اثرات فیزیولوژیکی نیتریک اکسید بر روی گیاه گوجه‌فرنگی تحت شرایط تنش شوری کلریدسدیم

مهری یوسفی*، وحید نصراله زاد ه اصل
هیئت‌علمی گروه علوم کشاورزی، دانشگاه پیام نور، ایران
*نویسنده مسئول:*pnumehr_yoosefi@yahoo.com*

چکیده

نیتریک اکسید (NO) یک مولکول سیگنال دهی گازی است که در فرآیندهای فیزیولوژیکی مختلف ازجمله در تنش‌های زیستی و غیر زیستی نقش مهمی دارد. به راین اساس آزمایشی روی گیاهان گوجه‌فرنگی اجرا شد تا کاربرد سدیم نیتروپروساید (SNP) به‌عنوان رها کننده نیتریک اکسید بر ارتفاع گیاهان، کلروفیل نسبی، آسیب‌های نشت الکترولیت (EL)، محتوای نسبی آب برگ‌ها (RWC)، محتوای پروتئین و پرولین برگ‌ها تحت تنش شوری کلریدسدیم موردبررسی قرار گیرد. در این تحقیق پس از رشد نشاءهای گوجه‌فرنگی، گیاهان با اعمال نیتریک‌اکسید در سطوح صفر و ۰/۱ میلی مولار و کلریدسدیم در غلظت‌های صفر، ۵۰ و ۱۰۰ میلی مولار از طریق سیستم ریشه‌ای همراه با محلول غذایی هوگلند تیمار شدند. کاربرد نیتریک‌اکسید به‌طور معنی‌داری منجر به افزایش ارتفاع گیاهان، میزان کلروفیل و محتوای نسبی آب برگ‌ها گردید. تیمار نیتریک‌اکسید آسیب نشت الکترولیت غشای سلول‌های برگی (EL) گیاهان گوجه‌فرنگی تحت شرایط تنش کلریدسدیم را کاهش داد و به‌طور معنی‌داری منجر به افزایش میزان محتوای پروتئین در برگ‌های گیاهان در معرض تنش شوری گردید. محتوای پرولین در گیاهان تحت تنش افزایش یافت و اعمال تیمار نیتریک اکسید منجر به افزایش بیشتر پرولین برگ‌ها گردید. درنتیجه اعمال تیمار نیتریک‌اکسید در غلظت ۰/۱ میلی مولار از طریق حفظ محتوای پروتئین برگ‌ها و افزایش بیشتر محتوای پرولین، منجر به افزایش محتوای نسبی آب برگ، کاهش نشت الکترولیت و نهایتاً منجر به کاهش آسیب‌های ناشی از تنش شوری کلریدسدیم گردید.

واژه‌های کلیدی: تنش، پرولین، کلریدسدیم، گوجه‌فرنگی، نیتریک اکسید.

مقدمه

گوجه‌فرنگی *(Solanum lycopersicum L.)* ازجمله محصولات مهم کشاورزی است و متعلق به خانواده سواناسه است که به شکل‌های مختلفی توسط مردم ایران و جهان مصرف می‌شود. تنش شوری بر مراحل مختلف رشد گیاه گوجه‌فرنگی از زمان جوانه‌زنی بذر تا رسیدن میوه اثر می‌گذارد و با تأثیر بر تعادل اسمزی و فعالی فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی گیاه باعث کاهش محصول می‌شود. 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 اسمولیت¬ها، حذف گونه‌های اکسیژن فعال، تغییر در ساختار غشا و القاء فعالیت‌های آنتی‌اکسیدان دارند(Noctor and Foyer, 1998) .

نیتریک اکسید در حفاظت سلولی در مقابل سمیت گونه‌های اکسیژن فعال (ROS) به‌عنوان واکنش دفاعی و تحمل به تنش‌های غیر زیستی عمل می کند. به‌صورت دقیق تر نیتریک اکسید به‌عنوان پیام‌رسان ثانویه در گیاهان عمل می‌کند. استعمال خارجی نیتریک

اکسید تحمل به شوری را در دانهال های خیار (Fan *et al*., 2013) و گوجه‌فرنگی (Hayat *et al*. 2012; Manai et al., 2014) افزایش می‌دهد. هدف از این تحقیق بررسی میزان مقاومت گیاهان گوجه‌فرنگی رقم نیوتون با استفاده ازتیمار نیتریک اکسید خارجی از طریق تأثیر بر محتوای پروتئین، EL، RWC و کاهش آسیب¬های ناشی از تنش شوری کلریدسدیم بود.

مواد و روش‌ها

آزمایش به‌صورت فاکتوریل با دو فاکتور که فاکتور اول تیمار شوری کلرید سدیم در سطوح صفر، ۵۰ و ۱۰۰ میلی مولار و فاکتور دوم تیمار نیتریک اکسید در سطوح صفر و ۰/۱ میلی مولار همراه با محلول غذایی ۱/۲ هوگلند از طریق سیستم ریشه‌ای گیاهان گوجه‌فرنگی رقم نیوتون در سه تکرار اجرا شد. نشاهای گوجه‌فرنگی پس از ۱۰ روزبه گلدان‌های پلاستیکی با قطر دهانه ۲۷ و ارتفاع ۲۶ سانتی‌متر محتوی محیط کشت پرلیت و ورمیکولیت به نسبت حجمی (۱:۱) تحت شرایط سیستم گلخانه هیدروپونیک انتقال داده شد. به‌منظور اعمال شوری، ۱۲ روز بعد از انتقال نشاها، تیمارهای سدیم نیتروپروساید (رها کننده نیتریک اکسید) و ۴۸ ساعت بعد تیمارهای شوری کلریدسدیم اعمال شد. طرح آزمایشی مورداستفاده در این پژوهش، به‌صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار اجرا شد. تیمارهای سدیم نیتروپروسایددر سطوح صفر و ۰/۱ میلی مولار همراه با محلول غذایی، مرحله اول تیمار ۴۸ ساعت قبل از اعمال تیمار شوری و مراحل بعد بافاصله ۲ هفته‌ای در سه مرحله اعمال گردید. تیمارهای شوری کلریدسدیم در غلظت‌های صفر، ۵۰ و ۱۰ میلی مولار همراه با محلول غذایی ۴۸ ساعت بعد از تیمار با سدیم نیتروپروساید اعمال و چهار تکرار آزمایشی اجرا شد. حدود دو ماه پس از اعمال تیمارها، شاخص‌هایی نظیر ارتفاع گیاه، نشت الکترولیت، محتوای نسبی آب برگ، شاخص کلروفیل نسبی (SPAD index) و محتوای پرولین اندازه‌گیری شدند.

محتوای نسبی آب برگ (Repellin *et al*., 1997)، نشت الکترولیت برگ (Lutts *et al*., 1996) اندازه‌گیری شدند. محتوای پروتئین با استفاده ازسرم آلبومین گاوی به‌عنوان استاندارد ارزیابی شد (Bradford *et al*., 1976) و محتوای پرولین (Bates *et al*., 1973) اندازه‌گیری شد.

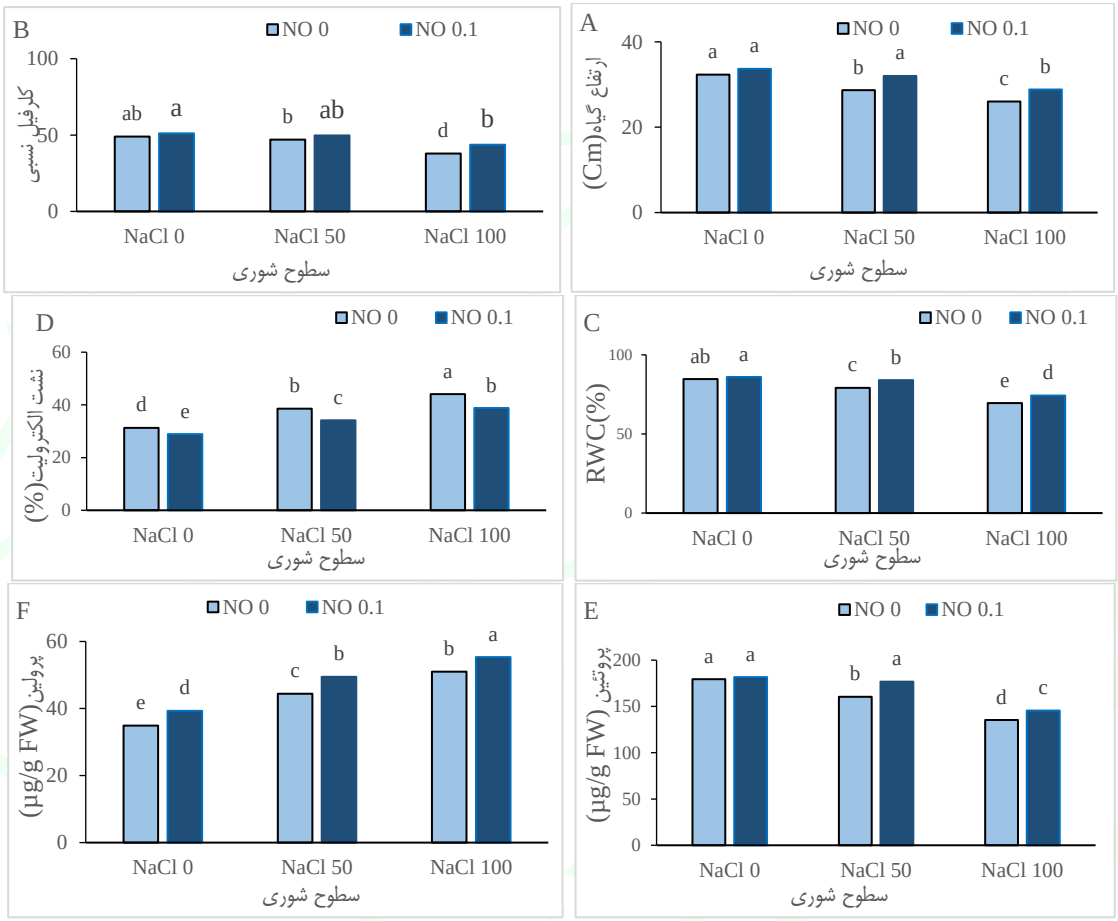
نتایج حاصل به کمک نرم‌افزار SPSS مورد تجزیه‌وتحلیل آماری قرار گرفت و میانگین داده‌ها با آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح آماری پنج درصد مقایسه شد.

نتایج و بحث

همان‌طور که نتایج نشان می‌دهد (شکل A–۱) ارتفاع بوته‌های گوجه‌فرنگی تحت تنش شوری کلریدسدیم کاهش یافت و اعمال تیمار نیتریک اکسید منجر به افزایش ارتفاع گیاهان تحت تنش گردید، کمترین ارتفاع گیاهان تحت کلریدسدیم ۱۰۰ میلی مولار بدون تیمار نیتریک اکسید و بیشترین ارتفاع در گیاهانی با تیمار نیتریک اکسید بدون تنش مشاهده گردید که تفاوت معنی‌داری را با گیاهان تیمار شده نیتریک اکسید تحت تنش ۵۰ میلی مولار کلریدسدیم نداشتند که نشان می‌دهد اعمال تیمار نیتریک اکسید منجر به افزایش رشد گیاه می‌شود، چون با افزایش ارتفاع گیاه، پارامترهای رشدی و فتوسنتز بیشتر و متعاقباً عملکرد بهبود می‌یابد. محتوای کلروفیل نسبی با افزایش تنش شوری کلریدسدیم در برگ‌های گوجه‌فرنگی کاهش یافت و کاربرد تیمار نیتریک اکسید به‌طور معنی‌داری منجر به افزایش میزان کلرفیل نسبی برگ‌ها در گیاهان در معرض تنش کلریدسدیم گردید (شکل B–۱). محتوای نسبی آب برگ (RWC) تحت تنش شوری کلریدسدیم کاهش یافت. اعمال تیمار نیتریک اکسید از کاهش RWC در برگ‌ها جلوگیری نمود و منجر به حفظ محتوای نسبی آب برگ‌ها شد. RWC در گیاهان تحت تنش کلریدسدیم ۵۰ میلی مولار با کاربرد نیتریک اکسید تفاوت معنی‌داری با گیاهان تحت تنش بدون تیمار نیتریک اکسید داشتند (شکل C–۱).

همان‌طور که در شکل (D–۱) مشاهده می‌شود، افزایش تنش کلریدسدیم منجر به افزایش نشت الکترولیت سلول‌های برگی گیاهان گوجه‌فرنگی گردید و اعمال تیمار نیتریک اکسید تأثیر معنی‌داری بر کاهش نشت الکترولیت برگ‌های گوجه‌فرنگی تحت تنش کلریدسدیم داشت. با افزایش غلظت کلریدسدیم نشت الکترولیت نیز افزایش یافت، بیشترین میزان نشت الکترولیت در برگ‌های گیاهان

تحت تنش کلریدسدیم ۱۰۰ میلی مولار بدون اعمال نیتریک اکسید مشاهده شد، کمترین نشت الکترولیت با کاربرد نیتریک اکسید در گیاهان بدون تنش کلریدسدیم مشاهده شد (شکل ۱-).



شکل ۱- تیمار نیتریک اکسید در سطوح صفر و ۰/۱ میلی مولار بر خصوصیات ارتفاع گیاهان گوجه‌فرنگی، میزان کلروفیل، محتوای نسبی آب برگ، نشت الکترولیت، محتوای پروتئین و پرولین برگ‌های گیاهان گوجه‌فرنگی تحت تنش شوری کلریدسدیم در غلظت‌های صفر، ۵۰ و ۱۰۰ میلی مولار. حروف غیرمشابه نشان‌دهنده تفاوت معنی‌دار در سطح احتمال ۵٪ بر اساس آزمون چند دامنه‌ای دانکن.

تنش کلریدسدیم منجر به کاهش میزان پروتئین در برگ‌های گیاهان گوجه‌فرنگی گردید و اعمال تیمار نیتریک اکسید به‌طور معنی‌داری منجر به حفظ محتوای پروتئین در برگ‌ها شده و از کاهش محتوای آن در برگ‌های گیاهان در معرض تنش جلوگیری نمود. کمترین محتوای پروتئین در گیاهان تحت تنش کلریدسدیم ۶۰ میلی مولار و بیشترین محتوای آن در گیاهان با اعمال تیمار نیتریک اکسید بدون تنش نمک و یا سطح پایین تنش نمک مشاهده شد (جدول E-۱). محتوای پرولین در برگ‌های گیاهان گوجه‌فرنگی تحت تنش ولی افزایش یافت و با افزایش غلظت شوری بیشتر شد. اعمال تیمار نیتریک اکسید منجر به افزایش بیشتر محتوای پرولین در برگ‌های گیاهان تحت تنش شوری گردید (شکل F-۱).

کاربرد خارجی NO منجر به افزایش تحمل گیاهان به تحت تنش شوری می‌شود (Tanou *et al.*, 2012). Fan و همکاران (۲۰۰۷) گزارش کردند که کاربرد ۱۰۰ میکرومولار نیتریک اکسید بازدارندگی رشد دانهال های خیار تحت تنش ۵۰ میلی مولار کلریدسدیم را کاهش داد و منجر به افزایش رشد رویشی گیاهان تحت تنش کلریدسدیم گردید. در گیاهان توت‌فرنگی تحت تنش شوری کلریدسدیم اعمال تیمار نیتریک اکسید منجر به افزایش پارامترهای رشدی گیاه گردید (Kaya *et al.*, 2019). اعمال تیمار نیتریک اکسید منجر به افزایش محتوای نسبی آب برگ در گیاهان گوجه‌فرنگی تحت تنش شوری گردید (Manai *et al.*, 2014) که مطابق با نتایج این

آزمایش است. نیتریک اکسید اگزوژن می‌تواند اثرات مضر شوری روی رشد گیاهان را به‌وسیله کاهش تولید رادیکال آزاد ناشی از شوری و آسیب غشاء کاهش دهد که درنتیجه تحمل تنش شوری را بهبود می‌بخشد (Fan *et al.*, 2007). کاربرد سدیم نیتروپروساید mM ۰/۱ در ذرت به‌طور معنی‌داری باعث کاهش نشت یونی گیاهان تحت تنش کلریدسدیم می‌شود. در این آزمایش نیز اعمال NO اگزوژن نشت الکترولیت غشای سلول‌های برگی تحت تنش کلریدسدیم را کاهش داد و منجر به افزایش تحمل گیاهان تحت تنش کلریدسدیم شد.

کاربرد تیمار نیتریک اکسید در گیاهان گوجه‌فرنگی (Manai *et al.*, 2014) تحت تنش شوری کلریدسدیم با افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان از تخریب پروتئین در گیاهان جلوگیری نمود و منجر به افزایش تحمل گیاهان تحت تنش شوری گردید. اعمال تیمار نیتریک اکسید در گیاهان مرکبات تحت تنش کلریدسدیم منجر به حفظ محتوای پروتئین و از اکسیداسیون پروتئین در گیاهان مرکبات تحت تنش جلوگیری کرد که متعاقباً منجر به افزایش ترکیبات آنتی‌اکسیدان و کاهش آسیب‌های ناشی از شوری شد (Tanou *et al.*, 2012). بر طبق نتایج این آزمایش اعمال تیمار نیتریک اکسید منجر به کاهش آسیب ناشی از شوری در گیاهان گردید. پرولین یکی از عمومی‌ترین اسمولیت ها در گیاهان تحت تنش است و به‌عنوان حذف‌کننده رادیکال آزاد عمل می‌کند که منجر به حفظ سلول در برابر آسیب اکسیداتیو می‌شود. اعمال تیمار نیتریک اکسید محتوای پرولین را در گیاهان گوجه‌فرنگی تحت شرایط تنش کلریدسدیم افزایش داد (Hayat *et al*., 2012; Filippou *et al*., 2013). نتایج این آزمایش نشان داد که اعمال تیمار نیتریک اکسید در سطح ۰/۱ میلی مولار منجر به افزایش محتوای نسبی آب برگ، پروتئین و پرولین گردید و نشت الکترولیت برگ را کاهش داد که درنهایت منجر به افزایش تحمل گیاهان گوجه‌فرنگی تحت تنش شوری گردید.

منابع

Bates, L., Waldren, R., Teare, I., 1973. Rapid determination of free proline for water-stress studies. Plant and soil, 39:205-207.

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.-F., Du, C.-X., Guo, S.-R., 2013. Nitric oxide enhances salt tolerance in cucumber seedlings by regulating free polyamine content. Environmental and Experimental Botany, 86:52-59.

Hayat, S., Yadav, S., Nasser Alyemeni, M., Irfan, M., Wani, A.S. and Ahmad, A., 2012. Alleviation of salinity stress with sodium nitroprusside in tomato. International journal of vegetable science, 19(2):164-176.

Kaya, C., Akram, N.A. and Ashraf, M., 2019. Influence of exogenously applied nitric oxide on strawberry (Fragaria× ananassa) plants grown under iron deficiency and/or saline stress. Physiologia plantarum, 165(2), pp.247-263.

Lutts S, Kinet JM, Bouharmont J, 1996. NaCl-induced senescence in leaves of rice (Oryza sativaL.) cultivars differing in salinity resistance. Ann Bot 78: 389–398.

Manai, J., Kalai, T., Gouia, H. and Corpas, F.J., 2014. Exogenous nitric oxide (NO) ameliorates salinity-induced oxidative stress in tomato (Solanum lycopersicum) plants. Journal of soil science and plant nutrition, 14(2):433-446.

Noctor, G. and Foyer, C.H., 1998. Ascorbate and glutathione: keeping active oxygen under control. Annual review of plant biology, 49(1):249-279.

Repellin A, Thi ATP, Tashakorie A, Sahsah Y, Daniel C, Zuily-Fodil Y, 1997. Leaf membrane lipids and drought tolerance in young coconut palms (Cocos nucifera L). Eur J Agron 6: 25–33.

Tanou, G., Filippou, P., Belghazi, M., Job, D., Diamantidis, G., Fotopoulos, V. and Molassiotis, A., 2012. Oxidative and nitrosative based signaling and associated post translational modifications orchestrate the acclimation of citrus plants to salinity stress. The Plant Journal, 72(4):585-599.

Physiological effects of exogenous nitric oxide on Tomato plants under NaCl stress

Mehri Yousefi*, Vahid Nasrollahzadeh Asl
Department of Agriculture, Payame Noor University (PNU), Iran
*Corresponding Author: pnumehr_yoosefi@yahoo.com

Abstract

Nitric oxide (NO) is an endogenous signaling molecule that plays a crucial role in various physiological processes, including biotic and abiotic stresses... This study was conducted in tomato plants *(Solanum lycopersicum*) to investigate the effects of exogenous sodium nitroprusside (SNP), as a NO donor, on the attributes including number of leaves, electrolyte leakage (EL), relative water content (RWC), chlorophyll spad and protein under NaCl salinity stress. In this experiment, after growth of plantlet,,they was treated to sodium nitroprusside (SNP) as a NO donor at 0 and 0.1 levels under NaCl stress condition at 0, 50 and 100 mM concentrations. Application of NO significantly increased the height of tomato plants, chlorophyll content (SPAD index) and relative water content of leaves under NaCl stress. Exogenous NO reduced the damage caused by electrolyte leakage in membrane of the leaf cells under NaCl stress and significantly increased amount of protein in the leaves of the pear rootstocks under stress. NaCl stress increased the content of proline and NO treatment resulted in a further increase the value of proline. As a result, the exogenous NO at 0.1 mM level, 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 oxide, Proline, *Solanum lycopersicum*, Stress