Archive of SID

بررسی تاثیر شوری کلرور سدیم بر میزان پرولین و مالون دآلدئید ۱۰ رقم پایه انگور

یونس پورمحمدتقی[۱]، محمدعلی نجاتیان[۲]، حسن محمودزاده اگریقاش[۳] و جمشید خان حکمتی[٤]

۱- دانشجوی کارشناسی ارشد دانشگاه آزاد اسلامی واحد کرج

۲- استادیار پژوهش مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی استان قزوین

۳- استادیار پژوهش مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی استان آذربایجان غربی

٤- عضو هیأت علمی دانشگاه آزاد اسلامی

چکیده

یکی از عوامل محدودشدن رشد گیاهان در جهان عامل شوری بوده و باعث مسمومیت در گیاهان می شود، بدین جهت همواره مورد توجه محققین بخش کشاورزی، محیط زیست و اکولوژیستها بوده است. در انگور نیز یکی از مشکلات کشت، شوری خاک است که با انتخاب ارقام متحمل می توان از این مشکل جلوگیری کرد. به اینترتیب به منظور مطالعه و دستیابی به ارقام متحمل و مقاوم پایه های انگور نسبت به عوامل شوری(Nacl)، ۱۰ رقم انگور ایرانی و خارجی شامل بیدانه سفید، بیدانه قرمز، یاقوتی، سیاه سردشت، چفته، قزل ازوم، عسگری، حسینی، یک رقم وارداتی از ترکمنستان و پرلت، بصورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با ٤ تکرار در ۵ سطح شوری شامل شاهد، ۲۰۰، ۱۵۰، ۱۰۰ و۲۵۰ میلی مول در لیتر نمک Nacl، در مجتمع آموزش جهاد کشاورزی قزوین بررسی گردید. نتایج نشان داد با افزایش سطح شوری، میزان پرولین در برگ و ریشه، همچنین غلظت مالون دی آلدئید در برگ ارقام افزایش یافت. نتایج مقایسه میانگین صفات مورد بررسی نشان داد که اختلاف معنی داری بین ارقام مورد بررسی انگور وجود دارد. در ضمن انباشتگی میزان پرولین و مالون دی آلدئید موجود در اندام ارقام با افزایش میزان شوری، در بین ارقام افزایش معنی داری را نشان داد. در بین ارقام مورد مطالعه، یاقوتی و چفته پرولین بیشتر و مالون در آلدئید کمتری نسبت به سایر ارقامو رقم پرلت هم به دلیل کاهش تجمع پرولین، نسبت به مالون دی آلدئید، رقمخیلی حساس به شوری کلرید سدیم شناخته شد. سایر ارقام در گروه های حساس و نیمه متحمل قرار گرفتند.

کلمات کلیدی: انگور، پرولین، مالون دی آلدئید، Nacl

www.SID.ir

Archive of SID

مقدمه

در جهان گیاهان بیشماری در حال رشد می باشند. در این میان عوامل متعددی وجود دارند که به عنوان بازدارند رشد و توسعه گیاهان بشمار می روند. یکی از عوامل مهم، عامل شوری بوده که باعث کاهش عملکرد و تولید می شود.و هرساله به دلایل گوناگون شاهد پیشروی و توسعه شوری در اراضی حاصلخیز و مطلوب هستیم.توسعه و گسترش شوری، در کشور ما هم مسئله مهمی بشمار می رود و در بیشتر مناطق شاهد تخریب اراضی کشاورزی می باشیم، که بارزترین آن، دریاچه ارومیه میباشد. با توجه به خشکسالی سالهای اخیر و احداث سدهای متعدد در مسیر رودخانه های منتهی به این دریاچه، ساحل شور پیشروی نموده و سطح وسیعی از نمکهای سطح ساحل، خطر جدی را برای اراضی کشاورزی استان آذربایجان غربی و حتی سایر استان های همسایه در بر خواهد داشت.

شوری یک از اصلی ترین تنش های اسمزی است که بصورت برجسته رشد و تولید گیاه را محدود می کند شوری آشفتگیهای زیادی را درسطح سلولی و کل گیاه القاء می نماید. تنش شوری در نتیجه برخی فرآیندهای زیان آورشامل عمل سمی یونهای Na^+ و Cl^-، تغییر در وضعیت آب بافتهای گیاه و تنشهای ثانویه نظیر تنش اکسیداتیو حاصل می شود.(Storey&walker1999)گیاهان در خلال دوره ای رشد و نمو خود ممکن است با تنش روبرو شوند. تنش نتیجه روند غیرعادی فرآیندهای فیزیولوژیکی می باشد که از تاثیر یک یا ترکیبی از عوامل زیستی و محیطی حاصل می شود. تنش های غیر زیستی از جمله عواملی می باشند که در رشد و عملکرد گیاهان محدودیت ایجاد می کنند. در چنین شرایطی گیاه با کاهش رشد مواجه می شود.تحمل گیاهان نسبت به شوری نه تنها در بین گونه های مختلف کاملاً متفاوت است بلکه به شرایط محیطی نیز بستگی دارد. گیاهان مبتلا به شوری اغلب ظاهری معمولی دارند ولی عموماً کوتاه تر بوده و برگ آنها ضخیم تر می باشد (MirmohammadyMaibody .&Gareyazie 2002) یکی از واکنش های سریع که گیاه در نتیجه بالا رفتن شوری از خود نشان می دهد کاهش در توسعه برگ است. در حقیقت کاهش رشد در میان افزایش شوری در خاک، با میزان کاهش سطح برگ ارتباط دارد. کاهش سطح برگ را می توان به دلیل علائم هورمونی ارسالی از ریشه به برگ دانست.شوری رشد ریشه را کاهش می‌دهد. (Newmann;1997) اگرچه گیاهان ممکن است با شوری متوسط و پایین آب، سوخت و ساز معمولی داشته باشند و تنش را نشان ندهند،ولی برای حفظ این وضعیت احتیاج به مصرف انرژی بیشتری برای فعالیت متابولیسمی و چرخه فتوسنتزی دارند که در نهایت منجربه کاهش رشد و عملکرد محصول می شوند. هدف از این پژوهش بررسی ریشه زایی پایه های ۱۰رقم انگور ایرانی و خارجی شامل بیدانه سفید، بیدانه قرمز،

www.SID.ir

Archive of SID

یاقوتی، سیاه سردشت، چفته، قزل ازوم، عسگری،حسینی،ترکمنستان و پرلت ، نسبت به تنش شوری Nacl می باشد.

مواد و روش ها

این پژوهش به صورت فاکتوریل در قالب طرح پایه کاملاً تصادفی در پنج سطح شوری، ده رقم پایه و ٤ تکرار، و هر تکرار۱۰ واحد آزمایشی در مجتمع آموزش جهاد کشاورزی قزوین اجرا گردید. بدین منظور دراسفندسال۸۹، قلمه هایی از ارقام منتخب از ایستگاه تحقیقات انگور استان قزوین و آذربایجان غربی تهیه شد. قلمه ها ساده، دارای چهار جوانه و به طول حدوداً ۲۰cm و از نوع نیمه خشبی تهیه گردید.

قلمه های مورد مطالعه پس ازکد گذاری در گلخانه در گلدانهای پلاستیکی در بستر با ترکیب خاک باغچه، خاکبرگ و ماسه بادی به نسبت ۲:۱:۱ کشت شد (در هرگلدان دو عدد قلمه کاشته شد). آبیاری قلمه ها با آب معمولی با هدایت الکتریکی۰/۷ دسی زیمنس بر متر و بصورت تحت فشار(قطره ای)وتعداد دور آبیاری به طور معمول ۳بار در هفته صورت گرفت. پس از دو برگه شدن پایه ها و جایگزینی پایه های دو برگه ذخیره با قلمه های معیوب، محلولهای شوری با نمک Nacl با درجه خلوص ۹۹/۵٪[MERCK] با غلظت ۵۰ میلی مول تهیه و در پنج مرحله (به منظور جلوگیری از تنش ناگهانی) به گلدانها اضافه شد. پس از اعمال تنش شوری آبیاری (آب معمولی) تا قبل از رسیدن گلدانها به اشباع (جهت جلوگیری از شستشوی نمک از زهکش گلدان) متوقف می شد.

اندازه گیری میزان مالون دی آلدئید (MALON DIALDEYDE)

اندازه گیری محتوای مالون دی آلدئید که شاخص پراکسیداسیون لیپیدی در طی تنش ها و همچنین معیاری برای سنجش تاثیر تنش می باشد با استفاده از روش(Novacky and Popham, 1990) اندازه گیری گردید. یک گرم از بافت تر گیاهان در ۵ میلی لیتر تری کلرواستیک اسید ۵٪ (W/V) توسط هاون خوب ساییده شده و در ۱۰۰۰xg به مدت ۱۵ دقیقه در دمای اتاق سانتریفوژ گردید. سپس محلول رویی با حجم مساوی از ۲- تیوباربیوتیک اسید ۰/۵٪ در تری کلرواستیک اسید ۲۰٪ (W/V) مخلوط گردید. مخلوط حاصل در آون در دمای ۹۵ درجه سانتی گراد به مدت ۳۰ دقیقه قرار گرفت سپس این مخلوط توسط یخ به مدت ۵ دقیقه سرد شده و در ۱۰۰۰xg به مدت ۵ دقیقه سانتریفوژشد.

جذب نمونه ها در طول موج ۵۳۲ و ٦۰۰ نانومتر اندازه گیری شد. اندازه گیری شد. میزان مالون دی آلدئید با استفاده از فرمول زیرو ضریب خاموشی(Extinction coefficicent) mMcm- 155امحاسبه گردید.

www.SID.ir

Archive of SID

$A_{532} = \varepsilon cl$

غلظت = c

ضخامت سل =1cm

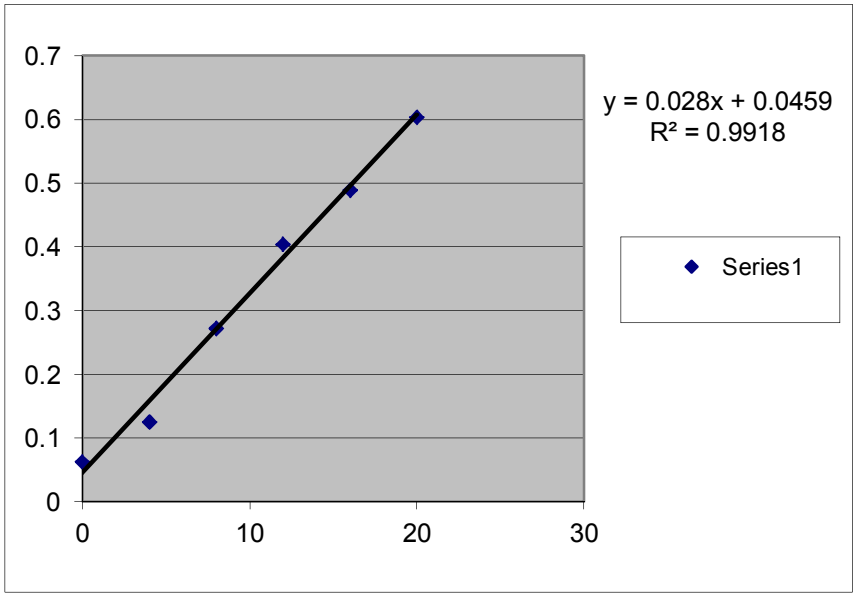
ضریب خاموشی = ε

اندازه گیری پرولین

مقدار ۱۰ میلی گرم (۰/۰۱ گرم) ماده خشک گیاهی در لوله های آزمایش حاوی ۱۰ میلی لیتر اسید سولفوسالیسیلیک ۳٪ قرار داده شد. بعد از ٢٤ الی ٤٨ ساعت، نمونه ها توسط کاغذ صافی واتمن شماره دو صاف شدند. برای اندازه گیری میزان پرولین روش(Bates ,1973) استفاده شد. ۱/۲۵ گرم نین هیدرین در ۳۰ میلی لیتر اسید استیک و ۲۰ میلی لیتر اسید فسفریک ٦ مولار حل گردید. از هر نمونه صاف شده در قسمت بالا ۲ml در یک لوله آزمایش ریخته و برروی آن ۲ میلی لیتر اسید استیک و ۲ml معرف نین هیدرین اضافه گردید و سپس(دربن ماری) حرارت داده شد. بعد از یک ساعت سرد شدن لوله ها ، در هر لوله آزمایش مقدار ٤ml تولوئن ریخته، آنگاه بوسیله دستگاه همزن به مدت ۱۵ الی ۲۰ ثانیه مواد درون لوله ها مخلوط شدند در هر لوله دو فاز تشکیل گردید. که فاز بالایی آن حاوی کمپلکس رنگی (قرمز) بود از محلول بالایی جهت اندازه گیری پرولین استفاده شد. میزان جذب نور در طول موج ۵۲۰nm بوسیله اسپکتروفتومتر اندازه گیری شد (طرز تهیه معرف نین هیدرین : ۲۰ میلی لیتر اسید فسفریک ٦ مولار با ۳۰ میلی لیتر اسید استیک گلاسیال و ۱/۲۵ گرم نین هیدرین مخلوط کرده و محلول را کمی حرارت داده تا نین هیدرین حل شود). برای نمونه شاهد جهت صفر کردن میزان جذب از آب مقطر استفاده شد. برای تهیه منحنی استاندارد از محلول های پرولین با غلظت های۰ ، ٤ ، ٨ ، ١٢ ، ١٦ ، ٢٠ میلی گرم (نمودار ۱) و از تولوئن به عنوان بلانک برای تنظیم دستگاه استفاده شد.

www.SID.ir

Archive of SID



نمودار ۱- (نمودار منحنی استاندارد)

نتایج

باتوجه به جدول تجزیه واریانس(جدول ۱) مشاهده گردید که در سطح یک درصد غلظتهای پرولین و مالون دآلدئید اندازه گیری شده معنی دار هستند.

جدول۲- خلاصه نتایج تجزیه واریانس میزان پرولین برگ و ریشه و مقدار مالون دآلدئید

		میانگین مربعات		
منابع تغییر		پرولین برگ (*µg/l*)	پرولین ریشه (*µg/l*)	مالون دآلدئید (µmol/gfw)
رقم	۹	۳٦٤/٥٠٧**	۲٤/٥٦٠**	۳/٦۹**
تیمار	٤	٦٥۹/٦۹٤**	۷٥/۳٦۹**	۳۸/٥۹۹**
رقم×تیمار	۳٦	۹۷/۷۷۲**	۱۲/۱٤۸**	۳/۰۹٦**
خطای آزمایش	۱٥۰	۳/٦۹۳	۱/۱۸۳	۰/٦۳٤
ضریب تغییرات(CV)		۱٤/۸۳	۱٦/۰۸	۱۸/٦۳

www.SID.ir

Archive of SID

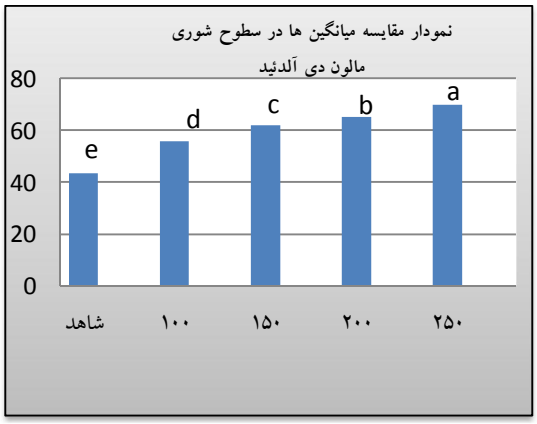
جدول ۲- مقایسه میانگین ها در سطوح مختلف شوری (NaClmM ,۱۰۰،۱۵۰،۲۰۰،۲۵۰،شاهد)

میانگین مربعات			
تیمار	پرولین برگ (*µg/l*)	پرولین ریشه (*µg/l*)	مالون دآلدئید (µmol/gfw)
شاهد	۲۸/۳۵۹e	۲/٤۰۷e	٤۳/۳۲e
۱۰۰	۳۳/۷۷ d	٤/٥٤٤d	٥٥/۹۸ d
۱٥۰	٤٦/٥۳ c	٥/۰۰۳c	٦۱/۹۸c
۲۰۰	٥۷/۰۳ b	٦/۹۸۰b	٦٥/۱۷ b
۲٥۰	۷۰/۱۱۳ a	۷/۹۱۷ a	٦۹/۲٦ a

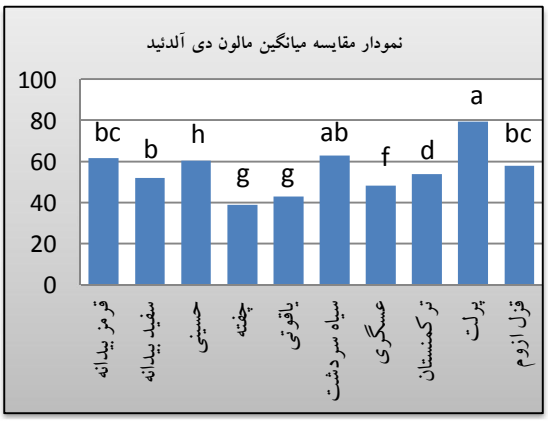
در هرستون میانگین های دارای حروف مشابه از نظر آزمون دانکن تفاوت معنی داری در سطح ۱٪ ندارند.

۱- اثر شوری بر محتوای مالون دی آلدئید(M DA)در انگور

نتایج تجزیه واریانس (جدول ۱) نشان داد که مالون دی آلدئید اختلاف معنی داری با احتمال یک درصد در شرایط سطوح مختلف NaCl دارد. همچنین با افزایش سطوح مختلف NaCl مقدار مالون دی آلدئید در برگهای انگور افزایش پیدا کرد (نمودار۲). در بین ارقام، رقم پرلت دارای بیشترین غلظت، و رقم چفته دارای کمترین غلظت مالون دی آلدئید می باشد (نمودار۳).



تغییرات مقادیر MΔA (µmol/gfw) در برگ ارقام



تغییرات مقادیر MΔA (µmol/gfw) در برگ ارقام

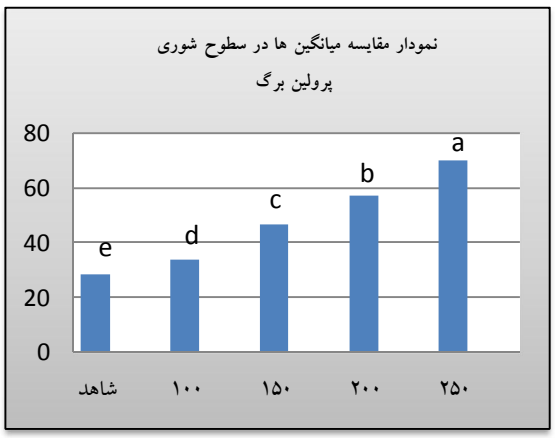
اعدادی که در هر ستون حداقل دارای یک حرف مشترک هستند، فاقد اختلاف معنی دار براساس آزمون دانکن در سطح احتمال ۱٪ می باشد اعدادی که در هر ستون حداقل دارای یک حرف مشترک هستند، فاقد اختلاف معنی دار براساس آزمون دانکن در سطح احتمال ۱٪ می باشد.

www.SID.ir

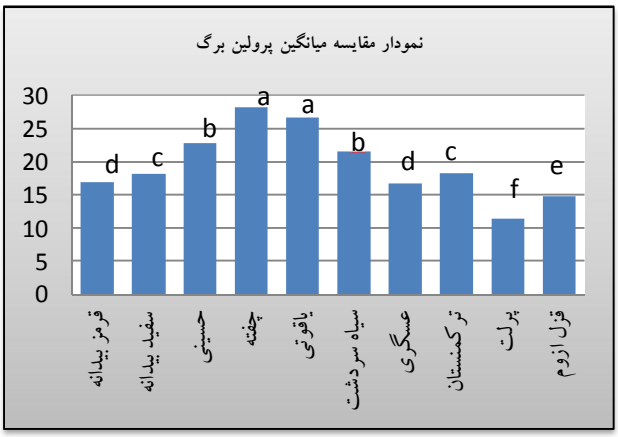
Archive of SID

۲- اثر شوری بر شاخص پرولین دربرگ و ریشه انگور

بر اساس نتایج حاصل از تجزیه واریانس (جدول۲)، نوع رقم و سطوح مختلف NaCl بر غلظت پرولین در ارقام غلظت پرولین از نظر آماری در سطح یک درصد معنی دار بود. نتایج میانگین ها نشان داد (نمودار۳). که با افزایش سطوح NaCl غلظت پرولین در بافتهای برگی افزایش پیدا کرده، بطوریکه در تمامی ارقام کمترین میزان پرولین مربوط به تیمار شاهد و بیشترین غلظت در تیمار ۲۵۰ میلی مولار مشاهده گردید. در این غلظت بیشترین غلظت پرولین برگ مربوط به رقم چفته و یاقوتی وکمترین آن مربوط به رقم پرلت می باشد (نمودار٤). بیشترین غلظت پرولین در ریشه نیز در رقم یاقوتی و کمترین غلظت آن در رقم پرلت می باشد. با افزایش سطوح شوری NaCl، غلظت پرولین در بافتهای ریشه نیز افزایش پیدا کرده ولی افزایش غلظت پرولین دربافتهای برگی بیشتر از غلظت آن در بافتهای ریشه بود.



تغییرات مقادیر پرولین(mg/l) برگ در سطوح شوری

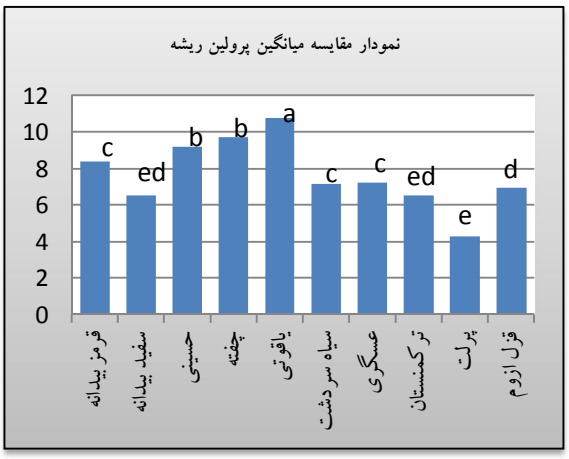


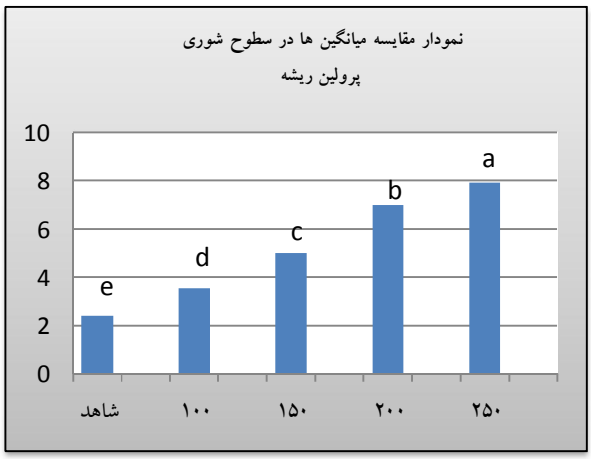
تغییرات مقادیر پرولین(mg/l) برگ در سطوح شوری

اعدادی که در هر ستون حداقل دارای یک حرف مشترک هستند، فاقد اختلاف معنی دار براساس آزمون دانکن در سطح احتمال ۱٪ می باشد. اعدادی که در هر ستون حداقل دارای یک حرف مشترک هستند، فاقد اختلاف معنی دار براساس آزمون دانکن در سطح احتمال ۱٪ می باشد

www.SID.ir

Archive of SID





تغییرات مقادیر پرولین(mg/l) ریشه در سطوح شوری **تغییرات مقادیر پرولین(mg/l) ریشه در سطوح شوری**

اعدادی که در هر ستون حداقل دارای یک حرف مشترک هستند، فاقد اختلاف معنی دار براساس آزمون دانکن در سطح احتمال ۱٪ می باشد. اعدادی که در هر ستون حداقل دارای یک حرف مشترک هستند، فاقد اختلاف معنی دار براساس آزمون دانکن در سطح احتمال ۱٪ می باشد

بحث و نتیجه گیری

گزارش شده است که شوری موجب کاهش رشد رویشی گیاه می گردد(Walker et al.,1982)،که نتایج این تحقیق نیز موید همین نکته است.در بررسی که بر روی اثر شوری در دو پایه چفته و پرلت صورت گرفت؛ مشخص شد که کاهش رشد در پایه پرلت نسبت به چفته بیشتر بوده است و نظریه مقاومت به شوری چفته تایید گردید. افزایش پرولین در اثر تنش شوری در گیاه انگور قبلاً توسط محققین مختلف گزارش شده است از جمله قادری و همکاران (۱۳۸۵)، پورسلطان (۱۳۸٦)، یوسف زاده (۱۳۸۸)، (Singh et al .,2000) با تیمار قلمه های انگور در شرایط کشت درون شیشه ای توسط کلرید سدیم بیان کردند با افزایش شوری میزان پرولین افزایش می یابد که در تنظیم اسمزی برگها نقش دارد. اگرچه پرولین در همهٔ اندامهای گیاه کامل در طی تنش شوری تجمع می‌یابد ولی سریعترین و وسیعترین انباشت را در برگها دارد. تجمع پرولین در ریشه‌ها با گسترش کمتر و با تأخیر زمانی نسبت به تجمع در برگها صورت می‌گیرد. بررسیها نشان می‌دهد که افزایش پرولین در ریشه ناشی از انتقال آن از برگ می‌باشد. بیشترین تجمع در بافتهایی دیده می‌شود که یا از گیاه جدا شده‌اند و یا فاقد کلروفیل هستند. در حال حاضر شکی نیست که تحت شرایط تنش، پرولین اثرات بیولوژیکی متعددی را نشان می‌دهد که در اعمال حفاظتی و تعدیل اسمزی تظاهر می‌یابند. علاوه بر نقش تنظیم اسمزی، پرولین به عنوان یک محافظ در برابر تنش عمل می‌کند. بدین

www.SID.ir

Archive of SID

ترتیب که به طور مستقیم یا غیرمستقیم با ماکرومولکولها اثر متقابل داشته و از این طریق به حفظ شکل وساختار طبیعی آنها تحت شرایط تنش کمک می‌کند.

همچنین آلدئیدها که از جمله محصولات عمده واکنش های پراکسیداسیون لیپیدها هستند به عنوان شاخص انجام این واکنش ها اندازه گیری می شوند. از مهمترین این آلدئیدها، مالون دی آلدهیدمی باشد. افزایش مالون دی آلدئید می تواند دلیلی بر تنش اکسیداتیو در انگور باشد در تنش اکسیداتیو گونه های اکسیژن فعال مثل (رادیکال های OH,O_2 ,H_2O_2 و غیره) به وجود آمده و افزایش آن در سلول ها منجر به پر اکسیداسیون لیپیدها در غشاء سلول ها و ارگانل ها می شود در نتیجه عملکرد غشا ها مختل می گردد(Stuiver*et al*., 2002). حفظ یکپارچگی و نفوذ پذیری طبیعی غشا بخش مهمی از مقاومت به شوری گیاهان است افزایش مالون دی آلدهید در برگهای انگور در اثر اعمال تیمار شوری قبلاً توسط فزونی(۱۳۸۹) گزارش گردیده است.

تقدیر و تشکر

بدینوسیله از آقایان مهندس درجانی ریاست محترم و دکتر یوسفی معاونت محترم مجتمع آموزش جهاد کشاورزی و مهندس حسینی بای، محمدپور و سرکار خانم مهندس اطلس بافت که در این طرح نهایت همکاری را داشتند، سپاسگزاری می شود.

منابع:

۱. یوسف زاده، ح. (۱۳۸۸). تاثیر تنش شوری بر خصوصیات مورفلوژیکی و فیزیولوژیکی دو رقم انگور .پایان نامه کارشناسی ارشد دانشگاه ارومیه . ۵۹صفحه.

۲. فزونی،م.(۱۳۸۹). اثرات مختلف سطوح شوری در توازن یونی چند رقم انگور. پایان نامه کارشناسی ارشد، دانشکده علوم دانشگاه ارومیه.۷۰ صفحه.

۳. قادری، ن. سی وسه مرده، ع. و سید صابر، ش. (۱۳۸۵). بررسی اثر خشکی بر خصوصیات فیزیولوژیکی دو رقم انگور. مجله علوم کشاورزی ایران. جلد۲۹. شماره،۱: ۵۵-٤٥.

٤. پورسلطان، م.(۱۳۸٦). تاثیر سطوح مختلف شوری سدیم کلریدی روی رشد رویشی و خصوصیات فیزیولوژیکی برخی انگورهای محلی.پایان نامه کارشناسی ارشد دانشگاه تبریز.۹۱ صفحه.

5. Bates,L.S.,Waldren,R.P., and Teare,I.D.,(1973). Rapid determination of free praline for water-stress studies.Plant and Soil.,39:205-207.
6. Newman,H.P. and A.g.Antcliff.(1983). Chloride accumulation in some hybrids and back crosses of vitis berlandieri and vitis vinifera. Vitis,23:106-112.

www.SID.ir

Archive of SID

7. Singh, S. K., Sharma, H. C., Goswami, A. M., Datta, S. P. and Singh, S. P. (2000).In vitro growth and leaf composition of grapevine cultivars as affected by sodium chloride. Biologia Plantarum, 43(2): 283-286.
8. Stuiver,C.E.,Kuiper,P.J.C.,and Marschner,H.,(2002). Lipids from bean, barley and sugar beet in relation to salt resistance.Physiol Plant.,42:124-128.
9. Storey, R. and Walker, R. R. (1999).Citrus and salinity.Scientia Horticulturae. 78: 39-81.
10. Walker,R.R.,Blackmore,D.H.,Clingeleffer,P.R.,Clingelffe.and RayL.,(2004). Rootstock effects on salt tolerance of irrigitaed field-grown grapevines (vitis vinifera L.cv.Sultana)2.Ion concentration in leaves and juice.Australian Journal of Grape and wine Research.,10:90-99.
11. Walker, R. R., Torokfalvy, E., Scott, N. S. and Kriedemann, P. E. (1981).An analysis of photosynthetic response to salt treatment in Vitis vinifera.Australian Journal of Plant Physiology. 8(3): 359-374.
12. walker,R.R.,(1994).Grapevine responses to salinity.BulletionDel, O.I.V.,634-661.
13. Walker,R.R.,Blackmore,D.H.,Clingeleffer,P.R.,&Correl,R.L.,(2002). Rootstock effects on salt tolerance of irrigitaed field-grown grapevines (vitis vinifera L.cv.Sultana).1-Yield and vigor inter-relationships .Australian Journal of Grape and wine Research.,8:3-14.

www.SID.ir