پاسخ فیزیولوژیکی و آنتی‌اکسیدانی ذرت شیرین به کاربرد خارجی گلایسین بتائین تحت تنش شوری

شهربانو گرمسیری [1*]، علی‌اکبر رامین [2]، فریبا امینی [3]، مصطفی مبلی [4]، فرزانه علیایی [5]
1 و 5- دانشجوی سابق کارشناسی ارشد علوم باغبانی، دانشگاه صنعتی اصفهان، اصفهان. 2 و 4- استاد گروه علوم باغبانی، دانشگاه صنعتی اصفهان، اصفهان. 3- استادیار گروه زیست‌شناسی، دانشگاه اراک، اراک.

چکیده

تنش شوری یکی از معمول‌ترین تنش‌های غیرزنده است که به طور قابل توجهی باعث کاهش رشد و عملکرد بیشتر گونه‌های گیاهی می‌شود. جهت بررسی تاثیر گلایسین‌بتائین بر سیستم آنتی‌اکسیدانی و برخی صفات فیزیولوژیک گیاه ذرت شیرین تحت تنش شوری آزمایشی در گلخانه تحقیقاتی دانشگاه صنعتی اصفهان در قالب طرح کاملاً تصادفی بصورت فاکتوریل با دو فاکتور گلایسین‌بتائین در سه سطح (0، 25 و 50 میلی‌مولار) و شوری در سه سطح (0، 30 و 60 میلی‌مولار) به صورت گلدانی انجام شد. تیمار با گلایسین‌بتائین به صورت محلول‌پاشی برگی در سه مرحله با فاصله تقریبی 10 روز صورت گرفت. نتایج نشان داد که کلروفیل، آنتوسیانین و پرولین برگ و آنزیم‌های آسکوربات‌پراکسیداز و پراکسیداز گیاه تحت تاثیر شوری قرار گرفتند. اما محلول‌پاشی گیاه‌ها با گلایسین‌بتائین باعث بهبود آسیب‌های ناشی از شوری شد؛ به طوری که تیمار با این ماده باعث افزایش معنی-دار کلروفیل، آنتوسیانین، آنزیم آسکوربات‌پراکسیداز و آنزیم پراکسیداز و کاهش معنی‌دار پرولین نسبت به گیاهان بدون تیمار شد. به طور کلی با توجه به نتایج حاصله می‌توان گفت در شرایط تنش شوری، محلول‌پاشی با غلظت 50 میلی‌مولار گلایسین‌بتائین در گیاه ذرت شیرین با بهبود خسارات شوری، باعث افزایش مقاومت به شوری می‌شود.

واژه‌های کلیدی: ذرت شیرین، تنش شوری، گلایسین‌بتائین، صفات فیزیولوژیکی و آنتی‌اکسیدانی

مقدمه

بخش قابل توجهی از اراضی کشاورزی کشور و همچنین آب‌های مورد استفاده در آبیاری محصولات زراعی، شور و لب شور بوده و متاسفانه روز به روز بر میزان آن نیز افزوده می‌شود. هزینه‌های ناشی از صدمات شوری در کشاورزی بسیار قابل ملاحظه است [3]. تنش شوری با فعال کردن آنزیم‌های تجمع‌دهنده رادیکال‌های اکسیژن، تولید این رادیکال‌ها را تشدید می‌کند. در تنش اکسیداتیو پراکسیدهیدروژن و رادیکال سوپراکسیدِ تشکیل شده، باعث پراکسیداسیون غشا می‌شوند و ساختار پروتئین‌های غشایی را تغییر می‌دهند [5]. برای غلبه بر تنش اکسیداتیو، گیاهان دارای مکانیزم‌های آنتی‌اکسیداتیو برای سمیت‌زدایی و حذف اکسیژن های فعال هستند. سیستم آنتی‌اکسیدان گیاهان شامل ترکیبات آنتی‌اکسیدانت (آسکوربیک‌اسید، توکوفرول و کاروتنوئید) و آنزیم-های آنتی‌اکسیدانت مثل سوپراکسیددیسموتاز، پراکسیداز، آسکوربات پراکسیداز، کاتالاز و غیره می‌باشند [5]. مهم‌ترین عامل بازدارندگی رشد گیاهان تحت شرایط شوری، کاهش پتانسیل تورژسانس گیاه و در پی آن کاهش تورژسانس سلول‌ها دانسته شده است. یکی از راهکارهایی که گیاهان در پاسخ به کاهش پتانسیل تورژسانس پیش می‌گیرند، تجمع ترکیبات با وزن ملکولی پایین معروف به محلول‌های سازگاری می‌باشد. گلایسین‌بتائین یکی از مهم‌ترین محلول‌های سازگاری است که به عنوان یک محافظ اسمزی عمل می‌کند. گلایسن‌بتائین یا بتائین یک تری‌متیل حاصل از اسیدآمینه گلایسین است که از فرآوری چغندرقند حاصل می‌شود. این ماده در بسیاری از گیاهان مقاوم به شوری یافت می‌شود. فعالیت اسمزی گلایسین‌بتائین به خاطر خاصیت دو قطبی آن و حلالیت زیاد آن در آب است. در گیاهان و باکتری‌ها، بتائین اغلب بخاطر مقابله با نمک‌ها و تنش حرارتی تولید و تجمع می-یابد[10]. هدف از این پژوهش بررسی تأثیر محلول‌پاشی برگی گلایسین‌بتائین بر ذرت شیرین تحت تنش شوری بود.

مواد و روش‌ها

این پژوهش در گلخانه تحقیقاتی دانشگاه صنعتی اصفهان در سال1391 در قالب طرح کاملاً تصادفی (CRD) بصورت فاکتوریل با دو فاکتور گلایسین‌بتائین در سه سطح (0، 25 و 50 میلی‌مولار) و شوری در سه سطح (0، 30 و 60 میلی‌مولار NaCl) با 4 تکرار در مرحله رویشی به صورت گلدانی با محیط کشت ماسه خالص اجرا شد. جهت تغذیه دانهال‌ها ازکود کامل فلورال با غلظت 2 در هزار استفاده گردید. تیمارهای شوری درمحلول غذایی اعمال شد و از زمان 4 برگی شدن گیاهچه‌ها (دو هفته پس از کاشت) شروع شد. برای جلوگیری از وارد شدن تنش، غلظت شوری به تدریج و طی چند مرحله افزایش یافت تا به غلظت مورد نظر رسید. در زمان رسیدن شوری به غلظت مورد نظر، تیمار با گلایسین‌بتائین در سه غلظت0، 25 و50 میلی‌مولار به صورت محلول‌پاشی برگی صورت گرفت. این تیمار دو بار دیگر با فاصله حدود 10 روز تکرار شد. در مرحله‌ی پایان رشد رویشی و به محض مشاهده گل‌آذین نر، گیاهان از محیط کشت خارج شده و جهت اندازه‌گیری آماده شدند. تجزیه آماری نتایج توسط نرم افزار Statistix 8 و مقایسه میانگین‌ها براساس آزمون LSD در سطح احتمال 5% انجام گرفت.

نتایج و بحث

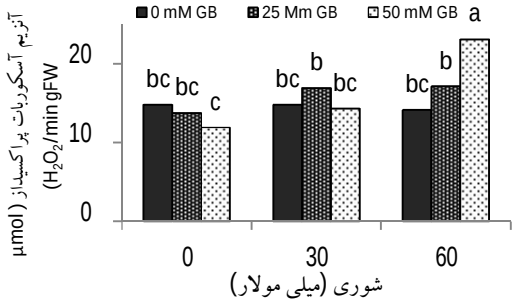
محتوای کلروفیل برگ‌ها یکی از عوامل کلیدی در تعیین سرعت فتوسنتز می‌باشد. نقش آنتوسیانین‌ها در تنش‌های اکسیداتیو خاموش نمودن اکسیژن فعال در برگ‌های جوان و میوه‌های در حال رشد است. نتایج نشان داد که با اعمال شوری غلظت کلروفیل و آنتوسیانین برگ کاهش یافت؛ به طوری‌که بالاترین غلظت کلروفیل و آنتوسیانین در شوری صفر میلی‌مولار مشاهده شد که با دو سطح دیگر شوری تفاوت معنی‌داری داشت(جدول 1). استریوسو و همکاران ضمن گزارش کاهش کلروفیل a و b تحت تنش شوری بر گیاه ذرت اظهار کردند که این کاهش احتمالاً به این دلیل است که نمک موجب شکسته شدن کمپلکس‌های لیپید-رنگیزه پروتئین شده و یا فعالیت آنزیم کلروفیلاز را افزایش می‌دهد. کاهش میزان کلروفیل همچنین می‌تواند به دلیل کاهش میزان جذب منیزیم و یا کاهش جذب نیترات به علت افزایش یون کلر در محیط ریشه و یا تغییر متابولیسم نیتروژن به دلیل سنتز ترکیب-هایی نظیر پرولین که در تنظیم اسمزی به کار می‌روند باشد [9]. حفظ غلظت کلروفیل، تحت شرایط تنش از جمله شاخص‌های فیزیولوژیک تحمل کم‌آبی ست. نتایج نشان داد که کاربرد 50 میلی‌مولار گلایسین‌بتائین باعث افزایش معنی‌دار کلروفیل و آنتوسیانین کل برگ (حدود 20%) نسبت به تیمار شاهد گردید (جدول 1). دو فرض متناقض برای مکانیزمی که به واسطه آن گلایسین‌بتائین ساختمان ملکول‌ها را حفظ می‌کند پیشنهاد شده است. 1- حفظ ساختمان طبیعیِ پروتئین‌ها از طریق آب‌پوشی ملکول و 2- اتصال بخش آبگریز گلایسین‌بتائین به بخش‌های آبگریز پروتئین؛ که بواسطه این پیوند زمانی که کمبود آب بوجود آید، آب به آسانی آزاد می‌شود[به نقل از 8]. بر طبق جدول 1 هیچ یک از پارامترهای شوری و گلایسین‌بتائین نتوانستند به طور معنی‌داری بر میزان کاروتنوئید برگ موثر واقع شوند. مطابق نتایج، با افزایش سطح شوری میزان پرولین برگ افزایش یافت (جدول 1). گیاهان تیمار شوری 60 میلی‌مولار بیش از دو برابر نسبت به شوری صفر میلی‌مولار، پرولین بیشتری در برگ‌های خود تجمع دادند. مشخص شده است که کاهش تورژسانس عامل اولیه تجمع پرولین در تنش‌های شوری و خشکی است. تجمع پرولین در گیاهان تحت تنش‌های غیرزیستی به واسطه سنتز بیشتر پرولین و غیرفعال شدن تخریب آن است[1]. کاربرد گلایسین‌بتائین باعث کاهش غلظت پرولین آزاد برگ گردید. با افزایش غلظت گلایسین‌بتائین از غلظت پرولین کاسته شد(جدول 1). تیمار 50 میلی-مولار گلایسین‌بتائین با دو سطح دیگر اختلاف معنی‌داری داشت. سنتز محلول‌های آلی سازگار به دلیل مصرف مواد کربنی در ساخته شدن آنها از لحاظ متابولیسمی پرهزینه و انرژی‌بر است و برای گیاه گران تمام می‌شود[4]. بنابراین با تأمین گلایسین‌بتائین برای گیاه از طریق استعمال خارجی، نیاز گیاه به سنتز پرولین و سایر محلول‌های آلی سازگار کم شده و انرژی خود را برای رشد و سایر فرآیندهای زیستی خود صرف می‌نماید. در تائید نتایج ما، در گیاه مرتعی Atriplex verrucifera افزایش سطوح شوری موجب افزایش معنی‌دار پرولین گردید، ولی کاربرد 1 میلی‌مولار گلایسین‌بتائین از تجمع پرولین در برگ جلوگیری کرد[6].

آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان به عنوان سریع‌ترین واحدهای مقابله‌کننده در برابر حمله اکسیژن‌های فعال به شمار می‌آیند. شوری تاثیر معنی‌داری بر آنزیم آسکوربات‌پراکسیداز داشت. فعالیت این آنزیم با افزایش شوری افزایش یافت (جدول 1). برخلاف آنزیم آسکوربات‌پراکسیداز، فعالیت آنزیم پراکسیداز در اثر شوری به طور معنی‌داری کاهش یافت (جدول 1). در راستای نتایج این پژوهش حیدری و همکاران بیان داشتند که با افزایش شوری تا 300 میلی‌مولار بر میزان فعالیت آنزیم آسکوربات‌پراکسیداز در کلزا افزوده شد. در حالی که از میزان فعالیت آنزیم پراکسیداز کاسته شد[2]. اثر گلایسین‌بتائین بر فعالیت آنزیم آسکوربات-پراکسیداز معنی‌دار نبود(جدول 1). ولی اثر متقابل شوری و گلایسین‌بتائین بر این آنزیم معنی‌دار بود. در شوری صفر و 30 میلی-مولار، کاربرد گلایسین‌بتائین تاثیر معنی‌داری بر فعالیت آنزیم آسکوربات‌پراکسیداز نگذاشت(شکل 1). ولی تحت تنش شدیدترِ شوری (60 میلی‌مولار)، با افزایش سطح کاربرد گلایسین‌بتائین، فعالیت این آنزیم افزایش یافت. فعالیت آنزیم پراکسیداز نیز با افزایش غلظت کاربرد گلایسین‌بتائین افزایش یافت (جدول 1). اختلاف سطح 50 میلی‌مولار گلایسین‌بتائین با دو سطح دیگر معنی-دار بود. اثر متقابل شوری و گلایسین‌بتائین بر آنزیم پراکسیداز نیز معنی‌دار بود. این آنزیم در تمام سطوح شوری با افزایش غلظت کاربرد گلایسین‌بتائین، روند افزایشی را طی نمود (شکل 2). این افزایش، در شوری صفر میلی‌مولار، غیرمعنی‌دار اما در سطوح 30 و 60 میلی‌مولار معنی‌دار بود. گلایسین‌بتائین به طور موثری ساختمان چهارگانه آنزیم‌ها و پروتئین‌ها را پایدار می‌سازد. نواز و همکاران افزایش در فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانت سوپراکسید دیسموتاز، کاتالاز و پراکسیداز را با کاربرد گلایسین‌بتائین در یکی از دو کالتیوار ذرتِ مورد بررسی مشاهده کردند[7].

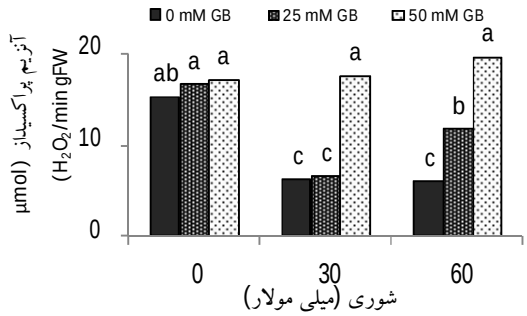
جدول 1- تاثیر شوری و گلایسین‌بتائین بر کلروفیل کل، کاروتنوئید، آنتوسیانین، پرولین و آنزیم‌های آسکوربات پراکسیداز و پراکسیداز در ذرت شیرین

تیمار		کلروفیل کل (mg/g FW)	کاروتنوئید (mg/g FW)	آنتوسیانین (µmol/g FW)	پرولین (µmol/g FW)	آنزیم آسکوربات پراکسیداز (µmol H2O2/min gfw)	آنزیم پراکسیداز (µmol H2O2/min gfw)
شوری (mM)	0	22/34 a	3/23 a	594/09 a	0/9 b	13/48b	16/30 a
	30	16/16 b	2/86 a	419/89 b	1/5 ab	15/32 b	10/07 b
	60	17/62 b	2/84 a	440/40 b	2 a	18/12 a	12/41 b
گلایسین‌بتائین (mM)	0	17/72 b	2/94 a	455/40 b	1/97 a	14/56 a	9/15 b
	25	17/28 b	3/05 a	448/48 b	1/34 a	15/93 a	11/57 b
	50	21/11 a	2/93 a	550/50 a	1/04 b	16/42 a	18/06 a

در هر ستون اعدادی که حداقل دارای یک حرف مشترک باشند فاقد تفاوت آماری بر اساس آزمون LSD در سطح احتمال 5% می‌باشند.



شکل1-اثر شوری و گلایسین‌بتائین بر آنزیم آسکوربات پراکسیداز



شکل2-اثر شوری و گلایسین‌بتائین بر آنزیم پراکسیداز

منابع

[1] جوانمردی، ش.، ر. فتوت و ج. صبا. 1389. رابطه بین کربوهیدرات‌های محلول و پرولین با تنظیم اسمزی و نقش تنظیم اسمزی در عملکرد گندم تحت شرایط تنش خشکی. علوم آب و خاک. 53: 72-62.

[2] حیدری، م.، ف. مصری و ز. کیخا. 1389. اثر تنش شوری بر متابولیسم اسیدهای نوکلئیک، فعالیت آنیزم‌های آنتی‌اکسیدان، فلورسانس کلروفیل و تنظیم‌کننده‌های اسمزی پنج رقم کلزا. مجله علوم گیاه زراعی ایران. 41: 502-491.

[3] خاوری خراسانی، س.، ه. حسن زاده مقدم و م. محمدی. 1387. راهنمای عملی و کاربردی کاشت، داشت و برداشت ذرت. نشر سروا.

[4] کریمی، ق.، م. قربانلی، ح. حیدری شریف‌آباد و م. ح. عصاره. 1385. بررسی مکانیزم‌های مقاومت به شوری در گونه مرتعی Atriplex verrucifera. پژوهش و سازندگی در منابع طبیعی. 73: 48-42.

[5] Foyer, C. H., and G. Noctor. 2003. Redox sensing and signaling associated with reactive oxygen in chloroplasts, peroxisomes and mitochondria. Plant Physiology. 119: 335–364.

[6] Heuer, B. 2003. Influence of exogenous application of proline and glycinebetaine on growth of salt-stressed tomato plants. Plant Science. 165: 693-699

[7] Nawaz, K. and M. Ashraf. 2010. Exogenous application of glycinebetaine modulates activities of antioxidants in maize plants subjected to salt stress . Journal of Agronomy and Crop Science. 196: 28-37.

[8] Sakamoto, A. and N. Murata. 2002. The role of glycine betaine in the protection of plants from stress: clues from transgenic plants. Plant, Cell Environment. 25: 163-171.

[9] Strivsev, M. V., S. Ponnamoreva and E. A. Kuznestova. 1973. Effect of salinization and hericides on chlorophyllase activity in tomato leaves. Physiology Rast. 20: 62-65.

[10] Zwarta, F. J., S. Slowa, R. J. Paynea, M. Levera, P. M. Georgea, J. A. Gerrardb and S. T. Chambersc. 2003. Glycine betaine and glycine betaine analogues in common foods. Food Chemistry. 83:197–204.

Physiologic and antioxidant response of sweet corn to exogenous application of glycine betaine

S. Garmsiri*1, A. A. Rami 2, F. Amini 3, M. Mobli 4

1, 2 and 4- Dept. of Horticultural Sciences, Isfahan University of Technology, isfahan-Iran. 2- Dept. of Sciences, Arak University, Arak-Iran.

Abstract

Salinity is one of the most common abiotic stress considerabley reduced plant growth and yield of more plant species. In order to investigate effect of glycine betainen on antioxidant system and some physiologic traits of sweet corn under salin condition this experiment was carried out in Isfahan university of technology research greenhouse in completely randomized design (CRD) as factorial with two factors including glycine betaine in three levels (0, 25 and 50 mM) and salinity in three levels (0, 30 and 60 mM) in poty mode. Glycine betaine treatment in foliar spraying method was done in three stages, with an approximately interval of 10 days. The results showed that chlorophyll, anthocyanin, proline and ascorbate peroxidase and peroxidase enzymes was affected by salinity. But spraying the plants with glycine betaine improves the damages was caused by salt. So that treatment with this material led to significantly increase in chlorophyll, anthocyanin and ascorbate peroxidase and peroxidase enzymes and significantly decrease in proline compared to control. Overall, according to obtained results It can say that in salinity condition, spraying with 50 mM glycine betaine, enhanced tolerance to salinity by improve salinity damages in sweet corn plants.

Keywords: Sweet corn, Salinity stress, Glycine betaine, Physiologic and antioxidant trait