فعالیت آنتی‌اکسیدانی، تغییرات اسید ابسیزیک و پرولین برگ تاک‌های تیمار شده با کلسیم و روی تحت تنش شوری

روح‌الله کریمی[۱*]، زهرا اکبرآبادی[۲]

۱. دانشیار باغبانی، گروه مهندسی فضای سبز، دانشکده کشاورزی، دانشگاه ملایر، ملایر

۲. دانشجوی کارشناسی ارشد باغبانی گرایش درختان میوه، گروه مهندسی فضای سبز، دانشکده کشاورزی، دانشگاه ملایر، ملایر

*نویسنده مسئول: *Rouholahkarimi@gmail.com*

چکیده

تقویت سامانه‌های آنتی‌اکسیدانی گیاه و نیز تحریک بیوسنتز هورمون‌های ضد تنش از قبیل اسید ابسیزیک نقش مهمی در سازگاری گیاه به تنش شوری دارد. در مطالعه حاضر اثر تیمار تغذیه‌ای نیترات کلسیم (۰، ۰/۵ و۱ درصد) و کلات روی (۰، ۰/۵ و ۱ درصد) بر تقویت سامانه‌های آنتی‌اکسیدانی و نیز بیوسنتز اسید ابسیزیک برگ انگور بی‌دانه سفید تحت تنش شوری در قالب آزمایش فاکتوریل بر پایه طرح کاملاً تصادفی بررسی شد. تنش شوری با غلظت ۷۵ میلی مولار به‌صورت هفتگی تا چهار هفته و از زمان اعمال تنش شوری محلول‌پاشی با نیترات کلسیم وکلات روی به‌صورت دو مرحله هر دو هفته یک‌بار انجام گرفت. نتایج نشان داد که با افزایش شوری فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی کاتالاز، گایاکول پراکسیداز و آسکوربات پراکسیداز برگ در انگورها افزایش یافت، بااین‌حال این افزایش در انگورهای تیمار شده با سطوح متوسط نیترات کلسیم و کلات روی تحت تنش شوری افزایش چشمگیری نشان داد. همچنین غلظت اسید ابسیزیک و پرولین در برگ تاک‌های تحت تنش شوری ۷۵ میلی‌مولار در پاسخ به کاربرد برگی عناصر کلسیم و روی در مقایسه با تاک‌های تیمار نشده با این عناصر تحت تنش شوری افزایش چشمگیری نشان داد. تیمار ترکیبی سطح دوم کلسیم (۰/۵ درصد) در ترکیب با سطح سوم روی (۱ درصد) در مقایسه با دیگر تیمارها اثر بهتری در افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی و نیز بیوسنتز اسید ابسیزیک و پرولین داشت که می‌تواند به‌عنوان یک تیمار پیشنهادی برای کاهش تنش اکسایشی القاء شده توسط شوری در تاک مورداستفاده قرار گیرد.

کلمات کلیدی: اسید ابسیزیک، پرولین، تاک، کاتالاز، کاربرد برگی

مقدمه

تحت شرایط تنش شوری، به دلیل تغییر در موازنه بین نور دریافت شده و کارایی جذب نور در برگ طی فرایند فتوسنتز، معمولاً تنش اکسایشی رخ می‌دهد که این پدیده با افزایش نشت الکترون‌ها، تشکیل گونه‌های واکنش‌پذیر اکسیژن از قبیل سوپر اکسید (O^{-2})، پراکسید هیدروژن (H_2O_2)، رادیکال‌های هیدروکسیل (OH^-) و اکسیژن منفرد (O^-) همراه است (Foyer and Noctor, 2003). به‌منظور غلبه بر تنش شوری و کاهش صدمات گونه‌های فعال اکسیژن، گیاهان مجهز به یکسری سامانه‌های محافظت‌کننده آنزیمی از قبیل سوپراکسید دیسموتاز، کاتالاز، گایاکول پراکسیداز و آسکوربات پراکسیداز هستند (کریمی و همکاران، ۱۳۹۸). همچنین تحت شرایط شوری گیاهان برای تنظیم اسمزی و متعادل کردن رشد در بافت‌های خود اسمولیت های سازگاری نظیر قندها و پرولین و هورمون‌های بازدارنده رشد از قبیل اسید ابسیزیک را تجمع می‌دهند (Jiang and Zhang, 2004). یکی از راه‌های کاهش اثرات تنش شوری استفاده از ترکیباتی است که قادر به تعدیل اثرات مخرب شوری هستند. کلسیم و روی ازجمله عناصر ضروری هستند که با توجه به نقش ساختاری و آنزیمی که دارند می‌توانند بر تغییرات هورمون‌ها و قندهای محلول در گیاهان تحت تنش نقش داشته باشند (کریمی، ۱۳۹۹). کلسیم در اتصال پلی‌ساکاریدها و پروتئین‌های تشکیل‌دهنده دیواره سلولی نقش دارد. همچنین کلسیم به‌عنوان پیغام‌بر ثانویه در گیاه، به سیگنال‌های محیطی و هورمون‌ها واکنش نشان می‌دهد. در گیاهان عالی روی به‌عنوان کو فاکتور برخی آنزیم‌ها از قبیل الکل دهیدروژناز، کربنیک آنهیدراز و RNA پلیمراز ایفای نقش می‌کند. تغییرات متابولیسمی القاء شده در اثر کمبود روی تأثیر زیادی بر بیوسنتز کربوهیدرات‌ها، پروتئین‌ها و هورمون اکسین دارد (Karimi, 2019). اگرچه نیاز گیاهان به روی اندک است، ولی اگر مقدار کافی از این عنصر در دسترس نباشد گیاهان از تنش‌های فیزیولوژیکی حاصل از ناکارایی سیستم‌های متعدد آنزیمی و دیگر اعمال متابولیکی مرتبط

با روی رنج خواهند برد (Eide, 2011). تغذیهٔ مناسب می‌تواند تا حدی به گیاه در تحمل تنش‌های مختلف کمک کند. البته جبران کمبود عنصرها از راه کود دهی در خاک‌های شور مشکل است و در بسیاری از درختان حتی پس از اضافه کردن کود به خاک بسیاری از عنصرهای ضروری در حد پائین باقی می‌مانند (Karimi *et al*., 2019, 2021). این مطالعه باهدف بررسی فعالیت آنتی‌اکسیدانی، تغییرات اسید ابسیزیک و پرولین تاک‌های تیمار شده با کلسیم و روی در شرایط تنش شوری کلرید سدیم انجام‌شده است.

مواد و روش‌ها

پژوهش حاضر به‌صورت آزمایش فاکتوریل در قالب طرح پایه کاملاً تصادفی با سه تکرار (دو گلدان در هر تکرار) روی انگور (*Vitis vinifera* L.) رقم بیدانه‌سفید در گلخانه تحقیقاتی دانشگاه ملایر اجرا شد. ابتدا قلمه‌های یک‌ساله در گلدان‌های ۶ لیتری (حاوی ماسه، خاک و کود دامی به نسبت مساوی) در گلخانه با دامنه دمایی ۲۲ تا ۲۵ درجه سانتی‌گراد و رطوبت نسبی ۸۰ درصد و طول روز تحت شرایط نوری اردیبهشت‌ماه تا مردادماه (۱۲–۱۴ ساعت) قرار گرفتند. در طول دوره رشد نهال‌ها جهت تغذیه پایه، از کود ۲۰–۲۰–۲۰ (NPK) با غلظت ۰/۵ گرم در لیتر به‌صورت هفتگی تا رسیدن به مرحله ۱۵ برگی استفاده شد. دو ماه پس از کاشت تیمارهای تنش شوری به‌صورت هفتگی تا چهار هفته با غلظت۷۵ میلی مولار کلرید سدیم اعمال شد. از زمان اعمال تنش شوری نیترات کلسیم (C_1= 0%، C_2=0.5% و C_2=1%)، کلات روی (Z_1= 0%، Z_2=0.5% و Z_2=1%) طی دو مرحله در اولین روز هفته‌های اول و سوم تنش روی برگ محلول‌پاشی شد. آبیاری در ماه اول، هر چهار روز یک‌بار و در ماه‌های بعدی به دلیل افزایش شاخ و برگ و افزایش نیاز آبی گیاه، هر سه روز یک‌بار انجام شد. در انتهای هفته چهارم از برگ‌های بالایی کاملاً توسعه‌یافته انگورها برای اندازه‌گیری شاخص‌های فیتوشیمیایی شامل پرولین، فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان (Karimi *et al*., 2021) و تغییرات اسید ابسیزیک (Li *et al*., 2010) استفاده شد.

نتایج و بحث

آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان: اثر تیمارهای نیترات کلسیم، کلات روی و شوری، برهمکنش آن‌ها بر میزان فعالیت آنزیم‌های کاتالاز، گایاکول پراکسیداز و آسکوربات پراکسیداز در سطح آماری یک درصد معنی‌دار می‌باشد.

کاتالاز: تنش شوری ۷۵ میلی مولار موجب افزایش فعالیت آنزیم کاتالاز در مقایسه با تاک‌های بدون تنش شوری شد. بااین‌حال بین تاک‌های تیمارشده با عناصر تغذیه‌ای نیز اختلاف معنی‌داری مشاهده شد (۰ میلی مولار NaCl) به‌طوری‌که کاربرد عناصر تغذیه‌ای باعث افزایش فعالیت این آنزیم به‌ویژه در تاک‌های تحت تنش شوری شد. بیشترین میزان فعالیت آنزیم کاتالاز مربوط به تیمار ترکیبی سطح سوم نیترات کلسیم و سطح سوم کلات روی در تاک‌های تحت تنش شوری کلرید سدیم ۷۵ میلی مولار بود (جدول ۱).

گایاکول پراکسیداز: با افزایش شوری فعالیت آنزیم گایاکول پراکسیداز برگ انگور نیز افزایش پیدا کرد که بیشترین میزان فعالیت این آنزیم در تیمارهای نیترات کلسیم نیم درصد، کلات روی یک درصد و شوری ۷۵ میلی‌مولار مشاهده شد. کمترین میزان مربوط به تاک‌هایی با تیمار نیترات کلسیم یک درصد بدون محلول‌پاشی کلات روی و تنش شوری و همچنین نیترات کلسیم نیم درصد بدون محلول‌پاشی کلات روی وتنش شوری که بدون اختلاف‌معنی‌دار مربوط به تیمار شاهد بود (جدول ۱).

آسکوربات‌پراکسیداز: بیشترین میزان فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز مربوط به تاک‌های تیمارشده با نیترات کلسیم ۱ درصد در ترکیب با کلات روی ۱ درصدتحت تنش شوری کلرید سدیم ۷۵ میلی‌مولار بود. کمترین میزان فعالیت این آنزیم مربوط به بوته‌های شاهد و تیمار نیترات کلسیم ۱ درصد به‌تنهایی بود (جدول ۱). چراکه این ترکیب نیز همانند کاتالاز یکی از آنتی‌اکسیدان‌های اصلی و مهم گیاهی بوده و در شرایط تنش، سلول‌های گیاهی برای حفاظت در مقابل آسیب‌های اکسیداتیو به تولید این ترکیب که نقش سیستم جاروب کننده رادیکال‌های آزاد را دارد، می‌پردازد.

در مطالعه حاضر فعالیت هر سه آنزیم در نهال‌های تحت تنش در مقایسه با نهال‌های بدون تنش بیشتر بود. تحت تنش شوری همراهی آنزیم‌های کاتالاز، گایاکول پراکسیداز و آسکوربات پراکسیداز باهم نقش مهمی در بهبود کارایی فعالیت خنثی‌کنندگی گونه‌های فعال اکسیژن دارد (Gill and Tuteja, 2010). کاربرد برگی کلسیم و روی باعث افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان در انگور شده

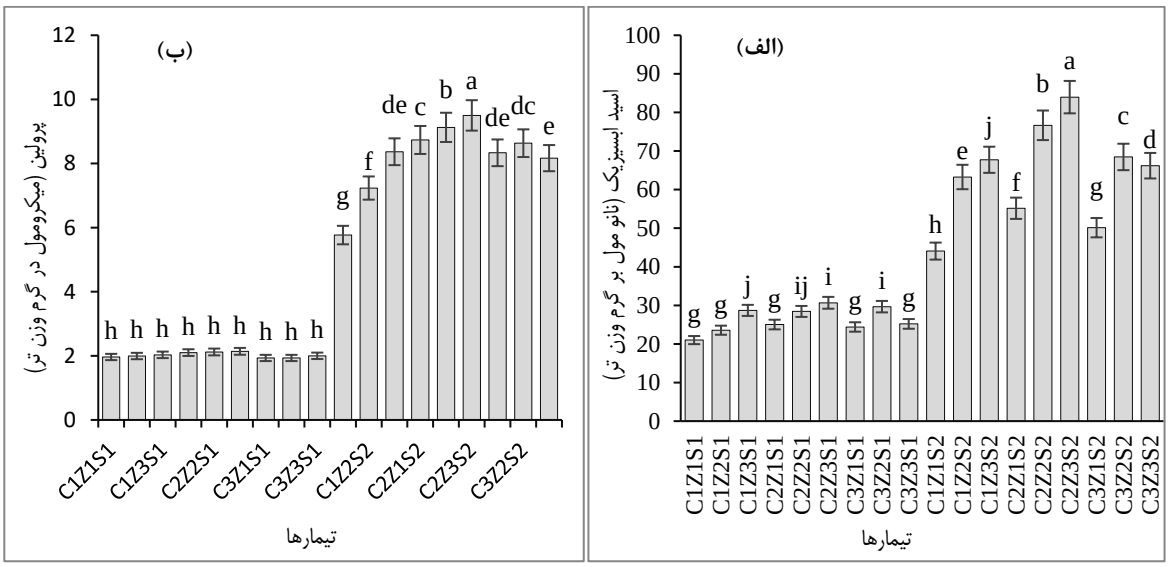
است (کریمی، ۱۳۹۹) که مطالعات فوق با نتایج پژوهش حاضر همخوانی دارد. به‌احتمال تغییرات متابولیکی ایجادشده با کلسیم و روی منجر به تغییر در سطوح رادیکال‌های آزاد اکسیژن می‌شود که این تغییرات زمینه‌ساز القاء سیستم دفاعی آنتی‌اُکسیدانی می‌شود.

جدول ۱- مقایسه میانگین اثر کلسیم، روی و شوری بر فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان برگ انگور بیدانه‌سفید تحت تنش شوری

*میانگین‌های مشخص‌شده با حرف‌های کوچک مشترک در هر ستون بر اساس آزمون چند دامنه‌ای دانکن اختلاف معنی‌داری باهم ندارند (در سطح ۵٪).

تیمارها			کاتالاز	گایاکول پراکسیداز	آسکوربات پراکسیداز
شوری	کلسیم	روی	(واحد در میلی‌گرم بر پروتئین برگ)		
۰	۰	۰	۷/۱۳ e	۴/۳۸ h	**٤/٥٢ m**
۰	۰	۰/۵	۷/۹۷ e	۵/۷۷ gh	**٦/٥٠ lm**
۰	۰	۱	۸/۱۹ ed	۷/۳۷ g	**٨/٤٠ lm**
۰	۰/۵	۰	۷/۵۸ ed	۴/۹۰ h	**٥/٤٩ m**
۰	۰/۵	۰/۵	۱۰/۳۷ d	۹/۷۲ f	**١٠/٥٥ l**
۰	۰/۵	۱	۱۰/۷۳ d	۹/۹۵ f	**١٠/٧٠l**
۰	۱	۰	۷/۸۸ e	۵/۸۰ h	**٥/١٧ m**
۰	۱	۰/۵	۱۱/۱۴ d	۹/۴۸ f	**١٣/١٧ k**
۰	۱	۱	۱۲/۶۰ d	۱۰/۰۷ f	**١٤/٦٠ j**
۷۵	۰	۰	۲۱/۳۶ c	۱۳/۱۹ e	**١٤/٢١ j**
۷۵	۰	۰/۵	۲۴/۲۳ bc	۱۷/۲۷ d	**١٩/٣٥ f**
۷۵	۰	۱	۲۴/۴۷ b	۲۱/۹۷ c	**٢٥/٣٤ e**
۷۵	۰/۵	۰	۲۲/۷۳ c	۱۴/۷۲ g	**١٦/٤٤ h**
۷۵	۰/۵	۰/۵	۳۰/۸۸ a	۲۹/۱۰ ab	**٣١/٥٧ c**
۷۵	۰/۵	۱	۳۲/۱۷ a	۳۰/۷۴ a	**٣٢/١٤ c**
۷۵	۱	۰	۲۳/۷۰ c	۱۷/۱۱d	**١٥/٤٧ h**
۷۵	۱	۰/۵	۳۳/۴۹ a	۲۸/۴۳ b	**٣٩/٦٨ b**
۷۵	۱	۱	۳۴/۳۸ a	۳۰/۱۸ a	**٤٣/٦٧ a**

اسید ابسیزیک: اثر تیمار نیترات کلسیم، کلات روی و شوری اثر معنی‌داری بر محتوای اسیدآبسزیک برگ انگور بیدانه سفید در سطح آماری یک درصد داشتند. نتایج نشان می‌دهد که بیشترین مقدار آبسیزیک اسید در تیمار نیترات کلسیم ۵ درصد و کلات روی ۱ درصد در تاک‌های تحت تنش شوری ۷۵ میلی مولار و کمترین میزان آبسیزیک اسید تاک‌های شاهد بدون شوری و محلول‌پاشی مشاهده شد (نمودار ۱، الف). عناصر غذایی نقش مهمی در پاسخ فیزیولوژیکی گیاهان در شرایط تنش دارند. یکی از این پاسخ‌های فیزیولوژیکی تغییر در نوع و نسبت هورمون‌های گیاهی است در مطالعه حاضر کاربرد برگی نیترات کلسیم و کلات روی باعث افزایش غلظت اسیدآبسزیک برگ تاک‌های تحت شرایط تنش شوری شده تاکنون اثر این تیمارها روی محتوای اسیدآبسزیک برگ انگور گزارش نشده است بااین‌حال گزارش‌شده که افزایش اسیدآبسزیک برگ انگور تحت تنش شوری باعث افزایش تحمل تاک‌ها به این تنش محیطی می‌شود (Karimi *et al*., 2021) که با نتایج ما مطابقت دارد. در مطالعه‌ای روی انگور کاربرد خارجی اسید آبسیزیک باعث افزایش غلظت درون‌زاد این هورمون و افزایش سامانه‌های آنتی‌اکسیدانی در برگ شد (Karimi *et al*., 2021) که حاکی از اثربخشی کاربرد برگی کلسیم و روی بر بیوسنتز این هورمون و افزایش تحمل به شوری است.



نمودار ۱- اثر غلظت‌های مختلف نیترات کلسیم و کلات روی بر غلظت اسید ابسیزیک (الف) و پرولین (ب) برگ انگور بیدانه سفید تحت تنش شوری. میانگین‌های دارای حروف مشترک در هر ستون ازلحاظ آماری (سطح ۵٪) اختلاف معنی‌داری ندارند. S_1= کلرید سدیم صفر میلی‌مولار، S_2= کلرید سدیم ۷۵ میلی‌مولار، C_1= نیترات کلسیم ۰٪، C_2 = نیترات کلسیم ۰/۵٪، C_3= نیترات کلسیم ۱/۵٪، Z_1= کلات روی ۰٪، Z_2= کلات روی ۰/۵٪، Z_3= کلات روی ۱/۵٪.

پرولین: اثر کلسیم، روی و شوری و اثرات متقابل دوگانه و سه‌گانه آن‌ها بر مقدار پرولین در سطح احتمال ۱ درصد معنی‌دار شد. همچنین هم‌زمان با افزایش شوری تجمع پرولین در سلول‌های برگ انگور افزایش پیدا کرد و در تیمار نیترات کلسیم نیم درصد در ترکیب با کلات روی یک درصد در تاک‌های تحت شوری ۷۵ میلی مولار به میزان حداکثر خود رسید (نمودار ۱، ب). میزان پرولین اندازه‌گیری شده در تاک‌های بدون تیمار شوری تفاوت معنی‌داری باهم نداشت و به‌طورکلی ۳ تا ۴ برابر کمتر از میزان پرولین تاک‌های تحت تنش شوری بود. در انگور (Karimi *et al*., 2019, 2021). اعمال تنش شوری محتوای پرولین را در برگ نهال‌ها افزایش داده است که تأییدی بر نتایج مطالعه حاضر است. افزایش در غلظت پرولین ممکن است به دلیل وجود پیش ماده‌ی مشترک (گلوتامین) با کلروفیل باشد که در شرایط تنش به‌منظور تعدیل اسمزی پرولین بیشتری ساخته‌شده و از ساخت کلروفیل کاسته شده است (Grattana, and Grieve. 1999). در کل تیمار ترکیبی سطح دوم کلسیم (۰/۵ درصد) در ترکیب با سطح سوم روی (۱ درصد) در مقایسه با دیگر تیمارها اثر بهتری در افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی و نیز بیوسنتز اسید ابسیزیک و پرولین داشت که می تواند به‌عنوان یک تیمار پیشنهادی برای افزایش تحمل به شوری و درنهایت کاهش تنش اکسایشی القاء شده توسط شوری در تاک مورد استفاده قرار گیرد.

منابع

کریمی ر.، محمد پرست، ب.، مینا زاده، ر. ۱۳۹۸. پاسخ‌های فیتوشیمیایی و فعالیت آنتی‌اکسیدانی تاک‌های تیمار شده با پتاسیم در شرایط تنش شوری. فرآیند و کارکرد گیاهی، جلد۸(۳): ۲۶۰-۲۴۵

کریمی، ر. ۱۳۹۹. اثر تغذیهٔ ابتدای فصل کلسیم و روی بر عملکرد، محتوای قند و ظرفیت آنتی‌اکسیدانی آنزیمی و غیر آنزیمی انگور .زیست‌شناسی گیاهی ایران، ۱۲ (۱): ۲۲-۱

Eide D.J. 2011. The oxidative stress of zinc deficiency. Metallomics 3: 1124-1129.

Foyer, C. H. and Noctor, G. 2003. Redox sensing and signalling associated with reactive oxygen in chloroplasts, peroxisomes and mitochondria. Physiologia Plantarum119:355-364.

Gill, S. S., and Tuteja, N. 2010. Reactive oxygen species and antioxidant machinery in abiotic stress tolerance in crop plants. Plant Physiology and Biochemistry 48: 909–930.

Grattana, S. R. and Grieve C. M. 1999. Salinity-mineral nutrient relations in horticultural crop. Scientia Horticulturae, 78: 127-157.

Karimi, R., Ebrahimi M., Amerian, M. 2021. Abscisic acid mitigates NaCl toxicity in grapevine by influencing phytochemical compounds and mineral nutrients in leaves. Scientia Horticulturae 288: 110336.

Karimi, R., Ghabooli, M., Rahimi, J., Amerian, M. 2020. Effects of foliar selenium application on some physiological and phytochemical parameters of *Vitis vinifera* L. cv. Sultana under salt stress. Journal of Plant Nutrition. 43, 2226–2242.

Li, Z., Zhao, X., Sandhu, A.K., Gu, L., 2010. Effects of exogenous abscisic acid on yield, antioxidant capacities, and phytochemical contents of greenhouse grown lettuces. Journal of Agriculture and Food Chemistry. 58, 6503–6509.

Antioxidant activity, abscisic acid and proline changes in grapevines leaf treated with calcium and zinc under salinity stress

Rouhollah Karimi[1*], Zahra Akbarabadi[2],
[1*]Associate Professor in Horticulture Science, Department of Landscape Engineering, Faculty of Agriculture, Malayer University, Iran.
[2]MSc student in Horticulture- Pomology, Department of Landscape Engineering, Faculty of Agriculture, Malayer University, Iran.
[*]*Corresponding Author: Rouholahkarimi@gmail.com*

Abstract

Improving the plants antioxidant systems and stimulating the biosynthesis of anti-stress hormones such as abscisic acid (ABA) play an important role in their adaptation to salinity stress. In the present study, the effect of nutritional treatments of calcium nitrate (0, 0.5 and 1%) and zinc chelate (0, 0.5 and 1%) on the improving of antioxidant systems and the biosynthesis of ABA in leaves of Bidaneh Sefid grapevine under salinity stress were performed factorially based on a completely randomized design. Salinity stress treatments with a concentration of 75 mM were applied weekly for up to four weeks and from the time of application of salinity stress, foliar application of calcium nitrate and zinc chelate in two stages was performed once every two weeks. With increasing salinity, the activity of antioxidant enzymes catalase, guaiacol peroxidase and ascorbate peroxidase increased in vines, however, this increased in grapes treated with moderate levels of calcium nitrate and zinc chelate increased significantly under Salinity stress. Also, the concentration of leaf ABA and proline increased significantly in the leaves of 75 mM salinity stressed vines in response to the foliar application of calcium nitrate and zinc chelate in comparison with untreated vines. Combined treatment of the second level of calcium nitrate (0.5%) in combination with the third level of zinc chelate (1%) compared to other treatments had a better effect on increasing the activity of antioxidant enzymes and biosynthesis of ABA and proline, which can be suggested as a treatment for salinity tolerance incensement and ultimately to reduce salinity-induced oxidative stress in vines.

Keywords: Abscisic Acid, Proline, Catalase, Leaf Application, Grapevine