اثر تنش شوری بر غلظت عناصر و تغییرات بیوشیمیایی لیموترش دیپلوئید و تتراپلوئید رقم نیپیس

علیرضا شفیعی زرگر[1*]، سید احمدکلانتر احمدی[2]، فریدون عجم گرد[3]

۱- استادیار سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی مرکز صفی‌آباد. ۲- محقق سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی مرکز صفی‌آباد. ۳- عضو هیئت علمی سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی مرکز صفی‌آباد.

*نویسنده مسئول: arshafie@yahoo.com

چکیده

از آنجا که مرکبات نسبت به شوری حساس هستند، بنابراین انتخاب و تهیه پایه‌ها و ارقام متحمل به شرایط شوری از اهمیت خاصی برخوردار می‌باشد. در این مطالعه غلظت عناصر، تجمع پرولین، مالون‌دی‌آلدئید و پراکسیدهیدروژن لیموترش دیپلوئید و تتراپلوئید رقم نیپیس نسبت به غلظت‌های متفاوت شوری (صفر، ۲۰، ۴۰ و ۶۰ میلی‌مولار) در آزمایشی بصورت فاکتوریل در قالب طرح بلوکهای کامل تصادفی در ۴ تکرار مورد ارزیابی قرار گرفت. نتایج نشان داد که افزایش غلظت شوری (کلریدسدیم) بطور معنی‌داری میزان نیتروژن و فسفر برگ و ریشه را در هر دو گیاهان دیپلوئید و تتراپلوئید کاهش داد، اما میزان کاهش این ترکیبات در تتراپلوئیدها کمتر از دیپلوئیدها بود. همچنین تجمع سدیم و کلر و کاهش پتاسیم در تتراپلوئیدها در مقایسه با دیپلوئیدها کمتر مشاهده شد. میزان مالون دی آلدئید (MDA) و پراکسید هیدروژن (H_2O_2) نیز در تتراپلوئیدها کمتر بود. یافته‌های حاصل از این پژوهش حاکی از سازگاری بهتر لیموترش تتراپلوئید نیپیس نسبت به تنش شوری در مقایسه با دیپلوئید است.

کلمات کلیدی: شوری، لیموترش، پرولین، مالون‌دی‌آلدئید و پراکسیدهیدروژن

مقدمه

تنش شوری ازجمله اولین تنش‌های محیطی است که گیاهان را تحت تاثیر قرار می‌دهد و امروزه به دلیل تغییرات اقلیمی جهانی به عنوان یکی از مهمترین تنش‌های محیطی مورد دقت و بررسی بیشتری قرار دارد. وجه تمایز این تنش با سایر تنش‌های محیطی که گیاه در بخشی از دوره رشد خود با آنها درگیر است، دائمی بودن تنش شوری است (گورمانی و همکاران، ۲۰۱۱). اثرات شوری بر رشد ریشه‌ها و اندام‌های هوایی، میزان کلروفیل، تجمع مالون‌دی‌آلدئید و پراکسید هیدروژن، غلظت عناصر و فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانت گزارش شده است (منگ و همکاران ۲۰۱۱). در تمام گونه‌های جنس سیتروس خانواده مرکبات دیپلوئیدی (2n=2x=۱۸)یک قاعده کلی می‌باشد، گرچه وجود سطوح پلوئیدی بالاترنظیر کومکوآت هنگ‌کنگ ویلد و تتراپلوئیدهای اتفاقی دیگر هم دیده شده است (محمودی و همکاران ۱۳۸۶). مطالعات متعدد دو برابرشدن کروموزوم‌ها در مرکبات نشان داده است، که می‌تواند باعث بوجود آمدن خود به خود نهال تتراپلوئید از بافت سلولهای نوسلار گردد (کامرون و سوست ۱۹۶۸). صالح و همکاران (۲۰۰۸) در مطالعه واکنش ژنوتیپ های تتراپلوئید و دیپلوئید پایه‌های نارنج‌سه‌برگ، کاریزوسیترنج و کلئوپاتراماندارین در شرایط شور به این نتیجه رسیدند که گیاهان تتراپلوئید نسبت به شوری متحمل‌تر بوده و عناصر سمی کمتری در برگهای خود جمع کرده‌اند. مکانیسم مربوط به دو برابر شدن کروموزوم‌ها و واکنش مرکبات تتراپلوئید نسبت به شوری به اندازه کافی بررسی نشده است. به همین دلیل و با توجه به امکان بالا بودن تحمل گیاهان تتراپلوئید نسبت به شوری و اهمیت آنها در تولید ارقام تریپلوئید بی‌هسته توجه به این نوع مرکبات رو به افزایش است.

مواد و روشها

دراین بررسی که در گلخانه تحقیقاتی دانشکده کشاورزی دانشگاه پوترا مالزی انجام شد واکنش لیموترش دیپلوئید و تتراپلوئید رقم نیپیس (*Citrus aurantifolia* Swingle) Limau Nipis تحت شرایط شور مورد بررسی قرار گرفت. آزمایش بصورت فاکتوریل در قالب طرح بلوکهای کامل تصادفی با چهارسطح شوری صفر، ۲۰، ۴۰ و ۶۰ میلی مولار و دو سطح دیپلوئید(۲n) و

تتراپلوئید (۴n) لیموترش نیپیس همراه با چهارتکرار به اجرا درآمد. در این آزمایش غلظت عناصر غذایی و متابولیت‌های ثانویه مورد ارزیابی قرار گرفت.

نتایج و بحث

نتایج حاصل از این آزمایش نشان داد که شوری بر میزان نیتروژن و فسفر برگ و ریشه هر دو نوع دیپلوئید و تتراپلوئید لیموترش نیپس اثر داشته است. تنش شوری بطور معنی‌داری در سطح ۰/۵ درصد میزان ازت وفسفر را کاهش داد اما در میان غلظت‌های مختلف نمک بیشترین میزان کاهش در سطح ۶۰ میلی مولار مشاهده شد، این در حالی بود که میزان این عناصر برگ‌ها و ریشه گیاهان تتراپلوئید به مقدار معنی‌داری از گیاهان دیپلوئید بیشتر بود (جدول۱).

جدول ۱- درصد عناصر موجود در ریشه و برگ لیموترش نیپیس دیپلوئید وتتراپلوئید

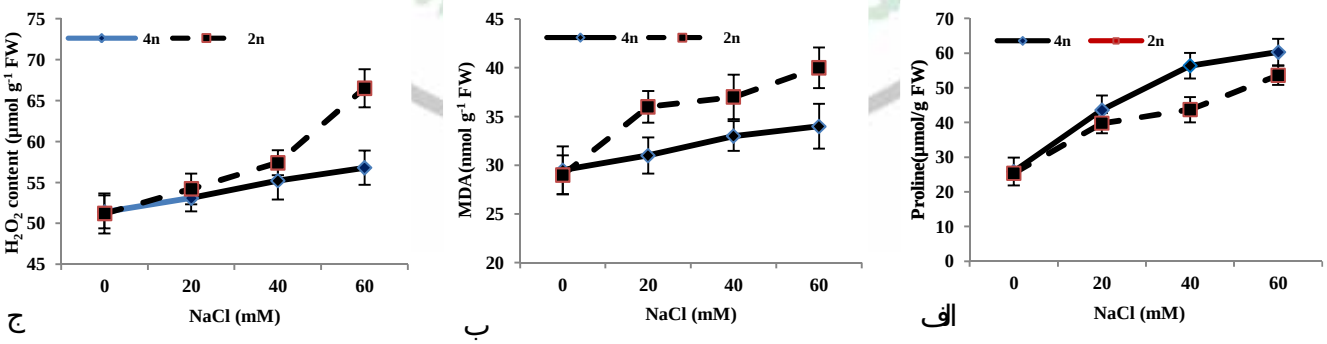
صفات			N (%)		P (%)		K (%)		Na (%)		Cl (%)		K/Na (%)	
تیمار			برگ	ریشه	برگ	ریشه	برگ	ریشه	برگ	ریشه	برگ	ریشه	برگ	ریشه
NaCl × Cultivar	0 mM	2n	۲/۱a	۲/۳a	۰/۵a	۰/۰۴a	۱/۵۴a	۰/۸a	۰/۳C	۰/۴c	۰/۹d	۱/۸d	۵/۹a	۱/۹a
		4n	۲/۳a	۲/۲a	۰/۳A	۰/۰۴a	۱/۵a	۰/۸a	۰/۳c	۰/۴d	۰/۹c	۱/۸c	۵/۲a	۲/۱a
	20 mM	2n	۲/۱a	۲/۲b	۰/۵b	۰/۰۲b	۱/۴ab	۰/۷b	۰/۳c	۰/۵c	۱/۳c	۲/۱ c	۴/۴b	۱/۴b
		4n	۲/۲B	۲/۱b	۰/۵b	۰/۰۲b	۱/۵a	۰/۸b	۰/۳c	۰/۵c	۱/۳bc	۱/۷C	۴/۳b	۱/۴b
	40 mM	2n	۱/۷b	۱/۹C	۰/۴c	۰/۰۱c	۱/۲b	۰/۵c	۰/۵b	۰/۶b	۲/۱b	۲/۴b	۲/۳c	۰/۹c
		4n	۱/۹c	۱/۸d	۰/۴b	۰/۰۲c	۱/۳b	۰/۶c	۰/۵b	۰/۵b	۱/۸b	۲/۱b	۲/۷c	۱/۱c
	60 mM	2n	۱/۵c	۱/۷d	۰/۴d	۰/۰۱c	۰/۹۸c	۰/۵d	۰/۸a	۰/۷a	۲/۸a	۲/۹a	۱/۲d	۰/۶d
		4n	۱/۸d	۱/۹c	۰/۴c	۰/۰۱d	۱/۱۸c	/۵۰d	۰/۶a	۰/۷a	۲/۱a	۲/۴a	۱/۸d	۰/۷d

اعداد با حروف مشترک در هر ستون دارای اختلاف معنی دار ($P<0.05$) نمی باشند

شوری خاک همراه با کاهش تولید ماده خشک، جذب نیتروژن و فسفر را کاهش می‌دهد، این کاهش می‌تواند ناشی از اثر آنتاگونیسمی یون کلر درجذب نیترات، کاهش متابولیسم نیتروژن در اثر کاهش فعالیت آنزیم نیترات ردوکتاز برگ و کاهش مصرف آب بدلیل کاهش جذب آب توسط گیاه باشد (گورمانی و همکاران، ۲۰۱۱). اثرات متقابل بین شوری و فسفر در گیاهان همانند نیتروژن پیچیده می‌باشد. این اثر متقابل به گونه یا رقم گیاه، مرحله نمو گیاه، ترکیب و سطوح شوری بستگی دارد. نتایج نشان داد که غلظت پتاسیم تحت تاثیر شوری قرار گرفت و با کاهش معنی‌داری همراه بود. گرچه عکس العمل هر دو سطح دیپلوئید و تتراپلوئید لیموترش نیپیس در شرایط شور در کم شدن میزان پتاسیم شبیه بود اما در گیاهان تتراپلوئید کاهش کمتری ملاحظه شد (جدول۱). کاهش پتاسیم می تواند به دلیل رقابت سدیم بر سر مکان های اتصال به ناقل های غشاء پلاسمایی ویا نشت پتاسیم به دلیل عدم ثبات غشاء پلاسمایی باشد (شفیعی زرگر ۲۰۱۵).

نتایج حاکی از این بود که علیرغم افزایش سدیم در هر دو گیاهان تتراپلوئید و دیپلوئید، گیاهان تتراپلوئید قادر بودند در سطوح بالاتر شوری (۴۰ و ۶۰ میلی مولار) میزان کمتری سدیم در ریشه و برگ خود نسبت به دیپلوئیدها جمع کنند. شوری باعث افزایش مقدار کلر در تمام گیاهان شد. گرچه با افزایش میزان شوری مقدار کلر در برگها و ریشه هر دو نوع گیاهان افزایش یافت اما در مجموع مقدار آن در برگها و ریشه لیموترش های تتراپلوئید کمتر بود. به نظر می‌رسد گیاهان تتراپلوئید از توانایی بیشتری در انباشتن یون سدیم در واکوئل‌های خود نسبت به دیپلوئیدها برخوردارند. بنابراین لیموترش نیپیس تتراپلوئید انتقال کلر و سدیم را از

ریشه به اندامهای هوایی محدود می کند. نتایج این پژوهش با نتایج صالح و همکاران (۲۰۰۸) مبنی براینکه پایه‌های تتراپلوئید مرکبات توانایی تجمع بیشتر یون سدیم نسبت به دیپلوئیدها در ریشه های خود دارند مطابقت دارد. طباطبایی (۲۰۰۷) عقیده دارد که رابطه مثبت میان فتوسنتز و نسبت K/Na، حاکی از ارتباط میان شدت فتوسنتز خالص و محتوای نمک می‌باشد. نتایج این آزمایش حاکی از این بود که با افزایش سطوح نمک، نسبت K/Na در هر دو دسته گیاهان دیپلوئید و تتراپلوئید کاهش یافت، ولی روند آن در دیپلوئیدها کاهش بیشتری داشت. بنابرگفته بالستر و همکاران (۲۰۰۳) مکانیسم مقاومت ارقام متحمل به شوری در مرکبات احتمالاً به توانایی آنها در حفظ نسبت مناسبی از K/Na در بافت‌های مختلفی که فعالانه در حال رشد هستند، مربوط می‌شود. مقایسه میانگین‌ها در تیمارهای مختلف حاکی از آن بود که به ترتیب با افزایش میزان شوری بر مقدار پرولین افزوده شد و در این میان بیشترین مقدار پرولین به میزان ۶۰/۳۰ میکرومول برگرم برگ تازه مربوط به گیاهان تتراپلوئید در سطح شوری ۶۰ میلی مولار بود (شکل ۱-الف). پرولین یکی از اولین ترکیبات مورد مطالعه در حفظ پتانسیل اسمزی سلول است. افزایش این ماده تحت تنش می‌تواند نشاندهنده نقش احتمالی این اسیدآمینه در مقاومت به تنش شوری باشد. علاوه بر تنظیم اسمزی، در شرایط تنش پرولین بطور مستقیم با ماکرومولکولها اثر متقابل ایجاد کرده و بدین گونه به حفظ شکل و ساختار طبیعی آنها کمک کرده و به‌عنوان یک محافظ در برابر تنش‌های مختلف عمل می‌کند (شفیعی زرگر ۲۰۱۵). واکنش گیاهان مورد آزمایش تحت تنش شوری در ارتباط با میزان تجمع مالون‌دی‌آلدئید در شکل ۱-ب نمایش داده شده است.تجمع مالون‌دی‌آلدئید درگیاهان دیپلوئید نسبتاً از تتراپلوئیدها بیشتر بود. بیشترین میزان مالون‌دی‌آلدئید در برگ این گیاهان در شوری سطح ۶۰ میلی مولار دیده شد در حالی که میزان آن در گیاهان تتراپلوئید در سطح شوری مذکور کمتر بود. فعالیت پراکسیدازی مربوط به هر دو دسته گیاهان دیپلوئید و تتراپلوئید در شوری‌های مختلف شبیه به هم بود واز پائین به بالا روند افزایشی نشان داد گرچه در سطوح بالای شوری شدت بیشتری به خود گرفت. در میان دو دسته گیاهان، در تمام سطوح شوری، غلظت پراکسید هیدروژن بیشتری در لیموترش‌های دیپلوئید مشاهده شد و بیشترین آن به میزان ۶۶/۵۰ میکرومول برگرم برگ تازه در سطح ۶۰ میلی مولار شوری مشاهده شد (شکل ۱-ج). میزان پایین‌تر پراکسیداسیون لیپیدها در لیموترش تتراپلوئید دلالت برتحمل بیشتر این گیاهان در مقابل خسارات ناشی از اکسیداسیون دارد. سمیت زدایی مقادیر بالای گونه‌های فعال اکسیژن تولید شده در طول تنش موجب بهبود پایداری غشا، کاهش آسیب به اسیدنوکلوئیک و آنزیم‌های موثر در پاکسازی گونه‌های فعال اکسیژن می‌شود که این امر اغلب در ارتباط با افزایش تحمل به تنش‌شوری می‌باشد (پرونی و همکاران، ۲۰۰۷). بنابراین کاهش غلظت پراکسید هیدروژن در بافتهای لیموترش تتراپلوئید مشاهده شده در این آزمایش می‌تواند به عنوان عاملی در افزایش تحمل به شوری در مقایسه با نوع دیپلوئید لیموترش باشد.



شکل ۱- اثرتنش شوری بر میزان الف) پرولین ب) مالون دی الدئید ج) پراکسیدهیدروژن برگ در گیاهان مورد آزمایش

منابع

۱. محمودی، م.، خسروشاهلی، م.، و ذاکرین، ع. ۱۳۸۶. مطالعه سیتولوژیکی و تعیین سطوح پلوئیدی در بعضی از گیاهان بذری دورگ کترا ۱۰ مرکبات. یافته‌های نوین کشاورزی .سال دوم شماره ۲، ص ۱۷۴-۱۶۱.

2. Ballester, G.F., Garcia-Sanchez, F., Cerda, A. and Martinez, V. 2003. Tolerance of citrus rootstock seedlings to saline stress based on their ability to regulate ion uptake and transport. Tree Physiology. 23: 256-271.
3. Cameron, J.W. and Soost, R.K. 1968. Characters of new populations of citrus polyploids, and the relation between tetraploidy in the pollen parent and hybrid tetraploid progeny. In: 1st International Citrus Symposium, Riverside 1968 1970 Vol. 1 pp. 199-205.
4. Gurmani, A.R., Bano, A., Khan, S.U., Din, J. and Zhang, J.L. 2011. Alleviation of salt stress by seed treatment with abscisic acid (ABA), 6-benzylaminopurine (BA) and chlormequat chloride (CCC) optimizes ion and organic matter accumulation and increases yield of rice (*Oryza sativa* L.). Australian Journal of Crop Science. 10: 1278-1285.
5. Meng, H.B., Jiang, S., Hua, S.J., Lin, X.Y., Li, Y.L., Guo, W.L. and Jiang, L.X. 2011. Comparison between a tetraploid Turnip and its diploid progenitor (*Brassica rapa* L.): The adaptation to salinity stress. Agricultural Sciences in China. 10(3): 363-375.
6. Peroni, L.A., Ferreira. R.R., Figueira. A., Machado. M.A. and Stach-Machado, D.R. 2007. Expression profile of oxidative and antioxidative stress enzymes based on ESTs approach of citrus. Genetics and Molecular Biology. 30: 872-880.
7. Saleh, B., Allario, T., Dambier, D., Ollitrault, P. and Morillon, R. 2008. Tetraploid citrus rootstocks are more tolerant to salt stress than diploid. Comptes Rendus de l'Académie des Sciences. 331: 703–710.
8. Shafieizargar, A., Awang, Y., Ajamgard, F., Juraimi, S. and Kalntar Ahmadi, A. 2015. Assessing five citrus rootstocks for NaCl salinity tolerance using mineral concentrations, proline and relative water contents as indicators. Asian Journal of Plant Sciences. 14 (1): 20-26.
9. Tabatabaei, S.J. 2007. Salinity stress and olive: An overview. Plant Stress. Global Science Books.1(1): 105-112.

Effects of salinity stress on mineral concentrations and biochemical changing of diploid and tetraploid Limau Nipis cultivar

A.Shafieizargar[1*], S. A. Kalantar Ahmadi[2], F. Ajamgard[3]

1-Associate Professor of AREEO, Safiabad Agricultural Research Centre. 2- Researcher of AREEO, Safiabad Agricultural Research Centre. 3- Scientific board of AREEO, Safiabad Agricultural Research Centre
*Corresponding author: arshafie@yahoo.com

Abstract

Due to salt-sensitivity nature of citrus, it is imperative to provide rootstocks and cultivars that are tolerant to saline conditions. In this study, responses of tetraploid (4X) and its corresponding diploid (2X) Limau Nipis (*Citrus aurantifolia* Swingle) cultivar to different concentrations of NaCl (0, 20, 40 and 60 mM) were investigated using a randomized complete block design with four replications. Plant mineral concentrations, proline accumulation, malondialdehyde (MDA) and H_2O_2 contents were measured. Results indicated that increasing NaCl concentration significantly reduced leaf and root N and P contents in both diploid and tetraploid plants but reduction of these nutrients were lower in tetraploids. Results also showed that the accumulation of Na and Cl was lower in tetraploids. Reduction of K in tetraploid was lower as opposed to diploid plants. Free proline content in the leaves of both plants increased with increasing NaCl level with a more marked increase was observed in tetraploid plants than those in diploids. Tetraploid plants contained lower concentration of MDA Results obtained in this study suggested that tetraploid Limau Nipis exhibited a better adaptation to salinity stress than its corresponding diploid.

Keywords: citrus, diploid, tetraploid, salt stress.