



اثر شوری بر مقدار نیترات، پرولین و پروتئین‌های محلول در برگ پنج گونه مرکبات

عبدالحسین ابوطالبی جهرمی^{۱*} و حامد حسن‌زاده خانکهدانی^۲

^۱ گروه باغبانی، واحد جهرم، دانشگاه آزاد اسلامی، جهرم، ایران و ^۲ محقق بخش تحقیقات زراعی و باغی، مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی هرمزگان، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، بندرعباس، ایران.
نویسنده مسئول: aa84607@gmail.com

چکیده

تأثیر چهار سطح کلرید سدیم بر تغییرات مقدار نیترات، پرولین و پروتئین‌های محلول در برگ دانه‌های پنج گونه مرکبات شامل بکرایبی (*Citrus sp.*)، ولکامرلمون (*C. volkameriana*)، نارنج (*C. aurantium*)، لیموشیرین (*C. limetta*) و مکزیکن‌لایم (*C. aurantifolia*) به صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی در چهار تکرار در گلخانه مورد بررسی قرار گرفت. دانه‌های یک‌ساله گونه‌های مورد بررسی در گلدان‌های حاوی خاک آهکی (pH=8.2) کشت و آبیاری آن‌ها با آب آبیاری حاوی غلظت‌های صفر، ۲۰، ۴۰ و ۶۰ میلی‌مول در لیتر کلرید سدیم صورت گرفت. پس از انقضای مدت آزمایش، مقادیر نیترات، پرولین و پروتئین‌های محلول در برگ اندازه‌گیری شد. گونه‌های مورد آزمایش از نظر مقدار نیترات در برگ با هم اختلاف داشته و شوری باعث کاهش نیترات در برگ شد. کمترین مقدار پرولین در برگ گونه‌ها در تیمار شاهد بود و شوری منجر به افزایش مقدار پرولین در برگ شد. تحت تأثیر شوری مقدار پروتئین‌های محلول در برگ تا سطح مشخصی از شوری بسته به نوع گونه افزایش و با افزایش سطح شوری کاهش یافت.

کلمات کلیدی: مرکبات، شوری، پرولین، نیترات، پروتئین‌های محلول.

مقدمه

تحت تنش شوری جنبه‌های مختلفی از رشد و متابولیسم گیاهی تحت تأثیر قرار می‌گیرند. در این زمینه، فتوسنتز (Staples and Toenniessen, 1984)، احیاء نیترات (Polard and Wynjones, 1979) و به هم خوردن تعادل داخلی تنظیم‌کننده‌های رشد گیاهی (Shah and Loomis, 1965)، مهم‌ترین مواردی هستند که توسط پژوهشگران مورد بررسی قرار گرفته‌اند. همچنین در محیط‌های شور غلظت زیاد یون‌ها در محیط ریشه، روند جذب عناصر غذایی توسط ریشه را تحت تأثیر قرار می‌دهند (Bernal et al., 1994)، که این اثرات بیشتر به وجود غلظت‌های بالای یون‌های کلر و سدیم نسبت داده شده است (Abo-Kaseam et al., 1995). کاهش جذب آمونیوم و نیترات (Soliman et al., 1994)، نیز از جمله نمونه‌های اثرات منفی تنش شوری در ارتباط با جذب عناصر غذایی توسط گیاه است. تحت شرایط شوری، تراکم بیش از حد یون‌هایی چون سدیم و کلر باعث بروز سمیت این یون‌ها می‌شود. تحت این شرایط احیاء قندها افزایش یافته و مقدار نشاسته کم می‌شود. همچنین بر اثر اختلال در سنتز پروتئین و یا افزایش هیدرولیز پروتئین‌ها، مقدار پروتئین‌های محلول کاهش می‌یابد (Cheeseman, 1988). در تنظیم اسمزی، علاوه بر یون‌های معدنی مثل سدیم، کلسیم و پتاسیم، ترکیبات آلی شامل قندهای احیاء‌کننده، برخی اسیدهای آمینه به‌ویژه پرولین و ترکیبات آمینی نوع چهارم نقش دارند (Jeffries et al., 1979). افزایش مقدار پرولین و گلیسین‌بتاین، پاسخی برجسته و فیزیولوژیک در تعدادی از گیاهان عالی تحت تنش شوری است. گزارش‌های زیادی مبنی بر این که افزودن پرولین و گلیسین‌بتاین به محیط رشد گیاه موجب کمتر و یا خنثی‌شدن اثرات شوری شده است، وجود دارد (Lehle et al., 1992). تجمع پرولین در اثر تنش می‌تواند نتیجه کاهش در میزان ساخت پروتئین و یا افزایش در تبدیل پروتئین‌ها باشد (Goas et al., 1982; Perez-Alfocea et al., 1993). مرکبات از جمله محصولات مهم باغبانی در جهان است که از نظر تجارت جهانی بعد از موز در مقاوم دوم قرار دارد (Storey and Walker, 1999). این گیاهان با تحمل قابلیت هدایت الکتریکی عصاره اشباع خاک در محدوده ۱/۱-۳/۲ دسی‌زیمنس بر متر، جزء گیاهان حساس به شوری بوده به طوری که در شرایط شوری متوسط و بالا شدیداً خسارت می‌بینند. هدف از این پژوهش، بررسی رفتار پنج گونه مرکبات شامل بکرایبی، نارنج، لیموشیرین، مکزیکن‌لایم و ولکامرلمون، رشدیافته در خاک غالب منطقه جنوب (آهکی)، در رابطه با



تغییرات غلظت نیترات، پرولین و پروتئین‌های محلول در برگ تحت سطوح مختلف کلریدسدیم بوده است. این گونه‌ها در مناطق جنوبی کشور به‌عنوان گونه برای ارقام تجاری مرکبات و یا برخی از آن‌ها مثل نارنج، مکزیکن‌لایم و لیموشیرین به‌صورت مستقیم هم کشت می‌شوند.

مواد و روش‌ها

این آزمایش به‌صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی در ۴ تکرار روی دانهال‌های یک‌ساله ۵ گونه مرکبات، در گلخانه انجام گرفت. فاکتور شوری در چهار سطح صفر، ۲۰، ۴۰ و ۶۰ میلی‌مول در لیتر کلریدسدیم و دانهال‌ها در ۵ سطح شامل نارنج معمولی، مکزیکن‌لایم، لیموشیرین، ولکاملمون و بکرایی بود. دانهال‌های یک‌ساله و یکنواخت ۵ گونه فوق، در گلدان‌های ۵ لیتری حاوی خاک غالب منطقه جنوب با خصوصیات خاک آهکی کاشته شد. پس از استقرار دانهال‌ها (چهار ماه)، تیمارهای شوری اعمال شد. جهت اجتناب از ایجاد شوک ناشی از شوری، مقادیر نمک در هر یک از تیمارها تدریجاً به آب آبیاری اضافه شد تا نهایتاً پس از چهار دوره آبیاری، نمک مصرفی به اندازه تیمار مورد نظر رسید. از این مرحله به بعد، دانهال‌ها به مدت ۱۰ هفته تحت تیمار شوری قرار گرفتند. آبیاری دانهال‌های شاهد، تنها با آب آبیاری صورت گرفت. در خلال دوره آزمایش، هیچ گونه کودی مصرف نشد. آبیاری هر سه روز یک‌بار طوری انجام می‌شد که هیچ آبی از گلدان خارج نشود. در پایان آزمایش جهت اندازه‌گیری میزان پرولین، پروتئین و نیترات از هر دانهال، ۴ عدد برگ سالم و یکنواخت انتخاب شد. میزان پرولین در برگ تازه به روش بیتز و همکاران (Bohnert and Jensen, 1996) با اندکی تغییرات، میزان پروتئین در بافت تازه به روش برادفورد (Bradford, 1976) و میزان نیترات در بافت تازه به روش آگاباریا و همکاران (Agbaria et al., 1996) اندازه‌گیری شد. کلیه اطلاعات به‌دست آمده توسط نرم‌افزار MSTAT-C تجزیه و تحلیل آماری شد و میانگین‌ها توسط آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح یک درصد مورد مقایسه قرار گرفتند.

نتایج و بحث

اثر شوری بر میزان نیترات در برگ

مقایسه میانگین‌ها نشان داد که گونه‌های مورد آزمایش از نظر مقدار نیترات در برگ خود با هم اختلاف دارند. در تیمار شاهد بالاترین مقدار نیترات در برگ مکزیکن‌لایم و کمترین آن در برگ لیموشیرین بود. بر اثر شوری، مقدار نیترات بسته به سطح شوری و نوع گونه کاهش و یا افزایش یافت. به‌طور کلی بین تیمار شاهد و سایر تیمارها از نظر مقدار نیترات در برگ، اختلاف معنی‌دار وجود داشت و بالاترین مقدار نیترات در برگ گیاهان در تیمار شاهد بود. از مجموع تیمارها نیز بین گونه‌های مختلف اختلاف معنی‌دار در سطح یک درصد وجود داشت و ترتیب آن از بیشترین به کمترین به صورت مکزیکن‌لایم، نارنج، بکرایی، ولکاملمون و لیموشیرین بود (جدول ۱). با توجه به نتایج جدول ۱، رفتار گونه‌های مختلف مرکبات در رابطه با میزان نیترات چه در تیمار شاهد و چه سایر تیمارها متفاوت است که با نتایج به دست آمده توسط سرزو و همکاران (Cerezo et al., 1999) در مورد سایر ارقام مرکبات مطابقت دارد. همچنین با توجه به نتایج جدول ۱، می‌توان دریافت که جذب نیترات در نارنج و لیموشیرین خیلی کمتر از سایر گونه‌ها تحت تأثیر شوری قرار گرفته است. در مکزیکن‌لایم علی‌رغم آن که در مجموع تیمارها مقدار نیترات بیشتری دارد، جذب نیترات به مقدار خیلی زیادی تحت تأثیر شوری قرار گرفته و این زیادی به خاطر بالابودن جذب نیترات در گیاهان شاهد است. گزارش شده است که کاهش در میزان نیترات به احتمال زیاد به خاطر اثر بازدارندگی یون کلر بر جذب نیترات است، که این عمل ممکن است در محل‌های جذب و انتقال یون‌ها در ریشه رخ دهد (Pereza-Alfocea et al., 1993).



جدول ۱- اثر تیمارهای شوری بر مقدار نیترات (میلی گرم در گرم وزن تازه) در برگ گونه‌های مختلف مرکبات

میانگین	گونه‌ها					شوری (میلی مولار)
	نارنج	بکرایی	مکزیکن لایم	لیموشیرین	ولکاملمون	
۳۶/۹ ^A	۳۴/۳ ^a	۳۸/۴ ^a	۵۲ ^a	۲۸/۱ ^{ab}	۳۱/۶ ^{a†}	۰
۳۳/۹ ^B	۳۴/۸ ^a	۳۲/۳ ^b	۴۳/۲ ^b	۲۹/۶ ^a	۲۹/۵ ^{ab}	۲۰
۲۹ ^C	۳۳/۱ ^{ab}	۳۱/۳ ^{bc}	۲۸/۱ ^c	۲۷ ^b	۲۵/۸ ^c	۴۰
۲۵ ^D	۲۷/۱ ^c	۲۷/۱ ^d	۲۴/۲ ^{cd}	۲۳/۵ ^c	۲۲/۵ ^d	۶۰
	۳۲/۵ ^B	۳۲/۳ ^B	۳۶/۹ ^A	۲۷/۱ ^C	۲۷/۴ ^C	میانگین

† در هر ستون و ردیف پایین، میانگین‌های دارای حروف مشترک، در سطح ۱٪ آزمون دانکن اختلاف معنی‌دار ندارند.

اثر شوری بر مقدار پرولین در برگ

مقایسه میانگین‌ها نشان داد که گونه‌های مورد آزمایش در مقدار پرولین برگ با هم اختلاف دارند. در تیمار شاهد بالاترین مقدار پرولین در برگ لیموشیرین و کمترین آن در برگ مکزیکن لایم بود. شوری منجر به تغییراتی در مقدار پرولین برگ شد که میزان تغییرات بسته به نوع گونه و سطح شوری متفاوت بود. به‌طور کلی بین تیمار شاهد و سایر تیمارها از نظر مقدار پرولین برگ اختلاف معنی‌دار وجود داشت ولی بین شوری ۲۰ و ۶۰ میلی‌مولار اختلاف معنی‌دار مشاهده نشد. از مجموع تیمارها نیز بین گونه‌های مختلف اختلاف معنی‌دار وجود داشت و ترتیب آن از بیشترین به کمترین به صورت لیموشیرین، مکزیکن لایم و نارنج، بکرایی و ولکاملمون بود (جدول ۲). گزارش شده است که گونه‌های مختلف مرکبات در شرایط عادی رشد (بدون تنش)، دارای مقادیر متفاوت و کم پرولین در برگ‌های خود هستند (Nolte *et al.*, 1997) که با نتایج تحقیق حاضر در تیمار شاهد مطابقت دارد. براساس نتایج جدول ۲ با افزایش شوری میزان پرولین در برگ زیاد شده است که این افزایش تا شوری ۴۰ میلی‌مولار وجود داشته و با افزایش شوری به سطح ۶۰ میلی‌مولار میزان پرولین کاهش یافته است. افزایش میزان پرولین در نتیجه کاهش سنتز پروتئین‌ها و یا افزایش در تبدیل پروتئین‌ها است (Stewart and Lee, 1974).

جدول ۲- اثر تیمارهای شوری بر مقدار پرولین (میکرومول در گرم وزن تازه) در برگ گونه‌های مختلف مرکبات

میانگین	گونه‌ها					شوری (میلی مولار)
	نارنج	بکرایی	مکزیکن لایم	لیموشیرین	ولکاملمون	
۲۳/۹ ^C	۳۱/۹ ^c	۱۶/۷ ^d	۱۵/۵ ^d	۳۸/۵ ^{cd}	۱۷ ^{d†}	۰
۳۷/۴ ^B	۴۲/۲ ^b	۳۵/۶ ^b	۴۳/۷ ^b	۴۲/۴ ^c	۲۳/۱ ^c	۲۰
۵۳/۹ ^A	۶۲/۳ ^a	۴۵ ^a	۷۵/۳ ^a	۵۴/۱ ^b	۳۲/۹ ^{ab}	۴۰
۳۸/۶ ^B	۲۶/۲ ^d	۲۰/۹ ^c	۲۹/۵ ^c	۷۹/۹ ^a	۳۶/۸ ^a	۶۰
	۴۰/۶ ^B	۲۹/۶ ^C	۴۱ ^B	۵۳/۷ ^A	۲۷/۵ ^C	میانگین

† در هر ستون و ردیف پایین، میانگین‌های دارای حروف مشترک، در سطح ۱٪ آزمون دانکن اختلاف معنی‌دار ندارند.

اثر شوری بر مقدار پروتئین‌های محلول در برگ

مقایسه میانگین‌ها نشان داد که گونه‌های مورد آزمایش از نظر مقدار پروتئین‌های محلول در برگ با هم اختلاف دارند. در تیمار شاهد مقدار پروتئین‌های محلول در برگ گونه‌های مختلف اندکی تفاوت داشت و از این نظر بین بکرایی و لیموشیرین با نارنج، مکزیکن لایم و ولکاملمون اختلاف معنی‌دار وجود داشت. کمترین میزان پروتئین‌های محلول در برگ گیاهان شاهد وجود داشت و بر اثر شوری مقدار پروتئین‌های محلول در برگ همه گونه‌ها افزایش یافت لیکن میزان افزایش بسته به نوع گونه متفاوت بود. به‌طور کلی از مجموع تیمارها بین تیمار شاهد و سایر تیمارها از نظر افزایش مقدار پروتئین‌های محلول در برگ اختلاف معنی‌دار وجود داشت و از مجموع تیمارها نیز بین گونه‌های مختلف اختلاف معنی‌دار وجود داشت و ترتیب آن از بیشترین به کمترین به صورت ولکاملمون، بکرایی، مکزیکن لایم، نارنج و لیموشیرین بود (جدول ۳). با توجه به نتایج جدول ۳، مقدار پروتئین‌های محلول بر اثر اعمال تیمارهای شوری تا شوری ۴۰ میلی‌مولار افزایش یافته و با افزایش سطح شوری، کاهش یافته است. مشاهدات زیادی مبنی بر این که مقدار و غلظت برخی از پروتئین‌های گیاهی در زمان وقوع تنش تغییر



می‌یابند، وجود دارد. این تغییرات در شرایط تنش گرما (Cooper and Ho, 1983) و تنش ناشی از زخم (Theillet *et al.*, 1982) دیده شده‌اند. همانند نتایج این آزمایش، در آزمایش Gueta-Dahan و همکاران (۱۹۹۷)، شوری منجر به افزایش میزان برخی پروتئین‌ها در مرکبات شده است.

جدول ۳- اثر تیمارهای شوری بر مقدار پروتئین‌های محلول (میلی‌گرم در گرم وزن تازه) برگ گونه‌های مختلف مرکبات

میانگین	گونه‌ها					شوری (میلی‌مولار)
	نارنج	بکرایی	مکزیکن لایم	لیموشیرین	ولکاملمون	
۶۶/۳ ^C	۶۳/۱ ^c	۶۵/۴ ^d	۶۴/۹ ^c	۶۶/۱ ^c	۷۱/۶ ^{d†}	۰
۷۵/۶ ^B	۷۵/۱ ^b	۷۴/۷ ^b	۷۸/۱ ^b	۷۳/۳ ^b	۷۶/۹ ^c	۲۰
۸۶/۱ ^A	۳/۸۷ ^a	۸۳/۶ ^a	۸۶/۳ ^a	۸۱/۹ ^a	۹۱/۳ ^a	۴۰
۶۴/۱ ^D	۵۴/۳ ^d	۷۰/۷ ^c	۵۵/۱ ^d	۵۷/۹ ^d	۸۳/۴ ^b	۶۰
	۶۹/۹ ^D	۷۳/۶ ^B	۷۱/۱ ^C	69.8 ^D	۸۰/۸ ^A	میانگین

† در هر ستون و ردیف پایین، میانگین‌های دارای حروف مشترک، در سطح ۱٪ آزمون دانکن اختلاف معنی‌دار ندارند.

منابع

- Abo-Kaseam, E., Sharaf-Eldin, A. and Foda, E.A. 1995. Synergistic effect of cadmium and NaCl on growth, photosynthesis and ion content in wheat plants. *Biologia plantarum.*, 37: 241-249.
- Agbaria, H., Hever, B. and Zieslin, N. 1996. Shoot-root interaction effects on nitrate reductase and glutamine synthetase activities in rose (*Rosa hybrida* cvs. Ilseta and Mercedes) graftlings. *Journal of Plant Physiology.*, 149: 559-563.
- Bernal, C.T., Bingham, F.T. and Dertil, J. 1974. Salt tolerance of Mexican wheat. II. Relation of variable sodium chloride and length of growing season. *Soil Science Society of America Journal.*, 38: 777-780.
- Bohnert, H.J. and Jensen, R.G. 1996. Strategies for engineering water stress tolerance in plants. *Trends in Biotechnol.*, 14: 89-97.
- Bradford, M.M. 1976. A rapid sensitive method for quantification of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Ann. Biochem.*, 72: 248-254.
- Cerezo, M., Garcia-Agustin, P., Serna, M.D. and Primo-Millo, E. 1999. Influence of chloride and transpiration on net 15 NO₃ uptake rate by citrus roots. *Annals of Botany*, 84: 117-120.
- Cheeseman, J.M. 1988. Mechanisms of salinity tolerance in plants. *Plant Physiol.*, 84: 547-550.
- Cooper, P. and Ho, T.H.D. 1983. Heat shock Proteins in maize. *Plant Physiol.*, 71: 215-222.
- Goas, G., Goas, M. and Larher, F. 1982. Accumulation of free proline and glycine betaine in *Aster tripolium* subjected to a saline shock: A Kinetic study related to light period. *Physiologia Plantarum*, 55: 383-388.
- Gueta-Dahan, Y., Yaniv, Z., Zilinskas, B.A. and Ben-Hayyim, G. 1997. Salt and oxidative stress: similar and specific responses and their relation to salt tolerance in citrus. *Planta*, 203: 460-469.
- Jeffries, R.L., Rudmik, T. and Dillon, E.M. 1979. Responses of halophytes to high salinities and low water potentials. *Plant Physiology.*, 64: 989-994.
- Lehle, F.R., Chen, F. and Wendt, K.R. 1992. Enhancement of NaCl tolerance in *Arabidopsis thaliana* by exogenous L-asparagin and D-asparagin. *Physiologia Plantarum*, 84: 223-228.
- Nolte, K.D., Hanson, A.D. and Gage, D.A. 1997. Proline accumulation and methylation to proline betaine in citrus: Implications for genetic engineering of stress resistance. *Journal of the American Society for Horticultural Science.*, 121: 8-13.
- Pereza-Alfocea, F., Estan, M.T., Santa Cruz, A. and Bolarin, M.C. 1993. Effects of salinity on nitrate, total nitrogen, soluble protein and free amino acid levels in tomato plants. *Journal of horticultural science.*, 68: 1021-1027.
- Polard, A. and Wynjones, R.G. 1979. Enzyme activities in concentrated solution of glycine-betaine and other solutes. *Planta*, 144: 291-298.
- Shah, C.B. and Loomis, R.S. 1965. Ribonucleic acid and protein metabolism in sugarbeet during drought. *Physiologia plantarum*, 18: 240-254.
- Soliman, M.S., Shatabi, H.G. and Campbell, W.F. 1994. Interaction of salinity, nitrogen and phosphorus fertilization on wheat. *Journal of plant nutrition.*, 17: 1163-1173.
- Staples, R.C. and Toenniessen, G.H. 1984. Salinity tolerance in plant. Strategies for crop improvement. John Wiley and Sons. New York. 365p.
- Stewart, G.R. and Lee, J.A. 1974. The role of proline accumulation in halophytes. *Planta*, 120: 279-289.
- Storey, R. and Walker, R.R. 1999. Citrus and salinity. *Scientia Horticulturae.*, 78: 39-81.
- Theillet, C., Delpeyroux, F., Fiszman, M., Relgner, P. and Esnault, R. 1982. Influence of the excision shock on the protein metabolism of *Vigna faloa* L. meristematic root cells. *Planta*, 155: 478-485.



Effect of salinity on nitrate, proline and soluble protein levels in five citrus species

Abdolhossein Aboutalebi Jahromi^{1*} and Hamed Hassanzadeh Khankahdani²

¹Horticulture Department, Jahrom Branch, Islamic Azad University, ²Horticulture Crop Research Departments, Agricultural and Natural Resources Research and Education Center, AREEO, Bandar Abbas.

*Corresponding Author: aa84607@gmail.com

Abstract

Effects of four NaCl levels on nitrate, proline and soluble protein levels in seedlings of five citrus species namely: Bakraei (*Citrus* sp.), Volkamer lemon (*C. volkameriana*), Sour orange (*C. aurantium*), Sweet lime (*C. limetta*) and Mexican lime (*C. aurantifolia*), were studied in a glasshouse, using a factorial experiment in randomized completely design with four replications. One-year old seedlings of each species were grown in pots, containing native soil (pH=8.2) and irrigated with water supplemented with (control), 20, 40 and 60 mM NaCl. At the end of experiment, levels of nitrate, proline and protein in leaves were determined. Levels of nitrate, proline and protein varied among species even in control plants (no salt). Control plants had high levels of nitrate and had low levels of proline in leaves. Salinity decreased levels of nitrate in leaves of all species. Proline levels were increased in leaves with increased salinity levels. Under salinity stress, soluble protein levels were increased in leaves of all species but decreased at high salinity level.

Keywords: Citrus, Nitrate, Proline, Salinity, Soluble proteins.

