تاثیر مقدار مناسب نیکل بر سرعت تبدیل ازت به پروتئین در گیاه ذرت

سعداله تیموری*[۱]، محمدنبی غیبی[۲]، ناصر خالق‌پناه[۱]، عباس مجدآبادی[۳]، رایحه میرخانی[۱]
۱-کارشناس پژوهشکده تحقیقات کشاورزی، پزشکی و صنعتی، پژوهشگاه علوم و فنون هسته‌ای
۲-هیات علمی موسسه تحقیقات خاک و آب
۳-هیات علمی پژوهشکده تحقیقات کشاورزی، پزشکی و صنعتی، پژوهشگاه علوم و فنون هسته‌ای
* steimouri@nrcam.org

چکیده
نیکل یک عنصر ضروری برای گیاهان عالی بخاطر نقش آن در فعال‌سازی آنزیم اوره‌آز می‌باشد. این تحقیق جهت بررسی تاثیر مقدار مناسب نیکل بر روند تبدیل ازت به پروتئین در برگ ذرت صورت گرفت که تیمارها شامل دو سطح نیکل صفر و مقدار مناسب مشخص شده از آزمایشهای قبلی، دو محیط رشد اوره و نیترات آمونیم و مدت زمان نمونه برداری بود. نتایج تاثیر مثبت نیکل در پروتئین سازی در برگ ذرت را نشان می دهد که علت آن تاثیر مثبت نیکل در فعال سازی آنزیم اوره آز و متابولیسم بهتر ازت بوده که اساس تولید پروتئین در گیاه است.

کلمات کلیدی: ازت، پروتئین، ذرت، نیکل.

مقدمه

فعال سازی آنزیم اوره آز تنها نقش ثابت شده نیکل در گیاهان عالی می باشد. نیکل می تواند به عنوان یک عنصر مهم برای گیاهانی که اوره به عنوان منبع کود ازته بکار می رود مطرح باشد و نقش مهمی به عنوان جزء فلزی اوره آز بازی کند (Gerendas و همکاران، ۱۹۹۸). Gerendas و Sattelmacher (۱۹۹۹) تاثیر کاربرد نیکل بر رشد و متابولیسم نیتروژن در گیاه کلزا را مورد بررسی قرار دادند. تجمع اوره و مقدار کم اسید آمینه در گیاهانی که در محیط رشد با نیتروژن اوره قرار داشتند و نیکل دریافت نکرده بودند مشهود بود و موجب صدمات مربوط به اوره، گردید. این در حالی است که گیاهانی که در محیط رشد با نیتروژن نیترات آمونیم قرار داشتند و نیکل دریافت نکرده بودند اوره درونی در برگهای مسن تجمع پیدا کرده بود. این تحقیق ثابت کرد که نیکل برای فعالیت اوره آز ضروری بوده و مصرف آن برای گیاهانی که در محیط حاوی اوره رشد می کنند و همینطور برای اوره زدایی درونی گیاه ضروری است. ارزیابی اثرات مفید و مضر نیکل بر روی آسیمیلاسیون ازت و رشد گیاه گوجه‌فرنگی در حضور اوره یا نیترات بعنوان منبع ازت در محلول غذایی، توسط Wen Tan و همکاران (۲۰۰۰) نشان داد مقدار ازت برگ در گیاهان تغذیه شده با اوره و نیکل بیشتر از گیاهان با منبع تغذیه اوره و بدون نیکل بود که مشخص می‌کند جذب اوره توسط نیکل افزایش پیدا می‌کند. تاثیر ازت و نیکل بر روی متبولیسم ازت در برنج توسط Gerendas و Sattelmacher (۱۹۹۸) نیز مورد بررسی قرار گرفت. آنها دریافتند که مقدار آمینواسیدهای حاوی ازت در گیاهان رشد کرده با نیترات آمونیوم بعنوان منبع ازت تحت تاثیر تیمار نیکل قرار نگرفتند در حالیکه در تیمار نیکل در گیاهان رشد کرده در محیط اوره، مقادیر بالاتری از آمینواسیدهای محتوی ازت مشاهده گردید. کمبود نیکل فعالیت آنزیم اوره‌آز و آنزیمهای دیگر کاهنده نیترات را کاهش داده، نتیجتاً سنتز پروتئین و ترکیبات ازته کاهش می‌یابد. هدف از انجام این آزمایش بررسی روند تبدیل ازت به پروتئین در برگ گیاه ذرت در حضور و عدم حضور مقدار مناسب نیکل بود.

مواد و روشها

این آزمایش به صورت فاکتوریل (۱۳×۲×۲) در سه تکرار در قالب طرح کاملا تصادفی اجرا گردید. جوانه زنی بذرهای ذرت رقم ۷۰۴ در پتری دیش و در کاغذ صافی در فیتوتروم انجام گرفت. پنج روز بعد از ظهور جوانه ها آنها به محیط کشت هیدروپونیک در گلخانه با متوسط دمای ۳۲°C و ۲۰°C به ترتیب برای روز و شب منتقل گردیدند. محیط کشت هوگلند نیم قدرت برپایه نیترات آمونیم قبل از اعمال تیمارها مورد استفاده قرار گرفت. گیاهچه ها در مرحله رشدی سه تا چهار برگی به ۱۲ گلدان پلی اتیلن منتقل شدند. محیط رشدی که در این مرحله استفاده گردید شامل:

K_2SO_4(2mM),$CaCl_2.2H_2O$(1.5mM),$MgSO_4.7H_2O$(1mM),$NaH_2PO_4.2H_2O$ (0.66 mM), FeEDDHA(0.02mM), Mn (0.003mM), Zn (0.002mM), Cu (0.001mM), B (0.024mM), Mo(0.0001mM)

تیمارها شامل دو سطح نیکل صفر و مقدار مشخص شده از آزمایشهای قبلی(مقدار نیکل مناسب برای گیاه ذرت در محیط رشد نیترات آمونیوم ۰/۰۵ و در محیط رشد اوره ۰/۱ میلی گرم در لیتر بود) ، دو محیط رشد اوره و نیترات آمونیم (۸۴ میلی گرم ازت در لیتر) و مدت زمان نمونه برداری بود. پ هاش محلول غذایی روزانه با استفاده از سود ۱ نرمال و یا اسید کلرید ریک ۱ نرمال در پ هاش ۶/۰±۰/۲ تنظیم شد. پس از انتقال گیاهچه ها به محیط اصلی هر روز از برگ مشخص گیاهان نمونه برداری و بلافاصله برای اندازه گیری پروتئین به آزمایشگاه ارسال گردید. از نمونه های برگی هر کدام به میزان ۰/۲ گرم در هاون چینی با ۳ میلی لیتر بافر سدیم فسفات با pH ۷/۶ ساییده شدند. سپس نمونه آماده شده با دور ۶۵۰۰ دور در دقیقه، دمای ۲۰°C و به مدت ۲۰ دقیقه سانتریفیوژ شدند. سپس میزان پروتئین نمونه‌ها به روش Bradford (۱۹۷۶) و با استفاده از BSA به عنوان استاندارد، تعیین گردید. این اندازه گیریها تا زمانی ادامه یافت که مقدار پروتئین در واحد وزن برگ به مقدار ثابتی رسید و سپس از میزان آن کاسته شد.. بنابراین برای هر یک از تیمارها زمان مشخصی از روند تبدیل ازت به پروتئین به دست آمد. تجزیه و تحلیل آماری با نرم افزارSAS انجام پذیرفته و از آزمون F و مقایسه میانگین به روش دانکن در سطح ۵٪ استفاده شد.

نتایج و بحث

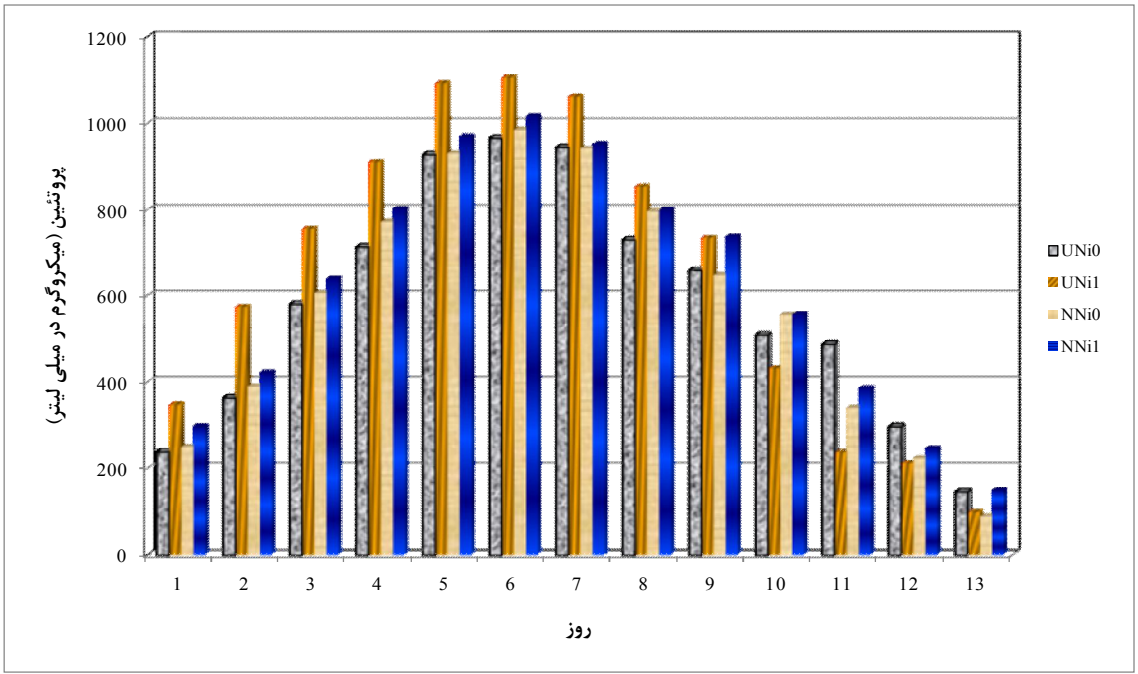
نتایج حاصل از اثر نیکل و محیط رشد بر تولید پروتئین در طی روزهای مختلف در برگ مشخص گیاه ذرت در جدول تجزیه واریانس زیر آمده شده است (جدول۱).

جدول ۱- تجزیه واریانس صفات اندازه گیری شده در گیاه ذرت

منابع تغییرات	df	میانگین مربعات (MS)
		میزان پروتئین برگ پنجم ذرت
انواع محیط رشد	۱	۱۴۹۱۹/۰۳۴۲^{ns}
سطوح مختلف نیکل	۱	۱۰۳۱۵۲/۲۵۰۷**
زمان نمونه برداری	۱۲	۱۰۹۸۳۱۴/۶۴۹۳**
محیط × نیکل	۱	۱۱۳۳۷/۹۵۴۸^{ns}
محیط × زمان	۱۲	۴۵۸۷/۸۴۴۹^{ns}
زمان × نیکل	۱۲	۱۴۷۲۵/۶۰۷۵*
محیط × نیکل × زمان	۱۲	۱۵۰۱۲/۶۰۹۶*
خطا	۱۰۴	۷۸۵۵/۱۷۷۶
C.V ٪		۱۴/۶۱

*در سطح ۵٪ معنی دار است. ** در سطح ۱٪ معنی دار است. ^{ns} معنی دار نیست.

تاثیر سطوح مختلف نیکل و زمان نمونه برداری بر میزان پروتئین برگ ذرت در سطح ۱٪ معنی دار شد. همینطور اثر متقابل زمان نمونه برداری و سطوح مختلف نیکل و اثر متقابل محیط رشد، سطوح مختلف نیکل و زمان نمونه برداری در سطح ۵٪ بر میزان پروتئین برگ پنجم ذرت معنی دار بود (جدول ۱). مقایسه میانگین ها در مورد پروتئین تولید شده نشانگر معنی دار بودن تاثیر سطوح مختلف نیکل و همچنین زمان نمونه برداری بر این صفت در محیط رشد حاوی اوره بود. در محیط رشد حاوی نیترات آمونیوم تاثیر زمان نمونه برداری بر پروتئین تولید شده و برگ پنجم ذرت در سطح ۵٪ معنی دار شد ولی اثر سطوح مختلف نیکل بر این صفت معنی دار نبود (شکل ۱ و جدول ۱).



شکل ۱- تاثیر سطوح مختلف نیکل و زمان نمونه برداری بر میزان پروتئین برگ ذرت. (N و U به ترتیب نشان دهنده محیط های رشد حاوی نیترات آمونیوم و اوره می باشند)

بررسی نتایج میزان پروتئین تولید شده در برگ پنجم ذرت نشان می‌دهد پروتئین تولید شده در هر دو محیط رشد حاوی اوره و نیترات آمونیوم از روز اول نمونه برداری تا روز پنجم افزایش یافته است سپس میزان پروتئین تا روز هفتم تقریبا ثابت و بعد از آن به شدت کاهش یافت. در تیمار نیکل در هر دو محیط رشد میزان پروتئین تولید شده بیشتر از تیمار بدون مصرف نیکل بود (شکل۱ و جدول۲). این روند تا روز نهم برای هر دو محیط رشد و تا روز آخر برای محیط رشد حاوی نیترات آمونیوم مشاهده گردید. نتایج به دست آمده تاثیر مثبت نیکل برای پروتئین سازی در برگ ذرت را نشان می‌دهد که علت آن تاثیر مثبت نیکل در فعال سازی آنزیم اوره آز و متابولیسم بهتر ازت می‌باشد که اساس تولید پروتئین در گیاه است. در محیط رشد حاوی نیترات آمونیوم فعال سازی آنزیم اوره آز با برطرف کردن اثرات سمی اوره درونی به چرخه ازت کمک می کند که تولید پروتئین بیشتر از نتایج این فرایند است. در محیط رشد حاوی اوره فعال شدن آنزیم اوره آز منجر به متابولیسم بهتر اوره در گیاه شد که در نهایت به تولید بیشتر پروتئین در برگ منجر گردیده است. گزارشات مشابهی توسط Brown و همکاران (۱۹۹۰)، Gerendas و Sattelmacher (۱۹۹۹)، Sinha و Pandey (۲۰۰۳) و Bai و همکاران (۲۰۰۶) ارائه شده است. نکته قابل توجه در این نتایج تولید پروتئین در برگ و در مصرف نیکل در محیط رشد حاوی اوره بود که تا روز نهم در مقایسه با سایر تیمارها بیشترین مقدار بود و بعد از آن مقدار پروتئین تولید شده در برگ و در این تیمار از بقیه کمتر شد. نتایج نشان می دهد که گیاه ذرت در همان ابتدا و

با میزان کم نیکل توانسته آنزیم اوره آز را در برگ فعال سازد و با متابولیسم بهتر اوره میزان پروتئین بیشتری در برگ در مقایسه با سایر تیمارها تولید کند. با گذشت زمان به علت پیر شدن برگ و تجزیه پروتئین به اسید های آمینه و انتقال آن به برگهای جوان‌تر، میزان پروتئین برگ در کلیه تیمارها کاهش پیدا کرد ولی این کاهش در تیمار نیکل و در محیط رشد حاوی اوره بیشتر بود. علت این امر می‌تواند به دلیل جذب زیاد نیکل در طی زمان باشد که اثرات منفی بر پروتئین سازی در برگ داشته است. مشابه این نتیجه توسط Sinha و Pandey (۲۰۰۳) نیز به دست آمده است.

جدول ۲- مقایسه میانگین های میزان پروتئین برگ گیاه ذرت

روز	میزان پروتئین برگ ذرت (میکرو گرم در میلی لیتر)							
	UNi0		**UNi1**		**NNi0**		**NNi1**	
۱	۲۳۹/۱۵	TUVW	۳۴۷/۰۶	QRSTU	۲۵۱/۴۴	TUVW	۲۹۷/۹۷	STUV
۲	۳۶۲/۲۸	QRSTU	۵۷۴/۴۲	LMNOP	۳۹۰/۲۲	QRST	۴۲۱/۳۸	PQRS
۳	۵۸۱/۱۶	LMNOP	۷۵۶/۱۷	HIJK	۶۰۶/۸۶	KLMNO	۶۳۹/۷۸	JKLMNO
۴	۷۱۴/۱۹	IJKLM	۹۱۱/۱	CDEFGH	۷۷۲/۲۲	GHIJK	۸۰۲/۴۷	EFGHIJ
۵	۹۲۸/۲۱	BCDEFG	۱۰۹۴/۰۲	AB	۹۳۱/۵۴	BCDEFG	۹۷۰/۹۴	ABCDE
۶	۹۶۷/۲۷	ABCDEF	۱۱۰۶/۹۸	A	۹۸۶/۰۸	ABCD	۱۰۱۶/۹۱	ABCD
۷	۹۴۵/۳۹	ABCDEF	۱۰۶۰/۸۹	ABC	۹۴۳/۲۶	ABCDEF	۹۵۳/۴	ABCDEF
۸	۷۳۰/۷۹	IJKL	۸۵۴/۶۹	DEFGHI	۷۹۶/۴۵	FGHIJ	۷۹۹/۸۱	FGHIJ
۹	۶۵۹/۵۷	JKLMN	۷۳۵/۱۱	IJKL	۶۴۸/۲۵	JKLMNO	۷۳۸/۳	IJKL
۱۰	۵۰۸/۵۱	NOPQ	۴۳۱/۹۱	PQRS	۵۵۶/۷۴	MNOP	۵۵۸/۱۶	MNOP
۱۱	۴۸۷/۲۳	OPQR	۲۳۷/۵۹	TUVW	۳۳۹/۷۲	RSTU	۳۸۵/۱۱	QRST
۱۲	۲۹۷/۲۷	STUV	۲۱۲/۶۵	UVW	۲۲۳/۷۶	TUVW	۲۴۷/۶۹	TUVW
۱۳	۱۴۶/۸۴	VW	۹۸/۹۷	W	۸۸/۷۲	W	۱۵۰/۲۶	VW

میانگین هایی که در هر ردیف در یک حرف مشترک می باشند طبق آزمون دانکن در سطح ۵٪ معنی دار نمی باشند.

منابع

Bai C, Reilly CC, and Wood BW, 2006. Nickel deficiency disrupts metabolism of ureides, amino acid, and organic acid of young pecan foliage. Plant Physiology 140: 433-443.

Bradford M, 1976. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. Analytical Biochemistry 72: 248-254.

Brown PH, Welch RM, and Madison JT, 1990. Effect of nickel deficiency on soluble anion, amino acid and nitrogen levels in barley. Plant and Soil 125: 19-27.

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.

Gerendas J, Polacco JC, Freyermuth SK, and Sattelmacher B, 1998. Co does not replace Ni with respect to urease activity in zucchini (*Cucurbita pepo* convar. *giromontiina*) and soybean (*Glycine max*). Plant and Soil 203: 127-135.

Gerendas J, Zhu Z, and Sattelmacher B, 1998. Influence of N and Ni supply on nitrogen metabolism and urease activity in rice (*Oryza sativa* L.). Journal of Experimental Botany 49: 1545-1554.

Wen Tan, X. Ikeda, H. Oda, M, 2000. Effects of nickel concentration in the nutrient solution on the nitrogen assimilation and growth of tomato seedlings in hydroponic culture supplied with urea or nitrate as the sole nitrogen source. Scientia Horticulturae 84: 265-273.