اثر پرولین خارجی بر مقاومت گیاهچه خیار چنبر(*Cucumis melo* var. flexousus) تحت تنش نیکل

مریم منتظری [1]، فریبا امینی [2*]
1- دانشجوی کارشناسی ارشد فیزیولوژی گیاهی، دانشگاه اراک، اراک. 2- گروه زیست شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه.
*پست الکترونیک نویسنده مسئول: F-Amini@araku.ac.ir

چکیده

در این تحقیق به منظور بررسی پاسخ گیاه نسبت به تنش نیکل($NiCl_2.7H_2O$) و بهبود احتمالی این تنش توسط پرولین، بذور خیارچنبر پس از استریل در غلظت های مختلف نیکل(0,0/2,0/4,0/6mM) و پرولین(0,10mM) کشت و به مدت 10 روز در شرایط کنترل شده قرار داده شدند و پس از آن پارامترهای جوانه زنی بذر و رشد گیاهچه، پراکسیداسیون لیپید و نشت پذیری غشا اندازه گیری شدند. نتایج نشان داد که با افزایش غلظت نیکل، بطور معنی داری($p<0/05$) شاخص بنیه بذر، طول ریشه چه و ساقه چه، وزن تر ریشه چه و ساقه چه و وزن خشک ریشه چه کاهش و پراکسیداسیون لیپید و نشت پذیری غشا افزایش یافت. افزودن پرولین بطور معنی داری باعث کاهش کمتر طول ریشه چه، وزن تر ریشه چه، شاخص بنیه بذر و همچنین افزایش کمتر پراکسیداسیون لیپید و نشت پذیری غشا شد. پرولین با بهبود برخی شاخص های اندازه گیری شده موجب مقاومت بهتر گیاهچه در برابر تنش نیکل گردیده است.

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

Effect of Exogenous Proline on tolerance of *Cucumis melo var. flexousus* Under Nickel Stress

M. Montazeri[1], F.Amini Ph.D.[2*]
1-Dept. of Biology Science ,Arak University, Arak_Iran. 2- Dept. of Biology Science ,Arak University, Arak_Iran, 38156-8-8349

In this investigation for study the reaction of this plant to nickel stress ($NiCl_2.7H_2O$) and probably improvement of this stress by exogenous proline, seeds of *Cucumis melo var. flexousus* strilled and cultured in different concentrations of nickel(0,0/2,0/4,0/6mM) and proline(0,10mM) and kept for 10 days in control condition.Then measured germination parameters, lipid peroxidation and cell membrane leakage. The results showed that with increasing nickel concentrations, vigor index, root and shoot length,fresh weight of root and shoot,dry weight of root significantly ($p<0.05$) reduced and lipid peroxidation and cell membrane leakage increased.The addition of exogenous proline significantly reduced less root length, fresh weight of root, vigor index and increased less lipid peroxidation and cell membrane leakage too. Exogenous proline by improving some measured parameters, increased tolerance of seedlings to nickel stress.

Keywords*:* Nickel, proline, Germination, lipid peroxidation, cell membrane leakage, *Cucumis melo*

مقدمه

نیکل یکی از عناصر ضروری برای گیاهان است که در مقادیر زیاد موجب بروز سمیت می شود(5). فرآیند جوانه زنی و استقرار گیاهچه اولین مرحله فیزیولوژیک است که تحت تاثیر فلزات سنگین قرار می گیرد. توانایی جوانه زنی بذور بر روی محیط حاوی فلزات سنگین نشان دهنده مقاومت آن ها به فلز سنگین می باشد(3). نیکل تولید انواع اکسیژن های فعال(ROS) را تحریک می کند(9). ROS با حمله به پلی اسیدهای چرب غیراشباع لیپیدهای غشا موجب پراکسیداسیون لیپیدهای غشا می شود. تجمع مالون دی آلدیید یکی از نشانه های پراکسیداسیون لیپید است(6). از دیگراثرات تنش های محیطی از جمله تنش فلزات سنگین بر سلامت گیاهان، تخریب غشاهای سلولی است. بررسی نشت پذیری غشای سلولی می تواند بیانگر میزان تخریب غشای سلولی باشد(14).

چندین استراتژی برای کاهش میزان آسیب سلولی حاصل از تنش های غیرزیستی پیشنهاد شده است که تحمل گیاهان به تنش را بهبود می بخشد. در بین آن ها استعمال اسمولیت های سازگار مثل پرولین، گلیسین بتائین و... در کاهش اثرات تنش قابل توجه تر بوده است(4). خیار چنبر (*Cucumis melo var. flexousus*) یکی از 5 واریته جدا شده از جنس *Cucumis melo* می باشد(13) که در مورد میزان مقاومت این گیاه نسبت به تنش نیکل اطلاعات زیادی گزارش نشده است لذا این مطالعه با هدف بررسی میزان

مقاومت این گیاه نسبت به این تنش با بررسی اثر تنش نیکل بر پارامترهای جوانه زنی بذر و رشد گیاهچه، پراکسیداسیون لیپید، نشت پذیری غشا و اثر پرولین خارجی بر این پارامترها در خیار چنبر طراحی و انجام گردید.

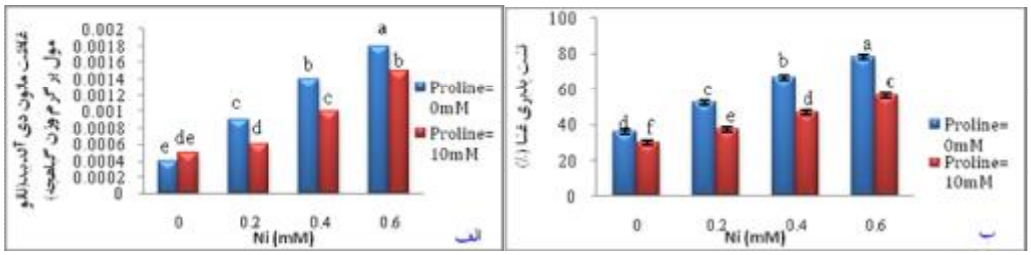
مواد و روش ها

بذرهای خیارچنبر، با الکل 70% و هیپوکلریت سدیم 2% استریل و با آب مقطر شستشو داده شدند. جوانه زنی بذرها ابتدا به مدت48 ساعت در تاریکی(دمای3±22درجه سانتیگراد) وسپس در داخل انکوباتور با 16 ساعت روشنایی(دمای3±25 درجه سانتیگراد) و8 ساعت تاریکی روی کاغذ صافی مرطوب حاوی غلظت های 0,0/2,0/4,0/6mM نیکل و 0,10mM پرولین درون پتری استریل کشت داده شدند. 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(8)، شاخص جوانه زنی، سرعت جوانه زنی، درصد جوانه زنی، شاخص بنیه بذر(1)، طول ریشه چه و ساقه چه، 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 با استفاده از نرم افزار آماری SPSS 16 مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت. در صورت معنی دار بودن داده ها، میانگین شاخص های اندازه گیری شده با استفاده از آزمون دانکن گروه بندی شدند.

نتایج وبحث

نتایج تجزیه واریانس داده ها نشان داد که تنش نیکل اثر معنی داری روی شاخص بنیه بذر، طول ریشه چه و ساقه چه، وزن تر ریشه چه و ساقه چه، وزن خشک ریشه چه، پراکسیداسیون لیپید و نشت پذیری غشا داشت(جدول1) بطوریکه افزایش غلظت نیکل موجب افزایش پراکسیداسیون لیپید و نشت پذیری غشا گردید(جدول2). نیکل تولید انواع اکسیژن های فعال(ROS) را تحریک می کند(9). ROS با لیپیدها، پروتئین ها، رنگیزه ها و اسیدهای نوکلئیک ترکیب می شود و سبب پراکسیداسیون لیپید و آسیب های غشا می گردد(7). افزایش نیکل باعث کاهش پارامترهای جوانه زنی شد(جدول2)، البته اثر معنی داری روی سرعت جوانه زنی، میانگین مدت جوانه زنی، درصد جوانه زنی، شاخص جوانه زنی و وزن خشک ساقه چه نداشته است(جدول1). Das et al. (1978) اثر کلرید نیکل (10^{-1} M_10^{-6}) را بر سرعت جوانه زنی، طول ریشه چه و ساقه چه در بذور برنج مورد مطالعه قرار داد و دریافت که تجمع کم نیکل محرک است در حالیکه تجمع زیاد آن بازدارنده می باشد. احتمالا در این مطالعه غلظت های نیکل کافی برای تغییر معنی دار کلیه پارامترهای اندازه گیری شده نبوده است. همچنین نتایج نشان داد که نیکل و پرولین خارجی اثر معنی داری روی طول ریشه چه، وزن تر ریشه چه، شاخص بنیه بذر، پراکسیداسیون لیپید و نشت پذیری غشا داشت (جدول1) بطوریکه با افزایش غلظت نیکل، پرولین خارجی موجب افزایش کمتر پراکسیداسیون لیپید و نشت پذیری غشا گردید (شکل1). استعمال پرولین خارجی، تحمل تنش را بهبود می بخشدکه این احتمالا می تواند از طریق تنظیم پروتئین های حفاظت کننده تنش، کاهش پراکسیداسیون لیپید و تثبیت غشا باشد(11). با افزایش غلظت نیکل، پرولین خارجی موجب کاهش کمتر طول و وزن تر ریشه چه و شاخص بنیه بذرشد(جدول3). پرولین می تواند بعنوان کلاتور فلزات سنگین عمل کند یا شکل گیری فیتوکلاتین ها را القا نماید و بدین ترتیب سمیت فلزات سنگین را کاهش دهد(10).



شکل1. اثر نیکل و پرولین خارجی بر پراکسیداسیون لیپید(الف) و نشت پذیری غشا(ب) گیاهچه خیار چنبر.

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

جدول1. تجزیه واریانس تاثیر نیکل و پرولین خارجی بر شاخص های جوانه زنی بذر، رشد گیاهچه، پراکسیداسیون لیپید و نشت پذیری غشا در گیاهچه خیار چنبر

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	$1/334^{ns}$	$2/400^{ns}$	$2/400^{ns}$	$2/400^{ns}$	$92/660^{**}$	$157/201^{**}$	$52/957^{**}$
پرولین خارجی	$2/974^{ns}$	$2/800^{ns}$	$2/800^{ns}$	$2/800^{ns}$	$5/002^{*}$	$8/457^{**}$	$12/805^{**}$
پرولین * نیکل	$0/499^{ns}$	$0/857^{ns}$	$0/857^{ns}$	$0/857^{ns}$	$14/884^{**}$	$25/166^{**}$	$2/461^{ns}$

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 (نانو مول بر گرم وزن گیاهچه)	نشت پذیری غشای سلولی (%)
نیکل	$64/293^{**}$	$10/869^{**}$	$12/123^{**}$	$1/355^{ns}$	$211/704^{**}$	$256/659^{**}$
پرولین خارجی	$7/022^{*}$	0.000^{ns}	$0/772^{ns}$	$0/959^{ns}$	$43/556^{**}$	$286/76^{**}$
پرولین * نیکل	$19/726^{**}$	$2/363^{ns}$	$2/637^{ns}$	$0/610^{ns}$	$9/333^{**}$	$14/339^{**}$

** و * معنی دار در سطح 1 درصد و 5 درصد آماری ns : فاقد ارتباط معنی دار آماری

جدول2. مقایسه میانگین تاثیر تنش نیکل بر شاخص های جوانه زنی بذر، رشد گیاهچه، پراکسیداسیون لیپید و نشت پذیری غشا در گیاهچه خیار چنبر

سطوح تنش نیکل (mM)	وزن تر ریشه چه (g)	وزن تر ساقه چه (g)	وزن خشک ریشه چه (g)	شاخص بنیه بذر	طول ریشه چه (cm)	طول ساقه چه (cm)
0	0/91± 0/034 a	1/11± 0/093 a	0/040± 0/003 a	12/47± 0/430 a	12/49± 0/330 a	3/66± 0/183 a
0/2	0/29± 0/034 b	0/53± 0/093 b	0/020± 0/003 b	3/14± 0/430 b	2/48± 0/330 b	1/80± 0/183 b
0/4	0/09± 0/034 c	0/28± 0/093 b	0/002± 0/003 bc	0/73± 0/430 c	0/73± 0/330 c	0/34± 0/183 c
0/6	0/04± 0/034 c	0/19± 0/093 b	0/007± 0/003 c	0/57± 0/430 c	0/57± 0/330 c	0/29± 0/183 c

ادامه

سطوح تنش نیکل (mM)	غلظت مالون دی آلدیید (نانو مول بر گرم وزن گیاهچه)	نشت پذیری غشا سلولی (%)
0	0/00050± 0/00 d	33/1350± 1/920 d
0/2	0/00078± 0/00 c	44/9183± 1/920 c
0/4	0/0012± 0/00 b	56/9450± 1/920 b
0/6	0/0016± 0/00 a	67/1433± 1/920 a

جدول3. مقایسه میانگین تاثیر نیکل و پرولین خارجی بر شاخص بنیه بذر و شاخص رشد گیاهچه خیار چنبر

سطوح تنش نیکل (mM)	سطوح پرولین خارجی (mM)	طول ریشه چه (cm)	وزن تر ریشه چه (g)	شاخص بنیه بذر
0	0	12/49± 0/467 a	0/91± 0/049 a	12/49± 0/608 a
	10	6/63± 0/467 b	0/37± 0/049 b	6/63± 0/608 b
0/2	0	2/48± 0/467 d	0/29± 0/049 b	3/14± 0/608 c
	10	3/94± 0/467c	0/42± 0/049 b	4/60± 0/608 c
0/4	0	0/73± 0/467 e	0/09± 0/049 c	0/73± 0/608 d
	10	1/14± 0/467 de	0/09± 0/049 c	1/14± 0/608 d
0/6	0	0/57± 0/467 e	0/04± 0/049 c	0/57± 0/608 d
	10	0/71± 0/467 e	0/05± 0/049 c	0/72± 0/608 d

مقادیر موجود در جداول خطای استاندارد± میانگین می باشد. در هر ستون میانگین های با حروف مشابه از نظر آماری($p<0/05$) اختلاف معنی داری را نشان نمی دهد.

در مجموع می توان نتیجه گرفت که پرولین خارجی در غلظت های مناسب می تواند اثر سوء فلزات سنگین را کاهش دهد.

منابع

1. 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.
2. 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.
3. Akinci, I.E., and Akinci, S. 2010. Effect of chromium toxicity on germination and early seedling growth in melon (*Cucumis melo* L.). African Journal of Biotechnology. 9(29): 4589-4594.
4. Ashraf, M., and M.R. Foolad. 2007. Roles of glycinebetaine and proline in improving plant abiotic stress tolerance. Environment Experimental Botany. 59: 206-216.
5. Brown, P.H., R.M. Welch, E.E. Cary. 1987. Nickel: a micronutrient essential for higher plants. Plant Physiology. 85: 801-803.
6. Chen, L.M., C.C. Lin, C.H. Kao. 2000. Copper toxicity in rice seedlings: Changes in antioxidataive enzyme activities, H_2O_2 level, and cell wall peroxidase activity in roots. Bot Bull Acad Sin. 41(2): 99- 110.
7. Dixit V., V. Pandey, R. Shyam. 2001. Differential antioxidative responses to cadmium in roots and leaves of pea. Journal of Experimental Botany. 52(358): 1101-1109.
8. Ellis, R.A., and E.H. Roberts. 1981. The quantification of ageing and survival in orthodox seeds. Seed Science and Technology. 9: 373–409.
9. Gajewska, E., M. Sklodowska. 2007. Effect of nickel on ROS content and antioxidative enzyme activities in wheat leaves. BioMetals. 20(1): 27-36.
10. Hayat, Sh., Q. Hayat, M. Alyemeni, A. Wani, J. Pichtel, and A. Ahmad. 2012. Role of proline under changing environment. Plant Signaling And Behavior. 7: 311-330.
11. Islam, M.M., A. Hoque, E. Okuma, N. Akhter Banu, Y. Shimoishi, Y. Nakamura, Y. Murata . 2009. Exogenous proline and glycinebetaine increase antioxidant enzyme activities and confer tolerance to cadmium stress in cultured tobacco cells. Journal of Plant Physiology. 166: 1587-1597.
12. Jeffrey, C. 1990. Systematics of the Cucurbitaceae: an overview. Biology and Utilization of the Cucurbitaceae. 449–463
13. Munger, H.M., R.W. Robinson. 1991. Nomenclature of *Cucumis melo* L. Cucurbit Genet Coop Reports. 14: 43-44.
14. Munns, R., and R.A. James. 2003. Screening methods for salinity tolerance: a case study with tetraploid wheat. Plant and Soil. 253: 201-218.