Archive of SID

اثر اسید آمینه آرژینین بر برخی پارامترهای اکسیداتیو و افزایش تحمل به شوری در گیاه گندم

فاطمه نصیبی*، خسرو منوچهری کلانتری، قاسم محمدی نژاد و رویا زنگنه

کرمان، دانشگاه شهید باهنر کرمان، دانشکده علوم، گروه زیست شناسی

تاریخ دریافت: ۹۲/۱۰/۳۰ تاریخ پذیرش: ۹۳/۱۲/۲۵

چکیده

در این پژوهش اثر پیش تیمار بذر با اسید آمینه آرژینین (اسید آمینه پیش ساز نیتریک اکسید و پلی آمینها)، بر پارامترهای رشد، نسبت K^+/Na^+ و کاهش تنش اکسیداتیو ناشی از شوری (۳۰۰ میلی مولار کلرید سدیم) در گیاه گندم مورد بررسی قرار گرفت. نتایج نشان داد که تنش شوری تقریبا بر پارامترهای رشدی اثر معنی‌داری نداشت اما تمام شاخصهای اکسیداتیو نظیر پراکسیداسیون لیپید، محتوای هیدروژن پراکسید و فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدان را افزایش داد. خیس کردن بذرها در آرژینین (۰/۵ میلی مولار) به مدت ۲۴ ساعت مقدار مالون دی آلدئید و هیدروژن پراکسید را در گیاهان تحت تنش کاهش داد. در گیاهانی که تحت تنش شوری قرار داشتند پیش تیمار بذر با آرژینین همچنین باعث افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدان GPXریشه و اندام هوایی و فعالیت آنزیم APX ریشه در مقایسه با گیاهان پیش تیمار نشده با آرژینین شد. در این پژوهش نسبت K^+ به Na^+ در گیاهان تحت تنش کاهش یافت، در حالیکه پیش تیمار بذر با آرژینین این نسبت را در گیاهان افزایش داد. با توجه به اینکه اثر حفاظتی برخی ترکیبات حاصل از متابولیسم آرژینین مانند نیتریک اکسید و پلی آمینها در افزایش تحمل به تنش در مطالعات قبلی گزارش شده است، در این بررسی به نظر می‌رسد که اسید آمینه آرژینین به صورت مستقیم و یا از طریق برخی ترکیبات حاصل از متابولیسم آن مانند نیتریک اکسید و یا پلی آمینها باعث افزایش تحمل به تنش شوری شده است.

واژه‌های کلیدی: آرژینین، آنزیم‌های آنتی اکسیدان، هیدروژن پراکسید

* نویسنده مئول، تلفن: ۰۳۴۳۳۲۲۲۰۷۰ ، پست الکترونیکی: nasibi2002@yahoo.com

مقدمه

شوری به عنوان یکی از تنش های مهم محیطی است که تولیدات کشاورزی را به خصوص در مناطق خشک و نیمه خشک محدود می کند (۳). تنش شوری می تواند به طور مستقیم و غیرمستقیم از طریق مختل کردن متابولیسم، رشد، تکامل و رشد زایشی بر فیزیولوژی گیاه تأثیر بگذارد (۳۳). برخی از اثرات شوری مانند تنش اسمزی، سمیت یونی، تنش اکسیداتیو، تغییر در مراحل متابولیسمی، به هم ریختگی غشا، کاهش تقسیم و رشد سلول باعث کاهش رشد و نمو گیاه می شود (۳۴). در تنش شوری تولید گونه های فعال اکسیژن در محیط سلول، موجب ایجاد تنش ثانویه ای به نام تنش اکسیداتیو می‌گردد (۳). گیاهان با فعال سازی سیستم آنتی اکسیدانی آنزیمی شامل آنزیم‌های سوپراکسید دیسموتاز، کاتالاز، گایاکل پراکسیداز و آسکوربات پراکسیداز و ترکیبات آنتی اکسیدانی شامل فنل ها، کاروتنوییدها و یا آسکوربیک اسید و غیره امکان سم زدایی و جاروب کردن گونه های فعال اکسیژن را فراهم می‌کنند (۲۶). امروزه شناسایی و بکار بردن ترکیباتی که بتواند تحمل گیاهان را به تنش های محیطی ازجمله شوری افزایش دهد از نظر تئوری و عملی حائز اهمیت است. در این مورد ترکیبات متعددی تاکنون برای تخفیف تنش و

www.SID.ir

Archive of SID

بهبود محصول در شرایط تنش محیطی به‌کار گرفته شده است، به طور مثال گزارش شده است که پرولین سمیت نمک را در گیاهان جو با تغییر انتقال نمک از ریشه به ساقه کاهش می دهد (۱۳).

در بین روشهای به‌کاررفته برای افزایش تحمل به شوری در گیاهان، پرایمینگ بذر(تیمار بذر با خیساندن) یکی از روشهای آسان، مقرون به صرفه و دارای خطر پایین است و اخیرا از این روش برای استفاده از ترکیبات برون زا به منظور بر طرف کردن و یا کاهش اثرات شوری در زمینهای کشاورزی استفاده می شود (۳۲).

آرژینین یکی از پرکاربردترین اسیدهای آمینه با نسبت 6C/4N در سلول‌های زنده می‌باشد و از اجزای اصلی پروتئین‌هاست و در انتقال و ذخیره نیتروژن در گیاهان نقش دارد (۶). گزارش شده است که اسیدآمینه آرژینین به عنوان پیش ماده تولید پلی آمین ها، پرولین و نیتریک اکسید می تواند نقش های فیزیولوژیکی مهمی در گیاه ایفا نماید (۱۱). به طور مثال درگیاه گندم نقش مثبت آرژینین درکاهش بازدارندگی رشد ناشی از شوری گزارش شده است (۱۲). همچنین گزارش شده است که کاربرد آرژینین برون زا به طور موفقیت آمیز اثرات مضر ناشی از تنش شوری در گیاهانی مثل گندم (۵) را کاهش داده است. در مطالعات قبلی گزارش شده است که کاربرد خارجی پوتریسین یا اسیدآمینه پیش‌ساز آن آرژینین و اثرات مضر ناشی از کلرید سدیم را در گیاهان تحت تنش کاهش داده است (۱۵). یکی از ترکیبات موجود در مسیر کاتابولیکی آرژینین نیتریک اکسید می‌باشد، این ترکیب نقش تعیین-کننده در رشد و نمو گیاه و تحمل گیاه در برابر تنش های زیستی و غیرزیستی دارد (۲۲). نیتریک اکسید یکی از ترکیبات حاصل از متابولیسم آرژینین می باشد، گزارش شده است که NO در گیاه *Populus euphratica* از طریق افزایش نسبت K^+/Na^+ باعث مقاومت این گیاه در برابر تنش شوری شده است (۳۰). پرولین از دیگر محصولات مسیر متابولیسم آرژینین است که عمل حفاظت اسمزی را انجام داده، باعث تثبیت پروتئین شده و در حفظ تعادل ردوکس نقش دارد (۲۸). پلی‌آمین‌ها نیز از محصولات متابولیسمی آرژینین می باشند. این ترکیبات در فرایندهای بیولوژیکی و تنظیم فعالیت آنزیم ها و تأثیر بر عملکرد و ساختار غشا نقش دارند (۹). با توجه به اهمیت اقتصادی گیاه گندم، مطالعات متعددی در جهت افزایش تحمل این گیاه به تنش های محیطی از جمله شوری انجام شده است اما مطالعات اندکی در مورد اثر پیش تیمار بذر با اسیدهای آمینه در دسترس است، از این‌رو در این تحقیق اثر پیش تیمار بذر با اسید آمینه آرژینین در بهبود رشد و کاهش تنش اکسیداتیو ناشی از شوری در گیاه گندم مورد بررسی قرار گرفت.

مواد و روش‌های آزمایشگاهی: گیاه مورد استفاده در این مطالعه گیاه گندم رقم مغان (*Triticum aestivum* cv Moghan 3) بود، بذرهای این گیاه از مرکز تحقیقات یزد تهیه شدند. بذرها پس از استریل با هیپوکلریدسدیم نیم درصد، ابتدا در غلظت ۰/۵ میلی مولار آرژینین(Arg) و آب مقطر به عنوان شاهد به مدت ۲۴ ساعت خیس شدند (این غلظت بر اساس آزمایش‌های مقدماتی بهینه شد). سپس بذر ها در گلدان های حاوی پرلیت کشت گردیدند. این گیاهان به مدت ۵ روز به صورت یک روز در میان با ۱۵ میلی لیتر آب یا محلول غذایی هوگلند آبیاری شدند. بعد از گذشت ۵ روز، یک گروه از گیاهان برای اعمال تنش با محلول هوگلند حاوی ۳۰۰ میلی مولار نمک آبیاری شدند (غلظت نمک نیز در آزمایش‌های ابتدایی بهینه شد). گلدانهای حاوی گیاهان تحت تنش شوری برای جلوگیری از تجمع نمک درهفته یکبار با آب مقطر شستشو شدند. گیاهان شاهد در این مرحله با محلول غذایی هوگلند بدون نمک آبیاری شدند. پس از گذشت ۱۴ روز از اعمال تنش شوری، اندام هوایی و ریشه های گیاهان در ازت مایع فریز شدند و برای آنالیز های بعدی به فریزر ۸۰- منتقل شدند. این پژوهش در قالب یک طرح کاملاً تصادفی انجام شد.

www.SID.ir

Archive of SID

برای هر تیمار سه تکرار در نظر گرفته شد. داده های حاصل از اندازه گیری پارامترها، با استفاده از نرم افزار SPSS تحت آنالیز واریانس یک طرفه قرار گرفتند و میانگین داده ها با آزمون دانکن مقایسه شدند. ۰۵ /۰≥ P به عنوان اختلاف معنی دار در نظر گرفته شد.

اندازه گیری پارامترهای رشد: وزن تر و خشک ریشه و اندام هوایی به عنوان پارامترهای رشد اندازه گیری شدند. برای اندازه گیری وزن خشک، نمونه‌ها در فویل آلومینیومی پیچیده شده و به‌مدت ۷۲ ساعت در آون در دمای ۷۰ درجه سانتی‌گراد خشک شدند. سپس وزن خشک نمونه‌ها با ترازو اندازه‌گیری شد و بر حسب میلی گرم به ازای هر گیاه گزارش شد.

اندازه گیری مقدار کلروفیل : برای سنجش مقدار کلروفیل از روش (Lichtenthaler ۱۹۸۷) استفاده شد.

پراکسیداسیون لیپیدهای غشایی: اندازه گیری غلظت مالون دآلدئید به روش Heath و Packer (۱۹۶۸) انجام شد. طبق این روش ۰/۲ گرم از بافت تازه برگی در هاون چینی حاوی ۵ میلی لیتر تری کلرواستیک اسید (TCA) ۰/۱ درصد سائیده شد. سپس عصاره حاصل به مدت ۵ دقیقه در ۱۰۰۰×g سانتریفوژ شد. از فاز رویی برای اندازه گیری MDA به عنوان شاخص پراکسیداسیون استفاده شد. برای محاسبه غلظت MDA از ضریب خاموشی معادل $۱/۵۵ \times ۱۰^{۵} mM^{-1}cm^{-1}$ استفاده شد و نتایج حاصل از اندازه‌گیری بر حسب میکرومول بر گرم وزن تر محاسبه شد (۱۰).

پراکسید هیدروژن (H_2O_2): مقدار هیدروژن پراکسید براساس واکنش H_2O_2 با یدور پتاسیم(KI) و با روش (Alexieva, 2001) انجام شد. در این روش ۰/۵ گرم از بافت تازه برگ در TCA ۰/۱ درصد سائیده شد. عصاره حاصل به مدت ۱۵ دقیقه در g × ۵۰۰۰ سانتریفوژ گردید. سپس به ۵۰۰ میکرولیتر از محلول رویی، ۵۰۰ میکرولیتر بافر پتاسیم فسفات ۱۰۰ mM (pH =۷) و دو میلی لیتر یدور پتاسیم یک مولار اضافه شد. مخلوط واکنش به مدت یک ساعت در تاریکی در دمای اتاق قرار داده شد و بعد جذب نمونه ها در ۳۹۰ نانومتر اندازه گیری گردید. برای محاسبه غلظت پراکسیدهیدروژن از منحنی استاندارد استفاده شد (۱).

اندازه گیری فعالیت آنزیم های آنتی اکسیدان: تهیه عصاره پروتئینی: ۰/۵ گرم از بافت تازه گیاه در پنج میلی لیتر بافر پتاسیم فسفات ۵۰ میلی مولار (pH=۷/۵) که حاوی پلی وینیل پیرولیدین (PVP) یک درصد و EDTA یک میلی مولار بود، سائیده شد. تمام مراحل استخراج روی یخ انجام شد، سپس عصاره ها به مدت ۲۰ دقیقه در ۵۰۰۰×g و در دمای °C ۴ سانتریفوژ شدند. از محلول شفاف رویی برای سنجش فعالیت آنزیم استفاده شد(۷).

سنجش فعالیت آنزیم کاتالاز (CAT) (EC 1.11.1.6) : فعالیت کاتالاز با روش اسپکتروفتومتری و براساس کاهش جذب هیدروژن پراکسید در مدت ۳۰ ثانیه در طول موج ۲۴۰ نانومتر اندازه گیری شد. مقدار پراکسید هیدرژن تجزیه شده با استفاده از ضریب خاموشی معادل mM^{-1} cm^{-1} ۴۰ محاسبه شد (۴). یک واحدآنزیمی، مقدار آنزیمی است که یک میلی مولار آب اکسیژنه را در مدت یک دقیقه تجزیه کند.

سنجش فعالیت آسکوربات پراکسیداز (EC 1.11.1.11):

(APX)فعالیت آسکوربات پراکسیداز با استفاده از اسپکتروفتومتر و براساس اکسیداسیون آسکوربات اندازه گیری شد. مخلوط واکنش حاوی بافر فسفات پتاسیم ۵۰ میلی مولار (pH=۷)، آسکوربات ۰/۵ میلی مولار، آب اکسیژنه ۰/۱ میلی مولار و ۱۵۰ میکرولیتر عصاره آنزیمی بود. فعالیت آنزیم APX براساس کاهش جذب آسکوربات در مدت یک دقیقه در طول موج ۲۹۰ نانومتر اندازه گیری شد. در این روش مقدار آسکوربات اکسید شده با استفاده از ضریب خاموشی معادل mM^{-1} cm^{-1} ۲/۸ محاسبه شد

www.SID.ir

Archive of SID

(۲۰). یک واحد فعالیت آنزیمی به عنوان مقدارآنزیمی است که یک میکرومولار آسکوربیک اسید را در مدت یک دقیقه اکسید کند.

سنجش فعالیت گایاکول پراکسیداز (GPX) (EC1.11.1.7): فعالیت آنزیم پراکسیداز با استفاده از پیش ماده گایاکول اندازه گیری شد. در این روش سه میلی لیتر مخلوط واکنش حاوی ۲/۷۷ میلی لیتر بافر پتاسیم فسفات ۵۰ میلی مولار (pH=۷)، ۱۰۰ میکرولیتر آب اکسیژنه یک درصد، ۱۰۰ میکرولیتر گایاکول چهار درصد و ۳۰ میکرولیتر عصاره آنزیمی بود. افزایش جذب به دلیل اکسایش گایاکول در طول موج ۴۷۰ نانومتر به مدت سه دقیقه اندازه گیری شد. با استفاده از ضریب خاموشی تتراگایاکل ($۲۵/۵\ mM^{-1}cm^{-1}$)، مقدار تتراگایاکل تشکیل شده محاسبه شد (۲۳). یک واحد فعالیت آنزیمی به عنوان مقدار آنزیمی است که یک میکرومولار گایاکول را در مدت یک دقیقه اکسید کند.

سنجش نسبت عناصر سدیم و پتاسیم: در هر تیمار به ۰/۲ گرم از وزن خشک گیاه سه سی سی اسید نیتریک غلیظ اضافه گردید. مخلوط حاصل به مدت ۲۴ ساعت در دمای اتاق قرار گرفت تا مواد آلی کاملاً تجزیه شوند. سپس با استفاده از حرارت اسید موجود تبخیر و حجم نمونه ها با آب یون زدایی شده به ۱۰ سی سی رسانده شد. جذب نمونه ها با استفاده از دستگاه فلیم فتومتر خوانده شد و غلظت عناصر بر اساس منحنی استاندارد محاسبه گردید و بر حسب میلی گرم بر گرم وزن خشک گزارش شد.

نتایج

پارامترهای رشد: همانطور که در جدول شماره ۱ نشان داده شده است تیمار گیاه گندم با ۳۰۰ میلی مولار نمک NaClتنها وزن تر ریشه را کاهش داد و اثری بر وزن خشک ریشه و وزن تر و خشک اندام هوایی نداشت، در حالیکه کم رنگ شدن و یا زردی در گیاهان تحت تنش مشهود بود. داده های حاصل از اندازه گیری مقدار کلروفیل نیز نشان داد که رنگیزه های فتوسنتزی تحت تنش شوری کاهش معنی داری داشته اند. این آزمایش نشان داد که پیش تیمار بذر با Arg تنها باعث افزایش وزن تر ریشه در شرایط کنترل و تحت تنش گردید اما مقدار کلروفیل را در هر دو گروه گیاهان شاهد و تحت تنش افزایش داد.

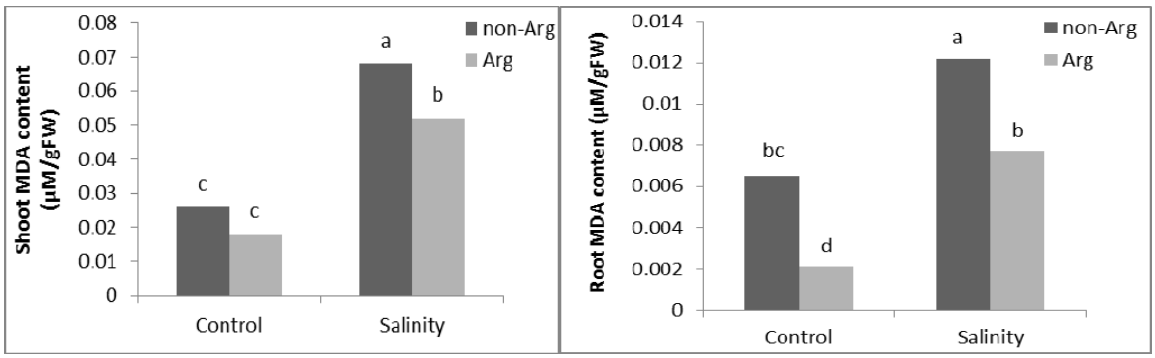
جدول ۱- اثر پیش تیمار آرژینین بر وزن تر و خشک ریشه و قسمت هوایی و مقدار کلروفیل گیاه گندم در شرایط کنترل و تنش شوری (داده‌ها میانگین سه تکرار می‌باشند و مقایسه میانگین‌ها با آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح $p\leq0.05$ انجام شده است. میانگین‌های دارای حروف مشابه از نظر آماری اختلافی ندارند).

Treatment	Control	Salinity	Arginine	Arginie+ Salinity
Shoot fresh weight (mg/plant)	0.6867± 0.081 [a]	0.578± 0.011 [a]	0.6733± 0.0298 [a]	0.5773± 0.01398 [a]
Root Fresh Weight (mg/plant)	0.3933± 0.014 [b]	0.33± 0.0251 [c]	0.4833± 0.0088 [a]	0.39± 0.0213 [b]
Shoot Dry Weight (mg/plant)	0.1133± 0.009 [a]	0.09± 0.0091 [a]	0.12± 0.0076 [a]	0.0907± 0.0021 [a]
Root Dry Weight (mg/plant)	0.1233± 0.011 [ab]	0.1117± 0.0041 [b]	0.1457± 0.0072 [a]	0.133± 0.0056 [ab]
Total Chl (mg/gFW)	1.6843± 0.0124 [bc]	1.487± 0.0043 [d]	1.9681± 0.0024 [a]	0.2672± 0.0141 [a]

www.SID.ir

Archive of SID

مقدار مالون دی آلدئید و پراکسیداسیون لیپیدهای غشایی: نتایج نشان داد که تنش شوری مقدار مالون دی آلدئید را به عنوان شاخص پراکسیداسیون لیپیدهای غشایی در ریشه و اندام هوایی افزایش داده است (شکل شماره ۱). در شرایط تنش شوری، مقدار مالون دی آلدئید در ریشه و اندام هوایی گیاهان پیش تیمار شده با آرژینین کمتر از گیاهان پیش تیمار نشده با آرژینین بود. در گیاهان شاهد پیش تیمار آرزینین تنها مقدار MDA را در ریشه کاهش داد و بر مقدار MDA اندام هوایی تأثیر معنی داری نداشت.



شکل ۱- اثر پیش تیمار آرژینین بر مقدار مالون دی آلدئید در ریشه و اندام هوایی گیاه گندم در شرایط کنترل و تنش شوری (اعداد میانگین سه تکرار می‌باشند. داده‌ها تحت آنالیز واریانس یکطرفه قرار گرفتند و میانگین‌ها با آزمون دانکن مقایسه شدند. $P\leq$ ۰/۰۵ به‌عنوان اختلاف معنی‌دار در نظر گرفته شد. میانگین‌های دارای حروف مشابه از نظر آماری اختلافی ندارند).

مقدار هیدروژن پراکسید: همانطور که در شکل ۲ نشان داده شده است، تنش شوری باعث افزایش مقدار هیدروژن پراکسید در ریشه و برگ گیاه گندم شد و پیش تیمار بذر با اسید آمینه آرژینین به میزان معنی‌داری مقدار هیدروژن پراکسید را در شرایط تنش و غیر تنش کاهش داد.

نسبت K^+/Na^+ در ریشه و اندام هوایی: با توجه با شکل ۳ تنش شوری نسبت پتاسیم به سدیم را در ریشه و برگ گیاه گندم کاهش داد و پیش تیمار با آرژینین باعث افزایش نسبت K^+/Na^+ شد.

فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدان: اثر تنش شوری بر فعالیت آنزیم های کاتالاز (CAT)، گایاکول پراکسیداز (GPX) و آسکوربات پراکسیداز (APX) در ریشه و اندام هوایی گیاه گندم در شرایط کنترل و پیش تیمار با آرژینین مورد سنجش قرار گرفت. همانطور که در شکل شماره ۴ نشان داده شده است، تنش شوری تقریبا فعالیت تمام آنزیم‌های انتی اکسیدان را در ریشه و اندام هوایی افزایش داد و تنها فعالیت آنزیم APX پائین تر از گیاهان شاهد بود. در ریشه گیاهانی که با آرژینین پیش تیمار شده بودند و بعد تحت تنش شوری ۳۰۰ میلی مولار قرار گرفتند فعالیت آنزیم های GPX و APX در مقایسه با ریشه گیاهان شاهد افزایش یافت اما پیش تیمار گیاهان با آرژینین تأثیر معنی داری بر فعالیت CAT ریشه نداشت. پیش تیمار گیاهان با آرژینین باعث افزایش فعالیت آنزیم GPX برگ و کاهش فعالیت آنزیم CAT در گیاهان تحت تنش در مقایسه با برگ گیاهان کنترل تحت این شرایط گردید اما بر فعالیت آنزیم APX تأثیری نداشت.

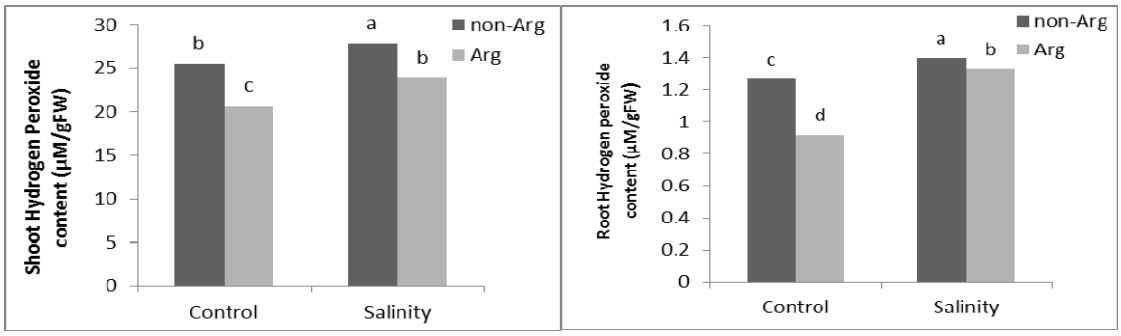
بحث و نتیجه‌گیری

تغییرات در رشد گیاهان در معرض تنش شوری، ابتدا مربوط به اثرات اسمزی می باشد و در پاسخ ثانویه، رشد به واسطه اثرات سمی نمک اضافی در داخل گیاه کاهش می یابد(۱۹). مطابق با نتایج گزارش شده در (جدول ۱) کاهش پارامترهای رشد در گیاه یونجه تحت تنش شوری نیز گزارش شده است (۲۹). مطابق پژوهش حاضر گزارش شده است که کاربرد آرژینین در گیاه باقلا باعث افزایش

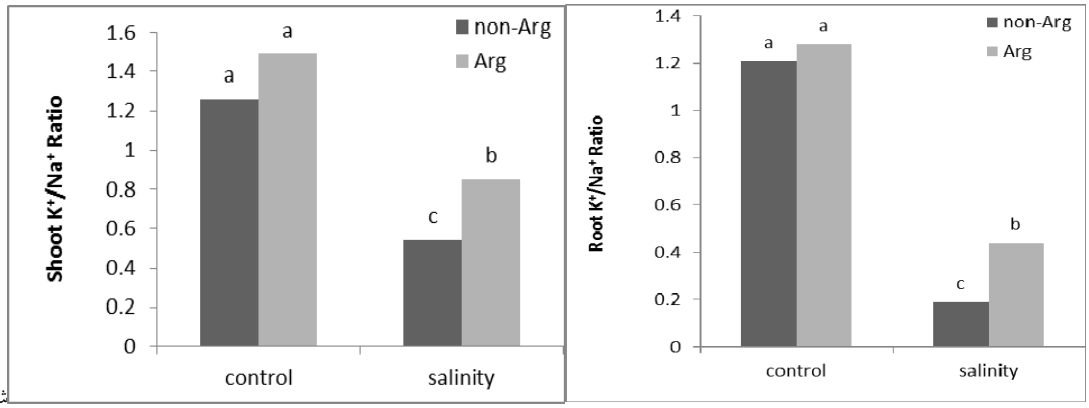
www.SID.ir

Archive of SID

رشد، افزایش وزن تر و خشک و مقدار کلروفیل های a و b شده است (۲۴).



شکل ۲- اثر پیش تیمار آرژینین بر مقدار هیدروژن پراکسید در ریشه و اندام هوایی گیاه گندم در شرایط کنترل و تنش شوری (اعداد میانگین سه تکرار می‌باشند. داده‌ها تحت آنالیز واریانس یک‌طرفه قرار گرفتند و میانگین‌ها با آزمون دانکن مقایسه شدند. $P\leq$ ۰/۰۵ به‌عنوان اختلاف معنی‌دار در نظر گرفته شد. میانگین‌های دارای حروف مشابه از نظر آماری اختلافی ندارند).



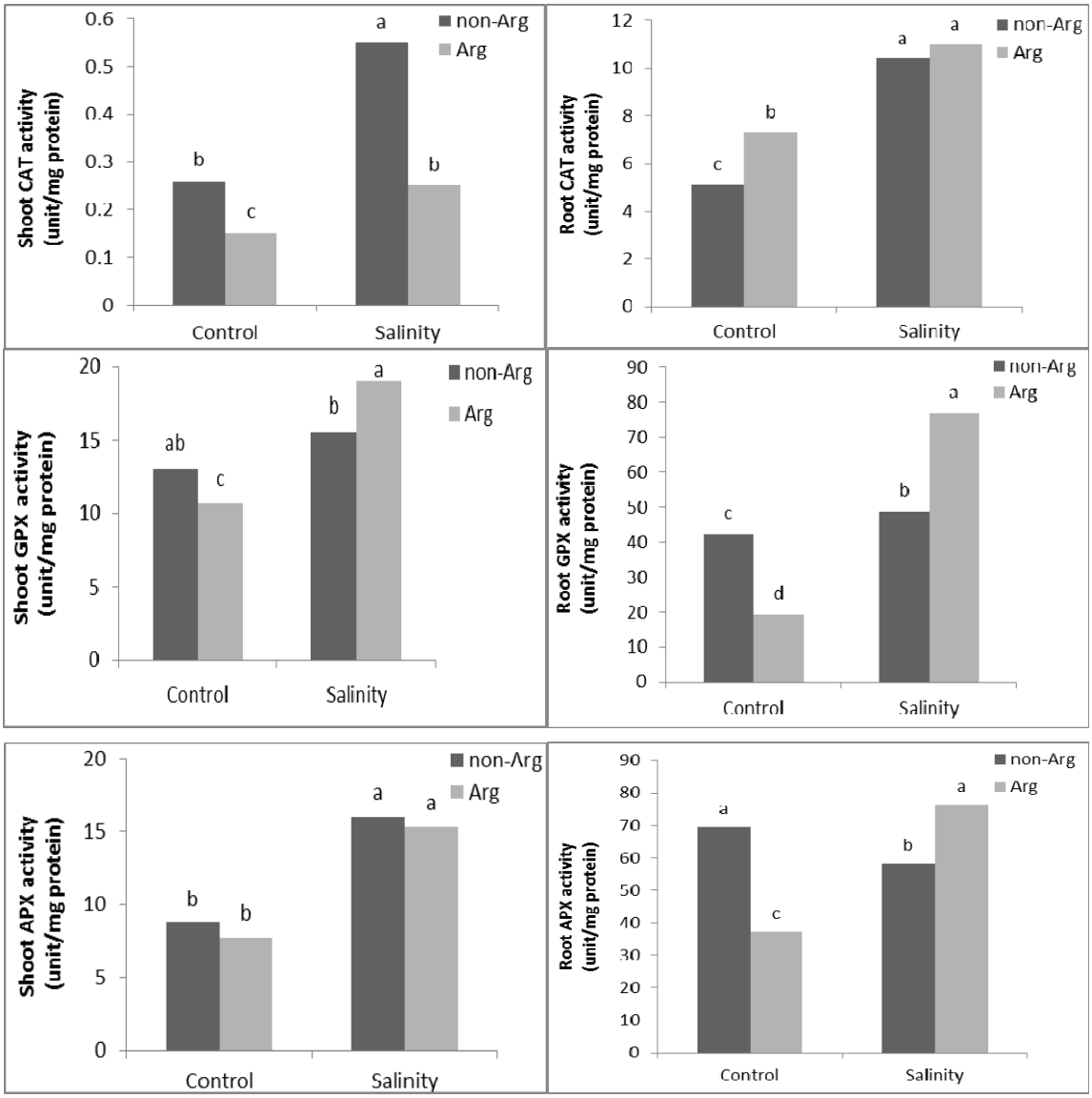
شکل ۳- اثر پیش تیمار آرژینین بر نسبت K^+/Na^+ در ریشه و اندام هوایی گیاه گندم در شرایط کنترل و تنش شوری (اعداد میانگین سه تکرار می‌باشند. داده‌ها تحت آنالیز واریانس یک‌طرفه قرار گرفتند و میانگین‌ها با آزمون دانکن مقایسه شدند. $P\leq$ ۰/۰۵ به‌عنوان اختلاف معنی‌دار در نظر گرفته شد. میانگین‌های دارای حروف مشابه از نظر آماری اختلافی ندارند).

در پژوهش حاضر نیز پیش تیمار بذر با آرژینین تنها باعث افزایش وزن تر ریشه در شرایط کنترل و تنش شوری گردید اما مقدار کلروفیل را هم در گیاهان شاهد و هم تحت تنش افزایش داد. افزایش غلظت سدیم و کلر در محلول خاک می تواند موجب کاهش فعالیت یونی و تولید نسبت های زیاد سدیم به کلسیم، سدیم به پتاسیم و سدیم به منیزیم گردد (۸). در این بررسی نیز نسبت K^+/Na^+ در ریشه و برگ در شرایط تنش کاهش یافت (شکل ۳). در این تحقیق پیش تیمار بذر با Arg نسبت K^+/Na^+ را در شرایط تنش شوری افزایش داد.گزارش شده است که آرژینین برون زا غلظت Na^+ و Cl^- را در برگ ها و دانه‌های باقلا کاهش داده، در حالی که جذب N، P و K در برگ ها و N، K، Ca، Mg و P در دانه های باقلا و همچنین نسبت K^+/Na^+ را تحت کلیه سطوح شوری به کار گرفته شده در مقایسه با گیاه کنترل، افزایش داده است (۲). برخی از اثرات آرژینین مشابه ترکیبات حاصل از متابولیسم آن می باشد، به طور مثال نیتریک اکسید یکی از ترکیبات حاصل از متابولیسم آرژینین می باشد. گزارش شده است که NO در گیاه *Populus euphratica* از طریق افزایش نسبت K^+/Na^+ باعث مقاومت این گیاه در برابر تنش

www.SID.ir

Archive of SID

شوری شده است (۳۱). بنابراین احتمالا نقش آرژینین در افزایش پتاسیم ریشه و برگ در شرایط تنش شوری می تواند به تولید نیتریک اکسید مربوط باشد.



شکل ۴- اثر پیش تیمار آرژینین بر فعالیت آنزیم‌های کاتالاز (CAT)، گایاکول پراکسیداز (GPX) و آسکوربات پراکسیداز (APX) در ریشه و اندام هوایی گیاه گندم در شرایط کنترل و تنش شوری (اعداد میانگین سه تکرار می‌باشند. داده‌ها تحت آنالیز واریانس یک‌طرفه قرار گرفتند و میانگین‌ها با آزمون دانکن مقایسه شدند. $P\leq$ ۰/۰۵ به‌عنوان اختلاف معنی‌دار در نظر گرفته شد. میانگین‌های دارای حروف مشابه از نظر آماری اختلافی ندارند).

افزایش در محتوای H_2O_2 و MDA در گونه های گیاهی مختلف تحت تنش شوری گزارش شده است. این افزایش به شدت تنش و میزان خسارت به لیپید غشا بستگی دارد (۲۵). نتایج حاضر نیز افزایش معنی‌داری در محتوای H_2O_2 و MDA در شرایط تنش شوری را در گیاه گندم نشان می دهد (شکل ۲). نقش آنتی اکسیدانی پلی آمین ها، نیتریک اکسید و پرولین که محصولات اسید آمینه آرژینین می باشند در مطالعات متعدد گزارش شده است (۱۷، ۲۱، ۲۷). به‌طوری‌که از این طریق مقدار گونه های فعال اکسیژن و در نتیجه پراکسیداسیون لیپید کاهش یافته است.

www.SID.ir

Archive of SID

تحمل به تنش شوری و خشکی در گیاهان عالی با تغییر در فعالیت آنزیم های آنتی اکسیدانی گیاه ارتباط دارد. سه آنزیم آنتی اکسیدان APX, GPX, CAT از ربایندە های مهم پراکسید هیدروژن هستند. یافته های این پژوهش با گزارش های ارائه شده در مورد افزایش فعالیت آنزیم های آنتی اکسیدان در شرایط تنش شوری در گیاه جو (۳۰) همسو بود. بازدارندگی فعالیت APX در شرایط تنش ممکن است نتیجه کاهش بیان ژن و یا تجزیه، دناتوره شدن و یا بازدارندگی و غیر فعال سازی این پروتئین باشد (۱۴). در ریشه فعالیت دو آنزیمCAT و GPX تحت تنش شوری افزایش یافت، که نشان دهنده نقش حفاظتی و دفاعی این دو آنزیم در شرایط تنش است. در گیاهچه خیار تحت تنش سرما مشاهده شده که کاربرد برون زا NO از طریق رهاکننده آن باعث تخفیف تنش اکسیداتیو به واسطه افزایش فعالیت آنزیم های آنتی اکسیدانی شده است (۱۸). شباهت عملکرد رها کننده NO و آرژینین این فرضیه را محتمل می سازد که شاید این عملکرد آرزینین نیز به دلیل تولید NO باشد، البته اثبات این مطلب مطالعات دقیق تر در این زمینه را می طلبد.

با بررسیهای انجام شده در این پژوهش، مشاهده شد که تنش شوری منجر به تنش ثانویه اکسیداتیو و عدم تعادل سدیم و پتاسیم گردید. پیش تیمار بذر با آرژینین باعث کاهش مقدار هیدروژن پراکسید و مالون دی آلدئید که شاخص تنش اکسیداتیو می باشند، شد، همچنین موجب افزایش فعالیت برخی از آنزیم های آنتی اکسیدان شد و از این طریق نقش مثبت خود را در کاهش صدمات ناشی از تنش اعمال کرد. بنابراین به نظر می‌رسد نقش حفاظتی آرژینین به احتمال زیاد مربوط به NO و پلی آمین های حاصل از متابولیسم آن باشد، زیرا نقش این مواد در مطالعات گذشته مورد تأیید قرار گرفته است. البته برای اثبات این مطالب بررسیهای بیشتر لازم است که در مطالعات آینده مورد توجه قرار خواهد گرفت.

سپاسگزاری

نویسندگان مقاله از قطب تنش های محیطی در غلات، دانشگاه شهید باهنر کرمان تشکر می نمایند.

منابع

1. Alexieva, V., Sergiev, I., Mapelli, S. and Karanov, E. (2001) The effect of drought and ultraviolent radiation on growth and stress markers in pea and wheat. Journal of Plant Cell and Environment. 24: 1337- 1344.
2. Amira, M. S. and Abdul, Q. (2010) Effect of arginine on growth, Nutrient composition, yield and nutritional value of mung bean grown under salinity stress. Nature and Science. 8(7): 30-41.
3. Chinnusamy, V., Jagendorf, A. and Zhu, J K. (2005) Understanding and improving salt tolerance in plants. Crop Sciences. 45: 437-448.
4. Dhindsa, R S., Dhindsa, P. and Thorpe, A T. (1981) Leaf senescence correlated with increased levels of membrane permeability and lipid peroxidation and decrease levels of superoxide dismutase and catalase. Journal of Experimental Botany. 32: 93-101.
5. El-Shintinawy, F. and Hassanein, R A. (2001) The role of polyamine precursors, arginine, ornthine or methionine in ameliorating the inhibitory effect of NaCl on wheat plant. Egyptian Journal of Biotechnology. 9:328-340.
6. Gao, H. T., Yang, H Q. and Wang, JX. (2009) Arginine metabolism in roots and leaves of apple (*Malus domestica* borkh): the tissue-specific formation of both nitric oxide and polyamines. Horticultural Science. 119: 147-152.
7. Gapinska, M., Sklodowska, M., Gabara, B. (2008) Effect of short- and long-term salinity on the activities of antioxidative enzymes and lipid peroxidation in tomato roots. Acta Physiologia Plantarum. 30:11-18.
8. Grattan, SR. and Grieve, C M. (1992) Mineral elemant acquisition and growth response of plant growth in saline environments. Agriculture, Ecosystems & Environment. 38:275-300.

www.SID.ir

Archive of SID

9. Groppa, MD. and Benavides, MP. (2008) Polyamines and abiotic stress recent advances. Amino Acids. 34:35–45.

10. Heath, RL. and Packer, L. (1968) Photoperoxidation in isolated chloroplast, kinetics and stoichiometry of fatty acid peroxidation. Journal of Archives of Biochemistry and Biophysics. 125: 189-198.

11. Jubault, M., Hamon, C., Gravot, A., Lariagon, C., Delourme, R., Bouchereau, A. and Manzanares-Dauleux, MJ. (2008) Differential regulation of root arginine catabolism and polyamine metabolism in clubroot-susceptible and partially resistant Arabidopsis genotypes. Plant Physiology. 146: 2008–2019.

12. Khalil, S I., El – Bassiouny, HM S., Hassanein, R A., Mostafa, H A M., El – Khawas, S A. and Abd El – Monem, A A. (2009) Antioxidant defense system in heat shocked wheat plants previously treated with putrescine or arginine. Australian Journal of Basic and Applied Sciences. 1517-1526.

13. Kumar, P., Dube, S D. and Chauhan, V S. (1999) Effect of salicylic acid on growth, development and some biochemical aspect of soybean (*Glycine max* L. Merrill). Indian Journal of Plant Physiology. 4: 327-330.

14. Lee, D H., Kim, Y S. and Lee, C B. (2001) The inductive responses of the antioxidant enzymes by salt stress in the rice (*Oryza sativa* L.). Journal of Plant Phyiology. 158: 737-745.

15. Lin, C. and Kao, C. (1995) Levels of endogenous polyamines and NaCl inhibited growth of rice seedlings. Plant Growth Regulation. 17:15–20.

16. Lichtenthaler, HK. (1987) Chlorophyll and carotenoids: pigments of photosynthetic biomembranes. Method Enzymology. 148: 350-382

17. Liu, K., Fu, HH., Bei, QX. and Luan, S. (2000) Inward potassium channel in guard cell as a target for polyamine regulation of stomatal movements. Plant Physiology. 124: 1315 – 1325.

18. Liu, X., Wang, L., Liying, L., Yangdong, G. and Huazhong, R. (2011) Alleviating effect of exogenous nitric oxide in cucumber seedling against chilling stress. African Journal of Biotechnology. 10(21):4380-4386.

19. Munns, R. (1993) Physiological processes limiting plant growth in saline soils: some dogmas and hypotheses. Plant Cell and Environment. 16: 15-24.

20. Nakano, Y. and Asada, K. (1981) Hydrogen peroxide is scavenged by ascorbate-specific peroxidase in spinach choloroplast. Journal of Plant and Cell Physiology. 22: 867-880.

21. Nasibi, F. and Kalantari, Kh. (2009) Influence of nitric oxide in protection of tomato seedling against oxidative stress induced by osmotic stress. Acta Physiologiae Plantarum. 31: 1037-1044.

22. Neill, S., Desikan, R. and Hancock, J T. (2003) Nitric oxide signaling in plants. New Phytologist. 159 : 11-35.

23. Plewa, MJ., Smith, SR. and Wanger, ED. (1991) Diethyldithiocarbamate suppresses the plant activation of aromatic amines into mutagens by inhibiting tobacco cell peroxidase. Journal of Mutation Research.247: 57-64.

24. Sairam, R K., Roa, K V. and Srivastava, GC. (2002) Differential response of wheat cultivar genotypes to long term salinity stress in relation to oxidative stress, antioxidant activity and osmolyte concentration. Plant Science. 163: 1037-1046.

25. Sairam, R K. and Srivastava , G C. (2002) Changes in antioxidant activity in subcellular fractions of tolerant and susceptible wheat genotypes in response to long-term salt stress. Plant Science. 162: 897-904.

26. Shi, Q., Ding, F., Wang, X. and Wei, M. (2007) Exogenous nitric oxide protects cucumber roots against oxidative stress induced by salt stress. Plant Physiology & Biochemistry. 45:542-550.

27. Surasak, S i., Samuel, T., Desh Pal, S. and Richard, T S. (2002) Molecular Mechanisms of Proline-Mediated Tolerance to Toxic Heavy Metals in Transgenic Microalgae. Plant Cell. 14: 2837-2847.

28. Trovato, M., Matioli, R. and Costantino, P. (2008) Multiple roles of proline in plant stress tolerance and development. Rendiconti Lincei. 19:325-346.

29. Wang, W B., Kim, Y H., Lee, H S., Kim, K Y., Deng, XP. and Kwak, SS. (2009) Analysis of antioxidant enzymes activity during germination of alfalfa under salt and drought stresses. Plant Physiology and Biochemistry. 47(7): 570-577.

30. Xu, Q., Xu, X., Zhao,Y., Jiao, K., Herbert, S J. and Hao, L. (2008) Salicylic acid, hydrogen

www.SID.ir

Archive of SID

peroxide and calcium induced saline tolerance associated with endogenous hydrogen peroxide homeostasis in naked oat seedlings. Plant Growth Regulation. 54: 249-259.

31. Zhang, A., Jiang, M., Zhang, J., Ding, H., Xu, S., Hu, X. and Tan, M. (2007) Nitric oxide induced by hydrogen peroxide mediates abscisic acid-induced activation of the mitogen-activated protein kinase cascade involved in antioxidant defense in maize leaves. New Phytologist. 175:36–50.

32. Zhang, S., Hu, J., Zhang, Y., Xie, XJ.and Knapp, A. (2007) Seed priming with brassinolide improves lucerne (Medicago sativa L.) seed germination and seedling growth in relation to physiological changes under salinity stress. Australian Journal of Agricultural Research. 58: 811-815.

33. Zhu, JK. (2001) Plant salt tolerance. Trends in Plant Science. 6, 66–71.

34. Zhu, JK. (2007) Plant Salt Stress. John Wiley & Sons, Ltd.

Effects of amino acid arginine on some oxidative parameters and increase of salinity tolerance in wheat plant

Nasibi F., Kalantari Kh.M., Mohammadinejad Gh. and Zangeneh R.

[1] **Biology Dept., Faculty of Sciences, Shahid Bahonar University of Kerman, Kerman, I.R. of Iran**

Abstract

In this research, the effect of pretreatment of seeds with arginine (amino acid precursor of nitric oxide and polyamine) on growth parameter, K^+/Na^+ ratio and reduction of oxidative damages induced by salinity (300 mM) were investigated in wheat plant.

Results showed that salinity stress had no significant effect on growth parameters while increased the total oxidative stress index such as lipid peroxidation hydrogen peroxide content and antioxidant enzymes activity. Saking of seeds in arginine (0.5 mM) for 24 hours, reduced the lipid peroxidation and hydrogen peroxide in plants which were under stress. In plants which were under salt stress, pretreatment of seeds with arginine also increased the activity of root and shoot GPX and shoot APX enzymes when compared with non pretreated plants. In this research the K^+/Na^+ ratio decreased under salt stress and arginine pretreatment increased this ration in plants. According to the protective role of some arginine metabolism compouns such as nitric oxide and polyamines that report in previous study,in this research it seems that arginie caused increasing salt tolerance directly or indirectly throuth some compounds such as nitric oxid and polyamines production

Key words: Arginine, Antioxidant Enzymes, lipid peroxidation

www.SID.ir