد در شرایط تنش شوری و غیر تنش شوری شد. در تیمار شاهد،

IrHC2019

غلظت ۱۰۰ میلی‌مولار GABA بیشترین میزان پروتئین را دارا بوده و بین غلظت صفر و ۵۰ میلی‌مولار GABA اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد. در هر دو ویژگی و در هر دو سطح شوری ۵۰ و ۱۰۰ میلی‌مولار با اینکه هر دو غلظت GABA تفاوت معنی داری با هم نداشتند اما تفاوت آن ها با شاهد کاملا معنی دار بود (شکل ۲).

در این پژوهش GABA با افزایش پروتئین‌ها سبب افزایش فعالیت آنزیم‌های POD و SOD شده است، به‌علت این‌که آنزیم‌ها ماهیت پروتئینی دارند در نتیجه با افزایش میزان پروتئین، آنزیم‌ها نیز افزایش می‌یابند. این آنزیم‌ها در کاهش آسیب-های اکسیداتیو ناشی از تنش مداخله می‌کنند و به همین علت پروتئین در بهبود اثرات تنش در گیاه مؤثر است. به احتمال زیاد GABA از طریق افزایش آنزیم‌های ضداکسایشی و کاهش رادیکال‌های آزاد هیدروکسیل (OH^-)، آسیب‌های اکسایشی ایجاد شده تحت تنش شوری را کاهش می‌دهد.

کربوهیدرات‌ها در طول تنش شوری افزون بر نقش مؤثری که در تنظیم اسمزی دارد، به‌عنوان تنظیم‌کننده‌ی بیان ژن نیز نقش مهمی در گیاه ایفا می‌کنند (Rahdari *et al*., 2012). در شرایط تنش شوری کربوهیدرات‌های محلول در بسیاری از گیاهان افزایش می‌یابد. محققان دلایل این افزایش را تبدیل مولکول‌های بزرگ مانند نشاسته و ساکارز به مولکول‌های کوچک-تر مانند گلوکز و فروکتوز، کاهش مصرف قند توسط گیاه و کاهش رشد و توسعه‌ی یاخته‌ها که سبب کاهش تبدیل شدن کربوهیدرات‌های محلول به پلی‌ساکاریدهای ساختمانی می‌شود؛ بیان می‌کنند.



شکل ۲- مقایسه میانگین مربوط به اثر تنش شوری و گاما- آمینو بوتیریک اسید بر میزان پروتئین‌های محلول کل (سمت راست) و کربوهیدرات‌های محلول کل (سمت راست) در چمن لولیوم (ستون‌های دارای حرف مشترک در سطح احتمال ۵٪ آزمون LSD، اختلاف معنی‌داری ندارند).

منابع

Harborne, J. B. 1997. Biochemical plant ecology. In: Plant Biochemistry. Dey, D.M. and Harborne, J.B., Eds., Academic Press, London, New York, 503-516.

Kim, J., Liu, Y., Zhang, X., Zhao, B. and Childs, K. 2016. Analysis of salt-induced physiological and proline changes in 46 switch grass (*Panicum virgatum*) lines indicates multiple responses modes. Plant Physiology and Biochemistry, 105: 203-212.

Krishnan, S., Laskowski, K., Shukla, V. and Merewitz, E. 2013. Mitigation of drought stress damage by exogenous application of a non-protein amino acid γ–aminobutyric acid on perennial ryegrass. American Society of Horticulture Science, 138(5): 358-366.

Kumari, R.P. and Vishnuvardhan, Z. 2015. The negative effects of Calcium Chloride on Kodo millet (*Paspalum scrobiculatum*) germplasm during germination. Journal of current Microbiology and Applied. Science, 4(6): 475-483.

Merewitz, E.B., Du, H., Yu, W., Liu, Y., Gianfagna, T. and Huang, B. 2012. Elevated cytokinin content in ipt transgenic creeping bentgrass promotes drought tolerance through regulating metabolite accumulation. Journal of Experimental Botany, 63(3): 1315-1328.

Rahdari, P., Tavakoli, S. and Hosseini, S.M. 2012. Studying of salinity stress effect on germination, proline, sugar, protein, lipid and chlorophyll content in purslane (*Portulaca oleracea* L.) leaves. Journal of Stress Physiology and Biochemistry, 8(1): 182-193

Shelp, B.J., Bozzo, G.G., Trobacher, C.P., Chiu, G.C. and Bajwa, V.S. 2012. Strategies and tools for studying the metabolism and function of γ-aminobutyrate in plants. I. Pathway structure. Botany, 90: 651–668.

IrHC2019

Response of peroxidase (POD) and superoxide dismutase (SOD) antioxidant enzymes, protein and total carbohydrate content of perennial ryegrass (Lolium perenne) to salt stress and application of Gama amino butyric acid (GABA)

Farzad Nazari*, Fakhrieh Ahmadi and Naser Ghaderi
Department of Horticultural Science, College of Agriculture, University of Kurdistan.
*Corresponding author: f.nazari@uok.ac.ir

Abstract
Lawns are one of the key components of landscape that play an important role in its beautification. Limitation of access to fresh water and salinity stress are one of the most important factors limiting their growth and development. This stress with disturbance of the balance between production of ROSs and antioxidant defense, resulted to oxidative stress in plant. Gamma aminobutyric acid (GABA) used to increase the tolerance of plants to environmental stresses such as salinity stress, recently. Thus, this research conducted to study the effects of gamma GABA on peroxidase and superoxide dismutase antioxidant enzymes activity, protein and total carbohydrate content of perennial ryegrass under salt stress. Factorial experiment was carried out in a completely randomized design with two factors of salinity stress (control, salinity 50 and 100 mM) and GABA (0, 50 and 100 mM) each in 3 levels with 4 replications. The results showed that salinity stress reduced total soluble carbohydrates and increased the content total soluble proteins (TSP) as well as the activity of anxiolytic enzymes such as POD and SOD. Application of 50 and 100 mM of GABA during salinity stresses improved these characteristics compared to control.
***Keywords*:** Antioxidant enzymes, Salt stress, Turfgrass.

IrHC2019