انباشت پرولین به عنوان یک اسمولیت سازگارکننده در برگ‌های بابونه آلمانی با افزایش سطح تغذیه‌ای پتاسیم در محیط شور

فاطمه شعبانی آزادبنی[۱]، حسین شریعتمداری[۲]، امیرحسین خوش‌گفتارمنش[۳]

۱-دانش‌آموخته کارشناسی ارشد شیمی و حاصلخیزی خاک دانشگاه صنعتی اصفهان، ۲ و۳-استاد دانشکده کشاورزی دانشگاه صنعتی اصفهان

چکیده

به منظور ارزیابی میزان پرولین تولیدی و جذب مواد معدنی نظیر پتاسیم بر تعدیل یا تنظیم اسمزی در محیط کشت شور بر گونه مهم بابونه *Matricaria chamomilla L*، پژوهش در چهار سطح شوری(صفر، ۶۰، ۱۲۰ و ۱۸۰ میلی‌مولار کلریدسدیم) با دو سطح پتاسیم(۳ و ۶ میلی‌مولار) در محیط آبکشت به صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملا تصادفی در سه تکرار انجام شد. ثابت ماندن نسبت K/Na، اختلاف کم بین مقادیر رطوبت نسبی و افزایش وزن خشک اندام هوایی تا سطح ۵۰ میکرومول پرولین تولیدی، در شرایط این آزمایش را می‌توان حاکی از تجمع مواد آلی نظیر پرولین و مواد معدنی نظیر پتاسیم به عنوان اسمولیت‌های سازگار کننده در بابونه آلمانی دانست. با توجه به اثرات مثبت افزایش پتاسیم همراه با افزایش شوری،نتایج این آزمایش سطح ۵۰ میکرومول پرولین تولیدی را غلظت بحرانی تجمع پرولین همراه با تغذیه ۶ میلی‌مولار پتاسیم در بابونه آلمانی نشان داد.

واژه‌های کلیدی: پرولین، تحمل به شوری، پتاسیم، تنظیم اسمزی، بابونه.

مقدمه

اثرات زیان‌آور شوری بالا بر گیاه در همه سطوح ازکاهش تولید تا مرگ می تواند مشاهده شود. توقف رشد در همه گیاهان رخ می‌دهد، اما سطوح تحمل و میزان کاهش رشد در غلظت‌های کشنده نمک در گونه‌های مختلف گیاهی تفاوت‌های زیادی با هم دارند. تغییر وضعیت آبی گیاه باعث توقف رشد، جلوگیری از تقسیم و طویل شدن سلولی و مرگ سلول‌ها می شود. تنش نمک بر همه فرآیندهای اصلی مثل رشد، فتوسنتز، سنتز پروتئین و متابولیسم چربی و انرژی اثر دارد (Ma 2004). اثرات مضر شوری بر محصولات کشاورزی با تاثیر بر برخی از متابولیسم‌های گیاه مانند تنظیم اسمزی، جذب برخی از عناصر ضروری، فتوسنتز، فعالیت آنزیمی وتعادل هورمونی می‌باشد(Salehand Maftoun 2008).

تنظیم اسمزی یکی از ساز و کارهای افزایش تحمل به شوری گیاهان محسوب می‌شود. به نظر بلوم (Blum 1996) تنظیم اسمزی عبارت از کاهش در پتانسیل شیره‌ی سلولی به علت افزایش مواد محلول داخل سلول، و نه از طریق کاهش مقدار آب سلول می‌باشد. بخش اعظم تنظیم اسمزی معمولاً بر اثر افزایش غلظت گروهی از ترکیبات از جمله قندها (ساکاروز و فروکتان)، پلی‌اول‌ها (سوربیتول و مانیتول)، اسیدهای آمینه (پرولین)، آمین‌های چهارگانه (گلیسین‌بتائین) و یون‌های غیرآلی (خصوصاً K^+) است. تجمع یون‌ها در طی تنظیم اسمزی عمدتاً محدود به واکوئل می‌شود و مواد تنظیم‌کننده دیگر در سیتوپلاسم تجمع می‌یابند تا تعادل پتانسیل آب بین دو بخش سلول برقرار شود(Hafsia et al., 2010).پرولین یکی از مهمترین محلول‌های سازگار بوده و در تعدیل پتانسیل اسمزی بسیار موثر است. علاوه بر نقش پرولین بعنوان تعدیل کننده اسمزی، این اسید آمینه در تثبیت اجزای سلولی، جذب رادیکال‌های

آزاد و تامین حالت بافری پتانسیل اکسیداسیون سلول و فرآیندهای متنوع دیگر در برابر تنش‌ها نقش دارد(Ashraf and Foolad 2007).

انباشته شدن مواد محلول در پاسخ به تنش ناشی از نمک، درحقیقت واکنشی است که در قبال تنش آب ناشی از اختلاف موجود در پتانسیل‌های آب گیاه و محلول خاک بروز می‌کند. گیاهان در معرض استرس شوری به پتاسیم بیش‌تری نیاز دارند که به دلیل حفظ غلظت زیاد استرومایی پتاسیم در چنین شرایطی است(Marschner2002). تنظیم اسمزی از طریق تجمع یون‌ها بسیار سریعتر از ساختن محلول‌های سازگار صورت می‌گیرد. بنابراین در طول تنظیم اسمزی، گیاهان مقادیر بالایی از انرژی متابولیکی خود را صرف جذب و تسهیم یون‌ها در درون سلول و ساختن محلول‌های سازگار می‌کنند. از این‌رو این فرآیند برای بقای گیاه در شرایط شور و یا خشک ضروری می‌باشد(Lacerda et al., 2003). گزارش شده که بابونه می‌تواند در خاک‌های شور و سدیمی با برتری بالایی نسبت به سایر گیاهان کشت شود(افضلی۱۳۸۷).به نظر می‌رسد که گیاهان شورپسند و مقاوم واکنش‌های متفاوتی نسبت به تنش‌ها داشته باشند. هر چند همبستگی بسیار قوی بین مقاومت در برابر تنش و تجمع پرولین در گیاهان عالی وجود دارد ولی این رابطه فراگیر نیست. مطالعات بیشتری در این زمینه و برای آشکار شدن نقش آن مورد لزوم است. هدف اصلی در این تحقیق، بررسی تجمع اسمولیت‌های سازگار کننده نظیر پرولین و یون‌های پتاسیم با القاء تنش شوری و تاثیر تغذیه پتاسیم بر مقدار سازگاری گیاه بابونه به این تنش بود.

مواد و روش‌ها

این پژوهش در گلخانه مرکز پژوهشی کشت بدون خاک دانشگاه صنعتی اصفهان در محیط آبکشت، در قالب آزمایش فاکتوریل طرح آزمایشی کاملاً تصادفی انجام شد.

پس از تهیه نشا در بستر ماسه و انتقال به محلول غذایی، زمانی که گیاهچه‌ها رشد هماهنگی پیدا کردند از سیستم آبکشتی در محلول‌های غذایی که طوری نسبت بین عناصر برقرار شد که تنها غلظت‌های مختلف پتاسیم و شوری در آن اعمال شده بود استفاده شد. بدین‌منظور چهار سطح شوری صفر، ۶۰، ۱۲۰ و ۱۸۰ میلی‌مولار کلریدسدیم و دو سطح پتاسیم ۳ و ۶ میلی‌مولار نیترات‌پتاسیم و پتاسیم‌هیدروژن‌فسفات در محلول‌غذایی جانسون تغییریافته با نصف غلظت در محلول‌های نهایی تهیه شده و در سه تکرار اعمال شد. نمونه‌برداری از گیاه، در مرحله رشد رویشی با مشاهده اولین نشانه‌های گل‌دهی در گیاهان صورت گرفت.

سپس بخش‌هوایی برداشت شده در دمای ۷۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۴۸ ساعت خشک شده و وزن خشک شاخساره تعیین شد.

جهت اندازه‌گیری غلظت عناصر یک گرم از شاخساره خشک آسیاب شده به کروزه‌های چینی انتقال داده شد. کروزه‌ها در کوره الکتریکی قرار داده شدند و دمای کوره به صورت تدریجی به ۵۵۰ درجه سانتی گراد افزایش داده شد. نمونه‌ها به مدت ۴ ساعت در این دما خاکستر شدند. بعد از سرد شدن کوره، نمونه‌ها از کوره خارج و به آنها ۱۰ میلی‌لیتر اسیدکلریدریک ۲ نرمال اضافه شد. نمونه‌ها روی گرم‌کن قرار گرفتند تا زمانی که خاکستر گیاه به صورت کامل هضم شد. عصاره حاصل پس از صاف شدن با آب مقطر به حجم ۵۰ میلی‌لیتر رسانده شد. اندازه‌گیری سدیم و پتاسیم با دستگاه شعله‌سنج مدل Corning 410صورت گرفت.

به منظور اندازه‌گیری مقدار نسبی آب برگ[1](RWC)از روش بار و ودرلی استفاده شد(Barr, H. D and P. E. Weatherley 1962). نحوه محاسبه محتوای آب نسبی برگ‌ها به شرح زیر است:

$$RWC(\%)=(FW-DW)/(TW-DW)\times 100$$

که در این فرمول :

RWC =مقدارنسبی آب برگ،FW = وزن تر، DW = وزن خشک وTW = وزن بعد از اشباع کامل می‌باشد.

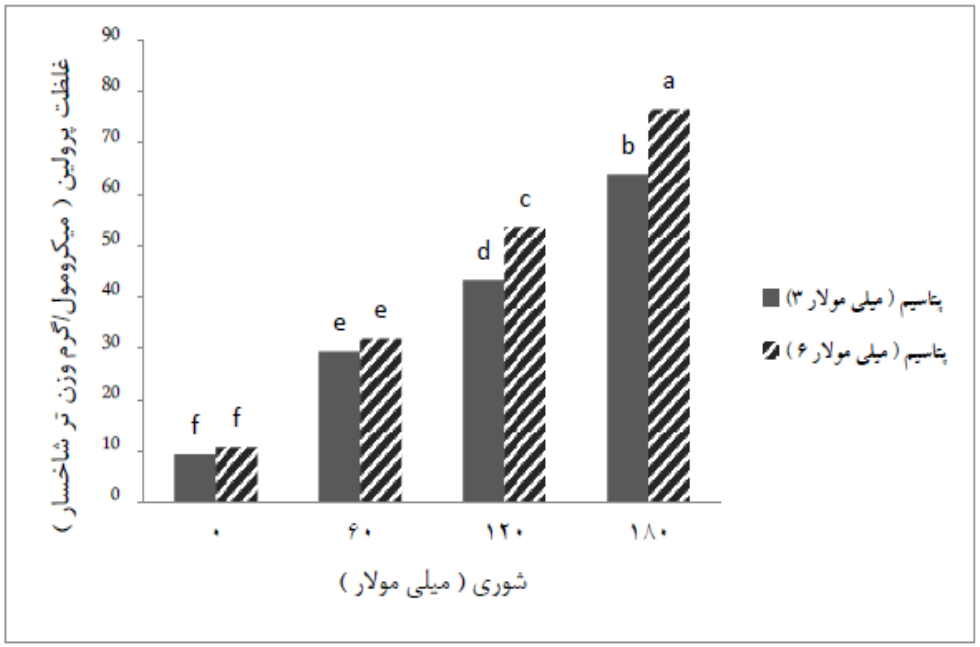
[1] - Relative Water Content

غلظت پرولین نیز با برداشتن ۰/۱ گرم از جوان‌ترین برگ‌های خرد شده در نیتروژن مایع به روش بیتز اندازه‌گیری شد(Bates et al., 1973).

تجزیه آماری نتایج با استفاده از نرم افزار SASمقایسه میانگین‌ها براساس آزمون LSD در سطح ۵ درصد انجام گرفت. به منظور رسم نمودارها از نرم‌افزار EXCEL استفاده شد..

نتایج و بحث

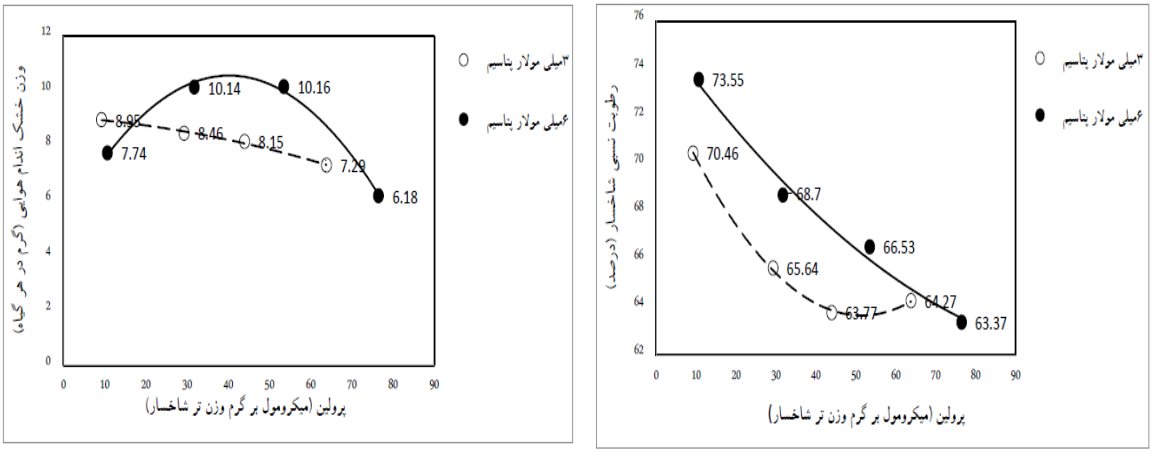
اثر اعمال تیمارهای شوری بر غلظت اسیدآمینه پرولین در برگ تازه معنی‌دار شد. پرولین با افزایش شوری افزایش یافته است. افزایش سطح پتاسیم در محیط شور تفاوت معنی‌داری بر غلظت پرولین شاخسار در سطوح ۱۲۰ و ۱۸۰ میلی‌مولار کلرید سدیم نشان داده است(شکل ۱).



شکل ۱–اثرات متقابل شوری × پتاسیم بر غلظت پرولین (میکرومول بر گرم وزن تر شاخسار)

در بررسی تاثیر پرولین حاصله تحت تاثیر سطوح مختلف شوری مشاهده می‌شود با افزایش تجمع پرولین در سطح ۳ میلی‌مولار پتاسیم وزن خشک شاخسار کاهش یافته است. سطح بالاتر پتاسیم (۶ میلی‌مولار) اثر مثبتی بر وزن خشک شاخسار تحت غلظت های ۳۰ تا ۵۰ میکرو مول پرولین تولیدی نشان داده است(شکل۲).

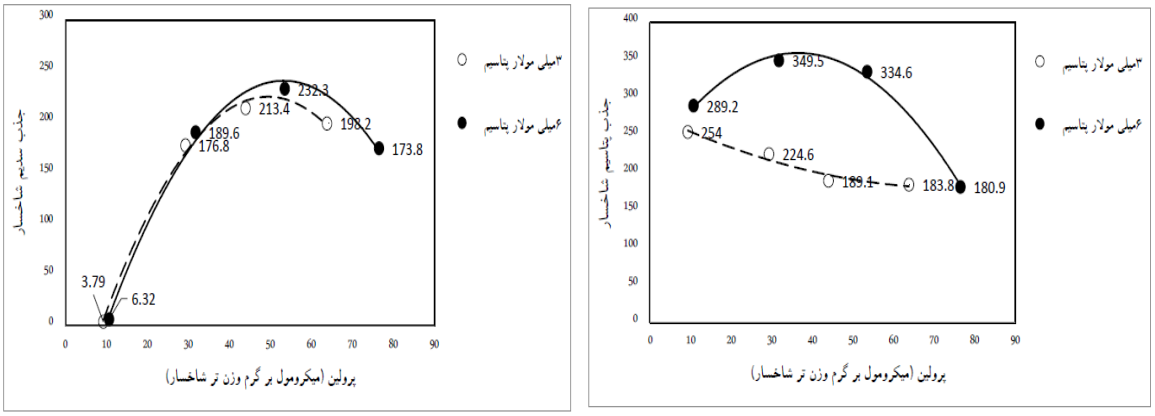
در بررسی تاثیر پرولین حاصله تحت تاثیر سطوح مختلف شوری مشاهده می‌شود با افزایش غلظت پرولین رطوبت نسبی گیاه کاهش یافته است. این در حالی است که افزایش سطح تغذیه‌ای پتاسیم باعث افزایش رطوبت نسبی گیاه شده است(شکل۳).



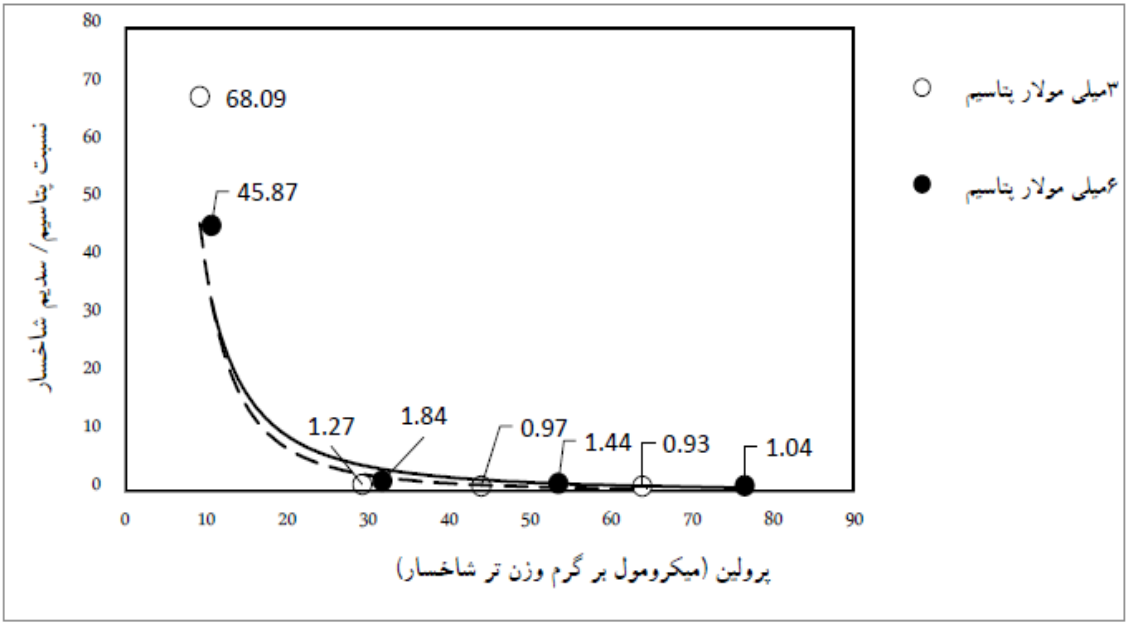
شکل ۲ و ۳–به ترتیب از سمت چپ به راست تغییرات وزن خشک اندام هوایی و رطوبت نسبی شاخسار به عنوان تابعی از غلظت پرولین تولیدی تحت سطوح مختلف شوری و پتاسیم

گزارش شده که افزایش پرولین در گیاهان تحت تنش شوری درواقع نوعی واکنش از طرف گیاه به کاهش پتانسیل آب در محیط ریشه است. در این زمان پرولین با کم کردن پتانسیل اسمزی سلول‌های ریشه شرایط لازم برای جذب آب و عناصر غذایی را فراهم می‌کند(Weimberg et al., 1982). با افزایش شوری، تنظیم‌کننده های اسمزی باعث بالارفتن فشار اسمزی سیتوپلاسم شده و نیز باعث پایداری پروتئین‌ها و غشاها در چنین شرایطی می‌شوند. اسیدآمینه پرولین جزء ترکیبات تنظیم‌کننده اسمزی به شمار می‌رود و تجمع آن در بافت یکی از بیشترین تغییرات القا شده ناشی از تنش آبی یا شوری در گیاهان است (Hasegawa et al., 2000).

تجمع پرولین تا سطح ۵۰ میکرومول، همراه با افزایش در میزان جذب سدیم است. این در حالی است که بیشترین جذب پتاسیم نیز در سطح ۶ میلی‌مولار پتاسیم در سطوح ۳۰ تا ۵۰ میکرومول پرولین تولیدی است. کاهش جذب سدیم و پتاسیم خصوصا در سطح ۶ میلی‌مولار پتاسیم با افزایش میزان پرولین از ۵۰ میکرومول مشاهده می‌شود(شکل۴ و ۵).



شکل ۴ و۵ –به ترتیب از سمت چپ به راست تغییرات جذب سدیم و پتاسیم شاخسار به عنوان تابعی از غلظت پرولین تولیدی تحت سطوح مختلف شوری و پتاسیم



شکل ۶- تغییرات نسبت پتاسیم / سدیم شاخسار به عنوان تابعی از غلظت پرولین تولیدی تحت سطوح مختلف شوری و پتاسیم

نسبت K/Na تحت انباشت پرولین در غلظت‌های ۳۰ تا ۸۰ میکرومول اختلاف چندانی حتی تحت سطوح مختلف پتاسیم نشان نداده است (شکل۶). بالا بودن نسبت پتاسیم به سدیم در شاخسار یکی از مکانیسم‌های مقاومت به شوری در گیاهان می‌باشد(Heidari and Jamshid 2010). به نظر می‌رسد این مکانیسم در بابونه خصوصا در سطوح بالای پرولین تولیدی تحت تنش شوری، مهم و مورد توجه باشد. چرا که بابونه در سطح بالاتر از ۵۰ میکرومول پرولین تجمعی، جهت حفظ K/Na به ویژه در سطح ۶ میلی‌مولار پتاسیم میزان جذب سدیم و پتاسیم را کاهش داده به طوری که رطوبت نسبی گیاه به کمتر از ۳۵٪ یعنی حد غیر قابل برگشت نرسیده است.

با توجه به ثابت بودن نسبت K/Na در تمامی سطوح تجمع پرولین، شاید بتوان افزایش پرولین را یک نشانگر شیمیایی تنش در گیاه بابونه معرفی کرد.اختلاف کم بین مقادیر نسبت K/Na و رطوبت نسبی در کلیه سطوح پرولین تولیدی و افزایش رطوبت نسبی در سطح ۶ میلی‌مولار پتاسیم می‌تواند حاکی از وجود مواد معدنی نظیر پتاسیم و ساخته شدن مواد آلی مثل پرولین باشد(افضلی ۱۳۸۷).تجمع پرولین بعنوان یکی از پارامترهای مهم فیزیولوژیکی در ارزیابی تحمل گیاه می‌باشد، که در سازگاری به تنش نقش مهمی بازی می‌کند. این اسیدآمینهیکیازمهمترینمحلول‌های سازگاربودهودرتعدیلپتانسیلاسمزیبسیارموثراست(Kaya et al., 2006).با توجه به نقش پتاسیم به نظر می‌رسد که در سطح بالاتر پتاسیم،گیاه با ازدیاد پتاسیم همراه با افزایش مقدار پرولین توانست تنظیم-اسمزی خود را برقرار کند.احتمالا افزایش مقدار اسیدهای آمینه به عنوان محلول‌های سازگار باعث حفاظت بخش‌های مختلف سلول در برابر اثرات تنش شد(Thalooth et al., 2006 ،2003Tester and Devenport).با توجه به افزایش وزن خشک اندام هوایی به همراه حفظ رطوبت نسبی گیاه در غلظت‌های ۳۰ تا ۵۰ میکرومول پرولین تولیدی در سطح ۶ میلی‌مولار پتاسیم، در شرایط این آزمایش می‌توان سطح ۵۰ میکرومول پرولین تولیدی را سطح بحرانی تجمع پرولین در سطح ۶ میلی‌مولار پتاسیم در بابونه آلمانی دانست.

منابع

افضلی س. ف. ۱۳۸۷. اثر شوری و خشکی بر دو گونه گیاه بابونه *Matricaria aurea Loefl* و *Matricaria chamomilla L*. پایان‌نامه دکتری خاکشناسی، دانشکده کشاورزی دانشگاه صنعتی اصفهان.

Ashraf M. and Foolad M. R. 2007. Roles of glycine betaine and proline in improving plant abiotic stress resistance. Environ Exp Bot, 59:206-216.
Bates L. S., Waldern R. P. and Teave I.D.1973. Rapid determination of free proline for water stress studies. Plant Soil, 39:205–7.
Barr H. D. and Weatherley P. E.1962. A re-examination of the relative turgidity technique for estimating water deficit in leaves. Aust J Bio Sci, 15: 413-428.
Blum A. 1996. Crop responses to drought and the interpretation of adaptation. Plant. Growth Regul, 20: 135-148.
Hafsia C., Romero-Puertasb M. C., Guptab D. K., del Ríob L. A., Sandaliob L.M. and Abdellya C. 2010. Moderate salinity enhances the antioxidative response in the halophyte *Hordeum maritimum L* under potassium deficiency. Environ Exp Bot. 69: 129–136.
Heidari M. and Jamshid P. 2010. Intraction between salinity and potassium on grain yield, carbohydrate content and nutrient uptake in pearl millet. ARPN J Agric Biologic Sci, 5(6): 39-46.
Kaya C., Tuna L. and Higgs D. 2006. Effect of silicon on plant growth and mineral nutrition of maize grown.under water - stress condition. J Plant Nutr, 29 : 1469- 1480
Lacerda C. F., Cambraia J., Oliva M. A. and Ruiz H. A. 2003. Osmotic adjustment in root and leaves of two sorghum genotypes under NaCl stress. Braz J Plant Physiol, 15 (2): 113-118.
Ma J.F. 2004. Role of silicon in enhancing the resistance of plant to biotic and abiotic stresses. Soil Sci, 50: 11-18.
Marschner H. 2002. *Mineral Nutrition of Higher Plants*. Academic Press. San DiagoHarcou-rt Brace Company, New York.
Saleh J. and Maftoun M. 2008. Interactive Effects of NaCl Levels and Zinc Sources and Levels on the Growth and Mineral Composition of Rice. J Agric Sci Technol, 10: 325-336.
Tester M. and Devenport R. 2003 Na^+ tolerance and transport in higher plants. Annal Bot, 91:503-527.
Thalooth A. T., Tawfik M. M. and Magda Mohamed H. 2006. A Comparative Study on the Effectof Foliar Application of Zinc, Potassium and Magnesium on Growth, Yield and Some Chemical Con-stituents of Mungbean Plants Grown under Water Stress Conditions. World J Agri Sci, 2:37-46.
Weimberg R., Lerner H. R. and Poljakoff - Mayber A.1982. A relationship between potassium and proline accumulation in salt stressed Sorghum bicolar. *PlantPhysiol*, 55: 5-12.

Proline accumulation as an adaptive osmolite in *Matricaria chamomilla L* leaves with increasing potassium nutrition in saline environment

F. Shabani Azadboni,[1,*] H. Shariatmadari,[1] A. H. Khoshgoftarmanesh[1]

[1] Soil Science Department, Agriculture College, Isfahan University of Technology, Isfahan, Iran

Abstract

In order to evaluate the amount of proline produced and adsorption of minerals such as potassium on osmotic adjustment or regulation in saline condition of chamomile species (*Matricaria chamomilla L.*) this research was conducted in a completely randomized factorial deign with three replicationsin a solution culture system. Factor one was salinity levels including 0, 60, 120 and 180 mM NaCl and factor two was potassium treatments including 3 and 6 mM K^+.

The remain stable K/Na ratio, the low difference between relative water contents and increased dry weight of the shoots, up to 50 µM proline produced in the conditions of this experiment can be attributed to the accumulation of organic materials such as proline and minerals such as potassium as adaptive osmolites in*Matricaria chamomilla L.*Considering the positive effects of potassium increased with increasing salinity, the results of this test showed 50 µM proline production as the critical concentration of proline accumulation with 6 mM potassium in Matricaria chamomilla L.

Keywords: proline, salt tolerance, potassium, osmoregulation, Chamomile