تأثیر بهبود دهنده کلرید و سولفات کلسیم بر رشد، میزان پروتئینهای محلول، قندهای محلول، پرولین و برخی عناصر معدنی (سدیم، پتاسیم) در برگ گیاه گوجه فرنگی (*Lycopersicum esculentum* var Mobile) تحت تنش شوری

ایران مختاری[۱]، علی گنجعلی[۲] و پروانه ابریشم چی*[۱]

[۱] مشهد، دانشگاه فردوسی، دانشکده علوم پایه، گروه زیست شناسی

[۲] مشهد، دانشگاه فردوسی، پژوهشکده علوم گیاهی

تاریخ دریافت: ۸۷/۸/۱ تاریخ پذیرش: ۸۸/۱۱/۱٤

چکیده

گوجه فرنگی از محصولات مهم زراعی است که مقاومت نسبی به شوری دارد (۱/۳<EC< ٦/۱)، ولی در محیط شور رشد و تولید گیاه به طور چشمگیری کاهش می یابد. گیاهان ازطریق مکانیسمهای مختلف بیوشیمیایی قادر به تحمل شوری هستند، راههایی که به نگهداری و حفظ آب و نیز حفظ هم ایستایی یونها کمک می‌نماید. یکی از سازوکارهای ایجاد سازگاری با تنش شوری، ساختن مواد فعال اسمزی (نظیر پرولین) و تجمع آنها به ویژه در سیتوپلاسم سلولها می‌باشد. از طرف دیگر، حضور یون کلسیم نیز می تواند موجب بهبود عوارض نامطلوب حاصل از شوری شود. در تحقیق حاضر به منظور بررسی تأثیر کلسیم بر بهبود آسیبهای ناشی از شوری آزمایشی به صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار انجام شد. گیاهان گوجه فرنگی واریته موبیل در شرایط هیدرو پونیک و در محلول غذایی هوگلند کشت شدند. در این آزمایش از محلولهای کلرید سدیم با هدایت الکتریکی ۰، ۸، ۱۰، ۱۲ و۱٤ دسی زیمنس بر متر به عنوان سطوح مختلف شوری و از نمکهای کلرید کلسیم و سولفات کلسیم ۵ میلی مولار، به عنوان منبع کلسیم استفاده شد. بخش هوایی گیاه پس از ۸ هفته جمع آوری گردید، سپس وزن خشک بخش هوایی و میزان پروتئینهای محلول، قندهای محلول، پرولین و عناصر معدنی(سدیم و پتاسیم) در برگها مورد سنجش قرار گرفت. بررسیها نشان داد که وزن خشک بخش هوایی با افزایش شوری (به ویژه در شوری ۱۰ دسی زیمنس بر متر) کاهش معنی دار می‌یابد. همچنین افزایش شوری در همه سطوح شوری باعث افزایش معنی دار مقدار پروتئینهای محلول، قندهای محلول و پرولین گردید. از طرف دیگر با افزایش شوری مقدار سدیم در برگ افزایش و مقدار پتاسیم، کاهش قابل توجه و معنی داری نشان داد. تیمار با کلسیم با کاهش جذب سدیم و افزایش جذب پتاسیم و همچنین تحریک سنتز و تجمع پرولین موجب بهبود معنی دار رشد و کاهش اثرات نامطلوب شوری گردید. این احتمال نیز وجود دارد که کلسیم با تأثیر بر پایداری و سایر خواص غشاء، از جمله نفوذپذیری آن، نقش بهبود دهنده خود را ایفا می‌کند. بنابر این به نظر می‌رسد که استفاده از کلسیم می‌تواند یک راه حل ساده و اقتصادی برای جلوگیری از اثرات نامطلوب شوری در گیاه گوجه فرنگی باشد.

واژه های کلیدی: پروتئینهای محلول، پرولین، سولفات کلسیم، شوری، قندهای محلول، کلرید کلسیم، گوجه فرنگی.

*نویسنده مسئول، تلفن: ۸۷٦۲۲۲۷-۰۵۱۱، پست الکترونیکی abrisham@ um.ac.ir

مقدمه

شوری یکی از مهمترین عواملی است که رشد گیاه و تولید آن را در سطح جهان کاهش می دهد. وسعت زیاد زمینهای شور وتوسعه روز افزون آن، همچنین کمبود منابع آب شیرین توجه زیادی را به مباحث مربوط به شوری معطوف

Archive of SID
www.SID.ir

کرده است (۳۹). گوجه فرنگی یکی از مهمترین گیاهان زراعی نواحی نیمه خشک و مدیترانه ای و نیز یکی از مهمترین گیاهان زراعی ایران است که کشت آن در کشور متداول می‌باشد (۱). افزایش شوری خاک سبب کاهش پتانسیل اسمزی میوه گوجه فرنگی و افزایش مواد معدنی می‌شود. اهمیت این یافته ها از آن جهت است که سطوح خاصی از نمکهای معدنی باعث افزایش اسیدها، قندها و عناصر معدنی شده، کیفیت میوه گوجه فرنگی را تحت تأثیر قرار می‌دهند. بررسیها نشان داده است که شوری کنترل شده وسیله ای برای رسیدن به کیفیت بهتر گوجه فرنگی است (۲). یکی از استراتژیهای مناسب برای غلبه بر تنش شوری، استفاده از کلسیم در جهت رفع و بهبود آثار مخرب تنش در گیاهان می‌باشد. مطالعات زیادی در زمینه اثرات بهبود دهنده کلسیم روی رشد گیاهان زراعی در محیطهای شور از جمله در جو (۳۳)، لوبیا (۳۰)، گندم (۱۶)، کتان (۱٤) و Sorghum bicolor (۱۳) انجام شده است. بنابراین با توجه به اهمیت محصول گوجه فرنگی در ایران و وسعت رو به افزایش زمینهای شور و ضرورت حفظ کیفیت گوجه فرنگی در این شرایط، تحقیق حاضر با این هدف انجام شد که چگونگی تأثیرکلسیم بر آسیبهای ناشی از تنش شوری در گیاه گوجه فرنگی بررسی و امکان ارائه راهکاری ساده و ارزان برای مقابله با تنش فراهم شود.

مواد و روشها

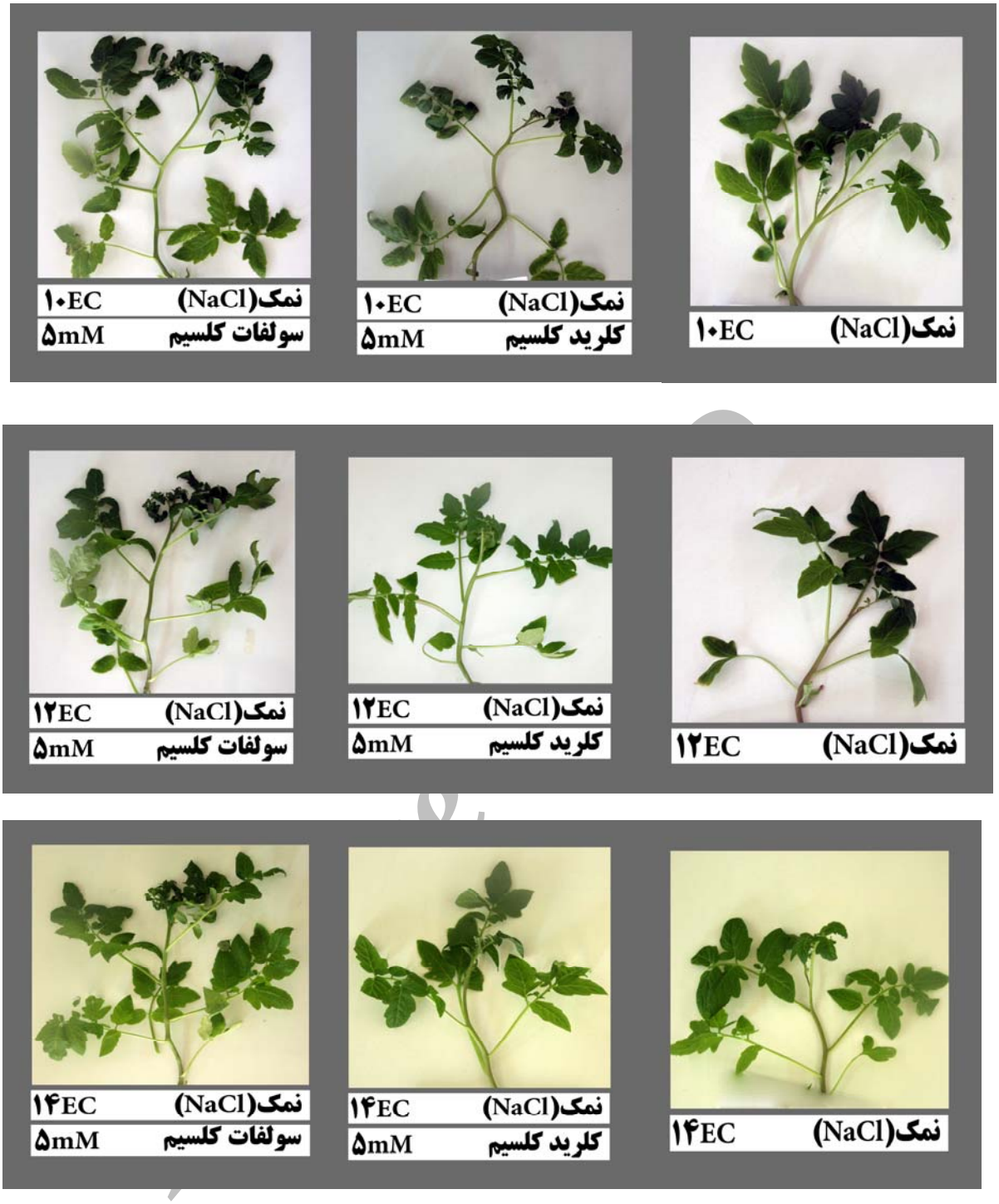
نحوه کاشت و نمونه برداری از گیاهان: گیاهچه‌های ۹ روزه گوجه‌فرنگی به داخل سطلهایی از جنس پلی‌اتیلن (پلاستیک) به ابعاد ۲۱ × ۱۵ سانتیمتر حاوی۳۰۰۰ میلی لیتر محلول غذایی هوگلند منتقل شدند. سطوح مختلف شوری شامل غلظتهای صفر (شاهد)، ۸، ۱۰، ۱۲ و ۱٤ دسی زیمنس بر متر کلرید سدیم و نمکهای کلسیم شامل غلظتهای صفر(شاهد) و ۵ میلی مولار کلرید و سولفات کلسیم، تیمارهای مورد بررسی در این آزمایش را تشکیل دادند و همزمان با کشت گیاهچه ها در شرایط هیدروپونیک اعمال شدند. تعویض محلولها هفته‌ای یک بار انجام شد. طی دوره رشد، دوره نوری، شامل ۱٦ ساعت روشنایی و ۸ ساعت تاریکی و دما بین ۲۸ـ۲٤ درجه سانتی گراد ثابت نگه داشته شد. نمونه برداری از گیاهان بعد از هشت هفته انجام شد و وزن خشک بخش هوایی اندازه گیری گردید. تعدادی از برگها برای سنجشهای بیوشیمیایی پس از وزن کردن و بسته بندی در دمای ۲۰- درجه سانتی گراد منجمد شدند و برخی از برگها نیز برای تهیه خاکستر تر و سنجش عناصر در آون خشک گردیدند.

روش استخراج و سنجش مقدار کل پروتئینهای سیتوپلاسمی در نمونه های گیاهی: پروتئینهای سیتوپلاسمی (محلول) با کمک بافر فسفات پتاسیم ۰/۱ مولار (pH=7.4) دردمای٤-۰ درجه سانتی گراد با نسبت (w/v) ۱:۲۰ استخراج شدند. مقدار پروتئین در طول موج ٦٦۰ نانومتر با کمک اسپکتروفتومتر و به روش Lowry اصلاح شده (۱۹۵۱)، اندازه گیری شد(۳۲). منحنی استاندارد با کمک آلبومین سرم گاوی رسم گردید و در نهایت غلظت پروتئین بر حسب گرم در صد گرم وزن خشک نمونه گیاهی محاسبه شد.

روش استخراج و سنجش مقدار کل قندهای محلول در نمونه های گیاهی: استخراج قندهای محلول با کمک اتانول ۸۰ درصد به روش Duboise و همکاران (۱۹۵٦) انجام شد (۱۸). سنجش مقدار آن در طول موج ٤۸۰ نانومتر به روش اسپکتروفتومتری انجام گردید. سپس با استفاده از گلوکز برای رسم منحنی استاندارد، مقدار قند بر حسب گرم در صد گرم بافت خشک گیاهی محاسبه شد.

Archive of SID

www.SID.ir



شکل ۱ – مقایسه رشد گیاهان گوجه فرنگی در تیمار های شوری ۱۰، ۱۲و ۱٤ds/m به تنهایی و همراه با نمکهای کلسیم، بعد از ۸ هفته

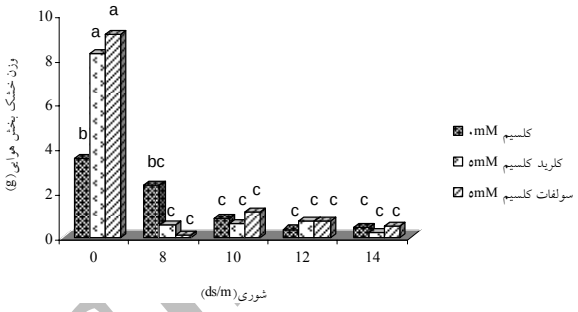
روش استخراج و سنجش مقدار پرولین در نمونه های گیاهی: پرولین موجود در نمونه های گیاهی بر اساس روش Bates و همکاران (۱۹۷۳) با استفاده از اسید سولفوسالیسیلیک آبدار (w/v) ۳ درصد با نسبت (w/v) ۱:۲۰ استخراج شد (٦). جذب نوری نمونه ها در ۵۲۰ نانومتر اندازه گیری گردید و مقدار پرولین بر اساس فرمول زیر بر حسب میکرومول در گرم وزن تر بافت گیاهی محاسبه شد:

میکرومول پرولین درگرم وزن تر بافت گیاهی

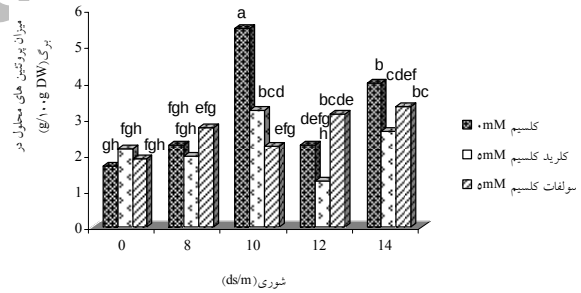
=[µg prolin/ml ×ml Toloen/115.5] ÷[g sample/5]

www.SID.ir

روش اندازه گیری مقدار کاتیونهای سدیم و پتاسیم در بافت گیاهی: غلظت کاتیونهای سدیم و پتاسیم پس از هضم بافت برگ توسط اسید نیتریک غلیظ با کمک دستگاه نور سنج شعله ای تعیین شد و سپس مقدار آنها بر حسب گرم در صد گرم وزن خشک بافت به دست آمد.



نمودار۱ – مقایسه تأثیر شوری، نمکهای کلسیم اثرات متقابل شوری و نمکهای کلسیم بر میانگین وزن خشک بخش هوایی گیاه گوجه فرنگی، ستونهای دارای حروف مشترک از لحاظ آماری (α=۰/۰۵) تفاوت معنی ندار ند.



نمودار۲ – مقایسه تأثیر شوری، نمکهای کلسیم و اثرات متقابل شوری و نمکهای کلسیم بر میانگین میزان پروتئینهای محلول در برگ گیاه گوجه فرنگی، ستونهای دارای حروف مشترک از لحاظ آماری (α=۰/۰۵) تفاوت معنی دار ندارند.

تجزیه و تحلیل آماری داده ها: داده ها ابتدا توسط نرم افزار MSTAT-C تجزیه و تحلیل واریانس شدند و سپس میانگینها با استفاده از آزمون حداقل اختلاف معنی دار (LSD) در سطح احتمال خطای ۵ درصد مقایسه گردیدند. نمودارها با استفاده از نرم افزار Excel رسم شدند.

نتایج و بحث

با توجه به آنالیز واریانس داده ها تأثیر شوری، نمکهای کلسیم و اثر متقابل شوری و نمکهای کلسیم بر وزن خشک بخش هوایی معنی دار بود ($p\leq$۰/۰۵). افزایش شوری موجب کاهش پیش رونده و معنی دار وزن خشک بخش هوایی نسبت به شاهد شد، اگر چه تیمار های مختلف شوری از این نظرتفاوت معنی داری با هم نداشتند. بیشترین وزن خشک بخش هوایی در شاهد برابر با g ٤/٢ و کمترین آن در شوری ۱۲ds/m برابر با g ۰/۳ اندازه گیری شد. به عبارت دیگر شوری ۱۲ds/m موجب کاهش شدید و معنی دار در وزن خشک اندام هوایی نسبت به شاهد گردید (نمودار ۱ و شکل۱). Romeroaranda و همکاران در سال۲۰۰۱ گزارش کردند که انباشته شدن یونهای Na^+ و Cl^- در برگ با بستن روزنه ها و کاهش میزان کلروفیل باعث کاهش محصول فتوسنتزی درگیاه گوجه فرنگی می شود. تنش شوری وزن تر و خشک برگها، ساقه ها و ریشه ها را کاهش می دهد (٤٢). Kaya و همکاران در سال۲۰۰۲ بیان نمودند که علائم قابل مشاهده تنش شوری بر روی گیاهان، شامل کاهش رشد بخشهای هوایی، کاهش رشد ریشه و ایجاد برگهای کوچک می باشد (٢٦). این نتایج با نتایج حاصل از پژوهش حاضر کاملاً مطابقت دارند. کلرید کلسیم و سولفات کلسیم بدون حضور شوری در محیط کشت افزایش مشخص و چشمگیری را در وزن خشک اندام هوایی القاء کردند. در این شرایط تأثیر سولفات کلسیم بیشتر از نمک کلرید بود و وزن خشک را بیش از دو برابر کرد. Epstein (۱۹۹۸) اعلام کرد که وزن خشک ساقه و برگ گیاهان لوبیای تحت تنش شوری درحضور غلظتهای ۱۰-۱ میلی مولار از $CaSO_4$ ، افزایش می یابد (۱۹). مدارک تجربی نشان می دهند که افزایش جذب Ca^{+2} با افزایش میزان ABA در سلول همراه است و تأثیر بازدارنده شوری بر فتوسنتز، رشد و انتقال آسیمیلات ها را رفع می نماید(۳۱). کلسیم با حفظ تمامیت غشاء گیاهان در شوریهای بالا و درازمدت، قادر به تنظیم جذب و انتقال مواد غذایی را در این شرایط تنظیم می‌کند

Archive of SID
www.SID.ir

(۱۱). یون کلسیم به عنوان پیک ثانویه در گیاهان عمل می کند و در ترارسانی انواع وسیعی از علائم شرکت می‌نماید، بنابر این ممکن است جزء مهمی از پاسخ گیاهان به شوری باشد (٢٤).

نتایج حاصل از بررسی میانگین مربعات داده ها نشان داد که اثر شوری، نمکهای کلسیم و بر هم کنش شوری و کلسیم بر مقدار و پروتئینهای محلول، قندهای محلول و پرولین برگ معنی دار ($p\leq ۰/۰۵$) است. بر اساس مقایسه میانگینها، روند تغییرات میزان پروتئینهای محلول برگ تا تیمار ۱۰ ds/m به صورت افزایشی بود و پس از آن با زیاد شدن شوری در محیط تا سطح ١٤ ds/m، مقدار پروتئینهای محلول کاهش می‌یافت. افزایش پروتئین در شوری ds/m ۱۰ نسبت به شاهد کاملاً معنی دار بود. بیشترین میزان پروتئین مربوط به شوری ۱۰ds/m برابر با ٥/٤٩ گرم در صد گرم بافت خشک اندازه گیری شد (۳ برابر شاهد) (نمودار ۲). افزایش پروتئینها در تنش شوری در بسیاری از گونه های گیاهی مشاهده شده است. برای مثال افزایش پروتئینهای محلول در ساقه و برگ گوجه فرنگی واریته اصفهانی هنگام افزایش شوری از صفر تا ۸۰ mM توسط امینی و احسان پور در سال ۲۰۰۵ گزارش شد. آنان افزایش میزان پروتئینهای محلول را ناشی از سنتز پروتئین شبه اسمزی اسموتین، و یا پروتئینهای ساختمانی به ویژه، آنهایی که در سنتز اختصاصی پروتئینهای تغییر دهنده خواص دیواره سلولی دخالت دارند، می دانند (۳). بسیاری از پروتئینهای القاء شده در این شرایط چاپرونهای مولکولی هستند (٤٦) و تعدادی نیز برای مقابله با تنش اکسیداتیو ناشی از شوری که سبب تخریب پروتئینهای ساختمانی و عملکردی می شود، ایجاد می شوند (٤٣). از طرف دیگر تغییرات اسمزی ناشی از تنش شوری در سلول می تواند منجر به القای سنتز پروتئینهای LEA (Late Embryogenesis Abundant) شود که برای مقابله با کم آبی ناشی از شوری در سلول و محافظت ازساختار ماکرومولکولها تجمع می یابند (٤٦). بر اساس گزارش Ashraf و Harris در ۲۰۰٤ در واریته های مقاوم جو، آفتابگردان، ارزن و برنج میزان بالایی از پروتئینهای محلول مشاهده شده است که در واریته های حساس آن وجود ندارد (۵). Pareek و همکاران در ۱۹۹۷ پیشنهاد می کنند که پروتئینهای تنش می توانند به عنوان مارکرهای مولکولی مهم در جهت افزایش مقاومت به شوری در تکنیکهای مهندسی ژنتیک به کار روند (٤١).

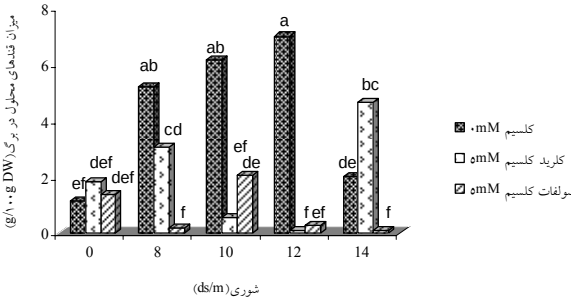
در بررسی حاضر در شوری ۱۰ ds/m استفاده از نمکهای کلسیم کاهش معنی داری را در میزان پروتئینهای محلول برگ القاء نمود و موجب تقلیل این ترکیبات شد. به عبارت دیگر این احتمال وجود دارد که در حضور نمکهای کلسیم نیاز سلول به سنتز ترکیبات بیوشیمیایی خاص برای مقابله با تنش تعدیل شود. این مسئله در مورد ترکیبات دیگری نظیر پرولین و قند های محلول نیز مشاهده گردید.

در زمینه تأثیر کلسیم بر میزان کل پروتئینهای محلول در گیاهان تحت تنش، مستندات کافی وجود ندارد. به نظر می رسد افزایش کلسیم سیتوزولی در هنگام تنش آغاز کننده مسیر های علامت دهی است که منجر به پاسخهای سلولی مناسب در مقابل چالشهای محیطی و یا عوامل رشد می شود (٤٧). مطالعات انجام شده در آرابیدوپسیس نشان می دهد که پروتئین حس کننده کلسیم در هنگام تنش افزایش یافته و این افزایش توسط کلاتورهای کلسیم معکوس می شود (۲۸). بنابر این کلسیم بیرون سلولی می تواند از طریق تغییر در میزان و نوع پروتئینهای سلول، پاسخ به تنش را میانجی گری کند.

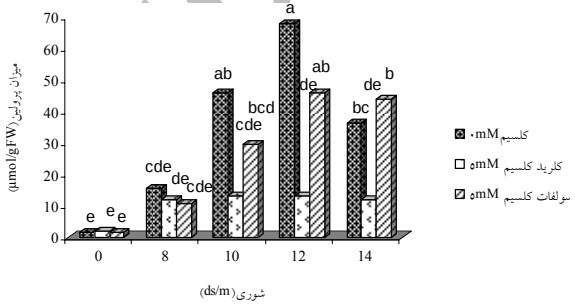
بررسی حاضر نشان داد که با افزایش سطوح شوری در فاصله ۱۲ds/m– ۸ میزان قندهای محلول در برگ به طرز پیشرونده و معنی داری زیاد می‌شود (نمودار۳). قندها می-توانند به صورتهای مختلف در تحمل تنشهای اسمزی در گیاهان شرکت نمایند. افزایش کربوهیدراتها از جمله قندها (گلوکز، فروکتوز، ساکارز و فروکتانها) و نشاسته در تنش شوری توسط سایر محققین نیز گزارش شده است (۱۷).

Archive of SID

www.SID.ir



نمودار۳ – مقایسه تأثیر شوری، نمکهای کلسیم و اثرات متقابل شوری و نمکهای کلسیم بر میانگین میزان قند های محلول در برگ گیاه گوجه فرنگی، ستونهای دارای حروف مشترک از لحاظ آماری(α=۰/۰۵) تفاوت معنی دار ندارند.



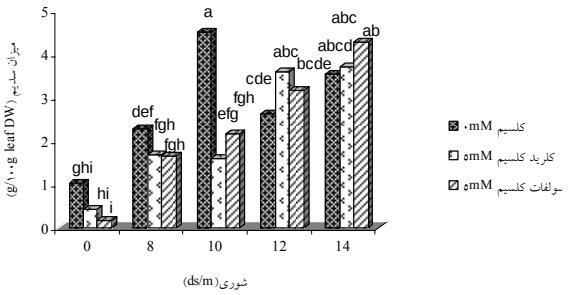
نمودار٤ – مقایسه تأثیر شوری، نمکهای کلسیم و اثرات متقابل شوری و نمکهای کلسیم بر میانگین میزان پرولین در برگ گیاه گوجه فرنگی، ستونهای دارای حروف مشترک از لحاظ آماری (α=۰/۰۵) تفاوت معنی دار ندارند.

عمل اصلی این ترکیبات حفاظت اسمزی، تنظیم اسمزی، ذخیره کربن و روبشکری رادیکالهاست (۷). گیاهان از راههای مختلف با تنش شوری مقابله می نمایند. در بین این پاسخها تجمع محافظت کننده های اسمزی (osmoprotectants) از جمله پرولین، قندهای محلول و گلیسین بتائین بیشترین نقش را در تنظیم اسمزی دارد (۲٤). قندها سبب تنظیم اسمزی همچنین پایداری غشاها و پروتئینهای موجود در سلول می‌شوند. این عمل می‌تواند از طریق تشکیل پیوند های هیدروژنی بین گروههای کربوکسیل قندها و زنجیره های قطبی پروتئینها، و بالاخره پایدار سازی پروتئینها صورت گیرد. برای مثال تجمع ساکارز موجب حفظ فسفولیپیدهای غشاء شده و از تغییرات ساختاری در پروتئینهای محلول سلول نیز جلوگیری می کند (۲۹). افزایش غلظت قندها در محیط شور توسط Muscolo و همکاران در سال ۲۰۰۳ در گیاه *Pennisetum cladestinum* Hochst (۳٦) و Dubey و Singh در سال ۱۹۹۹ در برنج (۱۷) و Tattini و همکاران در سال۱۹۹٦ در زیتون(٤٥) گزارش شده است. Parida و Das در سال ۲۰۰۲ انباشت قندهای ساده و نشاسته را درگیاه *Bruguiera parviflora* تحت تنش شوری اعلام نمودند (٤۰). گزارش خاوری نژاد و مستوفی در سال ۱۹۹۸ نیز حاکی از افزایش قابل توجه میزان قندهای محلول و مونوساکارید های کل در گیاه گوجه فرنگی تحت تنش شوری بود. در حالی که مقدار نشاسته تغییر قابل توجهی نمی‌کرد (۲۷). Ashraf و Tufail (۱۹۹۵) دریافتند که میزان قندها در۵ دودمان سلولی آفتابگردان، با افزایش شوری افزایش یافته و سلولهای مقاوم به شوری دارای محتوای قند بیشتری نسبت به انواع حساس بودند (٤). تجمع فروکتانها در گندم تحت شرایط نامساعد محیطی و دخالت آنها در جلوگیری از عوارض نامطلوب تنش گزارش شده است (۲۱).

در این بررسی استفاده از نمکهای کلسیم در تنش شوری ds/m ۱۲–۸ مقدار قند های محلول در برگ را نسبت به تیمارهای شوری به تنهایی، شدیداً کاهش داد و در این رابطه تأثیر کلرید کلسیم به مراتب بهتر از سولفات کلسیم بود (نمودار ۳). نمکهای کلسیم نیاز گیاه به تجمع قند های محلول را به عنوان محافظت کننده های اسمزی تقلیل دادند. کلسیم در انتقال کربوهیدراتها نقش دارد و به عنوان یون تنظیمی در انتقال قندها بین منبع و مخزن عمل می کند (۷). در گیاه کتان مشخص شده است که کمبود کلسیم موجب تجمع کربوهیدراتها در برگ می شود (۲۵). در نتیجه، این مشاهده که در تحقیق حاضر حضور کلسیم نیاز گیاه را به تجمع قندهای محلول تقلیل داده است نیز، احتمال دارد در ارتباط با تغییر میزان انتقال کربوهیدراتها در حضور این یون باشد.

Archive of SID
www.SID.ir

در بررسی حاضر، میزان پرولین آزاد برگ در سطوح شوری ۱۰، ۱۲ و ۱٤ ds/m نسبت به شاهد افزایش معنی دار و چشمگیری داشت، به طوری که در تیمار ۱۲ ds/m به ٤٤ برابر شاهد رسید (نمودار ٤). به طور کلی تجمع پرولین در تنشهای خشکی و شوری توسط محققین زیادی گزارش شده است. برای مثال B ussis و Heineke در ۱۹۹۸ (۹) با بررسی گیاه سیب زمینی و Meloni و همکاران (۲۰۰۱) با مطالعه کتان نقش پرولین را تنظیم اسمزی گیاه در شرایط اسمزی عنوان نموده اند (۳۵). در گیاه گوجه فرنگی نیز تجمع پرولین در برگها به عنوان یک ویژگی مقاومت به شوری تلقی می شود و می تواند برای گزینش گیاهان واجد درجات مختلف مقاومت، استفاده شود این امر با نتایج مطالعه ای که امینی و احسان پور در سال ۲۰۰۵ بر روی دو واریته گوجه فرنگی انجام داده اند، کاملاً مطابقت دارد و نتایج بررسی حاضر را نیز تأیید می-کند. اهمیت انباشت پرولین در حفظ وضعیت آبی گیاه بسیار زیاد است و به عنوان وسیع ترین اسمولیت انباشته شده در شرایط تنش عمل می کند (۳). نتایج پژوهش حاضر نشان داد که کلرید کلسیم در سطوح شوری ۱٤ds/m-۱۰میزان پرولین را نسبت به تیمارهای شوری به تنهایی، به طور معنی‌داری کاهش می‌دهد. در ارتباط با تأثیر کلسیم بر تجمع پرولین، به صورتی مشابه با نتایج تحقیق حاضر، Cheruth و Azooz در سال ۲۰۰۹ با مطالعه گیاهان *Withania somnifera* تیمار شده با NaCl و $CaCl_2$ اعلام کردند که حضور کلسیم در شرایط تنش شوری موجب افزایش فعالیت آنزیم پرولین اکسیداز و کاهش محتوای پرولین در گیاه می شود (۱۲). همچنین Murugan و Sathishدر سال ۲۰۰۵ با بررسی متابولیسم در کالوسهای گیاه *Centella asiatica* L نشان دادند که در محیط شور همراه با $CaCl_2$ ، مقدار پرولین افزایش نمی یابد. طبق این بررسی، فعالیت پرولین-۵ کربوکسیلاز سنتاز، آنزیم کلیدی در بیوسنتز پرولین، در محیطهای حاوی $CaCl_2$ + NaCl , کمتر از محیط دارای NaCl به تنهایی بود (۳۷). بنابراین به نظر می رسد که در تنش شوری استفاده از نمکهای کلسیم در محیط رشد گیاه، نیاز آن را برای سنتز ترکیبات محافظت کننده اسمزی نظیر پرولین کاهش می‌دهد و به سازگاری بیوشیمیایی گیاه کمک می‌کند. در تطابق با نتایج پژوهش حاضر، Girija و همکاران در سال۲۰۰۲ بیان نمودند که افزایش $CaCl_2$ به گیاهچه های بادام زمینی تحت تنش شوری سبب کاهش محتوای پرولین می‌شود و علت کاهش پرولین افزایش فعالیت پرولین اکسیدازی می باشد (۲۲).

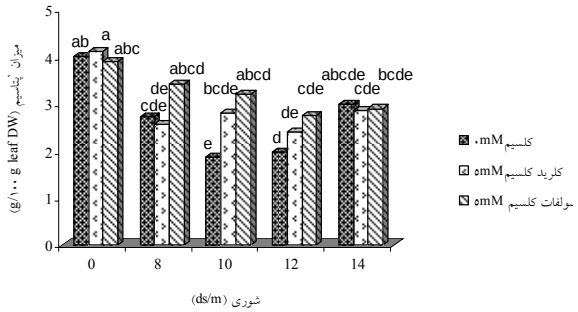


نمودار ۵ – مقایسه تأثیر شوری، نمکهای کلسیم و اثرات متقابل شوری و نمکهای کلسیم بر میانگین میزان سدیم در برگ گیاه گوجه فرنگی، ستونهای دارای حروف مشترک از لحاظ آماری (α=۰/۰۵) تفاوت معنی دار ندارند.

پرولین می تواند به عنوان یک مولکول تنظیمی علامتی عمل نماید و موجب فعال سازی پاسخهای متعددی شود که از اجزای فرآیند های سازگاری محسوب می‌شوند. پرولین می‌تواند در اعمالی از جمله تنظیم پتانسیل ردوکس سلول، تثبیت فسفولیپیدهای غشاء، تنظیم pH سلول، حفظ پروتئینها و محافظت از آنزیمها در مقابل دناتوره شدن نقش داشته باشد و به عنوان منبع کربن و نیتروژن در سلول عمل نماید (۱۰). انباشت پرولین در شرایط تنش ممکن است به علت فعال‌سازی آنزیمهای بیوسنتزی پرولین، کاهش اکسیداسیون و تبدیل آن به گلوتامات، کاهش استفاده از پرولین در سنتز پروتئینها و افزایش واژگردی پروتئینها باشد (۳٤).

Archive of SID

www.SID.ir



نمودار٦ – مقایسه تأثیر شوری، نمکهای کلسیم و اثرات متقابل شوری و نمکهای کلسیم بر میانگین میزان پتاسیم در برگ گیاه گوجه فرنگی، ستونهای دارای حروف مشترک از لحاظ آماری(α=۰/۰۵) تفاوت معنی دار ندارند.

به نظر می‌رسد که در حضور کلسیم نیازهای متابولیسمی گیاه برای سازگاری در برابر شوری تغییر می‌کند و این به ویژه در دوره های طولانی از شرایط تنش زا، خود را بهتر نشان می‌دهد. کلسیم با کاهش انباشت سدیم، تنش شوری را در گیاه کاهش داده و در نتیجه میزان ترکیبات محافظت کننده کاهش می‌یابد.

جدول آنالیز واریانس داده ها حاکی از معنی دار بودن تأثیر شوری، کلسیم و بر هم کنش شوری و کلسیم بر میزان سدیم و پتاسیم در برگ می‌باشد ($p\leq$۰/۰۵). با افزایش شوری میزان سدیم موجود در برگ به مقدار قابل توجهی افزایش یافت، به طوری که در سطح شوری ds/m ۱۰ به میزان حدود ٤/٥ برابر شاهد رسید. تفاوت در میزان سدیم برگ در همه سطوح شوری نسبت به شاهد معنی دار بود. بررسی داده ها نشان داد که استفاده توأم از نمکهای کلسیم و شوری در تیمار ds/m ۱۰ تأثیر معنی دار بر میزان سدیم برگ داشت و مقدار آن را به شدت نسبت به این سطح از شوری به تنهایی، کاهش داد (نمودار٥). با افزایش شوری پتاسیم در برگ نسبت به گیاهان شاهد کاهش یافت، این کاهش در تیمارهای ds/m ۱۲–۸ نسبت به شاهد معنی دار بود. بیشترین میزان پتاسیم در شاهد برابر با ٤/٤٧٣ گرم در صد گرم وزن خشک برگ و کمترین میزان آن در شوری ds/m۱۰ تیمار برابر با ۱/۸۷ اندازه گیری شد. تأثیر افزایش دهنده نمکهای کلسیم بر میزان پتاسیم برگ در شوریهای مختلف مشاهده شد اما این افزایش فقط در تیمار ds/m۱۰ و تحت تأثیر سولفات کلسیم نسبت به این سطح شوری به تنهایی معنی دار بود (نمودار ٦). کمبود K^+ یکی دیگر از عوارضی است که در اثر رقابت Na^+ با K^+ برای جذب در ریشه ها پیش می‌آید. گزارش شده است که به دلیل انتقال کاتیونهای Na^+ و K^+ با یک پروتئین مشترک، Na^+ برای شارش به درون سلول با K^+ رقابت می‌نماید (٢٤). این نتایج با داده‌های به دست آمده در مورد کتان (٨) و اسفناج (١٥) مطابقت دارد و بیانگر این مطلب است که حفظ K^+ یک مکانیسم مشترک حفاظتی در مقابل آسیب شوری در گلیکوفیت‌هاست.

محققین مختلف نشان داده‌اند که تیمار Ca^{+2} کمبودهای مواد غذایی را در گوجه‌فرنگی (٣٨) و توت فرنگی (٢٦) وguava (٢٠) اصلاح می‌نماید. کلسیم یک عنصر غذایی معدنی است که در رفع مسمومیت غلظتهای بالای سایر عناصر در گیاهان تحت شوری بسیار مؤثر است (٢٣). غلظت بهینه کلسیم برای مقاومت بیشتر گیاهان در شرایط تنشی اهمیت دارد. گزارش شده است که اگر نسبت Na $^+/Ca^{+2}$ بیرون سلولی بالا باشد، درون شارش $^+$ Na افزایش خواهد یافت (٤٤). بررسیها نشان داده اند که گیاهان گوجه فرنگی در محیطهای شور در حضور ذخایر کلسیم، سدیم کمتر (٤٠ درصد کمتر) و پتاسیم بیشتری (٦٠ درصد بیشتر) را نسبت به گیاهان تحت تنش در غیاب چنین ذخیره ای از کلسیم، انباشته می سازند (١٩).

به نظر می‌رسد که گیاهان گوجه فرنگی با بهره گیری از محافظت کننده های اسمزی اصلی از جمله پرولین و قند های محلول، مقاومت به شوری را بالا برده و این ترکیبات در تعادل با یکدیگر نقش مهمی را در سازگاری گیاه با تنش شوری دارند. استفاده از نمکهای کلسیم با اصلاح شرایط تغذیه ای (کاهش میزان سدیم و افزایش مقدار پتاسیم) و رشد گیاه، نیاز به مشارکت سایر مکانیسمهای حفاظتی رایج در سلول، نظیر سنتز اسمولیتها را کاهش

Archive of SID
www.SID.ir

دهد.

قدردانی و تشکر: با تشکر از آزمایشگاه فیزیولوژی گیاهی دانشکده علوم پایه دانشگاه فردوسی مشهد و پژوهشکده علوم گیاهی دانشگاه فردوسی مشهد که امکانات لازم جهت انجام این طرح را در اختیار ما قرار دادند.

منابع

۱–حیدری شریف آباد، ح. ۱۳۸۰، گیاه وشوری. انتشارات مؤسسه تحقیقات جنگلها ومراتع.

۲– طالب زاده، ز. ۱۳۸٤، بررسی اثرات شوری برجوانه زنی و رشد گیاهچه ای گوجه فرنگی(*Lycopersicum esculentum*).

پایان نامه کارشناسی ارشد، گروه زیست شناسی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه فردوسی مشهد.

3- Amini, F. and Ehsanpour, A. 2005. Soluble proteine, carbohydrates and Na^+/K^+changes in two tomato (*Lycopersicum esculentum* Mill.) cultivars *in vitro* salt stress. American Journal of Biochemistry and Biotechnology, 1: 212-216.

4- Ashraf, M. and Tufail M. 1995. Variation in salinity tolerance in sunflower (*Helianthus annuus* L.). Journal of Agronomy Soil Science, 174: 351-362.

5- Ashraf, M. and Harris, D. J. C. 2004. Potentioal biochemical indicators of salinity tolerance in plants. Plant Science, 166: 3-16.

6- Bates, L. S., Waldren, R. P. and Teare, I. D. 1973. Rapid determination of free proline for water-stress studies. Plant Soil**,** 39: 205–207.

7- Bohnert, H. J. and Jensen, R. G. 1996. Strategies for engineering water stress tolerance in plants. Trends in Biotechnology, 14: 89–97.

8- Brugnoli, E. and Bjorkman, O. 1992. Growth of cotton under continuous salinity stress influence on allocation pattern, stomatal and non-stomatal components of photosynthesis and dissipation of excess light energy. Planta, 187: 335–347.

9- Bu¨ssis, D. and Heineke, D. 1998. Acclimation of potato plants to polyethylene glycol-induced water deficit. II. Contents and subcellular distribution of organic solutes. Journal of Experimental Botany, 49: 1361–1370.

10- Chen, T. H. H. and Murata N. 2000. Enhancement of tolerance of abiotic stress by metabolic engineering of betaines and other co. Current Opinion in Plant Biolology, 5: 250–257.

11- Chen, J. Li., Wang, S., Huttermann, A. and Altman, A. 2001. Salt nutrient uptake and transport and ABA of *Populus euphratica*; a hybrid in response to increasing soil NaCl. Trees-Structure and Function, 15: 186–194.

12- Cheruth, A. J. and Azooz, M. M. 2009. Exogenous calcium alters pigment composition, γ-glutamyl kinase and praline oxidase activities in salt-stressed *Withania somnifera*. Plant Omics Journal, 2(2):85-90.

13- Colmer, T. D., Fan, T. W. M., Higashi, R.M. and Laeuchli, A. 1996. Interactive effects of Ca^{+2} and NaCl salinity on the ionic relations and proline accumulation in the primary Root tip of *Sorghum bicolor*. Physiologia Plantarum, 97: 421-424.

14- Cramer, G. R., A. Laeuchli and E. Epstein 1986. Effects of NaCl and $CaCl_2$ on ion activities in complex nutrient solutions and root growth of cotton. Plant Physiology. 81: 792-797.

15- Delphine, S., Alvino, A. Zacchini, M. and Loreto, F. 1998. Consequences of salt stress on conductance to CO_2 diffusion, Rubisco characteristics and anatomy of spinach leaves. Annual Review of Plant Physiology, 25: 395–402.

16- Deo, R. and Kanwar, J. S. 1969. Effect of saline irrigation waters on the growth and chemical composition of wheat. Journal of Indian Society of Soil Science, 16: 365-370.

17- Dubey, R. S. and Singh, A. K. 1999. Salinity induces accumulation sugars and alters the activity of sugar metabolizing enzymes in rice plants. Biologia Plantarum, 42: 233–239.

18- Dubois, M. K., Gilles, A., Hamilton, J. K., Reberts, P. A. and Smith, F. 1956. Colorimetric method for determination of sugar and related substrates. Analetical Chemistry, 28: 350-356.

19-Epstein, E. 1998. How Calcium enhances plant salt tolerance. Science, 280: 1906 - 1907.

20- Ferreira, R. G., Tavora, F. J. A. F. and Hernandez, F. F. F. 2001. Dry matter partitioning and mineral composition of roots, stems and

Archive of SID

www.SID.ir

leaves of guava grown under salt stress conditions. Pesqui. Agropecu. Bras., 36: 79–88.

21- Galiba, G. 1994. *In vitro* adaptation for drought and cold hardiness in wheat. Plant Breeding Review, 12: 115–161.

22- Girija, C., Smith, B. N. and Swamy, P. M. 2002. Interactive effects of sodium chloride and calcium chloride on accumulation of proline and glycinebetaine in peanut (*Arachis hypogaea* L.). Environmental and Experimental Botany, 47: 1-10.

23- Greenway, H. and Munns, R. 1980. Mechanisms of salt tolerance in non-halophytes. Annual Review of Plant Physiology, 31: 149–190.

24- Hasegawa, P. M., Bressan, R. A., Zhu, J. K and Bohnert, H. J. 2000. Plant cellular and molecular responses to high salinity. Annual Review of Plant Physiology and plant Molecular Biology, 51: 463–499.

25- Howard, E. Joham, 1956. Carbohydrate distribution as affected by calcium deficiency in cotton. Texas Agricultural Experiment Station, No. 2466

26- Kaya, C. B. E. Ak., Higgs, D. and Murillo-Amador, B. 2002. Influence of foliar applied calcium nitrate on strawberry plants grown under salt stress conditions. Australian Journal of Experimental Agriculture, 42: 631–636.

27- Khavarinejad, R. A. and Mostofi, Y. 1998. Effects of NaCl on photosynthetic pigments, saccharides, and chloroplast ultrastructure in leaves of tomato cultivars, Photosynthetica, 35 : 151–154.

28- Knight, H., Trewavas, A. J., Knight, M. R., 1997. Calciumsignalling in *Arabidopsis* responding to drought and salinity. Plant Journal, 12: 1067–1078.

29- Koster K.L., Leopold A.C.1988. Sugars and desiccation tolerance in seeds. Plant Physiology, 96: 302-304.

30- La Haye, A. and Epstein, E. 1969. Salt toleration by plants: enhancement with calcium. Science, 166: 395-396.

31- Leung, J. and Giraudat, J. 1998. Abscisic acid signal transduction. Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology, 49: 199–222.

32- Lowry, O. H., Roseberough, N. J., Farr, A. L. and Randall, R. J. 1951. Protein measurement with the foline-phenol reagent. Journal of Biological Chemistry, 32: 27-39.

33- Lynch, J. and Laeuchli, A. 1985. Salt stress disturbs the Ca nutrition of barley (*Hordeum vulgare* L.). New Phytologist, 99: 345-354.

34- Maggio, A., Miyazaki, S., Veronese, P., Fujita, T., Ibeas, J. I., Damsz, B., Narasimhan, M. L., Hasegawa, P. M., Joly, R. J. and Bressan, R. A. 2002. Does proline accumulation play an active role in stress induced growth reduction? Plant Journal, 31: 699-712.

35-Meloni, D. A., Oliva, M. A.. Ruiz, H. A and Martinez, C. A. 2001. Contribution of proline and inorganic solutes to osmotic adjustment in cotton under salt stress. Journal of Plant Nutrition, 24: 599–612.

36- Muscolo A., Panuccio, M. R. and Sidari, M. 2003. Effects of salinity on growth, carbohydrate metabolism and nutritive properties of kikuyu grass (*Pennisetum clandestinum* Hochst). Plant Science, 164: 1103.

37- Murugan, K., Sathish, D. K., 2005. Ameliorative effect by calcium on NaCI salinity stress related to proline metabolism in the callus of *Centella asiatica* L. Journal of Plant Biochemistry and Biotechnology.

38- Navarro, J. M., Martinez, V. and Carvajal, M. 2000. Ammonium bicarbonate and calcium effects on tomato plants grown under saline conditions. Plant Science, 157: 89–96.

39- Niu, X., Bressan, R. A., Hasegawa, P. M. and Pardo, J. M. 1995. Homeostasise in Nacl stress environment. Plant Physiology, 109: 735-742.

40- Parida, A.B. and Das, P. 2002. NaCl stress causes changes in photosynthetic pigments, proteins and other metabolic components in the leaves of a true mangrove, *Bruguiera parviflora*, in hydroponic cultures. Journal of Plant Biology**,** 45: 28–36.

41- Pareek, A., Singla, S.L., and Grover, A.1997. Salt Responsive Proteins/Ggenes In Crop Plants, Strategies for Improving Salt Tolerance in Higher Plants. New Delhi, Oxford and IBH, 365–391.

42- Romeroaranda, R., Soria, T. and Cuartero, J. 2001. Tomato plant water uptake and plant water relationships under saline growth conditions. Plant Science, 160: 265–272.

43-Smirnoff, N. 1998. Plant resistance to environmental stress, Current Opinion in Biotechnology, 9: 214-219.

Archive of SID

www.SID.ir

44-Song, J. Q. and Fujyiama, H. 1996. Difference in response of rice and tomato subjected to sodium salinization to the addition of calcium. Soil Science and Plant Nutrition, 42: 503-510.

45-Tattini,M., Gucci, R., RomNI,a.,Baldi, A. and Everard, D.1996. Changes in non structureal carbohydrates in olive (*Olea europaea*) leaves during root zone salinity stress. Physiologia Plantarum. 98: 117.124.

46-Vierling E., Kimpel J. A. 1992. Plant responses to environmental stress. Current Opinion in Biotechnology, 3: 164-170.

47-White, P. J. 2000. Calcium channels in higher plants. Biochimical et Biophysical Acta, 1465: 171–189.

Ameliorative effects of $CaCl_2$ and $CaSO_4$ on growth,content of solouble proteins, solouble sugars, proline and some mineral nutrients (Na^+,K^+) in leaves of *Lycopersicon esculentom* var Mobile under salt stress

Mokhtary I.[1], Abrishamchi P.[1], and Ganjali A.[2]

[1] Biology Dept., Faculty of Science, Ferdwosi University, Mashad, I.R. of IRAN

[2] Reasearch Center for Plant Science, Ferdosi University, Mashad, I.R. of IRAN

Abstract

Tomato (*Lycopersicum esculentum*) is moderately tolerate to salinity (1/3ds/m<EC<6/1ds/m) but high salt significantly reduces crop productivity. The ability of plants to tolerante salt is determined by multiple biochemical pathways that facilitate retention and/or acquisition of water and maintain ion homeostasis. Essential pathways include those that lead to synthesis of osmotically active metabolites (ex. proline) and accumulate them especially in the cytoplasm. The other side it has been reported that calcium ameliorate detrimental effects of salinity stress. In order to study the effects of calcium on growth, compatible solutes and mineral nutrients of tomato plants leaves (*Lycopersicum esculentum* v. Mobile) grown under salt stress,an experiment was arranged as a factorial experiment, based on completely random design with three replicates. The salt levels included NaCl solutions with electrical conductivity, 0, 8, 10,12 and 14 ds/m. Calcium used as $CaCl_2$ and $CaSo_4$ (5mM). The plants were grown hydropunically in Hogland's solution. After eight weeks shoots were harvested and shoot dry weights, solouble proteins, solouble sugars, proline and mineral nutrients (sodium and potassium) in leaves were measured. The results showed that increasing of salinity (particularly EC=10 ds/m)signifficantly decreased shoot dry weights. Salinity was raised Na^+ and decreased K^+ concentration in the leaves. Furthermore salt stress significantly increased soluble proteins, soluble sugars and proline in leaves. Calcium treatment ameliorated growth and these negative effects via reducing Na^+ uptake , increasing K^+ uptake and also with exciting synthesis and accumulation of proline. It seems that calcium plays an essential role in alleviating injury of salinity with membrane stability and maintaining membrane permeability. Therefore, it could offer an economical and simple way in ameliorating adverse effects on tomato crop production caused by high salinity.

Keywords*:* calcium chloride, calcium sulphate, proline, salinity, solouble proteins, solouble sugars, tomato.

Archive of SID

www.SID.ir