اثر پیش تیمار شوری در مرحله گیاهچه‌ای در بهبود میزان تحمل به تنش شوری دو رقم تجاری فلفل در مرحله رشد رویشی

محمدرضا زارع بوانی[1*]، غلامعلی پیوست[2]، محمود قاسم‌نژاد[3]، اکبر فرقانی[4]

۱ – دانشجوی سابق دکتری گروه علوم باغبانی، دانشگاه گیلان، رشت و استادیار گروه علوم باغبانی، دانشگاه کشاورزی و منابع طبیعی رامین، اهواز۲ – استاد گروه علوم باغبانی، دانشگاه گیلان، رشت، ۳ – دانشیار گروه علوم باغبانی، دانشگاه گیلان، رشت، ۴ – استادیار گروه خاکشناسی، دانشگاه گیلان، رشت.

* نویسنده مسئول: mzarebavany@gmail.com

چکیده

بطورکلی، زمانی که گیاه در معرض سطوح کمتر از حد کشنده تنش قرار می‌گیرد توانایی بقا در تنش شدید بعدی را به عنوان تحمل اکتسابی ایجاد می‌کند. بنابراین، در این پژوهش گیاهچه‌های فلفل در مرحله ۲، ۴ و ۶ برگی با ۰ و ۳۰ میلی مولار کلرید سدیم برای ۱۵ روز پیش تیمار شدند و پس از آن به مدت ۶۰ روز در ۶۰ میلی مولار کلرید سدیم قرار گرفتند. گیاهان شاهد در محلول غذایی بدون نمک پرورش داده شدند. نتایج کاهش معنی‌داری در رشد (وزن خشک کل) در گیاهان پیش تیمار نشده نسبت به گیاهان پیش تیمار شده در مرحله ۶ برگی در تنش شوری نشان داد. همچنین گیاهان پیش تیمار شده فعالیت آنزیمی SOD، CAT، POD و APX بالاتری را نشان دادند. در مجموع، نتایج نشان داد پیش تیمار گیاهچه‌های فلفل با سطوح کم شوری می تواند میزان تحمل به شوری‌های بالاتر را از طریق تقویت سیستم آنتی اکسیدانی افزایش دهد.

کلمات کلیدی: آسکوربات پراکسیداز، پراکسیداز، سوپراکسید دیسموتاز، شوری.

مقدمه

تعدادی از مطالعات نشان می‌دهد که گیاهان توانایی فیزیولوژیکی برای وفق‌پذیری با شرایط محیطی متغیر را دارند. گزارش-های زیادی در رابطه با سازگار شدن گیاهان به سرما و خشکی وجود دارد، اما در مورد تنش شوری تحقیقات کمی صورت گرفته است (Umezawa et al., 2000). ارتباط بین ظرفیت آنتی اکسیدانی و تحمل به شوری در برخی گونه‌های گیاهی دیده شده و مورد بحث قرار گرفته است (Cicek and Cakirlar, 2008; Ashraf, 2009). برخی مطالعات نشان داده که فعالیت آنزیم‌های آنتی-اکسیدانی و میزان آنتی‌اکسیدان‌های غیرآنزیمی در رقم‌های متحمل به شوری نسبت به رقم‌های حساس به طور قابل ملاحظه‌ای در برنج، گندم، گوجه فرنگی، سیب زمینی، پنبه و ذرت افزایش می‌یابد (Ashraf, 2009). تعدادی از محققین پیشنهاد کردند که تحمل به شوری می‌تواند در نتیجه افزایش فعالیت سیستم دفاع آنزیمی آنتی اکسیدانی باشد (Hernandez et al., 2003; Stepien and Klobus, 2005).

مواد و روش‌ها

بذرهای دو هیبرید فلفل گلخانه ای (پارامو و ای‌اکس‌پی-۱۰) در ظروف حاوی پرلیت مستقیماً کشت و در اتاقک رشد تا ظهور برگ‌های حقیقی نگه داری شدند. سپس به ظروف پلاستیکی با ظرفیت ۱۵ لیتر و حاوی محلول غذایی هوادهی شده منتقل گردیدند و در شرایط دمایی ۲±۲۵ درجه سیلیسیوس و رطوبت نسبی ۹۰/۶۰ ٪ (تحت شرایط روشنایی و تاریکی)، با فوتوپریود ۱۶ ساعت روشنایی با ۸ ساعت تاریکی و شد نور ۱۵۰۰۰ لوکس پرورش داده شدند (Aktas et al., 2006). گیاهچه‌های فلفل به چهار گروه تقسیم شدند. گروه اول تیمار شاهد بودند. گروه دوم در مرحله ۲ برگی، گروه سوم در مرحله ۴ برگی و گروه چهارم در مرحله ۶ برگی به مدت ۱۵ روز پیش تیمار شدند و سپس بلافاصله تیمار اصلی بر آنها اجرا گردید. پیش تیمارشوری در دو سطح ۰ و ۳۰ میلی مولار کلرید سدیم و تیمار اصلی ۶۰ میلی مولار کلرید سدیم بود که به مدت ۶۰ روز اعمال گردید. این آزمایش به صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی انجام شد. در پایان آزمایش نمونه‌ها برداشت و جهت اندازگیری استفاده گردیدند. وزن خشک با استفاده از آون (دمای ۷۵ درجه سلسیوس برای ۴۸ ساعت)، سنجش فعالیت آنزیم سوپر اکسید دیسموتاز (SOD) بر

اساس روش کاهش فتوشیمیایی نیتروبلوتترازولیوم (NBT) تعیین شد (Beauchamp and Fridovich, 1971)، فعالیت آنزیم کاتالاز (CAT) و فعالیت آنزیم پراکسیداز (POD) توسط روش چنس و ماهلی (Chance and Maehly, 1995) و فعالیت آنزیم سآسکوربات پراکسیداز (APX) با استفاده از روش ناکانو و آسادا (Nakano and Asada, 1981) انجام گرفت. تحت آنالیز واریانس با استفاده از نرم افزار SAS و اختلاف میانگین‌ها با استفاده از آزمون کمترین اختلاف معنی دار (LSD) در سطح اطمینان ۹۵ درصد مقایسه شدند.

نتایج و بحث

کمترین میزان وزن خشک کل در تیمار شوری بدون پیش تیمار و بیشترین مقدار وزن خشک کل در تیمار شاهد بود که در تمام مراحل برگی تفاوتی نشان نداد و تیمار شوری با پیش تیمار شوری از نظر وزن تر و خشک شاخساره در مرحله ۶ برگی با تیمار شاهد تفاوتی نداشت (شکل ۱). نتایج این پژوهش نشان داد که پاسخ رشدی بسته به اینکه گیاهان در چه مرحله‌ای پیش تیمار شده باشند متفاوت است، به طوری که زیست توده تولیدی توسط گیاهان پیش تیمار شده در مرحله ۲ برگی با گیاهان پیش تیمارنشده در شرایط تنش تفاوت آماری معنی‌داری نشان ندادند. در مقابل گیاهان پیش تیمار شده در مرحله چهار و شش برگی افزایش رشد نشان دادند که این تفاوت از نظر آماری معنی‌داری بود هرچند در گیاهان پیش تیمار شده در مرحله چهار برگی رشد کمتری مشاهده شد و بیشترین میزان رشد در گیاهان سازگار شده در مرحله ۶ برگی اتفاق افتاد. افزایش میزان رشد در گیاهان پیش تیمار شده با سطوح پایین‌تر کلرید سدیم در مدت ۱۵ روز نشان دهنده پاسخ سازگاری به تنش شوری در زمانی کوتاه است (Cayuela, et al., 2001). نتایج نشان داد که ظرفیت سازگاری در گیاه فلفل بستگی به مرحله رشدی گیاهچه دارد که در آن پیش تیمار اعمال می‌گردد همانطور که در گوجه‌فرنگی (Cayuela, et al., 2001) و سورگوم (Amzallag, 1999) نیز مشاهده شده است.

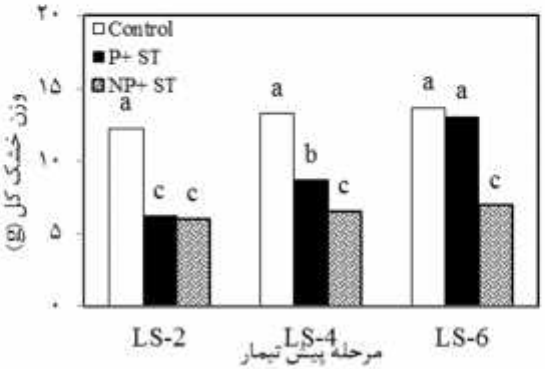
پیش تیمار شوری در مرحله ۶ برگی بیشترین میزان فعالیت آنزیم SOD را در هر دو رقم به خود اختصاص داد (شکل ۱). افزایش فعالیت آنزیم SOD در گیاهان پیش تیمار شده می‌تواند با تحمل به شوری رابطه مثبت داشته باشد (Sekmen et al., 2007; Sairam et al., 2002).

فعالت آنزیم APX در اثر تنش شوری نسبت به شاهد افزایش معنی‌دار نشان داد و بیشترین میزان فعالیت آنزیم در برگ گیاهان پیش تیمار شده در طی تنش شوری مشاهده گردید (شکل ۳). تمایل زیاد APX به H_2O_2 و توانی افزایش فعالیت آن در پاسخ به تنش‌ها از دلایلی می‌باشد که نشان می‌دهد APX نقش کلیدی در فرایند مسمومیت زدایی ROSs دارد (Sharma and Dubey, 2004). در این پژوهش افزایش قابل توجهی در فعالیت APX در گیاهان پیش تیمار شده دیده شد که احتمالاً در اثر افزایش بیان ژن APX باشد که باعث بهبود و افزایش محافظت در مقابل تنش اکسیداتیو می‌گردد (Yasar et al., 2008).

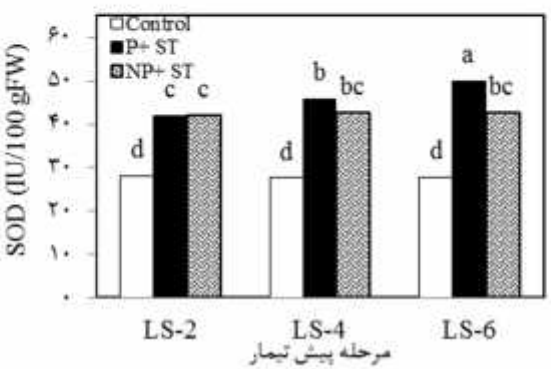
با افزایش شوری فعالیت آنزیم CAT افزایش معنی داری نشان داد، اما بیشترین میزان فعالیت در گیاهان پیش تیمار شده دیده شد (شکل ۴). در برهمکنش اثر مرحله رشدی در تیمار شوری، بیشترین میزان فعالیت در گیاهان پیش تیمار شده در مرحله ۶ برگی اندازه‌گیری شد (شکل ۵). در تحقیق حاضر افزایش فعالیت این آنزیم همسو با افزایش زیست می‌باشد که نشان می‌دهد این آنزیم در بهبود تحمل به تنش می‌تواند نقشی مهمی ایفا کند (Sairam, et al., 2002; Saha et al., 2010; Abu-Muriefah, 2015).

با افزایش شوری میزان فعالیت آنزیم POD افزایش یافت. همچنین گیاهان پیش تیمار شده میزان فعالیت آنزیمی بیشتری نسبت به گیاهان در دیگر تیمارها نشان دادند (شکل ۶).فعالیت آنزیم POD به عنوان یکی از آنزیم‌های اصلی در سم زدایی ROSs (به طور خاص H_2O_2) تحت تنش‌های محیطی به ویژه شوری افزایش می‌یابند (Kumar, et al., 2009;). نتایج این تحقیق نشان داد که پیش تیمار شوری باعث افزایش فعالیت POD می‌شود که با توجه به نقش این آنزیم در مقابل تنش اکسیداتیو می‌توان استنباط کرد که افزایش فعالیت این آنزیم باعث کاهش اثرات تنش اکسیداتیو و بهبود وضعیت تحمل به تنش گیاه می‌گردد (Sairam, et al., 2002).

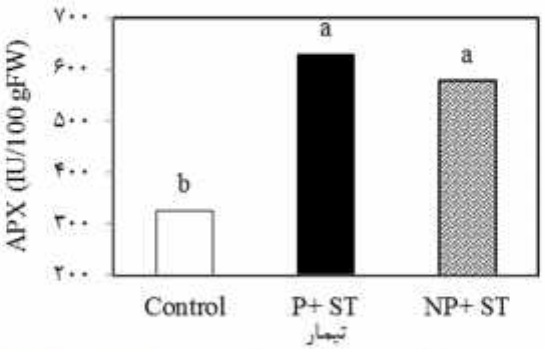
در مجموع نتایج ما به وسیله دیگر محققین که پیشنهاد کردند تحمل به شوری می‌تواند در نتیجه افزایش فعالیت سیستم دفاع آنزیمی آنتی اکسیدانی باشد تایید می گردد (Hernandez et al., 2003; Stepien and Klobus, 2005).



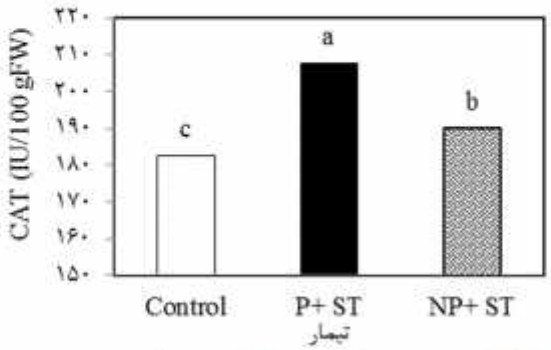
شکل ۱- میزان تغییرات وزن خشک کل در تیمار شاهد، تیمار شوری با پیش تیمار شوری (P+ ST) و تیمار شوری بدون پیش تیمار شوری (NP+ ST) که در مراحل ۲، ۴ و ۶ برگی پیش تیمار اعمال شده است.



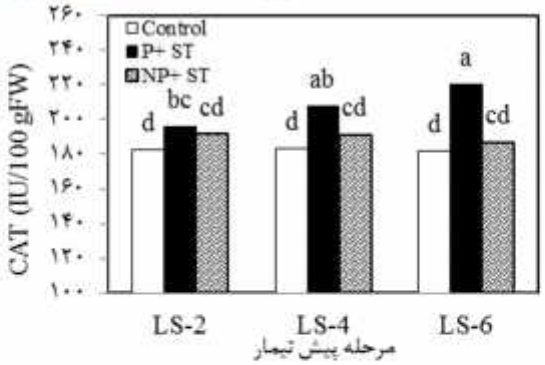
شکل ۲- میزان فعالیت آنزیم SOD در تیمار شاهد، تیمار شوری با پیش تیمار شوری (P+ ST) و تیمار شوری بدون پیش تیمار شوری (NP+ ST) که در مراحل ۲، ۴ و ۶ برگی پیش تیمار شوری اعمال شده است.

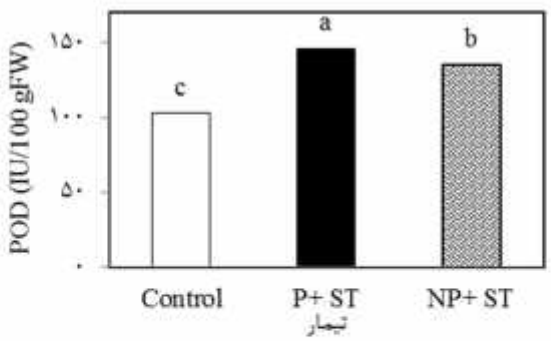


شکل ۳- مقایسه فعالیت آنزیم APX در تیمار شاهد، تیمار شوری با پیش تیمار شوری (P+ ST) و تیمار شوری بدون پیش تیمار شوری (NP+ ST).



شکل ۴- میزان فعالیت آنزیم CAT در تیمار شاهد، تیمار شوری با پیش تیمار شوری (P+ ST) و تیمار شوری بدون پیش تیمار شوری (NP+ ST)





شکل ۵- میزان فعالیت آنزیم CAT در تیمار شاهد، تیمار شوری با پیش تیمار شوری (P+ ST) و تیمار شوری بدون پیش تیمار شوری (NP+ ST) که در مراحل ۲، ۴ و ۶ برگی پیش تیمار اعمال شده است.

شکل ۶- میزان تغییرات POD در تیمار شاهد، تیمار شوری با پیش تیمار شوری (P+ ST) و تیمار شوری بدون پیش تیمار شوری (NP+ ST).

منابع

1. Abu-Muriefah, S.S. 2015. Effect of sitosterol on growth, metabolism and protein pattern of pepper (*Capsicum Annuum* L.) plants grown under salt stress conditions. International Journal of Agriculture and Crop Sciences. 8(2): 94-106.
2. Amzallag, G. 1999. Individuation in Sorghum bicolor: a self-organized process involved in physiological adaptation to salinity. Plant, Cell & Environment. 22(11): 1389-1399.
3. Ashraf, M. 2009. Biotechnological approach of improving plant salt tolerance using antioxidants as markers. Biotechnology advances. 27(1): 84-93.
4. Beauchamp, C. and Fridovich, I. 1971. Superoxide dismutase: improved assays and an assay applicable to acrylamide gels. Analytical Biochemistry. 44(1): 276-287.
5. Cayuela, E., Estañ, M.T., Parra, M., Caro, M. and Bolarin, M.C. 2001. NaCl pre-treatment at the seedling stage enhances fruit yield of tomato plants irrigated with salt water. Plant and Soil. 230(2): 231-238.
6. Chance, B. and Maehly, A. 1955. Assay of catalases and peroxidases. Methods Enzymol. 2: 764-775.
7. Cicek, N. and Cakirlar, H. 2008. Changes in some antioxidant enzyme activities in six soybean cultivars in response to long-term salinity at two different temperatures. General and Applied Plant Physiology. 34: 267-280.
8. Hernández, J.A., Aguilar, A.B., Portillo, B., López-Gómez, E., Beneyto, J.M. and García-Legaz, M.F. 2003. The effect of calcium on the antioxidant enzymes from salt-treated loquat and anger plants. Functional Plant Biology. 30(11): 1127-1137.
9. Kumar, V., Shriram, V., Nikam, T., Jawali, N. and Shitole, M.G. 2009. Antioxidant enzyme activities and protein profiling under salt stress in indica rice genotypes differing in salt tolerance. Archives of Agronomy and Soil Science. 55(4): 379-394.
10. Nakano, Y. and Asada, K. 1981. Hydrogen peroxide is scavenged by ascorbate-specific peroxidase in spinach chloroplasts. Plant and cell physiology. 22(5): 867-880.
11. Saha, P., Chatterjee, P. and Biswas, A.K. 2010. NaCl pretreatment alleviates salt stress by enhancement of antioxidant defense system and osmolyte accumulation in mungbean (*Vigna radiata* L. Wilczek). Indian Journal of Experimental Biology. 48: 593-600.
12. Sairam, R.K., Rao, K.V. and Srivastava, G. 2002. Differential response of wheat genotypes to long term salinity stress in relation to oxidative stress, antioxidant activity and osmolyte concentration. Plant Science. 163(5): 1037-1046.
13. Sekmen, A.H., Türkan, İ. and Takio, S. 2007. Differential responses of antioxidative enzymes and lipid peroxidation to salt stress in salt-tolerant *Plantago maritima* and salt-sensitive *Plantago media*. Physiologia Plantarum. 131(3): 399-411.
14. Sharma, P. and Dubey, R.,2004. Ascorbate peroxidase from rice seedlings: properties of enzyme isoforms, effects of stresses and protective roles of osmolytes. Plant Science. 167(3): 541-550.
15. Stepien, P. and Klobus, G. 2005. Antioxidant defense in the leaves of C3 and C4 plants under salinity stress. Physiologia Plantarum. 125(1): 31-40.
16. Yasar, F., Ellialtioglu, S. and Yildiz, K. 2008. Effect of salt stress on antioxidant defense systems, lipid peroxidation, and chlorophyll content in green bean. Russian journal of plant physiology. 55(6): 782-786.

Evaluation of salinity pretreatment at the seedling stage in improving salinity tolerance of two commercial pepper cultivars at the vegetative stage

M. Reza Z. Bavani[1]*, Gh. Peyvast[2], M. Ghasemnezhad[3], A. Forghani[4]

1- Former Ph.D. Student, Department of Horticultural Sciences, University of Guilan, Rasht, and Assistant Professor, Department of Horticultural Sciences, Ramin Agriculture and Natural Resources University of Khouzestan, Ahvaz 2- Professor, Department of Horticultural Sciences, University of Guilan, Rasht, 3-

Associated Professor, Department of Horticultural Sciences, University of Guilan, Rasht, 4- Assistant Professor, Department of Soil Sciences, University of Guilan, Rasht.

*Corresponding author: mzarebavany@gmail.com

Abstract

Generally, when exposed to sub lethal level of stress, plants develop the ability to withstand next severe stress, as acquired tolerance. Therefore, in this research pepper seedlings were pretreated at 2, 4 and 6-leaf stage with 0 and 30 mM NaCl for 15 days followed by 60 mM NaCl for 60 days. The control plants were developed in nutrient solution without NaCl. The results revealed significant reduction in growth (total dry matter production) of non-pretreated plants below that of pretreated plants at 6-leaf stage under salinity stress. The pretreated plants showed increased enzyme activity of SOD, CAT, POD and APX. In contrast, the control plants had higher lipid peroxidation. In general, the results showed that pre-treatment of pepper seedlings with low levels of salt can increasing salinity tolerate levels by strengthening the antioxidant system.

Key words; Ascorbate peroxidase, Catalase, Peroxidase, Salinity, Superoxide dismutase.