دانشگاه آزاد اسلامی واحد ارسنجان

مجله علمی پژوهشی اکوفیزیولوژی گیاهی
سال دوازدهم، شماره چهلم، ۱۳۹۹

اثر محلول‌پاشی اسید سالیسیلیک، گلایسین بتائین و گاما آمینو بوتیریک اسید بر فعالیت آنتی‌اکسیدانی گیاه کارلا تحت تنش کم‌آبی

افسون رضایی علولو[۱]، عزیزاله خیری[۲]، محسن ثانی خانی[۳]، مسعود ارغوانی[۳]

دریافت: ۹۷/۲/۲۸ پذیرش: ۹۸/٤/۱

چکیده

به‌منظور ارزیابی اثر کاربردبرگی اسید سالیسیلیک، گلایسین بتائین و گاما آمینوبوتیریک اسید بر فعالیت آنتی‌اکسیدانی آنزیمی وغیرآنزیمی گیاه دارویی کارلا (*Momordica charantia* L.) تحت شرایط تنش کم‌آبی آزمایشی به‌صورت کرت‌های خرد شده در قالب طرح بلوک-های کامل تصادفی با سه تکرار در سال ۱۳۹٦ در مزرعه تحقیقاتی دانشگاه زنجان اجرا شد. تیمارهای آزمایش شامل سه سطح آبیاری (۵۰، ۷۵ و ۱۰۰ درصد ظرفیت زراعی) به‌عنوان فاکتور اصلی و دو سطح اسید سالیسیلیک (۲ و ٤ میلی‌مولار)، گلایسین بتائین (۵۰ و ۱۰۰ میلی-مولار) و گاما آمینوبوتیریک اسید (گابا) (۱۰ و ۲۰ میلی‌مولار) به‌همراه شاهد به‌عنوان فاکتورهای فرعی به‌کار برده شدند. نتایج آزمایش نشان داد که با افزایش شدت تنش کم‌آبی به‌طور معنی‌داری میزان فعالیت آنزیم‌های کاتالاز، پراکسیداز، فعالیت آنتی‌اکسیدانی برگ و همچنین محتوای فنل و فلاونوئید کل و نیز فعالیت آنتی‌اکسیدانی میوه افزایش، ولی میزان ویتامین ث کاهش یافت. اثر متقابل رژیم آبیاری با تیمارهای مورد استفاده موجب افزایش معنی‌داری در صفات مورد اندازه‌گیری شد. بالاترین میزان فعالیت آنتی‌اکسیدانی برگ و میوه به ترتیب با کاربرد ٤ میلی‌مولار اسید سالیسیلیک و ۱۰۰میلی‌مولار گلایسین در تنش کم‌آبی ۷۵ درصد ظرفیت زراعی حاصل شد. با توجه به این‌که در این بررسی گیاهان تیمار شده با اسید سالیسیلیک، گلایسین بتائین و گابا در رژیم‌های آبیاری مختلف، نسبت به گیاهان شاهد از فعالیت آنتی-اکسیدانی آنزیمی و غیرآنزیمی بالاتری برخوردار بودند، لذا به نظر می‌رسد کاربرد این مواد می‌تواند در ایجاد مقاومت به تنش کم‌آبی گیاه کارلا موثر باشد.

واژه‌های کلیدی: پراکسیداز، کاتالاز، تنش کم‌آبی، فنل کل، ویتامین ث

رضایی غلولو، ا.، ع. خیری، م. ثانی خانی و م. ارغوانی. ۱۳۹۹. اثر محلول‌پاشی اسید سالیسیلیک، گلایسین بتائین و گاما آمینو بوتیریک اسید بر فعالیت آنتی‌اکسیدانی گیاه کارلا تحت تنش کم‌آبی. مجله اکوفیزیولوژی گیاهی. ٤۰: ۱۵۱-۱٤۰.

۱- دانشجوی کارشناسی ارشد، گروه باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه زنجان، زنجان، ایران

۲- استادیار گروه باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه زنجان، زنجان، ایران- مسئول مکاتبات. kheiry@znu.ac.ir

۳- استادیار گروه باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه زنجان، زنجان، ایران

مقدمه

گیاه دارویی کارلا (*Momordica charantia* L.) با نام انگلیسی (Bitter melon) از تیره کدوئیان (Cucurbitaceae) گیاهی یک‌ساله، دارای میوه‌های تخم‌مرغی شکل، خاردار و گوشتی شکوفا با سه شیار نامنظم می‌باشد (آنلی کامور و همکاران، ۲۰۱۵). منشاء آن در شرق هند و جنوب چین می‌باشد، ولی تنوع گونه‌ی زیادی در آفریقا دارد (لقمان و همکاران، ۲۰۱۳). برخلاف سایر سبزیجات تیره کدوئیان که طعم تلخ آن‌ها مربوط به کوکوربیتاسین است، طعم تلخ خربزه تلخ به‌دلیل وجود آلکالوئید مومورديسین و گلیکوزیدهای تری‌ترپنی (momrdicoside L and K) می‌باشد (توسار و همکاران، ۲۰۱۰).

تنش خشکی از جمله تنش‌های محیطی است که علاوه بر کاهش رشد رویشی و تغییر در ساختارهای آناتومیکی گیاه، از طریق ایجاد تنش ثانویه نظیر تنش اکسیداتیو، سبب تغییر در مسیرهای سنتز ترکیبات و متابولیت‌های ثانویه می‌شود (شارما و همکاران، ۲۰۱۲). تحقیقات زیادی وجود دارد که افزایش گونه‌های فعال اکسیژن را تحت تنش خشکی گزارش کرده‌اند. گیاهان از طریق ساز و کارهای آنتی‌اکسیدانی آنزیمی و غیرآنزیمی گونه‌های فعال اکسیژن ایجاد شده را کاهش می‌دهند (میلر و همکاران، ۲۰۱۰). تجمع گونه‌های فعال اکسیژن در سلول موجب آسیب رساندن به لیپیدهای غشا، اسیدهای نوکلئیک و پروتئین‌ها می‌شود. در طی فتوسنتز تحت وضعیت کم‌آبی، نشت بالای الکترون به سمت O_2 اتفاق می‌افتد و انواع مختلف گونه‌های فعال اکسیژن (ROS) نظیر سوپر اکسید، پراکسید هیدروژن، رادیکال هیدروکسیل و رادیکال اکسیژن تولید می‌کند. گیاهان جهت مقابله با تنش اکسیداتیو ناشی از گونه‌های فعال اکسیژن، سازوکارهای آنتی‌اکسیدانی آنزیمی و غیرآنزیمی دارند (میلر و همکاران، ۲۰۱۰). آنزیم‌های کاتالاز و پراکسیداز به‌عنوان اصلی‌ترین آنزیم‌های مهار کننده H_2O_2 شناخته شده‌اند. میزان خسارت ناشی از ROS با افزایش سطوح فعالیت آنزیم پراکسیداز درگیاه می‌تواند تقلیل یابد (زند و همکاران، ۱۳۸۸). کاتالاز آنزیمی است که فعالیت آن پراکسید هیدروژن تولید شده در مسیرهای تنفس نوری داخل پراکسیزوم‌ها را مهار می‌کند (میتلر، ۲۰۰۲). پراکسیداز نیز در گیاهان دارای نقش‌های چندگانه‌ی فیزیولوژیکی و بیوشیمیای بوده و در ایجاد پیوند با مولکول‌های دیواره سلولی، اکسایش اکسین، تولید لیگنین و پاسخ به تنش‌های زنده و غیرزنده دخالت دارد (کویروگا، ۲۰۰۰).

یکی دیگر از راه‌های مقابله گیاهان با شرایط تنش و حفاظت از ساختارهای سلولی خود در برابر رادیکال‌های فعال تولید شده تولید ترکیبات آنتی‌اکسیدانی نظیر ترکیبات فنلی می‌باشد (بتایب و همکاران، ۲۰۱۰). ترکیبات فنلی همچون پالاینده‌های گونه‌های واکنش‌گر فعال اکسیژن عمل می‌کنند و در نتیجه سبب ثبات غشاهای سلولی و مانع پراکسیداسیون لیپیدها می‌شوند (چانگ و همکاران، ۲۰۰۲). افزایش ترکیبات فنلی تحت تنش‌های غیرزیستی در فلفل نیز گزارش شده است (کوک و همکاران، ۲۰۱۰).

گلایسین بتائین معمول‌ترین محلول آلی سازگار می‌باشد که در اکثر میکروارگانیسم‌ها، گیاهان و حیوانات وجود دارد و در میان ترکیبات آمونیوم شناخته شده جزء فراوان‌ترین ترکیب در گیاهان می‌باشد که به تنش پاسخ می‌دهد (یانگ و همکاران، ۲۰۰۳). این ترکیب از جمله تنظیم کننده‌های اسمزی است که فاقد اثرات سمی بوده و قادر به محافظت گیاه در برابر انواع تنش‌ها بوده و از طریق تنظیم اسمزی سلول، خنثی‌سازی سمیت انواع اکسیژن فعال، پایداری‌غشا، کاهش آسیب سلولی و محافظت از آنزیم‌های مختلف تحمل گیاه به تنش را افزایش داده و در شرایط تنش نقش تنظیم کننده اسمزی را ایفا می‌کند. تجمع گلایسین بتائین علاوه بر کاهش مستقیم آسیب‌های ناشی از تنش اکسیداتیو می‌تواند با حفاظت از آنزیم‌های درگیر در سیستم آنتی‌اکسیدان به مهار گونه‌های فعال اکسیژن (ROS) کمک کند (اشرف و فولاد، ۲۰۰۷).

یکی از ترکیباتی که در ایجاد تحمل و مقاومت در برابر تنش خشکی در گیاه موثر است، ترکیب شبه هورمونی اسید سالیسیلیک است. اسید سالیسیلیک یک ترکیب فنلی گیاهی است که به‌عنوان یک هورمون گیاهی و تنظیم کننده‌ی رشد شناخته شده و نقش آن در ارتباط با مکانیسم‌های دفاعی در برابر عوامل استرس‌زای زیستی و غیرزیستی به خوبی مشخص شده است (حیات و احمد، ۲۰۰۷). پیش تیمار گیاه گوجه‌فرنگی با محلول اسید سالیسیلیک، از طریق افزایش آنزیم‌های اکسیدان از جمله پراکسیداز، آسیب‌های تنش اکسیداتیو ناشی از شوری را بهبود بخشید (تاری و همکاران، ۲۰۰۴).

گاما آمینوبوتیریک اسید (GABA) یک اسید آمینه چهار کربنه غیرپروتئینی است که جزء اصلی منبع آمینواسیدهای آزاد در اکثر پروکاریوت‌ها و یوکاریوت‌ها می‌باشد (شلپ و همکاران، ۱۹۹۹). گابا یک تنظیم‌کننده رشد گیاهی است که می‌تواند رشد و عملکرد را در محصولات مختلف کنترل کند و اثر قابل توجهی روی تنظیم رشد داشته باشد. گابا سبب افزایش سطح هورمون-

های درونی گیاه می‌شود که در نتیجه بر رشد صفات فیزیولوژیکی موثر است (هوگو، ۲۰۰۲).

هدف از این پژوهش ارزیابی تاثیر کاربرد برگی اسید سالیسیلیک، گلایسین بتائین و گابا بر فعالیت آنتی‌اکسیدانی آنزیمی و غیرآنزیمی گیاه کارلا تحت تنش کم‌آبی می‌باشد.

مواد و روش‌ها

این پژوهش در فصول بهار و تابستان سال ۱۳۹٦ به صورت کرت‌های خرد شده در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی با سه تکرار در مزرعه تحقیقاتی دانشگاه زنجان اجرا شد. قبل از اجرای تحقیق، از عمق ۳۰ -۰ سانتی‌متری نقاط مختلف خاک مزرعه نمونه برداری و برای تعیین خواص فیزیکی و شیمیایی به آزمایشگاه منتقل شد و نتایج آزمایش خاک در جدول ۱ ارائه شده است.

جدول ۱- خصوصیات فیزیکی و شیمیایی خاک مزرعه

رس (%)	سیلت (٪)	شن (%)	بافت خاک	ماده آلی (%)	پتاسیم (kg/g)	سدیم (kg/g)	کلسیم (kg/g)	نیتروژن (%)	EC ($ds\ m^{-1}$)	pH
۳۷	۳۸	۲۵	لوم رسی	۰/۹٤	۰/۲۰	۰/۱۳	۰/۱۲	۰/۰۷	۱/٤۹	۷/٤

تیمارهای آزمایش شامل سه سطح آبیاری ۱۰۰ درصد ظرفیت زراعی (شاهد)، ۷۵ و ۵۰ درصد ظرفیت زراعی به‌عنوان فاکتور اصلی، دو سطح اسید سالیسیلیک (۲ و ٤ میلی‌مولار)، گاما آمینوبوتیریک اسید (۱۰ و ۲۰ میلی‌مولار) و گلایسین بتائین (۵۰ و ۱۰۰ میلی‌مولار) به‌همراه شاهد (محلول‌پاشی با آب مقطر) به‌عنوان فاکتورهای فرعی در نظر گرفته شدند. در بهار بعد از انجام عملیات تهیه زمین در ۱۰ خرداد بذرهای کارلا، رقم F1 PALEE که از شرکت EAST-WEST SEED توسط جهاد کشاورزی زابل تهیه شده بودند برای تسریع در جوانه‌زنی به مدت ۲٤ ساعت خیسانده و سپس به‌صورت مستقیم در زمینی که از قبل آبیاری شده بود در ٦۳ واحد آزمایشی یک ردیفه با فاصله ۱/۵۰ متر بین ردیف‌ها، فاصله بوته‌ها روی ردیف ۷۵ سانتی‌متر در عمق ۲ سانتی‌متری کشت شدند. آبیاری بذرها به روش قطره‌ای صورت گرفت. مبارزه با علف‌های هرز در طول دوره رشد به‌صورت دستی انجام شد. پس از استقرار کامل گیاه در خاک، اولین محلول‌پاشی در مرحله ۱۲-۱۰ برگی انجام شد. دو هفته بعد از اولین محلول‌پاشی تنش کم‌آبی اعمال شد. برای تعیین میزان رطوبت خاک در حد ظرفیت زراعی از معادله (۱) استفاده شد. روش کار به این صورت بود که ابتدا همه‌ی ردیف‌های کاشت به یک اندازه آبیاری شدند و حجم آب مصرفی با قرار دادن بشر مدرج در زیر یکی از سوراخ‌های تیپ اندازه‌گیری شد. بعد از گذشت ۲٤ ساعت از آبیاری از عمق توسعه ریشه (۰-۳۰ سانتی‌متری) نمونه‌برداری گردید. نمونه‌های برداشت شده توزین و به آون با دمای ۱۰۰ درجه سانتی‌گراد منتقل گردید. پس از مشخص شدن درصد رطوبت خاک در حد ظرفیت زراعی مزرعه، تنش کم‌آبی در سه سطح ۱۰۰، ۷۵ و ۵۰ درصد ظرفیت زراعی تعیین گردید. به‌منظور کنترل رطوبت خاک هر روز از عمق توسعه ریشه از سطح خاک تا عمق ۳۰ سانتی‌متر نمونه‌برداری گردید. پس از گذاشتن نمونه‌ها در آون و در دمای ۱۰۰ درجه سانتی‌گراد، میزان رطوبت موجود در خاک مشخص شده و در صورت نیاز به آبیاری اقدامات لازم صورت گرفت. میزان آب، تعیین شده در حد ظرفیت زراعی برای هر سطح تنش کم‌آبی در هر بار آبیاری با قرار دادن بشر مدرج زیر یکی از سوراخ‌های تیپ در هر سطح آبیاری اندازه‌گیری شد.

معادله (۱) درصد رطوبت در ظرفیت زراعی = (وزن خاک تر – وزن خاک خشک)/وزن خاک خشک ×۱۰۰

همچنین بوته‌ها دو نوبت در فاز زایشی با فاصله‌ی ۱۰ روز با غلظت‌های تعیین شده محلول‌پاشی شدند. ۱۰ روز بعد از آخرین محلول‌پاشی از هر واحد آزمایشی با حذف اثر حاشیه‌ی از ٤ بوته و از برگ‌های قسمت میانی بوته‌ها، به‌صورت تصادفی و در ساعات اولیه روز نمونه‌برداری و برای اندازه‌گیری صفات مورد نظر به آزمایشگاه دانشکده کشاورزی دانشگاه زنجان منتقل شد. فعالیت آنزیم‌های پراکسیداز و کاتالاز طبق روش دیندسا و همکاران (۱۹۸۱)، میزان فلاونوئید کل به روش چانگ و همکاران، (۲۰۰۲)، میزان فنل کل به روش مدا و همکاران (۲۰۰۵)، اندازه‌گیری شد. فعالیت آنتی‌اکسیدانی به روش براند ویلیامز و همکاران (۱۹۹۵) و آسکوربیک اسید (ویتامین ث) به روش AOAC (۲۰۰۰) اندازه‌گیری شد.

آنالیز داده‌های حاصل با استفاده از نرم افزار SAS V9 و مقایسه میانگین داده‌ها از طریق آزمون چند دامنه‌ی دانکن در سطح احتمال ۵ درصد مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفتند.

نتایج و بحث

آنزیم‌های کاتالاز ، پراکسیداز وفعالیت آنتی‌اکسیدانی برگ

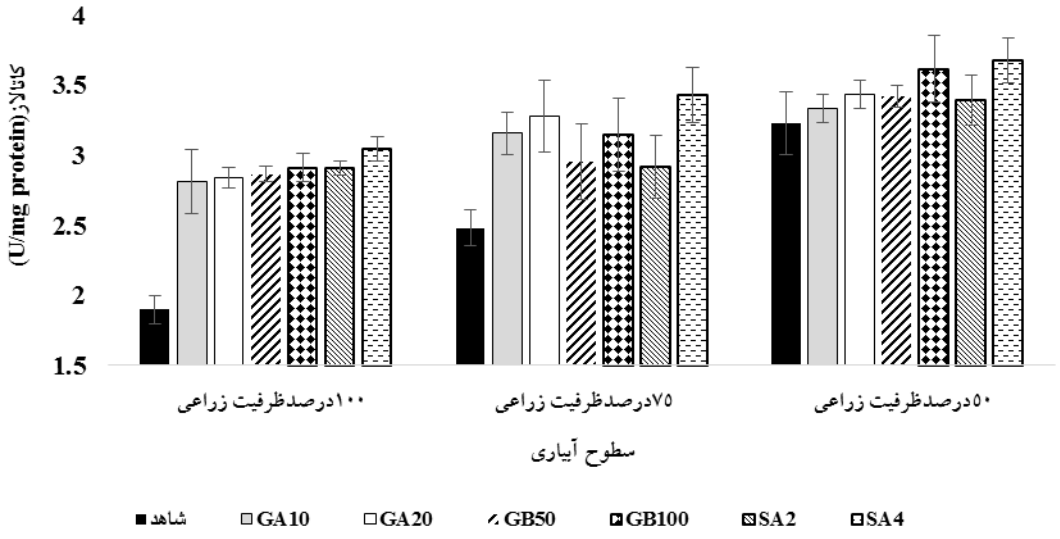
بر اساس نتایج تجزیه واریانس داده‌ها، با افزایش شدت تنش کم‌آبی میزان فعالیت آنزیم‌های کاتالاز، پراکسیداز و فعالیت آنتی‌اکسیدانی برگ نسبت به تیمار شاهد افزایش معنی‌داری نشان داد. اثرات ساده اسید سالیسیلیک، گلایسین بتائین و گابا بر صفات مذکور معنی‌دار بود (جدول ۲).

جدول ۲- تجزیه واریانس اثر اسید سالیسیلیک، گلایسین بتائین، گاما آمینوبوتیریک اسید، تنش کم‌آبی و اثر متقابل آن‌ها بر فعالیت آنتی‌اکسیدانی کارلا

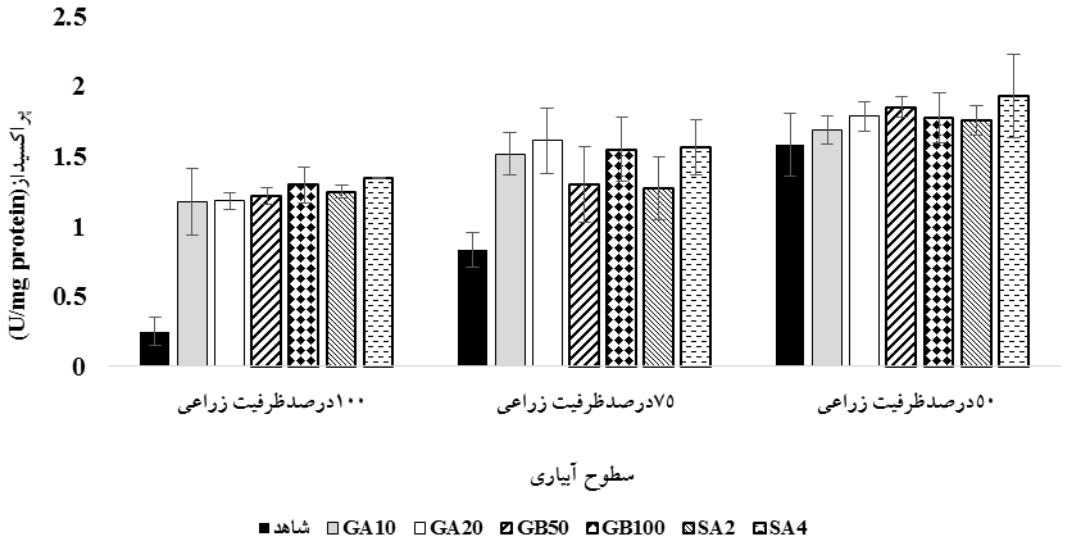
	میانگین مربعات						
منابع تغییرات	درجه آزادی	پراکسیداز	کاتالاز	ظرفیت آنتی اکسیدانی برگ	فنل	فلاونوئید	ظرفیت آنتی‌اکسیدانی میوه	ویتامین ث
تکرار	۲	۰/۰۰۷٤	۰/۰۰۵۲	۱/۸۷	۰/۱۱	۰/۰٤	۱/٤۹	۵/۷۵
آبیاری	۲	۲/۳٤**	۲/۵۱**	۱۷۲/۳۷**	۳۱/۳۱**	۲۲/۷۸**	٤۱۲/۹۲**	۲٦۲۸/۹۳**
خطای کرت اصلی	٤	۰/۰۸	۰/۱۲	۰/۹۳	۰/۷٦	۰/۱٦	۳/۹۰	۵/٤۱
تیمار	٦	۰/۵۲**	۰/٦۳**	۱۱۹۲/۷۵**	٦۳/۳٦**	۱۲/۸۳**	۸۳۲/۲۰**	۲۸۹/۵٦**
آبیاری × تیمار	۱۲	۰/۰۸**	۰/۰۹**	٦۵/۵٦**	۱٤/۰۵**	۰/٤۷*	۳۷/۵۰**	۲٦/۷٤**
خطای کرت فرعی	۳٦	۰/۰۳	۰/۰۲	۱/۸۵	۰/۳۰	۰/۱۹	۱/۵۳	۵/۷۰
ضریب تغییرات		۱۰/۸۸	٤/٦٤	٦/۷۲	۲/۵۲	٦/٦۳	۷/٤۰	۵/۷۰

ns، * و **: به ترتیب غیرمعنی‌دار، معنی‌دار در سطح ۵ و ۱ درصد

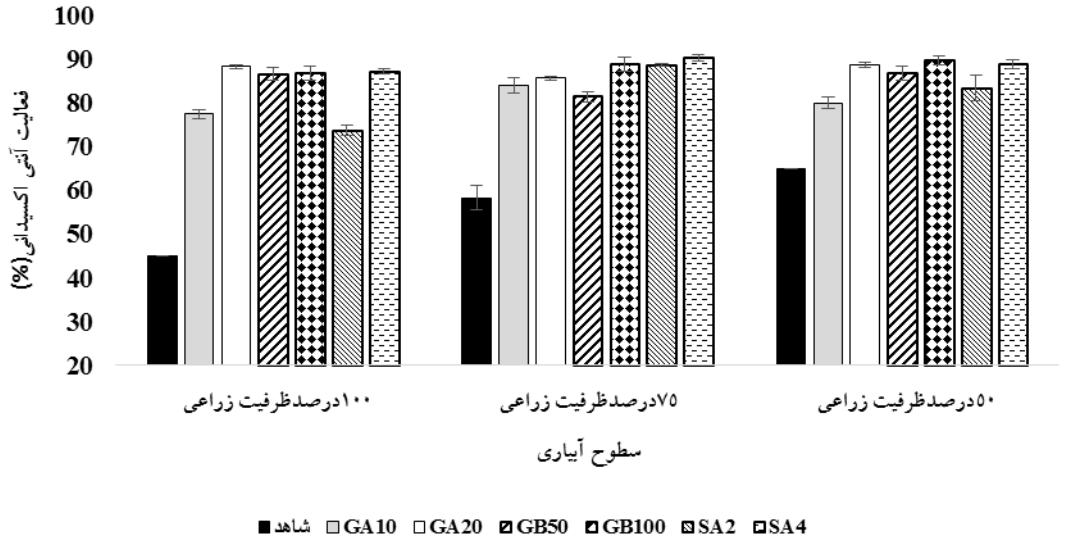
بر هم‌کنش تیمارها و رژیم آبیاری بر میزان فعالیت آنزیم‌ها و فعالیت آنتی‌اکسیدانی برگ در سطح ۱ درصد معنی‌دار شد (جدول ۲). کاربرد برگی ٤ میلی‌مولار اسید سالیسیلیک به ترتیب در تنش کم‌آبی ۵۰ درصد ظرفیت زراعی بیشترین فعالیت آنزیم‌های کاتالاز و پراکسیداز و در تنش ۷۵ درصد ظرفیت زراعی حداکثر فعالیت آنتی‌اکسیدانی برگ را موجب شد (شکل۱، ۲، ۳).



شکل ۱-اثر متقابل تنش کم‌آبی و اسید سالیسیلیک (SA)، گلایسین بتائین (GB)، گابا (GA) بر میزان آنزیم کاتالاز برگ



شکل ۲-اثر متقابل تنش کم‌آبی و اسید سالیسیلیک (SA)، گلایسین بتائین (GB)، گابا (GA) بر میزان آنزیم پراکسیداز برگ



شکل ۳-اثر متقابل تنش کم‌آبی و اسید سالیسیلیک (SA)، گلایسین بتائین (GB)، گابا (GA) بر میزان فعالیت آنتی‌اکسیدانی برگ

افزایش مشاهده شده در فعالیت آنزیم‌های کاتالاز، پراکسیداز و فعالیت آنتی‌اکسیدانی برگ با افزایش شدت تنش کم‌آبی حاکی از آن است که تنش خشکی با القاء تنش اکسیداتیو در گیاهان موجب افزایش ترکیبات گونه‌های فعال اکسیژن می-گردد که در این شرایط آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانت گیاهان از قبیل (کاتالاز و پراکسیداز) فعال می‌شوند که این ترکیبات آنتی-اکسیدانی، گونه‌های اکسیژن فعال (ROS) را تجزیه می‌کنند در نتیجه ظرفیت آنتی‌اکسیدانی گیاهان افزایش می‌یابد که با تحمل تنش در گیاهان رابطه مستقیم دارند (حیات و احمد، ۲۰۰۷؛ میتلر ۲۰۰۲).

آنزیم‌های کاتالاز و پراکسیداز به‌عنوان اصلی‌ترین آنزیم‌های مهار کنند ه پراکسید هیدروژن (H_2O_2) شناخته شده‌اند که میزان خسارت ناشی از گونه‌های فعال اکسیژن (ROS) با افزایش سطوح فعالیت آنزیم پراکسیداز درگیاه می‌تواند تقلیل یابد (زند و همکاران، ۱۳۸۸).

افزایش معنی‌دار مشاهده شده در فعالیت آنزیم‌های کاتالاز و پراکسیداز در بر هم‌کنش اسید سالیسیلیک با تنش کم‌آبی نسبت به تیمار شاهد بیانگر این است که اسید سالیسیلیک از طریق تجمع موقتی اسید آبسزیک، فعالیت آنزیم‌های آنتی-اکسیدان را کنترل می‌کند (حیات و احمد، ۲۰۰۷). مطابق با نتایج

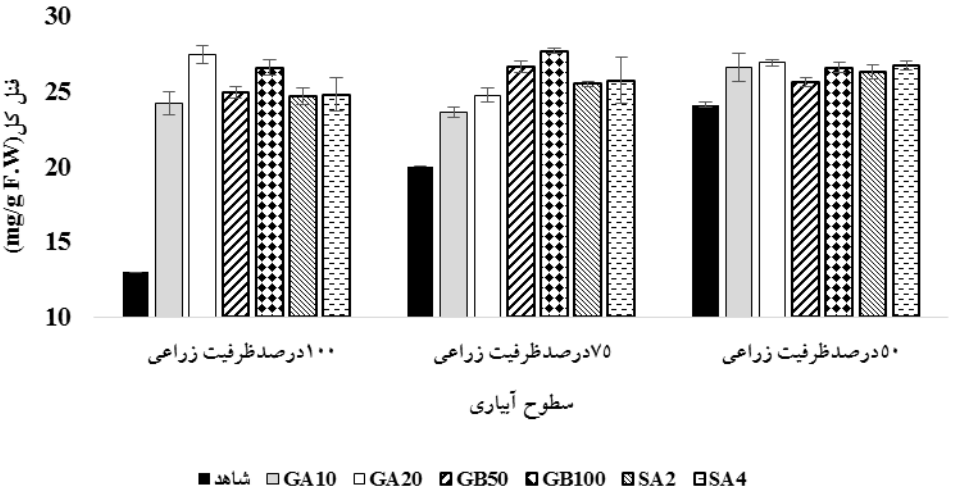
این بررسی افزایش فعالیت آنزیم کاتالاز در اثر کاربرد اسید سالیسیلیک در گیاه سیاهدانه (احمدپور دهکردی و بلوچی، ۱۳۹۱) و افزایش فعالیت آنزیم پراکسیداز در تحقیق سناراتا و همکاران (۲۰۰۰) با تاکید بر نقش سامانه آنتی‌اکسیدان در فرایند خنثی‌سازی اثرات تنش اکسیداتیو ناشی از خشکی، سرما و گرما در گیاه لوبیا و گوجه‌فرنگی گزارش شده است.

افزایش مشاهده شده در میزان آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان تحت تیمار گلایسین بتائین را این‌گونه می‌توان توضیح داد که گلایسین به‌عنوان یک تنظیم‌کننده اسمزی در سیتوپلاسم عمل کرده و موجب ثبات آنزیم‌ها و پروتئین‌ها تحت شرایط تنش شده و پتانسیل تورژسانس را حفظ می‌کند (وین جونس و ستوری، ۱۹۸۱). افزایش تحمل گیاه تنباکو به تنش شوری به دلیل افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان تحت تیمار با گلایسین بتائین گزارش شده است (هوگو و همکاران، (۲۰۰۷b).

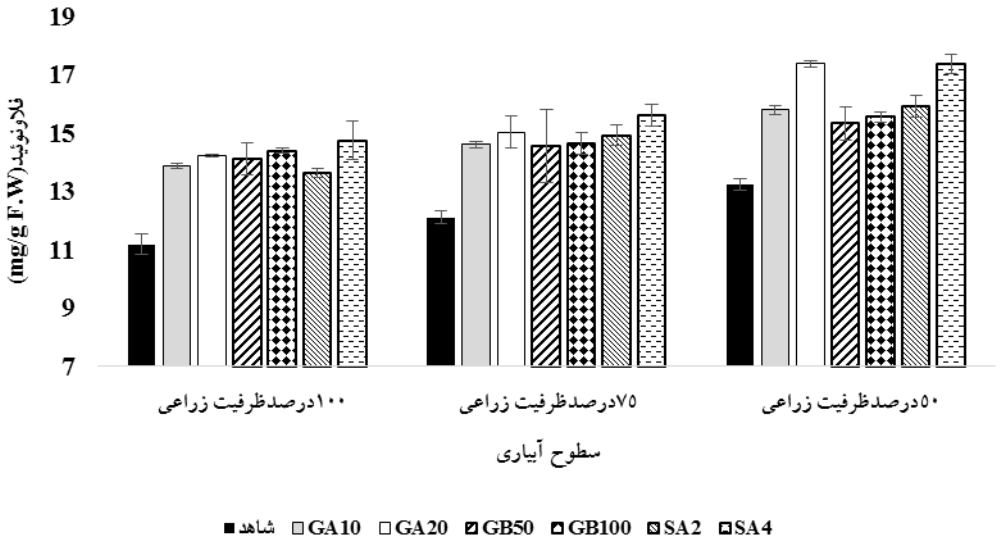
تیمار گابا فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی مانند کاتالاز، سوپراکسید دیسموتاز را تحت تاثیر قرار می‌دهد که ثبات غشاء سلولی را در برابر اثرات مضر گونه‌های فعال اکسیژن مثل رادیکال‌های سوپر اکسید، هیدروژن پراکسید و رادیکال‌های هیدروکسیل حفاظت می‌کند (میتلر، ۲۰۰۲). افزایش فعالیت آنزیم‌های کاتالاز در هلوی تیمار شده با گابا تحت تنش سرما گزارش شده است (یانگ و همکاران، ۲۰۱۱) که با نتایج بررسی حاضر هم‌سویی داشت. کاربرد خارجی گابا در کم کردن آسیب کمبود اکسیژن با تسریع در بیوسنتز پلی‌آمین‌ها و ممانعت از تجزیه شدن پلی‌آمین‌ها در گیاه خربزه همراه بود (وانگ و همکاران، ۲۰۱٤) که پلی‌آمین‌ها با ممانعت از پراکسیداسیون لیپیدها و افزایش جاروب کردن رادیکال‌های آزاد اکسیژن موجب افزایش فعالیت آنزیم کاتالاز می‌شود (روبینوسکا و همکاران، ۲۰۱۲) که در بررسی حاضر نیز تیمار گابا فعالیت آنزیم کاتالاز را نسبت به شاهد افزایش داد.

فنل کل، فلاونوئید و ظرفیت آنتی‌اکسیدانی میوه

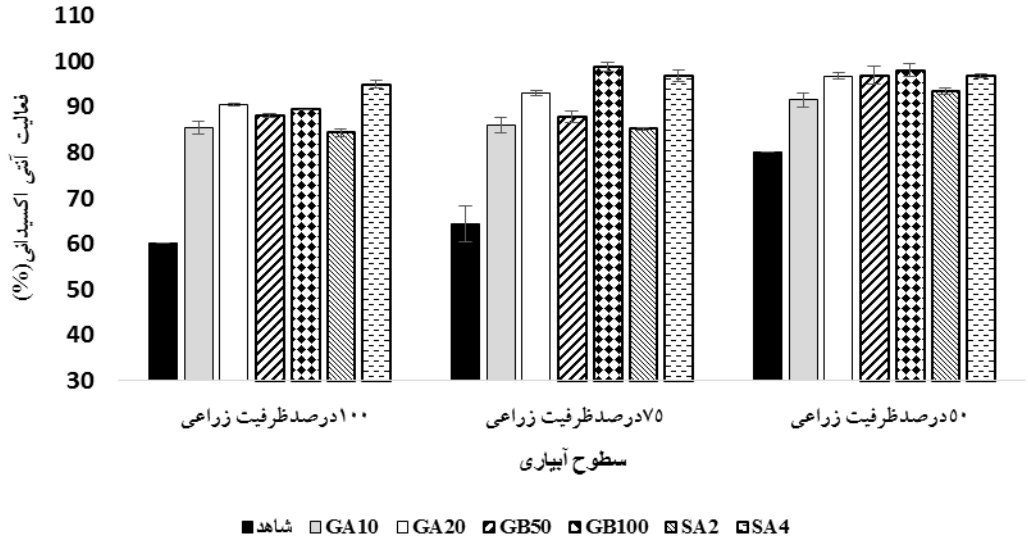
طبق نتایج تجزیه واریانس داده‌ها افزایش شدت تنش کم-آبی سبب افزایش معنی‌داری در مقدار فنل و فلاونوئید کل و همچنین میزان فعالیت آنتی‌اکسیدانی میوه‌ها شد. اثر ساده تیمارهای گلایسین بتائین، گابا، اسید سالیسیلیک و نیز اثر متقابل آنها با رژیم آبیاری بر فنل کل، فلاونوئید و نیز فعالیت آنتی-اکسیدانی میوه نسبت به شاهد افزایش معنی‌داری نشان داد (جدول ۲). بیشترین مقدار فنل کل (۲۷/٦٥ میلی‌گرم بر گرم) و ظرفیت آنتی‌اکسیدانی (۹۸٪/۸۸) در تنش کم‌آبی ۷۵ درصد ظرغیت زراعی با ۱۰۰ میلی‌مولار گلایسین بتائین، و بیشترین مقدار فلاونوئید کل در بافت میوه (۱۷/۳۸ میلی‌گرم بر گرم) با کاربرد برگی ۲۰ میلی‌مولار گابا در تنش کم‌آبی ۵۰ درصد ظرفیت زراعی به دست آمد (شکل٤، ٥، ٦).



شکل ٤- **اثر متقابل تنش کم‌آبی و اسید سالیسیلیک (SA)، گلایسین بتائین (GB)، گابا (GA) بر میزان فنل میوه**



شکل ۵- **اثر متقابل تنش کم‌آبی و اسید سالیسیلیک (SA)، گلایسین بتائین (GB)، گابا (GA) بر میزان فلاونوئید میوه**



شکل ٦- **اثر متقابل تنش کم‌آبی و اسید سالیسیلیک (SA)، گلایسین بتائین (GB)، گابا (GA) بر میزان فعالیت آنتی‌اکسیدانی میوه**

ترکیبات فنلی از جمله آنتی‌اکسیدان‌های غیرآنزیمی محلول در آب هستند (زاهور و فاهم، ۲۰۰۹). بررسی‌ها نیز نشان می‌دهد که بین فعالیت آنتی‌اکسیدانی و ترکیبات فنلی کل ارتباط مثبتی وجود دارد (وانگ و لین، ۲۰۰۰). در یک بررسی مشاهده شده است که ترکیبات فنلی با دادن الکترون به آنزیم‌های نوع پراکسیداز و سم‌زدایی آب اکسیژنه تولید شده می‌توانند در سلول به‌عنوان آنتی‌اکسیدان عمل کنند (ساکی‌هاما و همکاران، ۲۰۰۲).

ترکیبات فنولیکی در شرایط طبیعی در سلول سنتز می‌گردند، اما تنش‌های محیطی یا زیستی مقدار آن‌ها را در سلول تغییر می‌دهند (وو و نق، ۲۰۰۸). افزایش ترکیبات فنلی تحت تنش‌های غیرزیستی در فلفل نیز گزارش شده است (کوک و همکاران، ۲۰۱۰). افزایش در مقدار ترکیبات فنلی احتمالا ناشی از فعالیت مسیر هگزوز مونو فسفات و مسیر استات و آزاد شدن فنل‌ها توسط آنزیم‌های هیدرولیز کننده می‌باشد (شهاب و همکاران، ۲۰۱۰). در بررسی اثر تنش خشکی ناشی از پلی‌اتیلن گلایکول در گیاه گندم مشخص شد که علت بالا رفتن سطوح ترکیبات فنلی، افزایش فعالیت و میزان آنزیم بیوسنتزی فنل‌ها (فنیل آلانین آمونیالیاز) است (ون وهمکاران، ۲۰۰۵). افزایش معنی‌دار مشاهده شده در مقدار ترکیبات فنلی در بر هم‌کنش تیمار گلایسین بتائین و تنش کم‌آبی که در نتیجه آن میزان فعالیت

آنتی‌اکسیدانی نیز افزایش یافت ممکن است به دلیل نقش تنظیم کنندگی یا مولکول سیگنال دهندگی آنها در بسیاری از فرایندهای فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی، همچنین فرایندهای انطباق گیاه در شرایط تنش باشد (اشرف وفولاد، ۲۰۰۷). کاربرد خارجی حلال-های سازگار مانند گلایسین بتائین سطح ترکیات فنلی را در گیاه ذرت تحت تنش خشکی افزایش داد (علی و اشرف، ۲۰۱۱).

اسید سالیسیلیک القا کننده تجمع ترکیبات فنولیک کل به-واسطه افزایش فعالیت آنزیم فنیل آلانین آمونیالیاز است. بنابر این اسید سالیسیلیک نقش مهمی در فرایند انتقال پیام‌رسان دارد که بیوسنتز ترکیبات فنلی کل و بیان ژن‌های دفاعی در گیاه را القاء می‌کند. کاربرد اسید سالیسیلیک در گیاه برنج موجب القای بیان ژن پروتئین‌های مربوط به متابولیسم فنیل پروپانوئیدی و القای سنتز ترکیبات فنلی شد (فانگ و همکاران، ۲۰۰۹).

افزایش مشاهده شده در مقدار فلاونوئید میوه کارلا را می-توان به دلیل فعالیت آنتی‌اکسیدانی آن‌ها دانست که در تنش خشکی که یک تنش اکسیداتیو است وارد عمل شده و میزان آن زیاد می‌شود (سیوم و همکاران، ۲۰۰۶). محلول‌پاشی گابا تحت تنش کم‌آبی سبب افزایش مقدار فنل کل، فلاونوئید و همچنین فعالیت آنتی‌اکسدانی میوه‌ها شد که با نتایج تحقیق سلیمانی اقدم و همکاران (۲۰۱۵) که کاربرد گابا سبب افزایش قابل توجه مقدار فنل کل و فلاونوئیدها در میوه هلو شده بود مطابقت دارد. آن‌ها این افزایش را این‌گونه توجیه کردند که گابا موجب تحریک فعالیت آنزیم فیل آلانین آمونیالیاز (PAL) و راه‌اندازی مسیر فنیل پروپانوئید می‌شود که در نتیجه آن سنتز ترکیبات فنلی افزایش و به تبع آن فعالیت آنتی‌اکسیدانی نیز افزایش می‌یابد.

ویتامین ث

بر اساس نتایج تجزیه واریانس مقدار ویتامین ث با افزایش شدت تنش کم‌آبی کاهش معنی‌داری در سطح احتمال ۱ درصد نشان داد. به‌طوری‌که مقدار ویتامین ث از (۵۸/۲۲ میلی‌گرم بر گرم) در سطح آبیاری ۱۰۰ درصد ظرفیت زراعی به (۳۵/۸۷ میلی‌گرم بر گرم) در سطح آبیاری ۵۰ درصد ظرفیت زراعی رسید. محلول‌پاشی اسید سالیسیلیک، گلایسین بتائین و گابا موجب افزایش مقدار ویتامین ث شد که در سطح احتمال ۱ درصد معنی‌دار بود (جدول ۲). مقایسه میانگین اثر متقابل آبیاری و سطوح مختلف تیمارها نشان داد که بیشترین مقدار ویتامین ث متعلق به محلول‌پاشی با ٤ میلی‌مولار اسید سالیسیلیک، در سطح آبیاری ۱۰۰ درصد ظرفیت زراعی می‌باشد (شکل ۷). آسکوربیک اسید یا ویتامین ث از ترکیباتی است که به وفور در گیاهان یافت می‌شود. ویتامین ث دارای چندین نقش فیزیولوژیکی در گیاهان است، به‌عنوان مثال در فرایندهای رشد، تمایز و متابولیسم شرکت دارد. آسکوربیک اسید قادر است در جاروب کردن رادیکال‌ها شرکت کند (قربانلی، ۱۳۸۷).

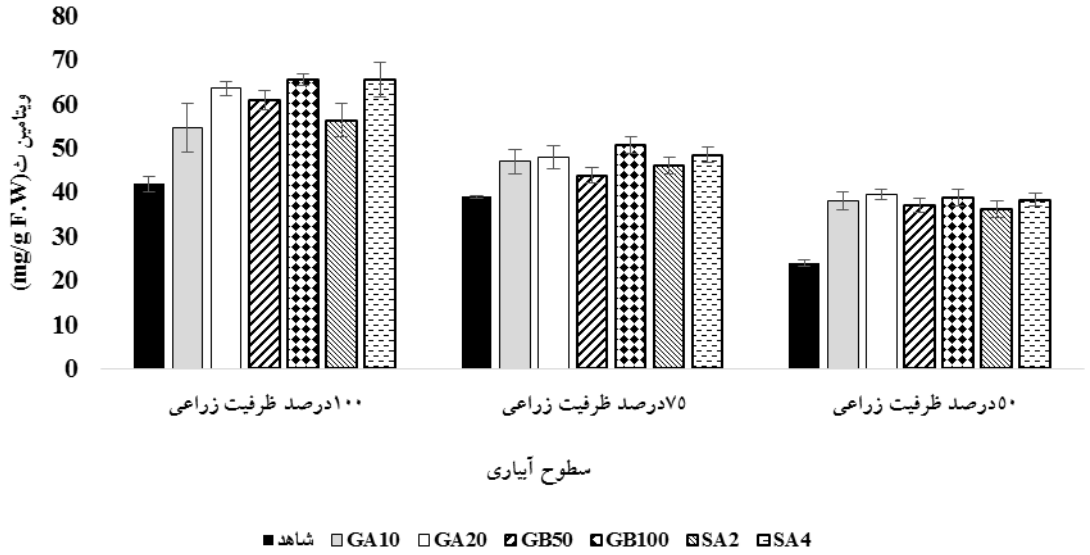
در این بررسی با افزایش شدت تنش مقدار ویتامین ث به شدت کاهش یافت که این کاهش را این‌گونه می‌توان توضیح داد که ویتامین ث از اسیدهای آلی می‌باشد که به دلیل دمای زیاد ایجاد شده ناشی از تنش کم‌آبی، تنفس افزایش یافته و بنابر این اسیدها به‌عنوان پیش ماده در پدیده تنفسی شرکت می‌کنند، این امر باعث کاهش اسید و در نتیجه کاهش ویتامین ث در تنش کم‌آبی می‌شود (مانگر و روبینسون، ۱۹۹۱).

با افزایش شدت تنش مقدار ویتامین ث به شدت کاهش یافت ولی با تیمار اسید سالیسیلیک افزایش چشم‌گیری در میزان ویتامین ث مشاهده شد که می‌تواند به دلیل تاثیر غیر مستقیم اسید سالیسیلیک از طریق افزایش کربوهیدرات‌هایی مانند گلوکز و ساکارز باشد. این قندها فاکتورهای کلیدی مسیر آنزیمی هستند که در طی آن گلوکز به آسکوربات تبدیل می‌شود (لینستر و کلارک، ۲۰۰۸؛ جهانگیری و همکاران، ۲۰۰۹). نتایج مشابه در گیاه توتون تحت تنش شوری مشاهده شده است (هوگو و همکاران۲۰۰۸، هوگو و همکاران(۲۰۰۷a)). گزارشی مبنی بر افزایش میزان ویتامین ث در گوجه‌فرنگی با تیمار اسید سالیسیلیک وجود دارد (کالارانی و همکاران، ۲۰۰۲). اسید سالیسیلیک آسکوربات پراکسیداز را فعال می‌کند که سبب افزایش توانایی آنتی‌اکسیدانی و مقدار اسید آسکوربیک در میوه‌ها می‌شود (وانگ و همکاران، ۲۰۰٦). اسید سالیسیلیک توانایی آنتی اکسیدانی و قدرت ضد تنش گیاهان را افزایش داده و از تخریب اسید آسکوربیک جلوگیری می‌کند (ویسنوسکا و همکاران، ۱۹۹۹).

در این بررسی با کاربرد برگی گابا مقدار ویتامین ث نسبت به شاهد افزایش پیدا کرد. افزایش اسید آسکوربیک در میوه‌های هلو نیز تحت تیمار با گابا مشاهده شد که ممکن است به دلیل فعال شدن سیستم‌های آنتی‌اکسیدانی یا مهار فعالیت آنزیم آمینو اگزاکتیک اسید (AAO) باشد (سلیمانی اقدم و همکاران، ۲۰۱۵).

افزایش مشاهده شده در مقدار ویتامین ث با کاربرد گلایسین بتائین را این‌گونه می‌توان توجیه کرد که گلایسین بتائین فعالیت مونو دهیدرو آسکوربات ردوکتاز (MDHAR) و دهیدرو آسکوربات ردوکتاز (DHAR) را افزایش می‌دهد که به‌دنبال آن مقدار آسکوربات نیز افزایش می‌یابد (هوگو و

همکاران، ۲۰۰۸). کاربرد خارجی بتائین باعث افزایش فعالیت دو آنزیم آسکوربات پراکسیداز (APX) و گلوتاتیون ردوکتاز (GR)که در چرخه‌ی آسکوربات- گلوتاتیون (ASC- GSH) نقش دارند در گیاه برنج تحت تنش شوری گزارش شده است (دمیرال وترکان، ۲۰۰٤).



شکل ۷- **اثر متقابل تنش کم‌آبی و اسید سالیسیلیک (SA)، گلایسین بتائین (GB)، گابا (GA) بر میزان ویتامین ث میوه**

نتیجه‌گیری

نتایج این تحقیق نشان داد که کاربرد برگی ٤ میلی‌مولار اسید سالیسیلیک میزان ویتامین ث، فعالیت آنتی‌اکسیدانی برگ، آنزیم‌های کاتالاز و پراکسیداز و محلول‌پاشی ۱۰۰ میلی‌مولار گلایسین بتائین مقدار فنل کل و فعالیت آنتی‌اکسیدانی میوه را به‌طور معنی‌داری افزایش داد. با توجه به اهمیت فراوان آنزیم‌های کاتالاز و پراکسیداز و نیز ترکیبات فنلی در از بین بردن گونه‌های فعال اکسیژن به نظر می‌رسد کاربرد برگی ٤ میلی‌مولار اسید سالیسیلیک و ۱۰۰ میلی‌مولار گلایسین بتائین تحت سطوح مختلف تنش کم‌آبی با فعال کردن سیستم آنتی‌اکسیدانی آنزیمی و غیرآنزیمی در افزایش تحمل گیاه کارلا به تنش کم‌آبی موثر باشد.

منابع

قربانلی، م. ۱۳۸۷. جذب و انتقال در گیاهان. انتشارات دانشگاه پیام نور. صفحه ۳۰.

احمدپور دهکردی، س. بلوچی، ح. ۱۳۹۱. اثر پرایمینگ بذر بر آنزیم های آنتی اکسیدانی و پراکسیداسیون لیپیدهای غشای سلول گیاهچه سیاهدانه (*Nigella sativa* L.) تحت تنش شوری و خشکی. مجله تولید گیاهان زراعی. شماره٤: ٦۳-۸۵.

زند، ب. ع.سروش زاده، ف. قناتی و ف. مرادی، ف. ۱۳۸۸. اثر محلول‌پاشی روی (Zn) و اکسین (IBA) بر فعالیت برخی آنزیم‌های آنتی-اکسیدانت در ذرت دانهالی.مجله زیست شناسی گیاهی ایران شماره ۱: ٤۸-۳۵.

A.O. A. C. 2000. Association of official analytical chemists. Washington D. C. 12: 377-378.

Ali, Q. and M. Ashraf. 2011. Exogenously applied glycine betaine enhances seed and seed oil quality of maize (*Zea mays* L.) under water deficit conditions. J. Environ. Exp. Bot. 71: 249- 259.

Anliakumar, K. R., G. P. Kumar and N. Ilaiyaraja. 2015. Nutritional, pharmacological and medicinal properties of Momordica charantia. J.Nutrition Food Sci. 4: 75-83.

Ashraf, M. and M. R. Foolad. 2007. Role of glycine betaine and proline in improving plant abiotic stress resistance. J. Environ. Exp. Bot. 59: 206-216.

Sakihama, Y., M. Coheno, S. Grace and H. Yamasaki. 2002. Plan phenolic antioxidant and prooxidant activities phenolic-induced oxidative damage mediated by metals in. J. Plant. Toxi. 177: 67-80.

Senaratna, T., D. Touchell, E. Bunn and K. Dixon. 2000. Acetyl salicylic acid (Aspirin) and salicylic acid induce multiple stress tolerance in bean and tomato plants. J Plant Growth Regul. 30: 157-161.

Seyoum, A. K. Asres and F. K. El-Fiky. 2006. Structure radical scavenging activity relationships of flavonoid. J Phytochemistry. 67: 2058-2070.

Sharma, P., A. Jha, R. Dubey and M. Pessarakli. 2012. Reactive oxygen species, oxidative damage, and anti-oxidative defense mechanism in plants under stress full conditions. J Bot. 14: 1-26.

Shehab, G.G., O. K. Ahmad and H. S EL-Beltagi. 2010. Effects of various chemical agents for alleviation of drought stress in rice plants Notulea Botanicae Horti Agrobotanici Cluj-Napoca. 38: 130-148.

Shelp, B. J., A. W. Bown and M. D. Michael. 1999. Metabolism and functions of gamma-aminobutyric acid. J. Trends Plant Sci. 4: 446-452.

Soleymani Aghdam, M., F. Razavi and K. Fatemeh. 2015. Maintaining the postharvest nutritional quality of peach fruits by γ-Aminobutyric acid. I. J. Plant Physiol. 5:1457- 1463.

Tari, I., L. M. Simon, K. A. Deér, J. Csiszár, S. Z. Bajkán, G. Y. Kis and A. Szepesi. 2004. Influence of salicylic acid on salt stress acclimation of tomato plants: oxidative stress responses and osmotic adaptation. J. Acta Physiol. Plant. 26: 237-244.

Tusar, K., S. B. Behera and L.K. Bharathi. 2010. Bitter Gourd: Botany, Horticulture, Breeding. Edited by Jules Janick Horticultural Reviews. 37: 101-141.

Wang, C.Y., L. Q. Fan, H. B. GAO, X. L. wu, J. R. Li, G. Y Lv and B.B. Gong. 2014. Polyamine biosynthesis and degradation are modulated by exogenous gamma-aminobutyric acid in root-zone hypoxia-stressed melon roots. J. Plant Physiol. Biochem. 82: 17-26.

Wang, L., S. H, Chen. W. Kong, S. H. Li and D. Archbold. 2006. Salicylic acid pretreatment all eviates chilling injury and affects the antioxidant system and heat shock proteins of peaches during col d storage. J. Postha. Biol. 41: 244-251.

Wang, S.Y and H. S. Lin. 2000. Antioxidant activity in fruits and leaves of blackberry, raspberry, and straw berry varies with cultivar and developmental stage. J. Agri. Food. Chem. 48: 140–146.

Wen, P. F., J. Y. Chen, S. B. Wan, W.F. ong, P. Zhang, W. Wang, J. Zhan, Q. H. Pan and W. D. Hung. 2005. Salicylic acid activates phenylalanine ammonia-lyase in grape berry in response to high temperature stress. J. Plant. Growth. Regul. 55: 1-10.

Wisniewska, H and J. Chelcowski. 1999. Influence of exogenic salicylic acid on Fusarium seedling blight reduction in barley. J. Acta Physiolo Plant. 21: 63-66.

Wu, S. J and L. T. Ng. 2008. Antioxidant and free radical scavenging activities of wild bitter melon (*Momordica charantia* Linn. var. abbreviata Ser.). in Taiwan. J. Food Sci Technol. 41: 323-330.

Wyn Jones, R.G and R. Storey. 1981. Betaines. In: The physiology and Biochemistry of Drought Resistance in Plants. (Eds. L. G. Paleg. and D. Aspinall).Pp.171-204, Academic Press. Sydney, pp. 171-204.

Yang, A. P., S.F. Cao, Z. F. Yang, Y.T. Cai and Y. H. Zheng. 2011. C Aminobutyric acid treatment reduces chilling injury and activates the defense peach fruit. J. food Chim. 129: 1619-1622.

Yang, W. J., P. J. Rich, J. D. Axtell, K. V. Wood, C. C. Bonham, G. Ejeta, M. V. Mickelbart and D. Rhodes. 2003. Genotypic variation for glycine betaine in sorghum. J. Crop. Sci. 43: 162–169.

Zahoor, A. S and A. Faheem 2009. Amelioration of salinity tolerance in *Solanum tuberosum* L. by exogenous application of ascorbic acid. In Vitro Cellular and Developmental Biology-Plant. 45: 540-549.

The effect of salicylic acid, glycine betaine and gamma amino butyric acid foliar spray on Carla antioxidant activity under water deficit stress

A. Rezaie Alulu[1], A. Kheiry[2], M. Sani Khani[2], M. Arghavani[2]

Recieved: 2018-5-18 Accepted: 2019-6-22

Abstract

In order to evaluate the effect of salicylic acid, glycine betaine and gamma_ aminobutyric acid foliar spray on anti-oxidant activity of enzymes and non-enzymatic agents of Carla (*Momordica charantia* L.) under water deficit stress, an experiment was conducted as split plots based on randomized complete blocks design with three replications at Research Farm University of Zanjan during 2017. The treatments consisted of three levels of irrigation (50, 75 and 100% field capacity) as the main plots and two levels of salicylic acid (2 and 4 mM), glycine betaine (50 and 100 mM), and gamma aminobutyric acid (GABA) (10 and 20 mM) plus control were used as sub plots. Based on the results, increasing of water deficit stress, significantly increased the activity of catalase, peroxidase and antioxidant activity of leaf, as well as total phenol and flavonoid content and antioxidant activity of fruit, but the amount of vitamin C decreased. The interaction of irrigation regimes with experimental treatments caused a significant increase in measured traits. The highest level of leaf and fruit antioxidant activity was obtained using 4 mM salicylic acid and 100 mM glycine, respectively, in 75% field capacity. Considering that in this study, plants treated with salicylic acid, glycine betaine and GABA in different irrigation regimes had higher enzymatic and non-enzymatic antioxidant activity than control plants, therefore it seems that application of these materials can be effective in producing carla under water deficit stress resistance.

Keywords: Peroxidase, catalase, total phenol, vitamin C

1- Ms C. Student, Department of Horticulture, Faculty of Agriculture, University of Zanjan, Zanjan,Iran
2- Assistant Professor, Department of Horticulture, Faculty of Agriculture, University of Zanjan, Zanjan,Iran