

ارزیابی تاثیر سطوح مختلف کلرید سدیم بر محتوای پرولین و کلروفیل در برخی ژنوتیپ های انگور

صابر سهرابی^۱، علی عبادی^{۲*} و سید علیرضا سلامی^۳

۱، ۲ و ۳- به ترتیب دانشجوی کارشناسی ارشد، استاد و استادیار گروه علوم باغبانی پردیس کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه تهران

* نویسنده مسئول: aebadi@ut.ac.ir

چکیده

انگور اغلب در شرایط محیطی نیمه خشک پرورش داده می شود، جایی که خشکی و شوری از مشکلات معمول این مناطق هستند. جهت ارزیابی تأثیر غلظت های مختلف کلرید سدیم (NaCl) بر مقدار پرولین، کلروفیل و کاروتنوئید در برخی ارقام و پایه انگور آزمایشی به صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با ۳ تکرار صورت گرفت. عامل اول شامل چهار سطح شاهد (بدون افزودن کلرید سدیم)، ۲۵، ۵۰ و ۱۰۰ میلی مولار کلرید سدیم و عامل دوم سه رقم و یک پایه انگور به ترتیب شامل بی دانه سفید، یاقوتی، سفید فخری و ۱۱۰۳ پی بودند. طبق نتایج به دست آمده بیشترین مقدار پرولین در رقم سفید فخری و در تیمار ۱۰۰ میلی مولار کلرید سدیم به مقدار ۱/۵۹ میکرومول در گرم وزن تر و سپس به ترتیب در پایه ۱۱۰۳ پی، یاقوتی و بی دانه سفید، اندازه گیری شد. همچنین بیشترین مقدار کلروفیل a، b و کاروتنوئید در رقم یاقوتی در تیمار شاهد به ترتیب به مقدار ۳۷، ۱۲ و ۲۰ میکروگرم بر گرم وزن تر و سپس به ترتیب در پایه ۱۱۰۳ پی، سفید فخری و بی دانه سفید، اندازه گیری شد؛ بنابراین می توان نتیجه گرفت که رقم سفید فخری از لحاظ میزان تولید پرولین و رقم یاقوتی از لحاظ مقدار کلروفیل و کاروتنوئید در شرایط تنش، نسبت به دیگر ارقام مقاوم تر هستند.

کلمات کلیدی: انگور، تنش شوری، پرولین، کلروفیل a، کلروفیل b، کاروتنوئید

مقدمه

انگور یکی از مهم ترین میوه های ریز در ایران و جهان می باشد. انگور به عنوان گیاه نسبتاً حساس به شوری مطرح است و طی مطالعات متعددی که صورت گرفته مشخص شده است که استفاده از محافظت کننده های اسمزی به صورت خارجی، موجب افزایش معنی دار تحمل در مقابل خسارت های ناشی از تنش شوری شده است. این محافظت کننده ها با افزایش مقدار جوانه زنی، رشد، نمو، فتوسنتز، مقدار ظرفیت آنتی اکسیدانی و عملکرد باعث افزایش تحمل گیاهان نسبت به شوری می شوند (Hasanuzzaman *et al.*, 2013). از جمله این اسمولیت ها می توان به پرولین اشاره نمود و مشخص شده یکی از شناخته شده ترین مکانیسم های افزایش تحمل شوری در گیاهان تجمع پرولین می باشد. همچنین پیشنهاد شده که تجمع پرولین ملاک مناسبی برای انتخاب گونه های متحمل نسبت شرایط استرس می باشد (Ahmad *et al.*, 2009). در پاسخ به تنش شوری و خشکی در گیاهان عالی، پرولین در سیتوسول یعنی مکانی که نیاز به تنظیم اسمزی می باشد، تجمع می یابد (Ketchum *et al.*, 1991). مطالعات متعدد پرولین را به عنوان یک آنتی اکسیدان معرفی کرده اند و پیشنهاد شده است که جاروب کننده گونه های فعال اکسیژن می باشد (Matysik *et al.*, 2002). تغییر در میزان کلروفیل در نتیجه تنش شوری نیز یکی از مشهودترین پاسخ های بیوشیمیایی می باشد (Rao *et al.*, 1991). کاهش در مقدار کلروفیل در نتیجه افزایش سطح شوری توسط خوال و همکاران (Khawale *et al.*, 2003) گزارش شده است. همچنین کاروتنوئیدها با محافظت از رنگیزه های فتوسنتزی موجب افزایش مقاومت گیاهان و ادامه فتوسنتز در شرایط استرس می شوند. از این رو آزمایشی به منظور بررسی مقاومت ارقام مختلف انگور به شوری و بررسی برخی فاکتورهای فیزیولوژی از جمله مقدار کلروفیل، کاروتنوئید و میزان پرولین برگ صورت گرفت.

مواد و روش‌ها

مکان انجام این تحقیق گلخانه و محوطه گروه علوم باغبانی و فضای سبز دانشگاه تهران بود. قلمه‌های تهیه شده از ارقام و پایه مورد استفاده، پس از تیمار با هورمون اکسین (ايندول بوتيریک اسيد) با غلظت ۲۵۰۰ پی‌پی‌ام به مدت ۵ ثانیه در بستر ریشه‌زایی قرار داده شدند. قلمه‌ها پس از ۶۰ روز آماده انتقال به گلدان‌های اصلی شدند. جهت فراهم نمودن بستر یکدست و یکنواخت برای تمامی گیاهان، گلدان‌هایی از جنس پلی‌اتیلن با ظرفیت ۷ لیتر انتخاب که با پرلیت و کوکوپیت به نسبت حجمی ۱:۱ پر شدند. محلول غذایی استفاده شده در این آزمایش طبق فرمول پیشنهادی کرامر و همکاران (Cramer et al., 2007) با پی‌اچ نهایی شش بود تهیه گردید. تنش شوری در هر یک از سطوح تنش به صورت تدریجی اعمال گردید. برداشت نمونه‌ها در هر یک از سطوح پس از رسیدن به سطح شوری مورد نظر و گذشت ده روز صورت گرفت. جهت مقایسه بین دو عامل تیمار و رقم از آزمایش فاکتوریل در قالب طرح پایه کاملاً تصادفی با سه تکرار به صورت گلدانی (هر تکرار شامل یک گلدان) استفاده شد. عامل اول شامل چهار سطح شاهد (بدون افزودن کلرید سدیم)، ۲۵، ۵۰ و ۱۰۰ میلی مولار کلرید سدیم و عامل دوم شامل یک پایه انگور (۱۱۰۳ پی) و سه رقم سفید فخری بی‌دانه سفید و یاقوتی بودند. تجزیه و تحلیل آماری داده‌های حاصل از آزمایش‌ها با نرم‌افزار SAS ورژن ۹٫۲ انجام شد. آزمون Duncan برای مقایسه میانگین در سطح احتمال ۰/۰۵ استفاده شد.

نتایج و بحث

نتایج حاصل از تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد که ارقام و غلظت‌های متفاوت کلرید سدیم تاثیر معنی‌داری بر مقدار پرولین، کلروفیل و کاروتنوئید در سطح ۱٪ داشتند. همچنین اثرات متقابل ارقام و سطوح مختلف کلرید سدیم در سطح یک درصد بر صفات مورد بررسی معنی دار بودند (جدول ۱). در همه ارقام با افزایش سطح شوری مقدار کلروفیل کاهش و در مقابل مقدار پرولین افزایش یافت. از آنجا که گلوتامیک اسید به عنوان پیش ساز مشترک برای بیوسنتز کلروفیل و پرولین مورد استفاده قرار می‌گیرد کاهش میزان کلروفیل تحت شرایط تنش می‌تواند در اثر کاهش بیوسنتز کلروفیل باشد به عبارت دیگر تحت شرایط تنش، گیاه مخزن گلوتامیک اسید را به سوی بیوسنتز پرولین که نقش مهمی در مقاومت به تنش شوری و خشکی به عنوان یک تنظیم‌کننده اسمزی دارد سوق می‌دهد و گلوتامیک اسید موجود برای بیوسنتز کلروفیل کاهش می‌یابد که منجر به کاهش میزان کلروفیل در گیاهان تحت تنش می‌گردد (Le Dily et al., 1993) که با نتایج به دست آمده در این آزمایش همخوانی دارد. طبق نتایج به دست آمده از مقایسه میانگین‌های اثر متقابل شوری در رقم، بیشترین میزان پرولین اندازه‌گیری شده در رقم سفید فخری و در سطح ۱۰۰ میلی مولار کلرید سدیم به مقدار ۱/۵۹ میکرومول در گرم وزن تر مشاهده شد که نشان دهنده توان تحمل این رقم نسبت به شرایط تنش می‌باشد. البته باید توجه نمود که در این شرایط کمترین مقدار کلروفیل نیز در این رقم و در این سطح از تنش مشاهده شد که موجب کاهش فتوسنتز و در نتیجه کاهش رشد گردید. بیشترین مقدار پرولین در دیگر ارقام به ترتیب در پایه ۱۱۰۳ پی، یاقوتی و بی‌دانه سفید دیده شد. سرعت فتوسنتز می‌تواند به میزان کلروفیل وابسته باشد؛ بنابراین کاهش فتوسنتز می‌تواند در اثر کاهش میزان کلروفیل رخ دهد (Bishop & Bugbee, 1998). بیشترین میزان کلروفیل a، b و کاروتنوئید نیز در تیمار شاهد رقم یاقوتی به ترتیب به مقدار ۳۷، ۱۲ و ۲۰ میکروگرم بر گرم وزن تر مشاهده گردید. پس از رقم یاقوتی از لحاظ بیشترین مقدار کلروفیل اندازه‌گیری شده به ترتیب پایه ۱۱۰۳ پی، سفید فخری و بی‌دانه سفید قرار گرفتند. در مجموع کمترین مقدار کلروفیل و پرولین در رقم بی‌دانه سفید که یک رقم حساس به شوری می‌باشد مشاهده شد.

جدول ۱- تجزیه واریانس تاثیر رقم و شوری بر مقدار کلروفیل a، b، کاروتنوئید و پرولین

میانگین مربعات				درجه آزادی	منبع تغییر S.O.V
پرولین	کاروتنوئید	کلروفیل b	کلروفیل a		
۰/۴۷**	۰/۰۰۰۱**	۰/۰۰۰۰۳**	۰/۰۰۰۴۵**	۳	رقم
۰/۶۵**	۰/۰۰۰۰۱**	۰/۰۰۰۰۰۸**	۰/۰۰۰۰۰۸**	۳	شوری
۰/۲۲**	۰/۰۰۰۰۰۷**	۰/۰۰۰۰۰۷**	۰/۰۰۰۰۱۲**	۹	رقم × شوری
۰/۰۰۰۱	۰/۰۰۰۰۰۰۱	۰/۰۰۰۰۰۰۱	۰/۰۰۰۰۰۰۰۵	۳۰	خطا
۱/۷۴**	۰/۷۵	۴/۹۳	۰/۷۶		ضریب تغییرات (%)

** معنی داری در سطح ۱ درصد

جدول ۲- مقایسه میانگین‌های اثر متقابل، چهار سطح تنش شوری و چهار رقم انگور بر میزان پرولین ($\mu\text{mole g}^{-1} \text{ F.W}$)، کلروفیل و کاروتنوئید برگ ($\text{mg g}^{-1} \text{ F.W}$)

سطوح تنش کلرید سدیم (میلی مولار)				ارقام	صفات مورد اندازه گیری
۱۰۰	۵۰	۲۵	۰		
۱/۲۲ b	۱/۱۷ c	۰/۴۸ g	۰/۴۲ i	پی ۱۱۰۳	پرولین
۱/۵۹ a	۰/۶۹ d	۰/۶۱ e	۰/۴۸ gh	سفید فخری	
۰/۴۶ ghi	۰/۴۲ i	۰/۴۴ hi	۰/۴۳ i	بی دانه سفید	
۰/۶۱ e	۰/۶۲ e	۰/۵۷ f	۰/۴۵ ghi	یاقوتی	
۰/۲۸۰ g	۰/۰۲۹ f	۰/۰۳ e	۰/۰۳۱ d	پی ۱۱۰۳	کلروفیل a
۰/۰۱۴ m	۰/۰۲ i	۰/۰۲۳ k	۰/۰۲۷ h	سفید فخری	
۰/۰۲۴ g	۰/۰۲۵ i	۰/۰۲۷ h	۰/۰۳۱ d	بی دانه سفید	
۰/۰۳۴ c	۰/۰۳۶ b	۰/۰۳۶ b	۰/۰۳۷ a	یاقوتی	
۰/۰۰۶۴ hi	۰/۰۰۸۰ ef	۰/۰۰۶۸ gf	۰/۰۰۷۲ gfh	پی ۱۱۰۳	کلروفیل b
۰/۰۰۵۹ i	۰/۰۰۷۹ ef	۰/۰۰۴۰ j	۰/۰۰۷۵ gf	سفید فخری	
۰/۰۰۹۱ cd	۰/۰۰۸۶ de	۰/۰۰۹۰ cd	۰/۰۰۹۸ bc	بی دانه سفید	
۰/۰۱۰۳ b	۰/۰۰۶۵ hi	۰/۰۰۹۸ bc	۰/۰۱۲۶ a	یاقوتی	
۰/۰۱۳۷ h	۰/۰۱۲۹ i	۰/۰۱۶۰ d	۰/۰۱۴۳ g	پی ۱۱۰۳	کاروتنوئید
۰/۰۰۹۲ m	۰/۰۱۰۳ l	۰/۰۰۷۸ n	۰/۰۱۰۹ k	سفید فخری	
۰/۰۱۲۴ j	۰/۰۱۳۰ i	۰/۰۱۵۷ e	۰/۰۱۳۱ i	بی دانه سفید	
۰/۰۱۶۰ c	۰/۰۱۴۹ f	۰/۰۱۷۲ b	۰/۰۲۰۴ a	یاقوتی	

اعداد با حروف مشترک اختلاف معنی داری در سطح ۱٪ ندارند

منابع

- Ahmad, P., Jeleel, C., Azooz, M., and Nabi, G. (2009). Generation of ROS and non-enzymatic antioxidants during abiotic stress in plants. *Bot Res Intern* 2, 11-20.

2. Bishop, D. L., and Bugbee, B. G. (1998). Photosynthetic capacity and dry mass partitioning in dwarf and semi-dwarf wheat (*Triticum aestivum* L.). *Journal of plant physiology* **153**, 558-565.
3. Cramer, G. R., Ergül, A., Grimplet, J., Tillett, R. L., Tattersall, E. A., Bohlman, M. C., Vincent, D., Sonderegger, J., Evans, J., and Osborne, C. (2007). Water and salinity stress in grapevines: early and late changes in transcript and metabolite profiles. *Functional & integrative genomics* **7**, 111-134.
4. Hasanuzzaman, M., Nahar, K., and Fujita, M. (2013). Plant response to salt stress and role of exogenous protectants to mitigate salt-induced damages. In "Ecophysiology and responses of plants under salt stress", pp. 25-87. Springer.
5. Ketchum, R. E., Warren, R. S., Klima, L. J., Lopez-Gutiérrez, F., and Nabors, M. W. (1991). The mechanism and regulation of proline accumulation in suspension cell cultures of the halophytic grass *Distichlis spicata* L. *Journal of plant physiology* **137**, 368-374.
6. Khawale, R., Singh, S., Patel, V., and Singh, S. (2003). Changes due to in vitro sodium chloride induced salinity in grape (*Vitis vinifera* L.). *Indian Journal of Plant Physiology* **8**, 378.
7. Le Dily, F., Billard, J.-P., Le Saos, J., and Huault, C. (1993). Effects of NaCl and gabaculine on chlorophyll and proline levels during growth of radish cotyledons. *Plant physiology and biochemistry* **31**, 303-310.
8. Matysik, J., Bhalu, B., and Mohanty, P. (2002). Molecular mechanisms of quenching of reactive oxygen species by proline under stress in plants. *Current Science* **82**, 525-532.
9. Rao, M., Jindal, P., and Dalal, M. (1991). In vitro effects of NaCl on leaf damage and chlorophyll content of grapes (*Vitis vinifera* L.). *Curr. Agric* **15**, 35-40.

Evaluate the impact of different levels of sodium chloride on content of proline and chlorophyll in some varieties of grapes

S. Sohrabi¹, A. Ebadi^{*2}, A. Salami³

1,2,3- M. Sc Student, Professor and Assistant Professor of Department of Horticultural Science, University college of Agriculture & Natural Resources, University of Tehran, Iran.

*Corresponding author: aebadi@ut.ac.ir

Abstract

Grape are often grown in semi-arid conditions where drought and salinity are the common problem in that areas. To evaluate the effect of different concentrations of sodium chloride (NaCl) on proline, chlorophyll and carotenoid contents in some grape varieties and rootstocks, a factorial experiment in a completely randomized design with three replications were conducted. The first factor was four levels of (NaCl); control (without adding sodium chloride), 25, 50 and 100 mM sodium chloride and the second factor was three varieties and one rootstocks of grapevine; Bidane sefid, Sefid fakhri, Yaghooti and 1103p, respectively. According to the results, the highest amount of proline was observed in sefid Fakhri when treated with 100 mM sodium chloride ($\mu\text{mole g}^{-1}$ F.W). 1103p, Yaghooti and Bidane sefid were placed after Sefid fakhri. The highest amount of chlorophyll a, b and carotenoid amounts were measured in control of Yaghooti; 37, 12 and 20 ($\mu\text{g g}^{-1}$ F.W) respectively, followed by 1103p, Sefid fakhri and Bidane sefid, respectively. Therefore, it can be concluded that the Sefid fakhri in terms of the amount of proline production and Yaghooti in chlorophyll and carotenoid production under stress conditions are more resistant than other varieties.

Key words: grapes, salinity, proline, chlorophyll a, chlorophyll b, carotenoid