دوازدهمین کنگره علوم خاک ایران
تبریز، ۱۲ الی ۱۴ شهریور ۱۳۹۰
(حاصلخیزی خاک و تغذیه گیاه)

تاثیر سطوح مختلف نیکل بر فعالیت آنزیم اوره‌آز ریشه گیاه گندم (*Triticum aestivum* L.)

علی جانجان[1*]، محمدجعفر ملکوتی[2]، محمدنبی غیبی[3]، سعدا...تیموری[4]

۱ و ۲- دانشجوی کارشناسی ارشد و استاد گروه خاکشناسی دانشگاه تربیت مدرس، ۳- عضو هیئت علمی موسسه تحقیقات خاک و آب، ۴- کارشناس پژوهشکده تحقیقات کشاورزی، صنعتی و پزشکی هسته‌ای کرج

*نویسنده مسئول: Janjanali64@gmail.com

چکیده

به منظور مطالعه تأثیر سطوح مختلف نیکل بر فعالیت آنزیم اوره‌آز، طرح تحقیقاتی بر روی گندم رقم پیشتاز، به صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملا تصادفی در سه تکرار بر روی دو خاک استریل و غیراستریل اجرا گردید. تیمارها شامل دو خاک استریل و غیراستریل و سطوح ۰، ۱ و ۲ میلی‌گرم در لیتر نیکل به صورت محلول‌پاشی بود. محلول‌پاشی نیکل تاثیر معنی‌داری بر میزان فعالیت آنزیم اوره‌آز در ریشه گیاه در خاک غیراستریل نسبت به خاک استریل داشت. این امر باعث افزایش جذب ازت و بهبود متابولیسم نیتروژن گردید. به طوری که درصد نیتروژن گیاه به صورت معنی‌داری (در سطح۱٪) افزایش پیداکرد.

کلمات کلیدی: آنزیم اوره‌آز، خاک استریل و غیر استریل، گندم، محلول پاشی، نیکل (Ni)

مقدمه

اوره عمده ترین کود مصرفی در ایران است. اوره نمی‌تواند به طور مستقیم در متابولیسم گیاهان مورد استفاده قرار گیرد مگر اینکه توسط آنزیم اوره‌آز هیدرولیز گردد. اوره‌آز (اوره آمیدوهیدرولاز ۵. ۱. ۵. ۳ EC) یکی از مهم‌ترین آنزیم‌های موجود در گیاه و میکرواگانیسم‌های خاکزی است که موجب هیدرولیز اوره شده و منجر به آزاد شدن دو مولکول آمونیاک و یک مولکول دی‌اکسیدکربن می‌شود (Polacco and Holland, 1993). نیکل (Ni) به عنوان یک عنصر ضروری در گیاهان عالی شناخته شده است. این عنصر در گیاهانی که در آنها اوره به عنوان منبع نیتروژن در محلول غذایی استفاده می‌شود ضروری می‌باشد (خلدبرین و اسلام زاده، ۱۳۸۷).

نقش اساسی اوره‌آز در گیاهان عالی این است که به آنها اجازه می‌دهد تا از اوره موجود در محیط کشت و یا اوره تولید شده در درون اندام گیاهی، به عنوان منبع ازت استفاده کنند و همچنین اوره‌آز تنها آنزیمی است که قادر است نیتروژن را مجددا از اوره تشکیل شده در درون گیاه بازیافت کند (Polacco and Holland,1993؛ Mobley and Haushinger,1989). اوره‌آز نقش مهمی در جوانه‌زنی و متابولیسم ازت در گیاهچه‌ها دارد، که این عمل همزمان با فعالیت آرژیناز در مصرف

پروتئین دانه در طی جوانه‌زنی اتفاق می‌افتد (Polacco and Holland,1993). به این صورت که در زمان جوانه زنی وظیفه هماهنگی با آرژیناز برای مصرف پروتئین ذخیره شده در بذر را انجام می‌دهد. اوره‌آز به همراه دو آنزیم گلوتامین

سنتتاز و آرژیناز، آنزیم‌های موثر در متابولیسم نهایی اوره در گیاه می‌باشند (Sirko and Brodzik, 2000). مقدار قابل توجهی از نیتروژن گیاه از طریق اوره تأمین می‌شود. این ترکیب از آرژنین و همچنین احتمالا از تجزیه پورین و اورئیدها مشتق می‌شود (Polaco and Holland, 1993). اوره‌آز دارای ۶ زیر واحد است که در هر زیر واحد حاوی دو اتم نیکل می‌باشد به‌طوری که هر زیر واحد کاتالیکی اوره‌آز در مکان‌های فعال با دو اتم نیکل در ارتباط می‌باشد. در ساختمان این آنزیم یک اتم نیکل با دو هیستدین آزاد (His-246 و His-272)، و دومین اتم نیکل با سه مکان فعال آزاد با دو هیستیدین (His-134 و His-136)، و اسید آسپارتیک (Asp-360) پیوند دارد (Sirko and Brodzik, 2000).

در اثر فعالیت این آنزیم آمونیاک تولید شده بوسیله گلوتامین‌سنتتاز وارد ترکیبات آلی می‌شود. اوره‌آز موجود در تمام بافت‌های گیاهی برای چرخه متابولیکی ناشی شده از اوره قابل پاسخ می‌باشد. طبق مشاهدات به عمل آمده، نیتروژن موجود در اوره منحصراً در حضور اوره‌آز می‌تواند توسط گیاهان جذب شود (Sirko and Brodzik, 2000).

این پژوهش به منظور بررسی تاثیر سطوح مختلف محلول پاشی نیکل بر روی فعالیت آنزیم اوره‌آز موجود در گیاه گندم انجام گرفت. فقدان نیکل در محلول‌های غذایی باعث تجمع اوره در گیاه می‌شود و این افزایش غلظت موجب کاهش تولید ماده خشک و کاهش غلظت نیتروژن کل می‌شود و همچنین غلظت نیتروژن اسید آمینه محلول در شرایط کمبود نیکل کاهش می‌یابد (Gerendas and Sattelmacher, 1999).

مواد و روش ها

این پژوهش در شرایط گلخانه‌ای در موسسه تحقیقات هسته‌ای کشاورزی کرج در سال زراعی ۸۹-۱۳۸۸ در خاکی با بافت لومی رسی انجام شد. به منظور بررسی کاربرد نیکل در افزایش فعالیت آنزیم اوره‌آز و تأثیر آن بر افزایش کارایی کود اوره، این آزمایش در دو خاک استریل و غیراستریل طراحی گردید. از آنجا که در محیط خاک آنزیم اوره‌آز تولید شده توسط باکتری‌های خاک‌زی وجود دارد، به منظور بررسی دقیق تاثیر نیکل بر افزیش فعالیت آنزیم اوره‌آز یکسری از خاک‌ها با استفاده از اتوکلاو کردن استریل شدند تا تأثیر آنزیم اوره‌آز خاک حذف گردد. همچنین یکسری از خاک‌ها بدون استریل کردن (شرایط واقعی) مورد ارزیابی قرار گرفت. این آزمایش بر روی گیاه گندم (*Zea mays* L.) رقم پیشتاز به صورت فاکتوریل(۳×۲) در سه تکرار در قالب طرح کاملاً تصادفی اجرا گردید. تیمارها شامل دو خاک استریل و غیراستریل و دو سطح محلول پاشی نیکل با غلظت ۱ و ۲ $mg\ L^{-1}$ (از منبع سولفات نیکل) بود.

به هر خاک میزان ۵۰ میلی‌گرم نیتروژن در کیلوگرم خاک از منبع اوره (به عنوان سرک اول)، و بقیه عناصر غذایی مورد نیاز گیاه بر اساس آزمون خاک به گلدانها اضافه شد. و سرک دوم اوره (۵۰ mg kg soil) همراه آب مورد نیاز گلدانها به خاک اضافه شد. تیمارهای محلول پاشی نیکل نیز در هفته سوم پس از رشد انجام گرفت. بذرها بوسیله آب ژاول ضد عفونی شد و به مدت ۳ روز در محیط مرطوب شده به وسیله کاغذ صافی قرار گرفتند و پس از جوانه زنی، در هر گلدان چهار بذر ذرت در عمق ۳ سانتی‌متری کاشته شدند. رطوبت گلدانها در طول آزمایش با توزین مرتب گلدانها و اضافه کردن آب مقطر خالص در حد ظرفیت مزرعه حفظ گردید.

گیاهان در انتهای هفته هشتم برداشت شدند و میزان فعالیت آنزیم اوره‌آز در ریشه با استفاده از دستگاه اسپکتو فتومتر و در طول موج ۳۴۰ نانومتر قرائت شد. میزان فعالیت آنزیم اوره‌آز در خاک هر گلدان با روش Tabatabai و Bremne (۱۹۷۸)

اندازه‌گیری و غلظت نیتروژن کل با استفاده دستگاه کجلدال اندازه‌گیری گردید. کلیه داده‌های حاصل از اندازه‌گیری با استفاده از برنامه آماری SAS تجزیه آماری و میانگین های حاصل با هم مقایسه شدند. نمودارها در برنامه Excel رسم گردیدند.

نتایج و بحث

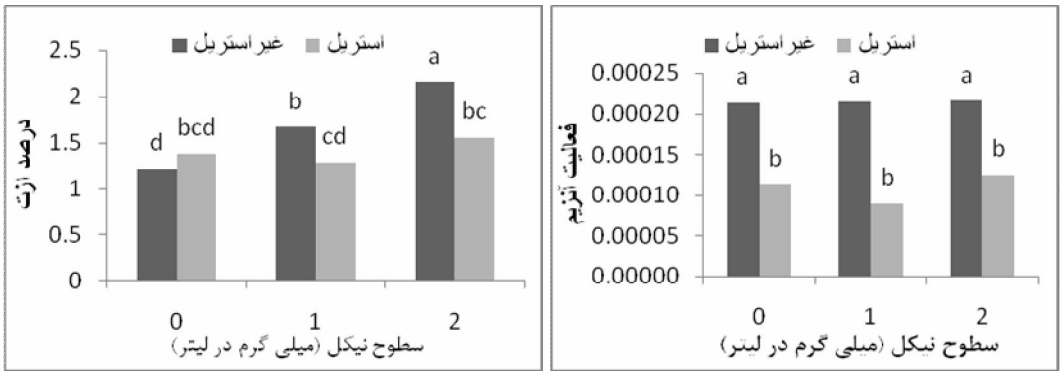
تاثیر سطوح مختلف نیکل در در محیط رشد خاک استریل و غیر استریل بر فاکتورهای میزان درصد ازت کل در اندام هوایی و میزان فعالیت آنزیم اوره‌آز در ریشه گیاه و خاک گلدان گیاه مورد بررسی قرار گرفت. نتایج نشان داد در محیط غیراستریل سطوح مختلف نیکل بر فاکتورهای یاد شده تاثیر معنی داری در سطح ۱٪ داشت. به طوریکه با افزایش میزان نیکل در سطح ۲ تمام فاکتورها افزایش پیدا کردند (جدول ۱). استریل کردن خاک موجب حذف آنزیم اوره آز موجود در خاک و درنتیجه میزان تجزیه اوره شد که نتایج نشان داد که سبب کاهش میزان درصد نیتروژن کل در مقایسه با خاک غیراستریل گردید.

جدول ۱- تاثیر محلول پاشی نیکل بر خصویات رشد و نمو گیاه

تیمارها		ازت کل (٪DW)	فعالیت آنزیم در خاک ($\mu g\ NH_4\text{-}N\ g^{-1}\ dwt\ 2h^{-1}$)	فعالیت آنزیم در ریشه
محیط رشد	$mg\ L^{-1}$			
خاک غیراستریل	۰	۱/۲۱۵۱^{d}	۲۸۷۷/۳^{ab}	۰/۰۰۰۲۱۳^{a}
	۱	۱/۶۶۶۱^{b}	۲۵۸۵^{b}	۰۰۰۲۱۴۷۵^{a}
	۲	۲/۱۵۵۸^{a}	۳۲۸۶/۵^{a}	۰/۰۰۰۲۱۵۷۵^{a}
خاک استریل	۰	۱/۳۷۹^{bcd}	۲۵۲۶/۶^{b}	۰/۰۰۰۱۱۳۰۸^{b}
	۱	۱/۲۸۲۰^{cd}	۱۶۰۸^{c}	۰/۰۰۰۰۸۹۲۵^{b}
	۲	۱/۵۵۲۰^{bc}	۲۴۲۲/۸^{b}	۰/۰۰۰۱۲۴۱^{b}
		**	**	ns

**** معنی داری در سطح ۱٪، * معنی داری در سطح ۵٪ و ns عدم معنی داری**

محلول پاشی سطوح مختلف نیکل نشان داد که اضافه کردن نیکل تا سطح ۲میلی‌گرم در لیتر موجب افزایش معنی داری در درصد ازت می‌گردد.



شکل۱- الف: تاثیر سطوح مختلف بر فعالیت آنزیم اوره آز. ب: تاثیر سطوح مختلف بر درصد ازت کل گیاه

این افزایش درصد ازت به دلیل تاثیر نیکل در فعال کردن آنزیم اوره آز در اندام گیاهی می باشد که سبب افزایش جذب ازت از خاک و موجب بالارفتن کارایی کود اوره می‌گردد. نتایج جدول تجزیه واریانس مربوط به استفاده از نیکل نشان داد که بین تیمارهای مختلف نیکل اختلاف معنی‌داری وجود ندارد ولی بین دو محیط رشد استریل و غیراستریل اختلاف معنی داری (۱٪) بدست آمد به طوری که بالاترین میزان فعالیت آنزیم مربوط به تیمار سطح دوم (۲ میلی‌گرم در لیتر) در خاک غیراستریل مشاهده شد.

منابع

۱- خلدبرین، ب.، و اسلام‌زاده، ط. (۱۳۸۴). تغذیه معدنی گیاهان عالی. (تالیف هورست مارشنر) چاپ دوم. انتشارات دانشگاه شیراز. شیراز، ایران. ص ۵۳۰.

2- Brown, P. H., Welch, R. M. and Cary, E. E. Checkai, R. T. (1987). Micronutrients: Beneficial Effects of Nickel on Plant Growth. Journal of Plant Nutrition, 10(9): 2125-2135.

3- Gerendas, J. and Sattelmacher, B. (1999). Influence of Ni Supply on Growth and Nitrogen Metabolism of *Brassica napus* L. Grown with NH_4NO_3 or Urea as N Source. Annals of Botany 83: 65- 71.

4- Polacco, J. C. and Holland, M. A. (1993). Roles of urease in plant cells. InIernaIional Reuiew of Cytology, 145: 65-103.

5- Sirko, A. and Brodzik, R. (2000). Plant urease: Role and regulation. Acta Biochemica Polonica. 47(4): 1189-1195.