تأثیر متدهای کشت بر شاخص های جوانه زنی بذر و رشد گیاهچه، پراکسیداسیون لیپید ونشت پذیری غشا سلولی در خیارچنبر(*Cucumis melo var. Flexousus*) تحت تنش نیکل

مریم منتظری[1]، فریبا امینی.Ph.D[2]*

1-دانشجوی کارشناسی ارشد فیزیولوژی گیاهی، دانشگاه اراک، اراک.2-گروه زیست شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه اراک،کدپستی8349-8-38156

*پست الکترونیک نویسنده مسئول: F-Amini@araku.ac.ir

چکیده

به منظور بررسی مقایسه تاثیر پیش تیمار بذور خیار چنبر تحت تنش نیکل($NiCl_2.7H_2O$) با پرولین و افزودن پرولین به محیط کشت بذر، گروهی از بذور پس از استریل ابتدا در 10mM پرولین خیسانده وسپس در غلظت های مختلف نیکل(۰،۰/۲،۰/۴،۰/۶mM) کشت گردیدند وگروه دیگر پس از استریل وپیش تیمار با آب مقطر، در غلظت های مختلف نیکل(۰،۰/۲،۰/۴،۰/۶ mM) و 10mMپرولین کشت داده شدند. تمام بذور به مدت 10 روز در شرایط کنترل شده قرار داده شدند و پس از آن پارامترهای جوانه زنی بذور و رشد گیاهچه، پراکسیداسیون لیپید و نشت پذیری غشا اندازه گیری شد. نتایج نشان داد که با افزایش غلظت نیکل، بطور معنی داری($p<0/05$)، خیساندن موجب کاهش کمتر شاخص بنیه بذر و طول ریشه چه شد ولی پیش تیمار نتوانست باعث بهبود طول ساقه چه، پراکسیداسیون لیپید و نشت پذیری غشا شود و افزودن پرولین به محیط کشت اثر بهتری در این سه پارامتر داشت.

کلمات کلیدی: پرولین، جوانه زنی، پراکسیداسیون لیپید، نشت پذیری غشا، خیار چنبر.

مقدمه

خیار چنبر (*Cucumis melo var. flexousus*) یکی از 5 واریته جدا شده از جنس *Cucumis melo* می باشد(11) که متعلق به خانواده Cucurbitaceae است(9).

نیکل یکی از فراوان ترین آلوده کننده های فلز سنگین محیط است(17). این فلز یک ریز مغذی ضروری برای رشد گیاهان است(8) که در غلظت های اضافی برای اکثریت گونه های گیاهی سمی می باشد(13). این سمیت می تواند موجب کاهش جوانه زنی یا نمواولیه گیاهچه(16)، رشد ریشه و بیومس، کلروز و در نهایت مرگ گیاه شود(15). همچنین فلزات سنگین در غلظت های اضافه می توانند از طریق اتم های اکسیژن یا هیستیدین، تریپتوفان و گروه های تیروزین پلی پپتیدها به غشا متصل شوند(10) و بدین ترتیب لیپیدها ، پروتئین ها و آنزیم های غشا را تغییر دهند(14) و موجب پراکسیداسیون لیپید و آسیب های غشا شوند. تجمع مالون دی آلدیید یکی از نشانه های پراکسیداسیون لیپید است(6). بررسی نشت پذیری غشای سلولی می تواند بیانگر میزان تخریب غشای سلولی باشد(12).

پیش تیمار به بذور اجازه انجام برخی پروسه های متابولیکی لازم و ضروری برای جوانه زنی را می دهد(5). از جمله مواد مورد استفاده برای پیش تیمار می توان به اسمولیت های سازگار مثل پرولین، گلیسین بتائین و... اشاره کرد که در کاهش اثرات تنش قابل توجه بوده اند(3). در مورد تفاوت دو متد پیش تیمار بذر با پرولین و افزودن پرولین به محیط کشت، در خیار چنبر تحت تنش نیکل اطلاعاتی گزارش نشده است لذا این مطالعه با هدف بررسی دو متد کشت پیش تیمار بذر با پرولین و افزودن پرولین به محیط

کشت در میزان مقاومت این گیاه نسبت به تنش نیکل با بررسی پارامترهای جوانه زنی بذور و رشد گیاهچه، پراکسیداسیون لیپید و نشت پذیری غشا در خیار چنبر طراحی و انجام گردید.

مواد و روش ها

بذرهای خیارچنبر با الکل 70% و هیپوکلریت سدیم 2% استریل و با آب مقطر شستشو داده شدند. سپس بذرها به دو گروه تقسیم شدند. یک گروه به مدت 24ساعت در 10mM پرولین و در تاریکی(دمای 3±22 درجه سانتیگراد) قرار داده شدند. سپس ابتدا به مدت 48 ساعت در تاریکی(دمای3± 22درجه سانتیگراد)وسپس در داخل انکوباتور با 16 ساعت روشنایی(دمای3±22 درجه سانتیگراد) و8 ساعت تاریکی، روی کاغذ صافی مرطوب حاوی غلظت های ۰،۰/۲،۰/۴،۰/۶mM نیکل درون پتری استریل کشت داده شدند. نمونه های شاهد با آب مقطر پیش تیمار گردیدند. گروه دوم به مدت 24 ساعت در آب مقطر تیمار گردیدند و همزمان با گروه قبل و مشابه آن گروه کشت گردیدند با این تفاوت که به محیط کشت این گروه 10mM پرولین نیز اضافه گردید. میزان نور در طول کشت $180\mu molm^{-2}s^{-1}$ و رطوبت70% تنظیم گردید. پس از 10 روزگیاهچه ها برداشت شدند و پارامترهای میانگین مدت جوانه زنی(7)، شاخص و سرعت و درصد جوانه زنی، شاخص بنیه بذر(1)، طول و وزن تر و خشک ریشه چه و ساقه چه، پراکسیداسیون لیپید و نشت پذیری غشا(2) اندازه گیری شد.

آزمایش ها بصورت طرح کاملاً تصادفی در قالب فاکتوریل و با دو فاکتور نیکل در 4 سطح و پرولین در 2 سطح با سه تکرار انجام شد. نتایج آزمایشات با استفاده از نرم افزار آماری SPSS ۱۶ مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت.در صورت معنی دار بودن داده ها، میانگین شاخص های اندازه گیری با استفاده از آزمون دانکن گروه بندی شدند.

نتایج وبحث

نتایج تجزیه واریانس نشان داد که نوع روش کشت اثر معنی داری بر میانگین مدت جوانه زنی، شاخص و سرعت و درصد جوانه زنی، ، وزن تر و خشک ساقه چه و ریشه چه نداشته و تنها روی شاخص بنیه بذر، طول ساقه چه و ریشه چه، پراکسیداسیون لیپید و نشت پذیری غشا اثر معنی داری داشته است(جدول1) بطوریکه با افزایش غلظت نیکل، پیش تیمار پرولین باعث کاهش کمتر طول ریشه چه و شاخص بنیه بذر نسبت به نمونه های شاهد شده است(جدول2). اما درمورد طول ساقه چه، پراکسیداسیون لیپید و نشت پذیری غشا افزودن پرولین به محیط کشت مؤثرتر بوده است بطوریکه با افزایش غلظت نیکل، افزودن پرولین در محیط کشت باعث کاهش کمتر طول ساقه چه (جدول2) و همچنین افزایش کمتر پراکسیداسیون لیپید و نشت پذیری غشا گردیده است(شکل1). محققین دریافتند که پیش تیمار بذور باعث یکنواختی جوانه زنی و افزایش درصد جوانه زنی و بهبود رشد اولیه می شود. آن ها بهبود این پارامترها را به بازسازی متابولیکی طی خیساندن و سازگاری اسمتیکی نسبت می دهند(4). این مطالعه نیز نشان داد که پیش تیمار بذور با پرولین تنها توانسته روی بعضی پارامترهای اولیه رشد اثر مثبتی ایجاد کند در حالی که افزودن پرولین به محیط کشت با وجود تاثیر یکسان بر پارامترهای جوانه زنی بذر با پیش تیمار پرولین، بر شاخص های فیزیولوژیک گیاه که می تواند موجب مقاومت بهتر نسبت به تنش نیکل در گیاه گردد اثر مثبتی داشته است که این می تواند ناشی از در معرض بودن پرولین و گیاه به مدت طولانی تری باشد.

جدول1: تجزیه واریانس تاثیر روش استعمال پرولین بر شاخص های جوانه زنی بذر، رشد گیاهچه، پراکسیداسیون لیپید و نشت پذیری غشا در گیاهچه خیار چنبر تحت تنش نیکل:

منبع تغییر	میانگین مدت جوانه زنی	شاخص جوانه زنی	سرعت جوانه زنی	درصد جوانه زنی (%)	شاخص بنیه بذر	طول ریشه چه (cm)	طول ساقه چه (cm)

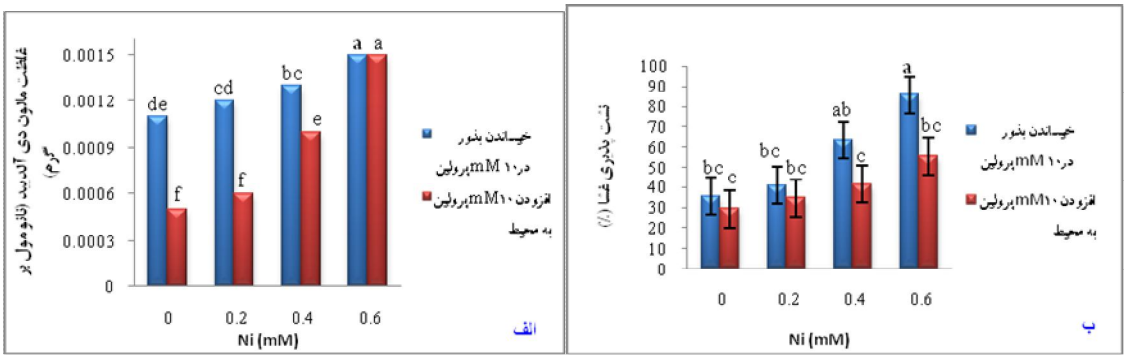
نیکل	0/904^{ns}	1/437^{ns}	1/437^{ns}	1/437^{ns}	25/000**	45/826**	52/405**	2/122**
روش کشت	18/905**	25/000**	25/000**	25/000**	10/896**	88/729**	403/216**
روش کشت * نیکل	0/110^{ns}	0/125^{ns}	0/125^{ns}	0/125^{ns}	7/044**	3/504*	73/213**

ادامه

منبع تغییر	وزن تر ریشه چه (g)	وزن تر ساقه چه (g)	وزن خشک ریشه چه (g)	وزن خشک ساقه چه (g)	غلظت مالون دی آلدیید (نانومول بر گرم)	نشت پذیری غشای سلولی (%)
نیکل	10/656**	10/320**	11/872**	0/815^{ns}	50/173**	5/935**
روش کشت	8/477**	15/321**	9/851**	21/209**	70/704**	4/610*
روش کشت * نیکل	2/936^{ns}	2/025^{ns}	2/391^{ns}	0/216^{ns}	8/691**	3/237*

جدول2: مقایسه میانگین تاثیر روش استعمال پرولین بر شاخص بنیه بذر، طول ریشه چه و ساقه چه در گیاهچه خیار چنبر تحت تنش نیکل:

سطوح تنش نیکل (mM)	روش تیمار بذور با پرولین خارجی	شاخص بنیه بذر	طول ریشه چه (cm)	طول ساقه چه (cm)
0	پیش تیمار	13/877±0/914 a	11/423± 0/643 a	3/5167± 0/058 b
	افزودن به محیط	6/627± 0/914 b	6/627± 0/643 b	5/2567± 0/058 a
0/2	پیش تیمار	5/450± 0/914 b	9/553± 0/643 a	3/1400± 0/058 d
	افزودن به محیط	4/603± 0/914 b	3/937± 0/643 c	2/1600± 0/058 c
0/4	پیش تیمار	1/487± 0/914 c	6/060± 0/643 b	0/4500± 0/058f
	افزودن به محیط	1/140± 0/914 c	1/140± 0/643 d	0/8567± 0/058 e
0/6	پیش تیمار	0/800± 0/914 c	2/503± 0/643 d	0/2600± 0/058 g
	افزودن به محیط	0/717± 0/914 c	0/717± 0/643 d	0/4233± 0/058 fg



شکل1: اثر روش استعمال پرولین بر پراکسیداسیون لیپید(الف) و نشت پذیری غشا(ب) در گیاهچه خیار چنبر تحت تنش نیکل

حروف مشابه از نظر آماری($p<0/05$) اختلاف معنی داری را نشان نمی دهد.

منابع:

۱. شریعت، آ.، م. ح. عصاره و ع. قمری زارع. 1389. اثر کادمیم بر برخی پارامترهای فیزیولوژی در *Eucalyptus occidentalis*. مجله علوم و فنون کشاورزی و منابع طبیعی، علوم آب و خاک.14(53): 153_145.

۲. فرهودی، ر. 1391. اثر تنش شوری بر فعالیت آنزیم آلفا آمیلاز،نشت پذیری غشا سلولی و رشد گیاهچه ارقام کلزا. فرایند و کارکرد گیاهی. 1(1): 24_13.

۳. Akinci, I.E., and Akinci, S. ۲۰۱۰. Effect of chromium toxicity on germination and early seedling growth in melon (*Cucumis melo* L.). African Journal of Biotechnology. ۹(۲۹): ٤٥٨٩-٤٥٩٤.

٤. Basra, S.M.A., M. Farooq, H. Rehman, and B.A. Saleem. ٢٠٠٧. Improving the Germination and Early Seedling Growth in Melon (*Cucumis melo* L.) by Pre-sowing Salicylicate Treatments. International Journal of Agriculture and Biology. ٩(٤): ٥٥٠-٥٥٤.

٥. Basra, S.M.A., M. Farooq, K. Hafeez and N. Ahmad. ٢٠٠٤. Osmohardening: A new technique for rice seed invigoration. Int.Rice Res. Notes. ٢٩: ٨٠–١.

٦. Dixit V., V. Pandey, R. Shyam. ٢٠٠١. Differential antioxidative responses to cadmium in roots and leaves of pea. Journal of Experimental Botany. ٥٢(٣٥٨): ١١٠١-١١٠٩.

٧. Ellis, R.A., and E.H. Roberts. ١٩٨١. The quantification of ageing and survival in orthodox seeds. Seed Science and Technology. ٩: ٣٧٣–٤٠٩

٨. Fernandes, J.C., and F.S. Henriques. ١٩٩١. Biochemical, physiological, and structural effects of excess copper in plants, The Botanical Review. ٥٧: ٢٤٦-٢٧٣.

٩. Jeffrey, C. ١٩٩٠. Systematics of the Cucurbitaceae: an overview. Biology and Utilization of the Cucurbitaceae. ٤٤٩–٤٦٣. Bates D.M., Robinson, R. W., and Jeffrey C., Eds., Cornell University Press, Ithaca, NY.

١٠. Maksymiec, W. ٢٠٠٧. Signaling responses in plants to heavy metal stress. Acta Physiol Plant. ٢٩:١٧٧-٨٧.

١١. Munger, H.M., R.W. Robinson. ١٩٩١. Nomenclature of *Cucumis melo* L. Cucurbit Genet Coop Reports. ١٤: ٤٣-٤٤.

١٢. Munns, R., and R.A. James. ٢٠٠٣. Screening methods for salinity tolerance: a case study with tetraploid wheat. Plant and Soil. ٢٥٣: ٢٠١-٢١٨.

١٣. Pandey, N., C.P. Sharma. ٢٠٠٢. Effect of heavy metals $Co^{٢+}$, $Ni^{٢+}$ and $Cd^{٢+}$ on growth and metabolism of cabbage. Plant Science. ١٦٣(٤): ٧٥٣-٧٥٨.

١٤. Ros, R., A. Morales, J. Segura, I. Picazo. ١٩٩٢. In vivo and in vitro effects of nickel and cadmium on the plasmalemma ATPase from rice (*Oryza sativa* L.) shoots and roots. Plant Science. ٨٣: ١-٦.

١٥. Scoccianti, V., R. Crinelli, B. Tirillini, V. Mancinelli, A. Speranza . ٢٠٠٦. Uptake and toxicity of Cr(III) in celery seedlings. Chemosphere. ٦٤: ١٦٩٥-١٧٠٣.

١٦. Sharma, D.C., C. Chatterjee, C.P. Sharma. ١٩٩٥. Chromium accumulationby barley seedlings (*Hordeum vulgare* L.). Journal of Experimental Botany. ٢٥: ٢٤١-٢٥١.

١٧. Wo-Niak, K., J. Basiak. ٢٠٠٣. Free radicals-mediated induction of oxidized DNA-bases and DNA protein cross-links by nickel chloride. Mutat Res/Gen Toxicol Environ Mutagen. ٥١٤(١-٢): ٢٣٣-٢٤٣.

Effect of Different Culture Method on Seed Germination Parameters, Lipid Peroxidation and Cell Membrane Leakage in *Cucumis melo var. Flexousus* Under Nickel stress

M. Montazeri[١], F.Amini Ph.D.[٢*]

١-MS.c student of plant physiology. ٢-Dept. of Biology, Faculty of Science ,Arak University, Arak_Iran., ٣٨١٥٦-٨-٨٣٤٩

Abstract

For study the effect of two culture methods to germination and growth parameters of *Cucumis melo var. Flexousus* seeds under nickel($NiCl_٢.٧H_٢O$) stress, a group of seeds soaked in ١٠mM proline after strilled and then cultured in different concentration of nickel(٠٠٠/٢٠٠/٤٠٠/٦mM). other group of seeds, cultured in different concentration of nickel(٠٠٠/٢٠٠/٤٠٠/٦mM) and ١٠mM proline after strilled. All of seeds kept for ١٠ days in control condition then measured seed germination and seedling growth parameters, lipid peroxidation and cell membrane leakage. The results showed that with increasing nickel concentration, pretreatment reduced less vigor index and root length significantly($p<0,05$), but pretreatment coudn't improve shoot length, lipid peroxidation and membrane leakage and adding proline to media had more positive effect on these three parameters.

Keywords: proline, germination, lipid peroxidation, membrane leakage, *Cucumis melo*