تاثیر سدیم نیتروپروساید بر تحمل شوری کلریدسدیم در پایه گلابی پیرودوارف

مهری یوسفی[۱]، لطفعلی ناصری*[۲]، فریبرز زارع نهندی[۳]
[۱] دانشجوی دکتری گروه علوم باغبانی دانشگاه ارومیه
[۲] دانشیار گروه علوم باغبانی دانشگاه ارومیه
[۳] دانشیار گروه علوم باغبانی دانشگاه تبریز
*نویسنده مسئول:l.naseri@urmia.ac.ir

چکیده

نیتریک اکسید (NO) ملکول سیگنالدهی گازی است که در فرآیندهای فیزیولوژیکی مختلف از جمله در تنش‌های غیر زیستی نقش مهمی دارد. براین اساس آزمایشی روی پایه گلابی پیرودوارف (*Pyrus comunis*) اجرا شد تا کاربرد سدیم نیتروپروساید (SNP) به عنوان رهاکننده NO بر تعداد برگ‌ها، محتوای نسبی آب برگ (RWC)، آسیب‌های نشت الکترولیت (EL) و میزان پروتئین برگ‌های آن تحت تنش شوریNaCl مورد بررسی قرار گیرد. SNP در سطوح ۰، ۰/۱، ۰/۵ و ۱ میلی مولار و NaCl در غلظت های ۰، ۵۰، ۱۰۰ و ۱۵۰ میلی مولار از طریق سیستم ریشه ای همراه با محلول غذایی هوگلند استفاده شد. کاربرد NO بطور معنی داری منجر به افزایش تعداد برگ‌های پایه گلابی تحت تنش NaCl گردید و محتوای نسبی آب برگ ها را افزایش داد. تیمار بیرونی NO آسیب نشت الکترولیت غشای سلول‌های برگی (EL) پایه گلابی تحت شرایط تنش NaCl را کاهش داد و به طور معنی‌داری منجر به افزایش میزان پروتئین در برگ‌های آن گردید. در نتیجه NO خارجی از طریق حفظ محتوای پروتئین برگ‌ها، منجر به افزایش محتوای نسبی آب برگ، کاهش نشت الکترولیت و نهایتاً منجر به کاهش آسیب‌های ناشی از تنش شوری NaCl گردید.

کلمات کلیدی : *پروتئین، میزان آب نسبی برگ، کلریدسدیم، نیتریک اکسید، Pyrus communis*

مقدمه

گلابی از جنس *Pyrus* بومی نیمکره شمالی بوده و شامل بیش از ۲۰ گونه است. نیمی از گونه‌ها بومی اروپا، شمال آفریقا و آسیای صغیر بوده و نیم دیگر بومی آسیا هستند. این امر سبب ایجاد دو گروه از گلابی‌های اهلی شده است، گونه گوشت نرم اروپایی *Pyrus communis* و گونه گوشت ترد آسیایی عمدتاً از *P.pyrifolia* یا *P. serotina* می‌باشند. پایه‌های گلابی Pyrodwarf از جنس *P. communis* در سال ۱۹۸۱ در آلمان از تلاقی‌هایOld Home × Bonne LouisedArranches حاصل شد که به‌راحتی توسط قلمه، خوابانیدن و ریز ازدیادی تکثیر می‌شوند، این پایه دارای قدرت رشد کمتری از اکثر پایه‌های سریOHF بوده و میزان باردهی این پایه بیشتر از حد استاندارد است. پایه‌های گلابی وضعیت تغذیه‌ای قسمت هوایی گیاه را متأثر می‌سازند و انتخاب پایه مناسب می‌تواند اثرات مخرب شوری را اصلاح نماید (Francois and Maas, 1994). پژوهش میرعبدالباقی (۱۳۹۴) نشان داد که در پیوند ارقام گلابی درگزی، لوییزبون و ویلیام دوشس روی پایه های گلابی رقم OHF69 و پیرودوارف، پایه پیرودوارف در مقایسه با پایه OHF69 حساسیت بیشتری نسبت به شرایط شوری کلریدسدیم دارد.

شوری خاک مخصوصاً شوری ناشی از کلرید کلسیم یکی از مهمترین عوامل محدود کننده رشد و عملکرد گیاهان است، بخصوص در مناطقی که برای تولید محصول نیاز به آبیاری تکمیلی می‌باشد، زیرا آبیاری تکمیلی به مرور زمان منجر به افزایش شوری خاک می‌گردد. شوری خاک با برهم زدن تعادل یونی و روابط آبی گیاه، فعالیت‌های متابولیکی گیاه را مختل می‌سازد، و باعث تنش اکسیداتیو و بروز کمبود غذایی در گلابی می‌گردد و نهایتا فرآیندهای فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی درختان گلابی در معرض تنش تحت تاثیر قرار می گیرند. درختان گلابی به‌عنوان گیاهان حساس به شوری به شمار می‌آیند(Francois and Maas, 1994) . تحمل شوری گیاه می‌تواند با انتخاب مناسب پایه‌ها افزایش یابد(Francois and Maas, 1994). ارزیابی تحمل شوری پایه‌ها در بسیاری از میوه‌ها بررسی‌شده است. ممکن است گونه‌های متحمل‌تر به شوری به‌عنوان پایه برای تولید گلابی وجود داشته باشند. درحالی‌که درختان

IrHC2019

گلابی عموماً در نواحی که شوری خاک نسبتاً پایین است کشت می‌شوند، مسائل شوری ممکن است تحت شرایط بخصوصی شامل کشت در مناطق ساحلی و با استفاده از آبیاری یا کودآبیاری افزایش یابد، آب‌های شور می‌تواند برای آبیاری بخصوص در مناطقی با کمبود آب‌های شیرین برای پرورش گیاهان استفاده شود.شوری عملکرد گیاه را به علت اثرات منفی روی رشد گیاه، تعادل یون و روابط آبی متأثر می‌سازد. ترکیبات یونی و خاصیت اسمزی تنش شوری، مشابه دیگر تنش‌های غیر زیستی، منجر به تنش اکسیداتیو از طریق افزایش در تولید انواع گونه‌های اکسیژن فعال (ROS) و ناتوانی گیاه در مهار آن می‌گردد که درنهایت منجر به بروز تنش در غشاء سلول و بروز علائم ناشی از صدمات اکسیداتیو می‌شود.افزایش میزان رادیکال‌های فعال اکسیژن در گیاه باعث می‌شود که برای کاهش اثرات سمی تنش اکسیداتیو ناشی از شوری، مکانیسم‌های متنوعی در گیاه فعال شود. در این شرایط میزان آنتی‌اکسیدان‌ها افزایش‌یافته و آنزیم‌های مهارکننده ROS ها افزایش پیدا می‌کنند. در گیاهان، شوری منجر به آسیب پروتئین‌ها، لیپیدها و اسیدهای نوکلوئیک و تغییر در فتوسنتز و تنفس می‌شود که رشد و نمو گیاهان را متأثر می‌سازد. برای غلبه بر آسیب پروتئین‌ها، گیاهان مکانیسم حفاظتی متنوعی در مقابل تنش شوری شامل تعادل یونی، بیوسنتز اسمولیت‌ها، حذف گونه‌های اکسیژن فعال (ROS)، تغییر در ساختار غشا و القاء فعالیت‌های آنتی‌اکسیدان دارند (Tuteja, 2008).

نیتریک اکسید در حفاظت سلولی در مقابل سمیت گونه‌های اکسیژن فعال (ROS)، به عنوان واکنش دفاعی و تحمل به تنش‌های غیر زیستی عمل می‌کند. به صورت دقیق‌ترNO به‌عنوان پیام‌رسان ثانویه در گیاهان عمل می‌کند. استعمال خارجی NO تحمل به شوری را در مرکبات (Tanou*et al*. 2012) و گوجه‌فرنگی (Hayat *et al*. 2012) افزایش می‌دهد. هدف از این تحقیق بررسی میزان مقاومت پایه های گلابی پیرودوارف بااستفاده ازتیمارNOخارجی از طریق تاثیر برمحتوای پروتئین، EL، RWC و کاهش آسیب‌های ناشی از تنش شوری NaCl بود.

موادوروش‌ها

پایه‌های حاصل از کشت بافت Pyrodwarf از شرکت اروم زیست تاک تهیه شد و هر پایه به یک گلدان پلاستیکی با قطر دهانه ۲۷ و ارتفاع ۲۶ سانتی‌متر محتوی محیط کشت پرلت و ورمیکولیتبه نسبت حجمی (۱:۱) تحت شرایط سیستم گلخانه هیدروپونیک انتقال داده شد.گلدان با محلول غذایی هوگلند تغذیه شده و بعد از رشد رویشی ۲۰ تا ۳۰ سانتی‌متر ارتفاع گیاهان و گسترش سیستم ریشه‌ای پایه‌های گلابی در گلدان، تیمارهای سدیم نیتروپروساید (رها کننده نیتریک اکسید) و ۴۸ ساعت بعد تیمارهای شوری کلریدسدیم اعمال شد.طرح آزمایشی مورد استفاده در این پژوهش، به‌صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملا تصادفی با چهار تکرار اجرا شد.تیمارهای سدیم نیتروپروسایددر چهار سطح ۰، ۰/۱، ۰/۵ و ۱ میلی مولار همراه با محلول غذایی، مرحله اول تیمار ۴۸ ساعت قبل از اعمال تیمار شوری و مراحل بعد با فاصله ۲ هفته‌ای در سه مرحله اعمال گردید.تیمارهای شوری کلریدسدیم در غلظت‌های صفر، ۵۰، ۱۰۰ و ۱۵۰ میلی مولار همراه با محلول غذایی ۴۸ ساعت بعد از تیمار با سدیم نیتروپروساید اعمال شد.درمجموع ۱۶ تیمار سدیم نیتروپروسایدو کلریدسدیم در گلابی Pyrodwarf برای انجام پژوهش و چهار تکرار آزمایشی اجرا شد.برداشت نمونه‌های گیاهی به‌منظور بررسی پارامترها در هفته هفتم بعد از اعمال شوری انجام گرفت.

محتوای نسبی آب برگ بر اساس روش رپلین و همکاران (۱۹۹۷) اندازه‌گیری شد.

نشت الکترولیت بر طبق روش لوتس و همکاران (۱۹۹۶) اندازه‌گیری شد.

میزان پروتئین کل، به روش برادفورد (۱۹۷۶) با استفاده از سرم آلبومین گاوی به عنوان استاندارد اندازه‌گیری شد.

نتایج حاصل به کمک نرم افزار SPSS مورد تجزیه و تحلیل آماری قرار گرفت و میانگین داده ها با آزمون چند دامنه ای دانکن در سطح آماری پنج درصد مقایسه شد.

IrHC2019

نتایج وبحث

همانطور که نتایج نشان می‌دهد(جدول-۱) تعداد برگ‌های پایه‌های پیرودوارف تحت تنش شوری NaCl کاهش یافت و اعمال تیمار NO منجر به افزایش تعداد برگ‌های گیاهان تحت تنش NaCl گردید، کمترین تعداد برگ‌ها در گیاهان تحت NaCl ۱۵۰ mM بدون تیمار NO و بیشترین تعداد برگ‌ها در گیاهانی با تیمارSNP ۱ mM بدون تنش NaCl و یا NaCl ۵۰mM مشاهده گردید که نشان می‌دهد اعمال NO منجر به افزایش رشد گیاه می‌شود، چون با افزایش تعداد برگ‌ها، فتوسنتز بیشتر و پارامترهای رشدی بهبود می‌یابند.

تنش شوری NaCl (جدول-۱) به طور معنی‌داری منجر به کاهش محتوای آب نسبی برگ (RWC) در پایه گلابی پیرودوارف گردید و اعمال تیمار NO خارجی از کاهش RWC در برگ‌ها جلوگیری نمود و منجر به حفظ محتوای نسبی آب برگ‌ها شد. RWC در گیاهان تحت تنش NaCl با کاربردNO تفاوت معنی‌داری با گیاهان تحت تنش بدون تیمار NO داشتند.

افزایش تنش NaCl منجر به افزایش نشت الکترولیت سلول‌های برگی پایه‌های گلابی گردید و اعمال تیمار SNP تاثیر معنی-داری بر کاهش نشت الکترولیت برگ‌های پایه گلابی تحت تنش NaCl داشت. با افزایش غلظت NaCl نشت الکترولیت نیز افزایش یافت، بیشترین میزان نشت الکترولیت در برگ‌های پایه‌های گلابی تحت تنش NaCl ۱۵۰ mM بدون اعمال SNP مشاهده شد، کمترین نشت الکترولیت با اعمال SNP ۱ mM در گیاهان بدون تنش NaCl مشاهده شد (جدول-۱).

جدول ۱- تاثیر نیتریک اکسید خارجی بر تعداد برگ‌ها، محتوای آب نسبی برگ (RWC)، نشت الکترولیت (EL) و محتوای پروتئین برگ‌ها در پایه‌های گلابی پیرودوارف

تیمار	پروتئین	EL	RWC	تعداد برگ ها
mM۰NaCl,				
SNP ۰ mM	۱۲۴abc	۱۷/۰۰ef	۷۵ab	۲۸abc
SNP ۰/۱ mM	۱۳۲a	۱۶/۰۰ef	۷۹ a	۲۹ab
SNP ۰/۵ mM	۱۱۹abcd	۱۵/۰۰efg	۷۹ a	۳۱a
SNP ۱ mM	۱۲۳abc	۱۵/۰۰efg	۷۹a	۳۱a
mM۵۰NaCl,				
SNP ۰mM	۱۲۱abc	۲۸/۰۰fg	۶۷abc	۲۴cde
SNP ۰/۱ mM	۱۲۸ab	۲۴/۰۰cde	۷۰bc	۲۵cde
SNP ۰/۵ mM	۱۱۵cde	۲۳/۰۹ de	۷۳abc	۲۷bcdef
SNP ۱ mM	۱۱۹abcd	۲۲/۰۰de	۷۴abc	۳۰ab
mM۱۰۰NaCl,				
SNP ۰ mM	۱۱۲dfg	۳۲/۰۰b	۵۲ c	۱۹def
SNP ۰/۱ mM	۱۱۹abcd	۲۸/۲۱bc	۶۴bc	۲۵cde
SNP ۰/۵ mM	۱۰۷cde	۲۶/۱۳ c	۶۴bc	۲۸abc
SNP ۱ mM	۱۱۰de	۲۴/۰۸cd	۶۵bc	۲۸abc
mM۱۵۰NaCl,				
SNP ۰ mM	۱۰۹def	۴۳/۰۰a	۴۹ a	۱۶fg
SNP ۰/۱ mM	۱۱۶cdef	۳۳/۰۰ b	۵۷abc	۱۶fg
SNP ۰/۵ mM	۱۰۴fg	۳۲/۰۰ b	۵۸bc	۲۱cdef
SNP ۱ mM	۱۰۸efg	۳۱/۰۰b	۶۱ ab	۲۵cde

حروف انگلیسی متفاوت نشان دهنده معنی داری در سطح ۵٪ بر اساس آزمون دانکن است.

IrHC2019

تنش NaCl منجر به کاهش میزان پروتئین در برگ‌های گلابی پیرودوارف گردید و اعمال تیمار NO به طور قابل توجهی منجر به حفظ محتوای پروتئین در برگ‌ها شده و از کاهش محتوای آن تحت تنش NaCl جلوگیری نمود. کمترین محتوای پروتئین در گیاهان تحت تنش NaCl ۱۵۰ mM و بیشترین محتوای آن در گیاهان با اعمال تیمار NO بدون تنش نمک و یا سطح پایین تنش نمک مشاهده شد (جدول-۱).

آبیاری با شوری حدود ۵ دسی زیمنس بر متر فقط اندکی رشد گیاهان *pyrus communis* را بدون توجه به ژنوتیپ پایه کاهش داد که نشان می‌دهد برای دوره کوتاه، گلابی می‌تواند از لحاظ تحمل شوری موردتوجه باشد (Musacchi*et al.*, 2006). کاربرد خارجیNO منجر به افزایش تحمل گیاهان به تحت تنش شوری می‌شود (Tanou*et al.*, 2012). Fan و همکاران(۲۰۰۷) گزارش کردند که کاربرد ۱۰۰ میکرومولار SNP بازدارندگی رشد دانهال های خیار تحت تنش NaCl ۵۰ mM را کاهش داد و منجر به افزایش ارتفاع گیاهان تحت تنش NaCl گردید. در این آزمایش افزایش غلظت NO از ۰/۱ به ۰/۵ و ۱ میلی مولار، منجر به افزایش رشد بیشتر پایه‌های گلابی گردید و نشان داده شد که کاربرد NO خارجی اثرات زیان آور تنش شوری را کاهش داده و منجر به افزایش ارتفاع پایه‌های گلابی پیرودوارف در شرایط تنش NaCl شد که مطابق با یافته‌های سایر محققین می باشد.

تیمار NO خارجی می‌تواند اثرات مضر شوری روی رشد را بوسیله کاهش تولید رادیکال آزاد ناشی از شوری و آسیب غشاء کاهش دهد که در نتیجه تحمل تنش شوری را بهبود می‌بخشد (Fan *et al.*, 2007). کاربرد سدیم نیتروپروساید ۰/۱ mM در ذرت بطور معنی‌داری باعث کاهش نشت یونی گیاهان تحت تنش NaCl ۱۰۰ mM می شود. در این آزمایش نیز اعمال NO اگزوژن نشت الکترولیت غشای سلول‌های برگی تحت تنش NaCl را کاهش داد. با افزایش غلظت NO از ۰/۱ تا ۱ میلی مولار میزان نشت الکترولیت کاهش یافت و منجر به افزایش مقاومت گیاهان تحت تنش NaCl شد.

اعمال تیمار NO در گیاهان مرکبات تحت تنش NaCl منجر به حفظ محتوای پروتئین و از اکسیداسیون پروتئین در گیاهان مرکبات تحت تنش جلوگیری کرد که متعاقبا منجر به افزایش ترکیبات آنتی اکسیدان و کاهش آسیب‌های ناشی از شوری شد (Tanou*et al.*, 2012). بر طبق نتایج این آزمایش اعمال تیمار NO منجر به کاهش آسیب ناشی از شوری گردید.

منابع

میرعبدالباقی، م. (۱۳۹۶). تأثیرسطوحمختلفشوریدرفراسنجههایفیزیولوژیکیبرخیپایههاپیوندیگلابی، علوم باغبانی ایران، ۴۸(۲): ۳۵۶-۳۴۷.

Bradford, M.M. (1976). A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. Analytical Biochemistry, 72(1-2): 248-254.

Fan, H., Guo, S., Jiao, Y., Zhang, R. and Li, J. (2007). Effects of exogenous nitric oxide on growth, active oxygen species metabolism and photosynthetic characteristics in cucumber seedlings under NaCl stress. Frontiers of Agriculture in China; Dordrecht, 308– 314.

Francois, L.E. and Maas, E.V. (1994). Crop response and management on salt-affected soils. In: Pessarakli, M. (Ed.), Handbook of Plant and Crop Stress. Marcel Dekker, New York, 149-181.

Hayat, S. Yadav, S. Wani. A. S., Irfan, m., Alyemini, M. N. and Ahmad, A .(2012). Impact of sodium nitroprusside on nitrate reductase, proline content, and antioxidant system in tomato under salinity stress. Horticulture Environment and Biotechnology, 53:362–367.

Lutts, S., Kinet, J. and Bouharmont, J. (1996). NaCl-induced senescence in leaves of rice (Oryza sativa L.) cultivars differing in salinity resistance. Annals of botany, 78(3): 389-398.

Musacchi, S., Quartieri, M. and Tagliavini, M. (2006). Pear (*Pyrus communis*) and quince (*Cydoniaoblonga*) roots exhibit different ability to prevent sodium and chloride uptake when irrigated with saline water. European journal of agronomy, 24: 268–275.

Repellin, A., PhamThi, A.T., Tashakorie, A., Sahsah, Y., Daniel, C. and Zuily-Fodil, Y. (1997). Leaf membrane lipids and drought tolerance in young coconut palms (*Cocosnucifera* L.). European Journal of Agronomy, 6(1-2): 25-33.

Tanou, G., Filippou, P., Belghazi, M., Job, D., Diamantidis, G., Fotopoulos, V. and Molassiotis, A. (2012). Oxidative and nitrosative-based signalling and associated post-translational modifications orchestrate the acclimation of citrus plants to salinity stress. The plant journal, 72:585–599.

Tuteja, N. and Sopory, S.K. (2008). Chemical signaling under abiotic stress environment in plants. Plant signaling & behavior, 3(8):525–536.

The Effect of Sodium Nitroproside on the Tolerance of Sodium Chloride Salinity Stress in Pyrodwarf Pear Rootstock

Mehri yousefi[1], Lotfali Naseri [2]*, FariborzZaare-Nahandi [3]
[1]Ph.D Student of Horticultural Science, Urmia University, Urmia.
[2*] Associate Professor of Horticultural Science, Urmia University, Urmia.
[3] Department of Horticultural Sciences, Faculty of Agriculture, University of Tabriz, Tabriz.
[*]*Corresponding Author:* l.naseri@urmia.ac.ir

Abstract
Nitric oxide (NO) is an endogenous signaling molecule that plays a crucial role in various physiological processes. In this study, pyrodwarf pear (*Pyrus communis*) rootstock was grown by nutrient solution to investigate the effects of sodium nitroprusside (SNP) application as a NO donor at 0, 0.1, 0.5 and 1 mM levels under NaCl stress condition at 0, 50, 100, 150 mM concentrations, in order to evaluate the attributes including number of leaves, relative water content, electrolyte leakage and protein in pyrodwarf pear rootstocks. Application of NO significantly increased the number of leaves of pear rootstocks under NaCl stress and increased the relative water content of leaves. Exogenous NO reduced the damage caused by electrolyte leakage in membrane of the leaf cells under NaCl stress and significantly increased the amount of protein in the leaves of the pear rootstocks under stress. As a result, the exogenous NO, by maintaining the protein content of the leaves, leads to an increase in the relative water content of the leaves, reducing the electrolyte leakage, resulting in reduced damage caused by NaCl salinity stress.
Keywords: NaCl, Nitric Oxid, Protein, *Pyrus communis*, Relative water content of leaves

IrHC2019