تاثیر نیتریک اکسید در کاهش صدمات ناشی از تنش شوری در گیاه خیار

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

چکیده

نیتریک‌اکسید (NO) یک مولکول سیگنالدهی گازی است که در فرآیندهای فیزیولوژیکی مختلف از جمله در تنش های زیستی و غیر زیستی نقش مهمی دارد. براین اساس آزمایشی روی گیاهان خیار (*Cucumis sativus*) اجرا شد تا کاربرد سدیم نیتروپروساید (SNP) به عنوان رهاکننده نیتریک‌اکسید بر تعداد برگ، آسیب های نشت الکترولیت (EL)، محتوای نسبی آب برگ‌ها (RWC)، میزان کلروفیل نسبی و محتوای پروتئین برگ‌های آن تحت تنش شوری کلریدسدیم مورد بررسی قرار گیرد. در این تحقیق پس از رشد گیاهچه های خیار، گیاهان با اعمال نیتریک‌اکسید در سطوح صفر و ۰/۱ میلی مولار و کلریدسدیم در غلظت های صفر، ۳۰ و ۶۰ میلی مولار از طریق سیستم ریشه ای همراه با محلول غذایی هوگلند تیمار شدند. کاربرد نیتریک‌اکسید بطور معنی داری منجر به افزایش تعداد برگ و محتوای نسبی آب برگ‌ها گردید. تیمار نیتریک‌اکسید آسیب نشت الکترولیت غشای سلول های برگی (EL) گیاهان خیار تحت شرایط تنش کلریدسدیم را کاهش داد و به طور معنی داری منجر به افزایش میزان کلروفیل نسبی و محتوای پروتئین در برگ‌های گیاهان در معرض تنش شوری گردید. در نتیجه اعمال تیمار نیتریک‌اکسید در غلظت ۰/۱ میلی مولار با حفظ محتوای پروتئین برگ‌ها، منجر به افزایش محتوای نسبی آب برگ، کاهش نشت الکترولیت و نهایتاً منجر به کاهش آسیب های ناشی از تنش شوری کلریدسدیم گردید.

واژه‌های کلیدی: تنش، پروتئین، خیار، کلریدسدیم، نیتریک اکسید.

مقدمه

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 گونه های 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) .

خیار (*Cucumis sativus L.*) از جمله محصولات مهم باغبانی است که به شکل- های مختلفی توسط مردم ایران و جهان مصرف می‌شود. با توجه به این که این گیاه حادود ۹۶تا ۹۷ درصد آب دارد ولی به علت وفور ویتامین، املاح معدنی و اسیدهای آلی درتغذیه سالم از اهمیت ویاژه ای برخوردار است. یکی از عوامل مهم در کاهش تولید این محصول شوری خاک و آب است. خیار گیاهی یکساله از تیره کدوئیان است که در مقابل تنش شوری حساس است.

نیتریک اکسید در حفاظت سلولی در مقابل سمیت گونه‌های اکسیژن فعال (ROS) به عنوان واکنش دفاعی و تحمل به تنش‌های غیر زیستی عمل می¬کند. به صورت دقیق¬تر نیتریک اکسید به‌عنوان پیام‌رسان ثانویه در گیاهان عمل می‌کند. استعمال خارجی نیتریک اکسید تحمل به شوری را در دانهال های خیار (Shi et al., 2007; Fan et al., 2013) و گوجه‌فرنگی (Hayat et al. 2012)

افزایش می‌دهد. هدف از این تحقیق تاثیر تیمار نیتریک اکسید بر پارامترهای محتوای پروتئین، EL، RWC و کاهش آسیب¬های ناشی از تنش شوری کلریدسدیم بود.

مواد و روش‌ها

آزمایش به صورت فاکتوریل با دو فاکتور که فاکتور اول تیمار شوری کلرید سدیم در سطوح صفر، ۳۰ و ۶۰ 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 ریشه ای گیاهان خیار رقم استورم در سه تکرار اجرا شد. برای افزایش سرعت و یکنواختی در جوانه زنی ، بذور خیار در ظروف پتری حاوی کاغذ صافی به مدت ۲۴ ساعت مرطوب شدند. بعد از جوانه زنی بذور، برای تولید نشا در لیوان یکبار مصرف حاوی کوکوپیت و پرلایت (۵۰:۵۰) کشت گردیدند. در ابتدا به مدت ۲ روز نشاها با آب و بعد از آن به مدت ۸ روز با محلول غذایی ۱/۲ هوگلند هر روز در دو نوبت عملیات آبیاری انجام گرفت. نشاها پس از ۱۰ روز به گلدان های 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. به منظور 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 مورد استفاده در این پژوهش، به‌صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملا تصادفی با سه تکرار اجرا شد. تیمارهای سدیم نیتروپروسایددر سطوح صفر و ۰/۱میلی 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، ۳۰ و ۶۰ میلی مولار همراه با محلول غذایی ۴۸ ساعت بعد از تیمار با سدیم نیتروپروساید اعمال و چهار تکرار آزمایشی اجرا شد. پس از یک دوره رشد، شاخص هایی نظیر تعداد برگ، نشت الکترولیت، محتوای نسبی آب برگ، شاخص کلروفیل نسبی (SPAD index) و محتوای پروتئین اندازه گیری شدند

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.

نتایج و بحث

همانطور که نتایج نشان می دهد (جدول-۱) تعداد برگ های بوته های خیار تحت تنش شوری کلریدسدیم کاهش یافت و اعمال تیمار نیتریک اکسید منجر به افزایش تعداد برگ های گیاهان تحت تنش گردید، کمترین تعداد برگ ها در گیاهان تحت کلریدسدیم ۶۰ میلی مولار بدون تیمار نیتریک اکسید و بیشترین تعداد برگ ها در گیاهانی با تیمار نیتریک اکسید بدون تنش مشاهده گردید که تفاوت معنی داری را با گیاهان تیمار شده نیتریک اکسید تحت تنش ۳۰ میلی مولار کلریدسدیم نداشتند که نشان می دهد اعمال تیمار نیتریک اکسید منجر به افزایش رشد گیاه می شود، چون با افزایش تعداد برگ ها، فتوسنتز بیشتر و پارامترهای رشدی بهبود می یابند.

افزایش تنش کلریدسدیم منجر به افزایش نشت الکترولیت سلول های برگی بوته های خیار گردید و اعمال تیمار نیتریک اکسید تاثیر معنی داری بر کاهش نشت الکترولیت برگ های گیاهان خیار تحت تنش کلریدسدیم داشت. با افزایش غلظت کلریدسدیم نشت الکترولیت نیز افزایش یافت، بیشترین میزان نشت الکترولیت در برگ های گیاهان تحت تنش کلریدسدیم ۶۰ میلی مولار بدون اعمال نیتریک اکسید مشاهده شد، کمترین نشت الکترولیت با کاربرد نیتریک اکسید در گیاهان بدون تنش کلریدسدیم مشاهده شد (جدول-۱).

تنش شوری کلرید سدیم (جدول-۱) به طور معنی داری منجر به کاهش محتوای نسبی آب برگ (RWC) در برگ های بوته های خیار گردید و اعمال تیمار نیتریک اکسید از کاهش RWC در برگ ها جلوگیری نمود و منجر به حفظ محتوای نسبی آب برگ ها شد. RWC در گیاهان تحت تنش کلریدسدیم با کاربرد نیتریک اکسید تفاوت معنی داری با گیاهان تحت تنش بدون تیمار NO داشتند.

جدول ۱- تاثیر نیتریک اکسید خارجی بر تعداد برگ ها، محتوای نسبی آب برگ (RWC)، نشت الکترولیت (EL) و محتوای پروتئین برگ ها در گیاهان خیار

NaCl	تعداد برگ ها	EL(%)	RWC(%)	کلروفیل (SPAD)	پروتئین(µg/g FW)
NaCl ۰ mM					
SNP ۰ mM	۴۶/۳۳ ab	۵۲/۹۴ d	۷۹/۹۶ ab	۴۱/۷۲ b	۱۲۴/۸۳ bc
SNP ۰/۱ mM	۴۹ a	۵۰/۸۷ d	۸۴/۶۱ a	۴۴/۰۶ a	۱۳۲/۴۰ a
NaCl ۳۰ mM					
SNP ۰mM	۴۱/۶۷ bc	۵۹/۲۰ b	۶۹/۱۲ cd	۳۸/۰۳ c	۱۲۱/۱۰ d
SNP ۰/۱ mM	۴۶/۶۷ ab	۵۵/۴۷ c	۷۴/۶۷ bc	۴۲/۵۸ ab	۱۲۸/۴۲ ab
NaCl ۶۰ mM					
SNP ۰ mM	۳۷ c	۶۲/۴۰ a	۶۶/۶۵ d	۲۷/۹۱ e	۱۲۱/۳۳ e
SNP ۰/۱ mM	۴۲/۶۷ b	۵۶/۴۷ c	۷۴/۳۶ bd	۳۲/۶۵ d	۱۹۱/۲۰ d

حروف غیرمشابه نشان‌دهنده تفاوت معنی‌دار در سطح احتمال ۵٪ بر اساس آزمون چند دامنه‌ای دانکن.

بر اساس نتایج حاصل (جدول-۱) شوری تاثیر معنی داری بر میزان کلروفیل نسبی داشت و کاربرد تیمار نیتریک اکسید با بهبود پارامترهای فیزیولوژیکی گیاه با کاهش نشت الکترولیت و افزایش محتوای نسبی آب برگ تاثیر معنی داری بر افزایش کلروفیل نسبی نشان داد.

تنش کلریدسدیم منجر به کاهش میزان پروتئین در برگ های بوته های خیار گردید و اعمال تیمار نیتریک اکسید به طور معنی داری منجر به حفظ محتوای پروتئین در برگ ها شده و از کاهش محتوای آن در برگ های 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-۱).

کاربرد خارجی NO منجر به افزایش تحمل گیاهان به تحت تنش شوری می شود (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 توت فرنگی تحت تنش شوری کلریدسدیم اعمال تیمار نیتریک اکسید منجر به افزایش پارامترهای رشدی گیاه گردید (Kaya et al., 2019). در این آزمایش نیز اعمال تیمار نیتریک اکسید در غلظت ۰/۱ میلی مولار از طریق سیسم ریشه ای بوته های خیار در معرض شوری ، منجر به افزایش تعداد برگ گیاهان گردید و نشان داده شد که کاربرد نیتریک اکسید خارجی اثرات زیان آور تنش شوری را کاهش داد که مطابق با یافته های سایر محققین می باشد.

نیتریک اکسید اگزوژن می‌تواند اثرات مضر شوری روی رشد دانهال های خیار را بوسیله کاهش تولید رادیکال آزاد ناشی از شوری و آسیب غشاء کاهش دهد که در نتیجه تحمل تنش شوری را بهبود می بخشد (Fan *et al.*, 2007). کاربرد سدیم نیتروپروساید mM ۰/۱ در ذرت بطور معنی داری باعث کاهش نشت یونی گیاهان تحت تنش کلریدسدیم می شود. در این آزمایش نیز اعمال NO اگزوژن نشت الکترولیت غشای سلول های برگی تحت تنش کلریدسدیم را کاهش داد و منجر به افزایش تحمل گیاهان تحت تنش کلریدسدیم شد.

کاربرد تیمار نیتریک اکسید در گیاهان خیار تحت تنش شوری کلریدسدیم ۱۰۰ میلی مولار با افزایش فعالیت آنزیم های آنتی اکسیدان از تخریب پروتئین در گیاهان خیار جلوگیری نمود و منجر به افزایش تحمل گیاهان تحت تنش شوری گردید (Shi et al., 2007). محتوای پروتئین برگ های توت فرنگی در گیاهان تحت تنش کاهش یافت و اعمال تیمار سدیم نیتروپروساید منجر به افزایش محتوای پروتئین در برگ های گیاهان توت فرنگی در معرض کلریدسدیم گردید (Jamali et al., 2014). 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 متعاقبا منجر به افزایش ترکیبات آنتی اکسیدان و کاهش آسیب های ناشی از شوری شد (Tanou *et al.*, 2012). بر

طبق نتایج این آزمایش اعمال تیمار نیتریک اکسید در غلظت ۰/۱ میلی مولار منجر به کاهش آسیب های ناشی از شوری در گیاهان گردید.

منابع

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., 2013. Alleviation of salinity stress with sodium nitroprusside in tomato. International journal of vegetable science, 19(2):164-176.

Jamali, B., Eshghi, S. and Kholdebarin, B., 2014. Response of strawberry" Selva" plants on foliar application of sodium nitroprusside (nitric oxide donor) under saline conditions. Journal of Horticultural Research, 22(2).

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.

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.

Shi, Q., Ding, F., Wang, X. and Wei, M., 2007. Exogenous nitric oxide protect cucumber roots against oxidative stress induced by salt stress. Plant Physiology and Biochemistry, 45(8):542-550.

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.

The effect of nitric oxide on alleviation of salinity stress in cucumber plants

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 cucumber plants *(Cucumis sativus*) 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, 30 and 60 mM concentrations. Application of NO significantly increased the number of leaves of cucumber plants 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 chlorophyll content (SPAD index) and amount of protein in the leaves of the pear rootstocks under stress. 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, Protein, *Cucumis sativus*, Stress.