

تأثیر آب مغناطیسی بر برخی از پارامترهای رشدی و بیوشیمیایی در گیاه کدو خورشیدی تحت سمیت علف‌کش تریفلورالین

نسرين اسمعیل نژاد^۱، جلیل خارا^۱ و مهرداد اخگری^۲

^۱گروه زیست شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه ارومیه، ارومیه، ایران؛ ^۲گروه شیمی تجزیه، دانشکده شیمی، دانشگاه ارومیه، ارومیه، ایران

مسئول مکاتبات: جلیل خارا، j.khara@urmia.ac.ir

چکیده. به منظور بررسی تأثیر تریفلورالین و نقش آب مغناطیسی بر فعالیت آنزیمی و میزان پرولین و تنظیم کننده‌های رشد جیبرلین (GA_3) و سیتوکینین (۶- بنزیل آمینوپورین) در گیاه کدو خورشیدی (*Cucurbita pepo* L.) واریته شیراز هیبرید اف ۱ آزمایشی به صورت فاکتوریل در قالب طرح کرت‌های کاملاً تصادفی با ۴ سطح غلظت علف‌کش تریفلورالین (۰، ۵، ۱۵ و ۲۵ پی‌پی‌ام) و دو نوع آب آبیاری (آب مغناطیسی و آب مقطر) در ۳ تکرار در دانشگاه ارومیه در سال ۱۳۹۵ انجام گرفت. گیاهان تیمار با محلول غذایی هوگلند تغییر یافته در اتاقک رشد با دمای شبانه روزی ۳۰:۱۸ درجه سانتی‌گراد، رطوبت نسبی ۷۰ تا ۸۰ درصد و دوره نوری ۱۶:۸ ساعت (روز:شب) طی طول دوره رشد ۵ هفته‌ای قرار گرفتند. تأثیر آب مغناطیسی و تریفلورالین بر آنزیم اورنیتین‌آمینوترانسفراز (OAT)، پرولین‌دهیدروژناز (PDH) و پرولین ریشه و بخش هوایی و جیبرلین و سیتوکینین در سطح احتمال ۰/۰۱ معنی‌دار بود. با مصرف آب مغناطیسی، آنزیم OAT و پرولین ریشه و بخش هوایی و سیتوکینین و جیبرلین به طور معنی‌دار افزایش یافت؛ در حالی که آنزیم PDH ریشه و بخش هوایی با استفاده از آب مغناطیسی کاهش معنی‌داری نشان داد. با افزایش غلظت تریفلورالین، محتوای پرولین و آنزیم OAT افزایش و میزان جیبرلین و سیتوکینین و همچنین فعالیت آنزیم PDH کاهش یافت. به طور کلی می‌توان گفت شرایط بیوشیمیایی و رشدی گیاهان کدو تحت سمیت علف‌کش تریفلورالین با استفاده از آب مغناطیسی بهبود یافت.

واژه‌های کلیدی. اورنیتین آمینوترانسفراز، پرولین، پرولین‌دهیدروژناز، جیبرلین، سیتوکینین

The effect of magnetized water on the growth and some biochemical parameters of squash (*Cucurbita pepo*) plants under toxicity of herbicide trifluralin

Nasrin Esmailnejad¹, Jalil Khara¹ & Mehrdad Akhgari²

¹Department of Biology, Faculty of Sciences, Urmia University, Urmia, Iran; ²Department of Analytical Chemistry, Faculty of Chemistry, Urmia University, Urmia, Iran
Correspondent author: Jalil Khara, j.khara@urmia.ac.ir

Abstract. To investigate the effect of herbicide Trifluralin and the role of magnetized water on enzymatic activities and content of proline and growth substances including gibberellin (GA_3) and cytokinin (6- benzyl amino purine), an experiment was conducted using squash (*Cucurbita pepo* L. var. Shiraz Hybrid F1) seedlings. Four levels of trifluralin (0, 5, 15 and 25 ppm) and irrigation by distilled and magnetized water were applied in a completely randomized design in 3 replicates at Urmia University in 2016. Different levels of trifluralin were added to pots 2 days after planting. Seedlings were treated by modified Hoagland solution with diurnal temperature 30:18 °C, relative humidity of 70-80 percent and light period of 16:8 hr, during a 5-week growing period in growth chamber. The effect of magnetized water and trifluralin on ornithine amino-transferase (OAT), proline dehydrogenase (PDH) and content of proline in both shoots and roots as well as GA_3 and cytokinin was significant ($p>0.01$) according to ANOVA. The content of proline and OAT in roots and shoots as well as GA_3 and cytokinin increased significantly, although the PDH of roots and shoots decreased under the influence of magnetized water. The content of proline and OAT increased and GA_3 , cytokinin and the activity of PDH declined by the increase of the levels of trifluralin. Overall, it can be concluded that the growth and biochemical indices of squash plants were improved by magnetized water under toxicity of herbicide trifluralin.

Keywords. cytokinin, gibberellin, ornithine aminotransferase, proline, proline dehydrogenase

مقدمه

کنترل شیمیایی علف‌های هرز در کشاورزی مدرن مرسوم است. تریفلورالین از خانواده دی‌نیتروآنیلین‌ها، با اتصال به پروتئین توبولین میکروتوبول‌ها، باعث توقف تشکیل دیواره سلولی، اختلال در مرحله متافاز و مهار تقسیم میتوز سلولی می‌شود (Horst, 2004; Hoseini *et al.*, 2011; Raoofi *et al.*, 2016). استفاده از علف‌کش تریفلورالین اثرات سوئی نیز بر روی گیاه زراعی دارد (Moradbeigi & Khara, 2011). آنتی‌اکسیدان‌های غیرآنزیمی مانند پرولین و آسکوربیک اسید، سلول را در مقابل تنش اکسیداتیو حفظ می‌کنند (Gao *et al.*, 2017). علف‌کش‌های دی‌نیتروآنیلین که سبب افزایش محتوای هیدرکسی پرولین در دیواره سلولی و برخی اسیدهای آمینه از جمله گلوتامیک اسید در ریشه و برگ‌های گیاه بادام زمینی می‌شوند، می‌توانند پیش ماده تولید اسیدهای آمینه دیگر از جمله پرولین باشند (Durgesha, 1993). محتوای پرولین در گیاهان حساس توتون یک روز پس از تیمار علف‌کش کلروسولفورون افزایش می‌یابد. اکسیداسیون پرولین در گیاه با دو آنزیم پرولین اکسیداز و پرولین دهیدروژناز کاتالیز می‌شود (Toteva *et al.*, 2004).

میدان مغناطیسی زمین در سیستم‌های زنده، بسیاری از فرایندهای بیولوژیکی را تحت تأثیر قرار می‌دهد (Maffei, 2014). میدان مغناطیسی سبب تغییر در ساختار اتمی، مولکولی و الکترونی آب و در نتیجه تغییر خصوصیات فیزیکی آن می‌شود (Da Silva & Dobranszki, 2014). خوشه‌های پیوسته آب در اثر میدان مغناطیسی به ذرات کوچک‌تر تبدیل شده و قابلیت دسترسی آب و عناصر غذایی داخل آن افزایش می‌یابد (Hajnorouzi *et al.*, 2011). تیمار آب با میدان مغناطیسی سبب تأثیر بر رشد گیاه در سطح سلولی می‌شود (Basant & Grewal, 2009). افزایش تراکم مولکول‌های آب در این فرایند، توانایی آب برای انحلال کاتیون‌ها و آنیون‌ها را افزایش می‌دهد (Da Silva & Dobranszki, 2014). تحریک گیاهان با استفاده از میدان مغناطیسی به عنوان راهی جهت افزایش کمیت و کیفیت عملکرد مورد توجه قرار گرفته است (Hashemabadi *et al.*, 2015). آبیاری با آب مغناطیسی قادر به بهبود رشد گیاه (Sadeghipour & Aghaei, 2013) و جذب عناصر غذایی (El Sayed & El Sayed, 2014; Gao *et al.*, 2017) است. با استفاده از آب مغناطیسی، عملکرد دانه و محصول غلات (Alderfasi *et al.*, 2016)، وزن خشک آفتابگردان (Vashisth & Nagarajan, 2010)، بخش هوایی ذرت (Anand *et al.*, 2012)، وزن دانه سنبله و عملکرد گندم

(Iqbal *et al.*, 2012)، جذب عناصر غذایی، آسیمیلیسیون و تحرک عناصر غذایی (Maheshwari & Grewal, 2009) افزایش یافته است. گیاهان مختلف واکنش‌های متفاوتی در قبال آب مغناطیسی خواهند داشت (Hozayn & Abdul Qados, 2010). در مصر، آبیاری با آب مغناطیسی عملکرد گندم را از ۱۲/۷ تا ۳۴ درصد (بسته به تاریخ کاشت) و کنجد و ذرت را تا ۳۴ درصد افزایش داده است (Da Silva & Dobranszki, 2014; Deshpande, 2014). آب مغناطیسی با تأثیر بر افزایش تولید فیتوهورمون‌های اسید جیبرلیک (GA₃) و اکسین (IAA) سبب بهبود فعالیت سلولی و رشد گیاه می‌شود (Basant & Grewal, 2009; Turker *et al.*, 2007). آب مغناطیسی به طور قابل ملاحظه فعالیت آنزیم‌های سوپراکسیددیسموتاز و پراکسیداز و مقدار پرولین را افزایش می‌دهد (Gao *et al.*, 2017). اثر آب مغناطیسی به نوع گونه و ژنوتیپ نیز بستگی دارد (Da Silva & Dobranszki, 2014). آبیاری گیاه لوبیا با آب مغناطیسی صفات رشدی، محتوای پتاسیم، جیبرلیک اسید، کینتین، اسیدهای نوکلئیک، رنگدانه‌های فتوسنتزی، فعالیت فتوسنتزی و بازده انتقال مواد حاصل از فتوسنتز به طور معنی‌دار افزایش می‌دهد (Moussa, 2011). مغناطیسی کردن آب آبیاری سبب افزایش قابل ملاحظه نفوذپذیری آب می‌شود (Mostafazadeh-Fard *et al.*, 2011).

با توجه به این که علف‌کش تریفلورالین می‌تواند اثرات نامطلوبی را روی خود محصول هم به جای بگذارد، استفاده از ترکیبات و موجودات هم‌زیست و برقراری شرایطی که به نحوی میزان سمیت علف‌کش‌ها را در جهت رسیدن به محصول بهینه، کاهش دهند بسیار حائز اهمیت است. هدف از این تحقیق، شناسایی تأثیر این علف‌کش بر رشد و فعالیت برخی آنزیم‌های مسیر پرولین و فیتوهورمون‌ها در گیاه کدو خورشتی تلقیح شده با آب مغناطیسی است، تا به کمک آب مغناطیسی بتوان غلظت مؤثری از علف‌کش را یافت که علی‌رغم کنترل مناسب علف‌های هرز، تأثیر فیتوتوکسیک بر گیاه کدو خورشتی نداشته باشد. از آنجا که اثر آب مغناطیسی به نوع گونه و ژنوتیپ گیاهی بستگی دارد (Da Silva & Dobranszki, 2014) و چون تاکنون مطالعه‌ای جامع پیرامون اثرات حفاظتی آب مغناطیسی روی خصوصیات مورفولوژیکی، فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی گیاه کدو خورشتی به دنبال القای سمیت با تریفلورالین انجام نشده؛ لذا کاهش سمیت ناشی از علف‌کش با استفاده از آب مغناطیسی و کنترل علف‌های هرز یکی از اهداف تحقیق در جهت رسیدن به رشد بهتر گیاه است.

مواد و روش‌ها

روش Sanchez و همکاران (Sanchez *et al.*, 2001) با اندکی تغییرات استفاده شد. فعالیت آنزیم از طریق احیای NAD^+ توسط دستگاه اسپکتروفتومتر در طول موج ۳۴۰ نانومتر اندازه‌گیری شد که با کاهش جذب در طی یک دقیقه همراه بود. مقدار فیتوهورمون‌ها با روش Bhalla و همکاران (Bhalla *et al.*, 2010) و با استفاده از تکنیک HPLC اندازه‌گیری شد و در آن از ستون C18 استفاده شد.

نتایج و بحث

آنزیم اورنیتین آمینوترانسفراز (OAT)

تأثیر آب مغناطیسی و غلظت‌های مختلف علف‌کش تریفلورالین بر آنزیم OAT در سطح احتمال ۰/۰۱ معنی‌دار بود. استفاده از تریفلورالین و همچنین آب مغناطیسی سبب افزایش معنی‌دار فعالیت آنزیم OAT ریشه و بخش هوایی گیاه کدو خورشتی شد. فعالیت آنزیم OAT به تناسب افزایش غلظت تریفلورالین، به طور معنی‌دار (۲۹/۲ تا ۳۰/۶ واحد بر میلی‌گرم پروتئین) افزایش یافت (جدول ۲ و ۳). مقدار OAT ریشه در شاهد ۲۲/۷ بوده و در غلظت ۲۵ پی‌پی‌ام تریفلورالین، به حد ۵۳/۳ افزایش یافت. همچنین، این مقدار آنزیم در بخش هوایی شاهد ۲۷/۳ بود و در غلظت ۲۵ پی‌پی‌ام تریفلورالین، به ۵۲/۴ رسید. در پژوهشی (Madan *et al.*, 1995) بیان شده است که تنش سبب افزایش فعالیت آنزیم‌های درگیر در سنتز پرولین از قبیل OAT و پرولین ردوکتاز شده و در نتیجه پرولین در گیاه افزایش می‌یابد. در مقایسه با تأثیر تریفلورالین، تأثیر آب مغناطیسی بر غلظت OAT ریشه و بخش هوایی کمتر بود و آب مغناطیسی، این آنزیم را در ریشه و بخش هوایی تنها ۱/۵ واحد بر میلی‌گرم پروتئین افزایش داد.

آنزیم پرولین دهیدروژناز (PDH)

تأثیر آب مغناطیسی و غلظت‌های مختلف علف‌کش تریفلورالین بر آنزیم PDH در سطح احتمال ۰/۰۱ معنی‌دار بود. استفاده از تریفلورالین سبب کاهش معنی‌دار فعالیت آنزیم PDH ریشه و بخش هوایی شد. فعالیت این آنزیم به تناسب افزایش غلظت تریفلورالین، به طور معنی‌دار کاهش یافت (جدول ۲ و ۳). فعالیت PDH ریشه در شاهد ۳۲/۹ واحد بر میلی‌گرم پروتئین بود؛ در حالی که در غلظت ۲۵ پی‌پی‌ام تریفلورالین، به ۱۵/۷ رسیده و حدود دو برابر در مقایسه با شاهد کاهش یافت. از سوی دیگر، فعالیت آن در بخش هوایی شاهد ۳۲/۹ بود و در غلظت ۲۵ پی‌پی‌ام تریفلورالین، حد ۱۴/۷ را نشان داده و بیش از دو برابر در مقایسه با شاهد کاهش یافت. آنزیم PDH سبب تبدیل

این آزمایش به صورت فاکتوریل در قالب طرح کرت‌های کاملاً تصادفی با ۴ سطح غلظت علف‌کش تریفلورالین (۰، ۵، ۱۵ و ۲۵ پی‌پی‌ام) و دو نوع آب آبیاری (آب مغناطیسی و آب مقطر) در ۳ تکرار در دانشگاه ارومیه در سال ۱۳۹۵ انجام گرفت. ۲۴ گلدان با قطر ۱۲ سانتی‌متر و ارتفاع ۱۰ سانتی‌متر با محلول تجاری وایتکس ضدعفونی و با الکل استریل شدند. خاک گلدان‌ها عبارت از ماسه شسته و استریل شده دراتوکلاو بود. سپس غلظت‌های مختلف تریفلورالین دو روز قبل از کاشت به گلدان‌ها اضافه شد. بذره‌های کدو خورشتی (*Cucurbita pepo*) واریته شیراز هیبرید F1 از مجتمع کشت و صنعت پارس آباد تهیه و با استفاده از محلول هیپوکلریت سدیم ۱۰ درصد به مدت ۱۵ دقیقه ضدعفونی سطحی شد. بذره‌های کدو داخل یک پارچه تمیز و به مدت سه روز در شرایط رطوبت کافی واقع شدند تا این که ریشه چه بذرها به طول ۲ میلی‌متر ظاهر شدند. در داخل هر گلدان ۸ بذر در عمق ۲ سانتی‌متری سطح خاک کشت شد که بعداً به تعداد ۵ بذر تنک شدند. گلدان‌ها در اتاقک رشد با دمای شبانه روزی ۳۰:۱۸ و رطوبت نسبی ۷۰ تا ۸۰ درصد و دوره نوری ۱۶:۸ (روز:شب) با ترکیبی از نور لامپ فلورسنت، تنگستن و لامپ سدیمی طی طول دوره رشد ۵ هفته‌ای قرار گرفتند. از ابتدای کشت تا مدت دو هفته، ۱۲ گلدان با آب مقطر و ۱۲ گلدان با آب مغناطیسی آبیاری شدند. از هفته سوم، گیاهان سه بار در هفته محلول هوکلند تغییر یافته دریافت می‌کردند. محلول غذایی مصرفی طی سه هفته برای هر گلدان ۵۰ میلی‌لیتر بود. در ابتدای هفته ششم، گلدان‌ها غرقاب شده و سپس محتویات گلدان‌ها را در داخل تشت پر از آب ریخته و ریشه‌ها به آرامی شستشو داده شدند. برای آزمایش‌هایی که نیاز به نمونه‌های تر داشتند، اندام‌های گیاهی تا زمان شروع آزمایش در فریزر -۷۰ درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند. گیاهان به تفکیک اندام هوایی و ریشه برای تحلیل‌های رشدی و بیوشیمیایی آماده شدند. برای تولید آب مغناطیسی، آب توسط یک شیلنگ از میان میدان مغناطیسی عبور داده شد. میزان جیبرلین با استفاده از کروماتوگرافی با کارایی بالا انجام گرفت و استاندارد جیبرلین از شرکت سیگما تهیه شد. برای تعیین میزان پرولین از روش Bates و همکاران (Bates *et al.*, 1973) استفاده شد. تهیه عصاره گیاهی جهت اندازه‌گیری آنزیم پرولین دهیدروژناز (PDH) با استفاده از روش Lopez-Carrion و همکاران (Lopez-Carrion *et al.*, 2008) با اندکی تغییرات انجام گرفت. برای تهیه عصاره گیاهی و سنجش فعالیت آنزیم اورنیتین آمینوترانسفراز (OAT) از

جدول ۱- تجزیه واریانس صفات شیمیایی در تیمارهای مختلف آزمایشی.

Table 1. Analysis of variances of chemical traits at different treatments.

منبع تغییرات	df	میانگین مربعات					
		پرویلین		پرویلین دهیدروژناز		اورنیتین آمینوترانسفراز	
		برگ	ریشه	برگ	ریشه	برگ	ریشه
علف کش	۳	۰/۲۲۵**	۰/۰۲۶**	۴۱۸/۱۷۶**	۳۶۲/۷۵**	۸۲۵/۹۱۳**	۱۲۵۴/۴۹**
آب مغناطیسی	۱	۰/۱۶۳**	۰/۰۶۵**	۸/۶۴۰**	۹/۹۴۶**	۱۴/۰۷۶**	۱۱/۵۷۹**
اثرات متقابل	۳	۰/۰۱۱**	۰/۰۰۳**	۰/۰۱۰ ^{ns}	۰/۰۷۰ ^{ns}	۰/۳۵۲ ^{ns}	۰/۰۳۶ ^{ns}
خطا	۱۶	۰/۰۰۱	۰/۰۰۰۱	۰/۱۰۰	۰/۲۶۹	۰/۷۲۷	۱/۴۲۵

ns, * و ** به ترتیب غیر معنی دار، معنی دار در سطح احتمال ۵ درصد و ۱ درصد است.
ns: non-significant; * and **: significant at 0.05 and 0.01 level, respectively

جدول ۲- فعالیت های آنزیمی اورنیتین آمینوترانسفراز و پرویلین دهیدروژناز تحت تیمار آب مغناطیسی.

Table 2. OAT and PDH activity under magnetic water treatment.

آب مغناطیسی	آنزیم اورنیتین آمینوترانسفراز (U/mg protein)		آنزیم پرویلین دهیدروژناز (U/mg protein)	
	ریشه	بخش هوایی	ریشه	بخش هوایی
بدون آب مغناطیسی	۴۳/۵۹±۱۳/۱۷۰ ^b	۴۳/۹۴±۱۰/۸۴۳ ^b	۲۲/۱۶±۷/۱۳۹ ^a	۲۱/۴۰±۷/۵۵۰ ^a
با آب مغناطیسی	۴۴/۹۸±۱۳/۰۶۷ ^a	۴۵/۴۷±۱۰/۴۳۲ ^a	۲۰/۸۸±۶/۹۵۵ ^b	۲۰/۲۰±۷/۵۶۳ ^b

میانگین های دارای حروف مشترک در یک ستون از لحاظ آماری یکسان هستند.
The means with common alphabets are statistically the same.

جدول ۳- فعالیت های آنزیمی اورنیتین آمینوترانسفراز و پرویلین دهیدروژناز در سطوح مختلف غلظت تریفلورالین.

Table 3. OAT and PDH activity under different concentrations of trifluralin.

غلظت علف کش (p.p.m.)	آنزیم اورنیتین آمینوترانسفراز (U/mg protein)		آنزیم پرویلین دهیدروژناز (U/mg protein)	
	ریشه	بخش هوایی	ریشه	بخش هوایی
۰	۲۲/۷۰±۲/۰۱۹ ^c	۲۷/۲۸±۱/۷۹۶ ^d	۳۲/۹۲±۰/۹۳۳ ^a	۳۲/۹۳±۰/۷۰۰ ^a
۵	۴۹/۹۰±۰/۷۷۱ ^b	۴۸/۴۱±۰/۹۸۰ ^c	۱۹/۷۳±۰/۸۳۸ ^b	۱۹/۶۲±۰/۸۰۰ ^b
۱۵	۵۱/۱۷±۱/۰۵۳ ^a	۵۰/۶۹±۰/۷۶۷ ^b	۱۷/۷۵±۰/۹۵۹ ^c	۱۵/۹۷±۰/۷۱۹ ^c
۲۵	۵۳/۳۶±۰/۸۷۹ ^a	۵۲/۴۴±۰/۷۵۷ ^a	۱۵/۶۸±۰/۶۳۰ ^d	۱۴/۷۰±۰/۶۳۶ ^d

میانگین های دارای حروف مشترک در یک ستون از لحاظ آماری یکسان هستند.
The means with common alphabets are statistically the same.

پرویلین به پرویلین-۵- کربوکسیلات (P5C) می شود (Monteoliva et al., 2014). زمان مواجهه گیاه با تنش، بیان ژن کدکننده آنزیم پرویلین-۵- کربوکسیلات سنتتاز افزایش یافته و مانع بیان ژن PDH و کاهش آن در بافت گیاه می شود (Safaie Ghahnouye et al., 2014). به نظر می رسد تریفلورالین مانند تنش برای گیاه عمل کرده، در نتیجه فعالیت پرویلین دهیدروژناز کاهش یافته و در این شرایط پرویلین در گیاه تجمع می یابد. طبق نتایج، فعالیت PDH ریشه و بخش هوایی با استفاده از آب مغناطیسی به طور معنی دار در مقایسه با شاهد کاهش یافت. در مقایسه با تأثیر تریفلورالین، تأثیر آب مغناطیسی بر غلظت این آنزیم کمتر بود و آب مغناطیسی سبب کاهش تنها ۱/۲ واحد بر میلی گرم پروتئین شد.

تأثیر آب مغناطیسی و علف کش تریفلورالین بر پرویلین ریشه و بخش هوایی و اثرات متقابل بین دو عامل در سطح احتمال ۰/۰۱ معنی دار بود (جدول ۱). مقدار پرویلین ریشه و بخش هوایی با استفاده از آب مغناطیسی افزایش یافت که این نتایج با یافته ها در مورد لوبیا (El-Sayed, 2015)، پنبه (Sadehipour, 2015; Gao et al., 2017) مطابقت داشت. افزایش غلظت پرویلین همراه با افزایش پروتئین در اثر آب مغناطیسی ممکن است سبب افزایش عملکرد گیاه شود (El-Sayed, 2015). پرویلین در شرایط تنش در بافت گیاه انباشته شده و پس از رفع تنش، نقش مهمی در بهبود گیاه دارد (Singh et al., 2000). آب مغناطیسی با افزایش پرویلین و فعالیت آنزیم های آنتی اکسیدانت نقش مهمی در تعدیل تنش دارد (Sadehipour, 2015).

پرویلین به پرویلین-۵- کربوکسیلات (P5C) می شود (Monteoliva et al., 2014). زمان مواجهه گیاه با تنش، بیان ژن کدکننده آنزیم پرویلین-۵- کربوکسیلات سنتتاز افزایش یافته و مانع بیان ژن PDH و کاهش آن در بافت گیاه می شود (Safaie Ghahnouye et al., 2014). به نظر می رسد تریفلورالین مانند تنش برای گیاه عمل کرده، در نتیجه فعالیت پرویلین دهیدروژناز کاهش یافته و در این شرایط پرویلین در گیاه تجمع می یابد. طبق نتایج، فعالیت PDH ریشه و بخش هوایی با استفاده از آب مغناطیسی به طور معنی دار در مقایسه با شاهد کاهش یافت. در مقایسه با تأثیر تریفلورالین، تأثیر آب مغناطیسی بر غلظت این آنزیم کمتر بود و آب مغناطیسی سبب کاهش تنها ۱/۲ واحد بر میلی گرم پروتئین شد.

پرویلین

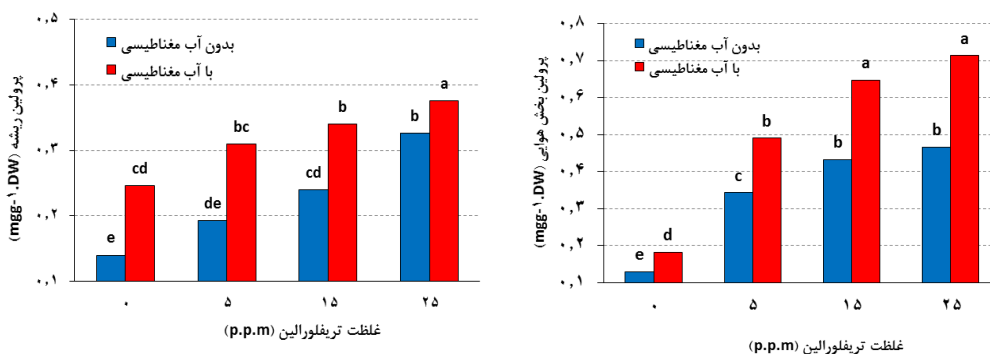
همبستگی فعالیت آنزیم‌های PDH و OAT با پرولین ریشه و بخش هوایی

همبستگی بین فعالیت OAT بخش هوایی و ریشه گیاه با مقدار پرولین اندام هوایی مثبت و معنی‌دار بود به طوری که با افزایش این آنزیم، مقدار پرولین نیز افزایش یافت. از سوی دیگر، همبستگی بین فعالیت آنزیم OAT ریشه و بخش هوایی گیاه با فعالیت PDH اندام ریشه معکوس و معنی‌دار بود؛ به طوری که با افزایش OAT، فعالیت PDH کاسته شد.

سیتوکینین و جیبرلین

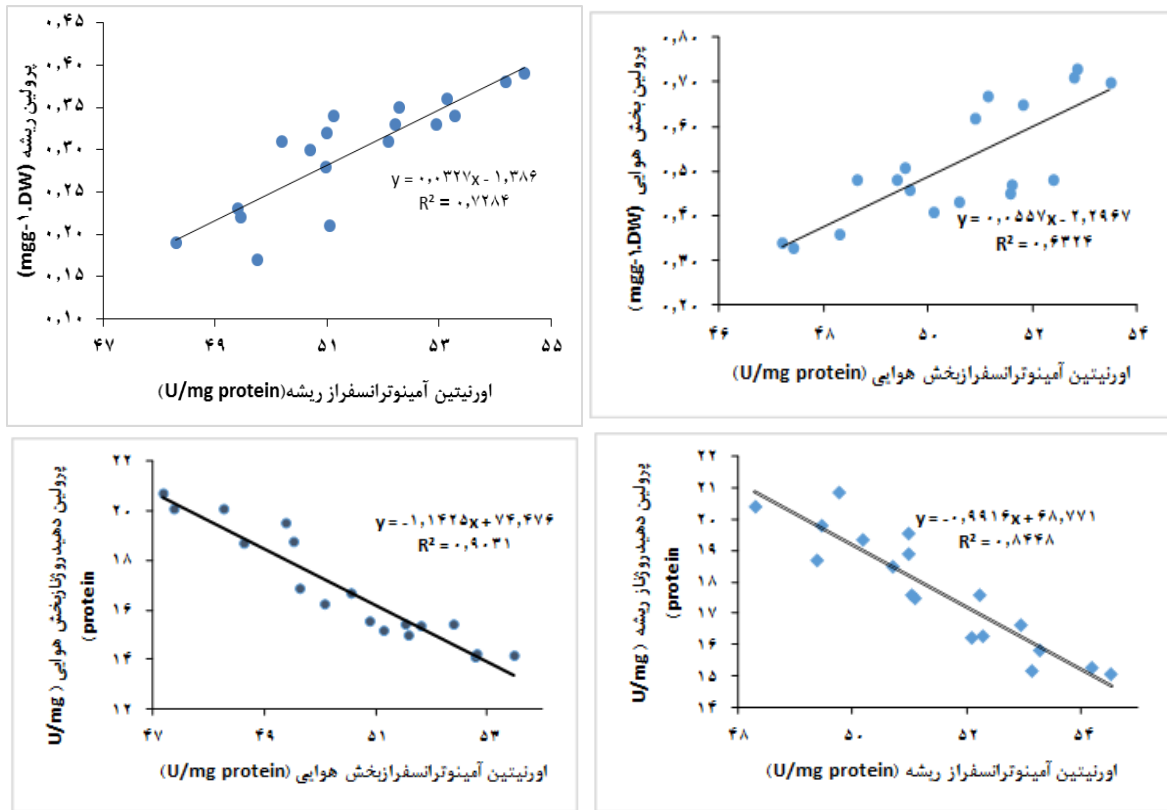
تأثیر آب مغناطیسی و غلظت‌های مختلف علف‌کش تریفلورالین بر جیبرلین و سیتوکینین در سطح احتمال ۰/۰۱ معنی‌دار بود. اثرات متقابل بین آن‌ها از لحاظ فیتوهورمون‌های جیبرلین و سیتوکینین معنی‌دار بود (جدول ۱). تریفلورالین با ایجاد تنش در گیاه سبب کاهش معنی‌دار مقدار سیتوکینین و جیبرلیک اسید شد. کاهش مقدار سیتوکینین درون‌زاد در واکنش به تنش‌ها مشاهده شده است (Shashidhar *et al.*, 1996). اثرات متقابل بین گونه‌های فعال اکسیژن، اکسین و سیتوکینین به گیاه اجازه می‌دهد تا توسعه و رشد خود را در شرایط غیرمساعد بیرونی تعدیل کند (Bielach *et al.*, 2017). انواعی از تنش‌های غیرزنده فعالیت هورمون سیتوکینین را تحت تأثیر قرار می‌دهند (Argueso *et al.*, 2009). در شیره آوند چوبی، تنش خشکی سبب کاهش ترانس زئاتین، زئاتین ریوزاید، ایزوپنتیل آدنین و ایزوپنتیل آدنوزین می‌شود (Alvarez *et al.*, 2008). همچنین علاوه بر آن، انتقال ترانس-زئاتین ریوزاید به طور قابل ملاحظه کاهش می‌یابد (Davies *et al.*, 2005). نقش همزمان سنتز سیتوکینین و آنزیم‌های تجزیه‌کننده در پاسخ به تنش، احتمالاً به الگوهای بیان فضایی و موقتی آن‌ها بستگی دارد. مطالعات ژنتیکی در مورد این که سطوح سیتوکینین درون‌زاد در آرابیدوپسیس نشان داده است که سیتوکینین

پرولین ریشه و بخش هوایی به تناسب افزایش غلظت علف‌کش افزایش یافت. داده‌های این تحقیق با نتایج پژوهشی دیگر (Durgesha, 1993) مطابقت داشت که در آن تیمار فلوکلورالین از علف‌کش‌های خانواده دی نیتروآنیلین سبب افزایش محتوای هیدروکسی پرولین در دیواره سلولی گیاه بادام زمینی شده و افزایش بارزی در محتوای اسیدهای آمینه آسپارتیک اسید، آسپارژین، گلوتامیک اسید و گلوتامین در ریشه و برگ‌های گیاه بادام‌زمینی مشاهده شده است. گلوتامیک اسید، اولین اسیدآمینه‌ای است که در فرایند آمیناسیون تشکیل می‌شود و می‌تواند پیش ماده تولید اسیدهای آمینه دیگر از جمله پرولین باشد. افزایش مقدار اسید آمینه‌ها ممکن است به دلیل کاهش سنتز پروتئین‌ها و تحریک بیوسنتز اسیدهای آمینه و پروتئولیز باشد (Zali *et al.*, 2016). همچنین، این نتایج با یافته‌های قبلی (Moradbeigi & Khara, 2011) مطابقت داشت که در آن با افزایش غلظت علف‌کش تریفلورالین، محتوای پرولین و اسیدهای آمینه آزاد در ریشه و اندام هوایی افزایش یافته است. به طور کلی، تجمع پرولین در شرایط تنش ممکن است به دلیل تحریک سنتز آن، جلوگیری از تجزیه آن و یا تجزیه پروتئین‌ها باشد (Gomes *et al.*, 2010) و افزایش فعالیت آنزیم‌های درگیر در سنتز پرولین از قبیل OAT و پرولین ردوکتاز و جلوگیری از فعالیت آنزیم پرولین کاتابولاز می‌تواند سبب افزایش میزان پرولین شود (Madan *et al.*, 1995). ساخت پرولین و تجمع آن در گیاهان در نتیجه تنش‌های محیطی ممکن است از طریق تحریک سنتز پرولین از گلوتامات با حذف اثر کاهشی مهار پس‌خور و کاهش اکسیداسیون پرولین باشد که به کاهش ورود آن به ساختار پروتئین‌ها منجر می‌شود (Amutha *et al.*, 2007). علف‌کش‌ها نیز با ایجاد تنش در گیاه، سبب افزایش پرولین در گیاه می‌شوند به طوری که میزان پرولین در گیاه توتون یک روز پس از تیمار با کلروسولفورون افزایش یافت (Toteva *et al.*, 2004).



شکل ۱- محتوای پرولین ریشه و بخش هوایی تحت غلظت‌های مختلف تریفلورالین و تیمار آب مغناطیسی.

Fig. 1. Root and shoot proline content under different concentrations of trifluralin and magnetic water treatment.

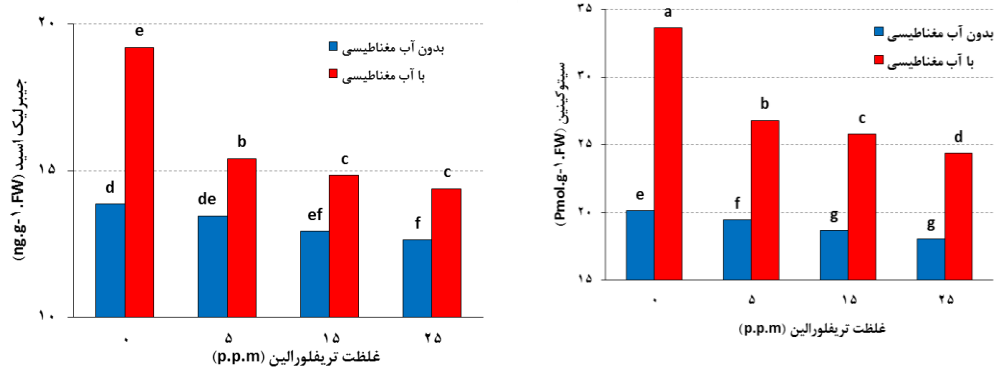


شکل ۲- هم‌بستگی فعالیت اورنیتین آمینوترانسفراز با پرولین بخش هوایی و ریشه و فعالیت پرولین دهیدروژناز.

Fig. 2. Correlation of the activity of ornithine aminotransferase with root and shoot proline and the activity of proline dehydrogenase.

کلاس تاو در اثر فعالیت بالای گلوکوتایون پراکسیداز، سبب تحمل گیاهان تراریخته به سرما، تنش اسمزی، شوری و علف‌کش می‌شود (Benekos *et al.*, 2010; Tiwari *et al.*, 2016). در تمامی غلظت‌های تریفلورالین، مقدار سیتوکینین و جیبرلیک اسید با استفاده از آب مغناطیسی به‌طور معنی‌دار افزایش یافت. این نتایج با یافته‌های Basant و Grewal (2009) در آفتابگردان مطابقت داشت. همچنین افزایش غلظت کلروفیل و

نقش منفی در پاسخ به تنش بازی می‌کند (Werner *et al.*, 2010, 2016, Lubovská *et al.*, 2014, 2016). کاهش مقدار سیتوکینین منجر به بهبود تحمل تنش شوری و خشکی می‌شود (Werner *et al.*, 2011, Nishiyama *et al.*, 2003). این مشاهدات نشان می‌دهند که القای بیان ژن GSTU5 در اثر تنش‌های غیرزنده با توجه به فعالیت پراکسیداز آن جای تعجب نیست. بر این اساس، بیان بیش از حد ژن



شکل ۳- محتوای فیتوهورمون‌های ریشه و ساقه در غلظت‌های مختلف تریفلورالین و تیمار آب مغناطیسی.

Fig. 3. Root and shoot phytohormones content at different concentrations of trifluralin and magnetic water treatment.

REFERENCES

- Alderfasi, A.A., Al-Suhaibani, N.A., Selim, M.M. and Al-Hammad, B.A.A.** 2016. Using magnetic technologies in management of water irrigation programs under arid and semi-arid ecosystem. – *Adv. Plant Agric. Res.* 3: 109-116.
- Alvarez, S., Marsh, E.L., Schroeder, S.G. and Schachtman, D.P.** 2008. Metabolomic and proteomic changes in the xylem sap of maize under drought. – *Plant Cell Environ.* 31: 325-340.
- Amutha, R., Muthulaksmi, S., Baby Rani, W., Indira, K. and Mareeswari, P.** 2007. Studies on biochemical basis of heat tolerance in sunflower (*Helianthus annuus* L.). – *Res. J. Agric. Biol. Sci.* 3: 234-238.
- Anand, A., Nagarajan, S., Verma, A.P.S., Joshi, D.K., Pathak, P.C. and Bhardwaj, J.** 2012. Pre-treatment of seeds with static magnetic field ameliorates soil water stress in seedling of maize (*Zea mays* L.). – *Ind. J. Biochem. Biophys.* 49: 63-70.
- Argueso, C.T., Ferreira, F.J. and Kieber, J.J.** 2009. Environmental perception avenues: The interaction of cytokinin and environmental response pathways. – *Plant Cell Environ.* 32: 1147-1160.
- Bhalla, K., Singh, S.B. and Agarwal, R.** 2010. Quantitative determination of gibberellins by high performance liquid chromatography from various gibberellins producing *Fusarium* strains. – *Environ. Monit. Assess.* 167: 515-520.
- Basant, L.M. and Grewal, H.S.** 2009. Magnetic treatment of irrigation water: Its effects on vegetable crop yield and water productivity. – *Agric. Water Manage.* 96: 1229-1236.
- Bates, L.S., Waldren, R.P. and Teare, I.D.** 1973. Rapid determination of free proline for water-stress studies. – *Plant Soil.* 39: 205-207.
- Benekos, K., Kissoudis, C., Nianiou-Obeidat, I., Labrou, N., Madesis, P., Kalamaki, M., Makris, A. and Tsaftaris, A.** 2010. Overexpression of a specific soybean GmGSTU4 isoenzyme improves diphenyl ether and chloroacetanilide herbicide tolerance of transgenic tobacco plants. – *J. Biotech.* 150: 195-201.
- Bielach, A., Hrtyan, M. and Tognetti, V.B.** 2017. Plants under stress: Involvement of auxin and cytokinin, Review. – *Int. J. Mol. Sci.* 18: E1427. doi: 10.3390/ijms18071427.
- Da Silva, J.A.T. and Dobranszki, J.** 2014. Impact of magnetic water on plant growth. – *Environ. Exp. Biol.* 12: 137-142.
- Davies, W.J., Kudoyarova, G. and Hartung, W.** 2005. Long-distance ABA signaling and its relation to other signaling pathways in the detection of soil drying and the mediation of the Plant's response to drought. – *J. Plant Growth Regul.* 24: 285-295.
- Deshpande, M.** 2014. Effect of magnetic water on growth of legumes. – *Euro. J. App. Eng. Sci. Res.* 3: 9-12.
- Durgasha, M.** 1993. Effect of fluchloralin on protein synthesis, free amino acids and hydroxyproline content in groundnut (*Arachis hypogaea* L.). – *Ann. App. Biol.* 123: 703-708.
- El Sayed, H. and El Sayed, A.** 2014. Impact of magnetic water irrigation for improve the growth, chemical composition and yield production of broad bean (*Vicia faba* L.) plant. – *Am. J. Exp. Agric.* 4: 476-496.
- جیبرلیک اسید در آفتابگردان (Turker *et al.*, 2007) و جیبرلیک اسید در لوبیا (El-Sayed, 2015) و افزایش سیتوکینین در گندم (Hozayn & Abdul Qados, 2010) با نتایج تحقیق حاضر مطابقت داشت. افزایش سیتوکینین ممکن است از تأثیر میدان مغناطیسی بر تغییر کلیدی فرایندهای سلولی از جمله رونویسی ژن باشد که نقش مهمی را در تغییر فرایندهای سلولی دارد (El-Sayed, 2015). در صورت کاهش میزان سیتوکینین و جیبرلیک اسید در اثر تنش ناشی از علف‌کش تریفلورالین، استفاده از آب مغناطیسی جهت بهبود میزان هورمون‌های گیاهی مذکور راهکار نویدبخشی است.

نتیجه گیری

در این تحقیق بازدارندگی فعالیت آنزیم PDH ضمن افزایش غلظت پرولین در پاسخ به تیمار تریفلورالین و آب مغناطیسی مشاهده شد؛ یعنی استفاده از تریفلورالین و همچنین آب مغناطیسی سبب افزایش فعالیت آنزیم‌های درگیر در سنتز پرولین از قبیل OAT و کاهش آنزیم‌های تجزیه کننده پرولین از جمله PDH و در نتیجه افزایش معنی‌دار پرولین ریشه و بخش هوایی گیاه کدو خورشیدی شد. در زمان مواجهه گیاه با تنش (مثلا تریفلورالین) و در تیمار آب مغناطیسی، بیان ژن کدکننده آنزیم پرولین-5- کربوکسیلاز سنتتاز افزایش یافته و مانع بیان ژن PDH و کاهش آن در بافت گیاه می‌شود. تریفلورالین سبب کاهش معنی‌دار میزان هورمون‌های گیاهی سیتوکینین و جیبرلیک اسید شد؛ ولی در تمامی غلظت‌های تریفلورالین، محتوای سیتوکینین و جیبرلیک اسید با استفاده از آب مغناطیسی به طور معنی‌دار در مقایسه با شاهد افزایش یافت. آب مغناطیسی با تأثیر بر تولید فیتوهورمون‌ها سبب بهبود فعالیت سلولی و رشد گیاه شد. بنابراین به نظر می‌رسد تأثیر منفی تنش علف‌کش بر هورمون‌های گیاهی سیتوکینین و جیبرلیک اسید را می‌توان تا حدودی با استفاده از آب مغناطیسی بهبود بخشید.

سپاسگزاری

بدینوسیله از دانشگاه ارومیه به سبب تأمین مالی این مطالعه قدردانی می‌شود.

- El-Sayed, H.E.S.A.** 2015. Impact of magnetic water irrigation to improve the growth, chemical composition and yield production of broad bean (*Vicia faba* L.) plant. – Nat. Sci. 13: 107-119.
- Gao, Y., Sun, Y., Zhang, R. and Chu, G.** 2017. Effects of magnetic water irrigation on the growth, N uptake and antioxidant enzyme activities of cotton seedlings. – J. Agric. Sci. Technol. 7: 25-33.
- Gomes, F.P., Oliva, M.A., Mielke, M.S., Almeida, A.A.F. and Aquino, L.A.** 2010. Osmotic adjustment, proline accumulation and membrane stability in leaves of *Cocos nucifera* submitted to drought stress. – Sci. Horti. 126: 379-384.
- Hajnorouzi, A., Vaezzadeh, M., Ghanati, F., Jamnezhad, H. and Nahidian, B.** 2011. Growth promotion and a decrease of oxidative stress in maize seedlings by a combination of geomagnetic and weak electromagnetic fields. – J. Plant Physiol. 168: 1123-1128.
- Hashemabadi, D., Zaredost, F. and Jadid Solimandarabi, M.** 2015. The effect of magnetic water and irrigation intervals on the amount of the nutrient elements in soil and aerial parts of periwinkle (*Catharanthus roseus* L.). – J. Ornament. Plant. 5: 139-149.
- Horst, V.** 2004. Further root colonization by arbuscular mycorrhizal fungi in already mycorrhizal plants in suppressed after a critical level of root colonization. – Plant Physiol. 161: 339-341.
- Hoseini, M., Ghorbani, R. and Bagheri, A.** 2011. Evaluate the performance of different herbicides to control weeds in garlic. – Iran Agric. Res. 9: 463-473.
- Hozayn, M. and Abdul Qados, A.M.S.A.** 2010. Magnetic water application for improving wheat (*Triticum aestivum* L.) crop production. – Agric. Biol. J. North Am. 1: 677-682.
- Iqbal, M., Haq, Z.U., Jamil, Y. and Ahmad, M.R.** 2012. Effect of presowing magnetic treatment on properties of pea. – Int. Agrophys. 26: 25-31.
- Lopez-Carrion, A.I., Castellano, R., Rosales, M.A., Ruiz, J.M. and Romero, L.** 2008. Role of nitric oxide under saline stress: implications on proline metabolism. – Biol. Plant. 52: 587-591.
- Lubovská, Z., Dobrá, J., Štorchová, H., Wilhelmová, N. and Vanková, R.** 2014. Cytokinin oxidase/dehydrogenase overexpression modifies antioxidant defense against heat, drought and their combination in *Nicotiana tabacum* plants. – J. Plant Physiol. 171: 1625-1633.
- Madan, S., Nainawatee, H.S., Jain, R.K. and Chowdhury, J.B.** 1995. Proline and proline metabolising enzymes in *in-vitro* selected NaCl-tolerant *Brassica juncea* L. under salt stress. – Ann. Bot. 76: 51-57.
- Maffei, E.M.** 2014. Magnetic field effects on plant growth, development, and evolution. – Front. Plant Sci. 5: 1-15.
- Maheshwari, B.L. and Grewal, H.S.** 2009. Magnetic treatment of irrigation water: its effects on vegetable crop yield and water productivity. – Agric. Water Manage. 96: 1229-1236.
- Monteoliva, M.I., Rizzi, Y.S., Cecchini, N.M., Hajirezaei, M.R. and Alvarez, M.E.** 2014. Context of action of proline dehydrogenase (ProDH) in the hypersensitive response of *Arabidopsis*. – BMC Plant Biol. 13: 14-21.
- Moradbeigi, H. and Khara, J.** 2011. An evaluation of some physiological and biochemical parameters resulting from interaction of herbicide trifluralin and mycorrhizal colonization by *Glomus versiforme* in sunflower plants (cv. Lakomka). – J. Plant Biol. 3: 59-70.
- Mostafazadeh-Fard, B., Khoshravesh, M., Mousavi, S.F. and Kiani, A.R.** 2011. Effects of magnetized water and irrigation water salinity on soil moisture distribution in trickle irrigation. – J. Irri. Drain. Eng. 137: 398-402.
- Moussa, H.R.** 2011. The impact of magnetic water application for improving common bean (*Phaseolus vulgaris*) production. – New York Sci. J. 4: 15-20.
- Nishiyama, R., Watanabe, Y., Fujita, Y., Le, D.T., Kojima, M., Werner, T., Vankova, R., Yamaguchi-Shinozaki, K., Shinozaki, K., Kakimoto, T., Sakakibara, H., Schmulling, T. and Tran, L.S.** 2011. Analysis of cytokinin mutants and regulation of cytokinin metabolic genes reveals important regulatory roles of cytokinins in drought, salt and abscisic acid responses and abscisic acid biosynthesis. – Plant Cell. 23: 2169-2183.
- Raofi, M., Mahzari, S., Baghestani, M.A. and Giti, S.** 2016. Effects of applying different herbicides dosages Oxyfluorfen and Trifluralin on morphological, economical and biological yield of garlic (*Allium sativum* L.). – Int. J. Adv. Biol. Biomed. Res. 4: 136-142.
- Sadeghipour, O.** 2015. Magnetized water alleviates drought damages by reducing oxidative stress and proline accumulation in mung bean (*Vigna radiata* L. Wilczek). – Bull. Environ. Pharmacol. Life Sci. 4: 62-69.
- Sadeghipour, O. and Aghaei, P.** 2013. Improving the growth of cowpea (*Vigna unguiculata* L. Walp.) by magnetized water. – J. Bio. & Env. Sci. 3: 37-43.
- Safaie Ghahnouye, Z., Shahbazi, E., Salavati, A. and Shafeinia, A.R.** 2014. An investigation on effect of salinity on expression of proline dehydrogenase gene in canola cv. 401 and double haploid line 3. – 1st Conf. New Find. Environ. Agric. Ecosys. Tehran Univ.
- Sanchez, E., Lopez-Lefebvre, L.R., García, P.C., Rivero, R.M., Ruiz, J.M. and Romero, L.** 2001. Proline metabolism in response to highest nitrogen dosages in green bean plants (*Phaseolus vulgaris* L. cv. Strike). – J. Plant Physiol. 158, 593-598.
- Shashidhar, V.R., Prasad, T.G. and Sudharshan, L.** 1996. Hormone signals from roots to shoots of sunflower (*Helianthus annuus* L.) moderate soil drying increases delivery of abscisic acid and depresses delivery of cytokinins in xylem sap. – Ann. Bot. 78: 151-155.
- Singh, D.K., Sale, P.W.G., Pallaghy, C.K. and Singh, V.** 2000. Role of proline and leaf expansion rate in the recovery of stressed white clover leaves with increased phosphorus concentration. – New Phytol. 146: 261-269.
- Tiwari, V., Patel, M.K., Chaturvedi, A.K., Mishra, A. and Jha, B.** 2016. Functional characterization of the

- Tau class glutathione S transferases gene (SbGSTU) promoter of *Salicornia brachiata* under salinity and osmotic stress. – PLoS ONE. 11: e0148494.
- Toteva, T., Slavov, V.S., Batchvarova, R., Batchvarova, A. and Stefanov, D.** 2004. Stress markers in chlorsulphouron tolerant transgenic tobacco plants. – Plant Physiol. 30: 103-111.
- Turker, M., Temirci, C., Battal, P. and Erez, M.E.** 2007. The effects of an artificial and static magnetic field on plant growth, chlorophyll and phytohormone levels in maize and sunflower plants. – Phytion 46: 271-284.
- Vashisth, A. and Nagarajan, S.** 2010. Effect on germination and early growth characteristics in sunflower (*Helianthus annuus*) seeds exposed to static magnetic field. – J. Plant Physiol. 167: 149-56.
- Vojta, P., Kokáš, F., Husíčková, A., Grúz, J., Bergounoux, V., Marchetti, C.F., Jiskrová, E., Ježilová, E., Mik, V., Ikeda, Y. and Galuszka, P.** 2016. Whole transcriptome analysis of transgenic barley with altered cytokinin homeostasis and increased tolerance to drought stress. – New Biotechnol. 33: 676-691.
- Werner, T., Nehnevajova, E., Kollmer, I., Novak, O., Strnad, M., Kramer, U. and Schmulling, T.** 2010. Root-specific reduction of cytokinin causes enhanced root growth, drought tolerance and leaf mineral enrichment in *Arabidopsis* and tobacco. – Plant Cell. 22: 3905-3920.
- Werner, T., Motyka, V., Laucou, V., Smets, R., Van Onckelen, H. and Schmülling, T.** 2003. Cytokinin-deficient transgenic *Arabidopsis* plants show multiple developmental alterations indicating opposite functions of cytokinins in the regulation of shoot and root meristem activity. – Plant Cell. 15: 2532-2550.
- Zali, H., Hassanlou, T., Sofalian, O., Asghari, A. and Zeinolabedini, M.** 2016. Drought stress effect on physiological parameter and amino acids accumulations in canola. – J. Crop Breed. 8: 191-203.

How to cite this article:

Esmailnejad, N., Khara, J. and Akhgari, M. 2020. The effect of magnetized water on the growth and some biochemical parameters of squash (*Cucurbita pepo*) plants under toxicity of herbicide trifluralin. – Nova Biol. Reperta 6: 478-486. (In Persian)

اسمعیل نژاد، ن.، خارا، ج. و اخگری، م. ۱۳۹۸. تأثیر آب مغناطیسی بر برخی از پارامترهای رشدی و بیوشیمیایی در گیاه کدو خورشیدی تحت سمیت علف کش تریفلورالین. – یافته‌های نوین در علوم زیستی ۶: ۴۸۶-۴۷۸.