

اثر متیل جاسمونات و غلظت‌های مختلف یون کلر بر رنگیزه‌های فتوستنتزی و مقدار پرولین در گیاه توتون وارسته کوکر ۳۴۷

محمدرضا تیزهوش جلالی^۱، جنت سرمد^{۱*}، اکبر نورسته‌نیا^۱، محسن زواره^۲ و مهیار مشتاقی^۳

^۱ گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه گیلان، رشت، ایران

^۲ گروه زراعت و اصلاح نباتات، دانشکده علوم کشاورزی، دانشگاه گیلان، رشت، ایران

^۳ بخش آگرونومی، مرکز تحقیقات توتون رشت، شرکت دخانیات ایران، رشت، ایران

چکیده

جاسمونیک اسید و استر متیله آن (متیل جاسمونات) یکی از تنظیم‌کننده‌های طبیعی رشد گیاهی است که به طور گسترده در گیاهان وجود دارد. در این حاضر، تأثیر غلظت ۳۰ میکرومولار متیل جاسمونات به صورت محلول‌پاشی در مراحل اولیه رشد و در شرایط زیادی یون کلر، بر رنگیزه‌های فتوستنتزی و پرولین در گیاه توتون (*Nicotiana tabacum* L.) وارسته کوکر ۳۴۷ بررسی شد. بدین منظور در سال زراعی ۱۳۸۹-۱۳۹۰ آزمایشی در مرکز تحقیقات توتون رشت به صورت طرح کاملاً تصادفی در شرایط گلدانی خارج از گلخانه اجرا شد. پس از انتقال گیاهچه‌های یکنواخت به گلدان‌ها، گیاهان در مرحله رشد سریع با سه سطح یون کلر (۵۰، ۱۵۰ و ۳۰۰ میلی‌گرم در لیتر) حاصل از $CaCl_2$ در حضور و عدم حضور متیل جاسمونات، در ۴ تکرار به مدت چهار هفته آبیاری شدند. تحلیل داده‌ها نشان داد که با افزایش یون کلر آب آبیاری تا تیمار ۳۰۰، تجمع کلر و کلسیم در برگ‌ها به طور معنی‌داری افزایش و میزان رنگیزه‌های فتوستنتزی (کلروفیل a، کلروفیل b، کلروفیل کل) و پرولین کاهش یافت. کاربرد خارجی متیل جاسمونات (۳۰ میکرومولار) موجب افزایش معنی‌دار میزان رنگیزه‌های فتوستنتزی در کلیه تیمارها و پرولین در تیمار ۳۰۰ میلی‌گرم در لیتر کلر گردید. به نظر می‌رسد کاربرد خارجی متیل جاسمونات (۳۰ میکرومولار) می‌تواند آسیب‌های حاصل از غلظت‌های بالای یون کلر را در گیاه توتون بهبود بخشد.

واژه‌های کلیدی: پرولین، توتون، رنگیزه‌های فتوستنتزی، متیل جاسمونات، یون کلر

مقدمه

شود (Munns and Tester, 2008). تنش شوری با

افزایش پتانسیل اسمزی محلول خاک، موجب اختلال

در تمامی فرآیندهای اصلی سلولی مانند: فتوستنتز،

ساخت پروتئین و انرژی می‌شود (Hajlaoui et al.,

اصطلاح تنش شوری زمانی اطلاق می‌شود که

غلظت بالایی از یون‌ها نظیر: سدیم، کلر، کربنات،

منیزیم، سولفات و بورات سبب کاهش رشد گیاهان

گیاه اغلب در کوتاه مدت تحمل می‌شود اما در بلند مدت باعث کاهش رشد و تقسیم سلولی و به دنبال آن تولید برگ‌های کوچک و ضخیم می‌گردد (Zamani, 2010). غلظت کلر بیش از ۱۰ میلی‌گرم بر گرم وزن خشک گیاه توتون موجب کاهش رشد، کیفیت و ارزش تجاری برگ و ایجاد خصوصیات نامطلوب در برگ‌های خشک می‌شود (Xu et al., 2000).

امروزه کاربرد برخی تنظیم‌کننده‌های رشد مانند جاسمونیک اسید یا مشتق متیله آن به منظور بهبود رشد گیاهان در شرایط تنش، گسترش یافته است. استفاده از جاسمونیک اسید خارجی می‌تواند در گیاه آثار فیزیولوژیک متعددی ایجاد کند (Munns et al., 2006).

شوری، مقدار کلروفیل گیاه را کاهش می‌دهد. کاهش مقدار کلروفیل و کاروتنوئید در شرایط تنش شوری در گیاه گوجه‌فرنگی توسط Usha و Singh (۲۰۰۳) و Horvath و همکاران (۲۰۰۷) گزارش شده است. مطالعات نشان داده است که افزایش متیل جاسمونات خارجی در ریشه گیاه برنج، موجب مقابله با آثار زیان بار شوری حاصل از کلرید سدیم بر فتوسنتز و رشد در این گیاهان می‌گردد (Chavoushi et al., 2010). افزایش شوری، مقدار رنگیزه‌های کلروفیلی در گیاه نخود را نیز کاهش می‌دهد و استفاده از متیل جاسمونات خارجی موجب افزایش محتوای کلروفیل‌ها در این گیاهان شده است (Kumari et al., 2006). همچنین Chavoushi و همکاران (۲۰۱۰) با تحقیق روی گیاه گلرنگ (*Carthamus tinctorios*) اعلام کردند که حضور متیل جاسمونات موجب افزایش رنگیزه‌های فلاونوئیدی و آنتوسیانینی در این گیاه می‌گردد.

(2009). گیاه توتون (*Nicotiana tabaccum L.*) از تیره Solanaceae، گیاهی چند ساله است. با وجود این که توتون می‌تواند در محدوده وسیعی از انواع خاک‌ها از شنی سبک تا رسی سنگین کشت شود با این حال برای تولید محصول با کیفیت، هر نوع توتون به خاک مخصوصی نیاز دارد. توتون در خاک‌های خیلی اسیدی و خیلی قلیایی محصول مطلوبی نمی‌دهد و بهترین اسیدیته برای کشت توتون محدوده ۵/۵ تا ۶ است. تهویه مناسب و ظرفیت نگهداری رطوبت کافی در خاک، از ویژگی‌های خاک‌های بافت شنی و لومی-شنی است که در کشت توتون گرمخانه‌ای به کار می‌رود. به طور کلی، خاک، کیفیت آب آبیاری، عناصر غذایی و آب و هوا عوامل اصلی تعیین‌کننده کیفیت محصول توتون به شمار می‌روند (Denduangboripant et al., 2010).

کلر یک عنصر هالوژن در گروه چهارم جدول تناوبی، با عدد اتمی ۱۷ و میانگین جرم اتمی ۳۵/۵ است و تنها حالت اکسایش پایدار آن به صورت آنیون تک ظرفیتی است. کلر ماده غذایی کم مصرف ضروری برای بیشتر گیاهان است و حداقل نیاز به آن برای رشد محصول ۱ گرم بر گیلوگرم وزن خشک گیاه پیشنهاد شده است (Marschner, 2012). به طور کلی، این مقدار کلر از طریق بارندگی تأمین می‌شود و گیاهان با کمبود کلر به ندرت در کشاورزی یا طبیعت مشاهده می‌شوند. اگرچه غلظت زیاد کلر در بافت می‌تواند برای گیاهان زراعی سمی باشد و کشاورزی را در مناطق شور محدود کند، اما تأثیر یون کلر بر رشد، به نوع گیاه بستگی دارد. گیاه توتون کلر دوست است و آن را به سرعت و به مقدار زیاد در خود انباشته می‌کند. افزایش این یون در

مواد و روش‌ها

پژوهش حاضر در سال زراعی ۱۳۸۹-۱۳۹۰ به صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با چهار تکرار در مرکز تحقیقات توتون رشت (طول جغرافیایی ۴۹ درجه و ۳۱ دقیقه شرقی، عرض جغرافیایی ۳۷ درجه و ۳۷ دقیقه شمالی و ارتفاع ۱۰ متر از سطح دریای آزاد) اجرا شد. بر اساس مطالعه Sadrzamani و همکاران (۲۰۱۱) آستانه تحمل گیاه توتون رقم کوکر ۳۴۷، غلظت ۴۰ میلی‌گرم در لیتر کلر آب آبیاری تعیین و به عنوان غلظت پایه تنش یون کلر گزارش گردید. در این راستا، تیمارهای آزمایشی پژوهش حاضر شامل سه سطح کلر آب آبیاری (۵۰، ۱۵۰ و ۳۰۰ میلی‌گرم در لیتر) حاصل از کلرید کلسیم (CaCl_2) و بر اساس تحقیق Jang و همکاران (۲۰۰۸) دو سطح متیل جاسمونات (صفر و ۳۰ میکرومولار) در نظر گرفته شد. در این آزمایش، از گیاه توتون وارپته کوکر ۳۴۷ استفاده شد. این وارپته که متعلق به توتون‌های درشت برگ تیپ غربی (ویرجینیا) است، به عنوان یک رقم تجاری مناسب و منطبق با شرایط آب و هوایی در استان‌های شمالی ایران کشت می‌گردد. در نیمه اسفند ماه ۱۳۸۹ بذر توتون در سینی‌های کشت مخصوص، محتوی خاک کاشته شد و به خزانه شناور مرکز تحقیقات توتون رشت منتقل شد. سپس گلدان‌هایی پلاستیکی با گنجایش ۲۵ کیلوگرم خاک انتخاب و کف آنها سوراخ شد. به منظور ایجاد زهکش مناسب، به ارتفاع ۵ تا ۱۰ سانتی‌متر سنگ ریزه در هر گلدان ریخته شد و بقیه حجم گلدان با خاک مزرعه مرکز تحقیقات (جدول ۱) و پرلیت به نسبت ۴ به ۱ پر شد.

Yildiz-Aktas و همکاران (۲۰۰۹) مشاهده کردند که در گیاه کتان مقاوم به خشکی، سطح کاروتنوئیدها در مقایسه با گیاه کتان حساس به خشکی بالاتر است. به نظر می‌رسد متیل جاسمونات با افزایش فعالیت آنتی‌اکسیدان‌ها و از بین بردن رادیکال‌های آزاد اثر تخریبی تنش را کاهش می‌دهد (Wang, 1999). پرولین نیز به عنوان یک ماده محلول سبب تنظیم فشار اسمزی، کاهش هدر رفت آب از سلول، حفظ آماس سلولی، جلوگیری از تجزیه پروتئین‌های مختلف، افزایش فعالیت آنزیم‌ها و حفظ سامانه‌های غشایی می‌شود (Kafi et al., 2012).

Fedina و Benderliev (۲۰۰۰) کاربرد خارجی متیل جاسمونات را تحت تنش‌های مختلف از جمله شوری بررسی و مشاهده کردند که متیل جاسمونات خارجی با القای آنزیم سنتز کننده پرولین باعث افزایش مقاومت در گیاه می‌گردد.

در سال‌های اخیر غلظت بالای یون کلر در خاک و آب آبیاری موجب مشکلات عمده در صنعت توتون و کاهش کیفیت تجاری برگ‌های این گیاه شده است. بنابراین، یافتن راه‌های مناسب برای کاهش جذب کلر در این گیاه بسیار ضروری است. از آن‌جا که اطلاعات مدون و مستند چندانی درباره نقش بالقوه یون کلر و آثار متیل جاسمونات در فیزیولوژی و کاهش جذب این یون در گیاهان زراعی از جمله گیاه توتون وجود نداشت، پژوهش حاضر با هدف بررسی تأثیر غلظت ۳۰ میکرومولار متیل جاسمونات و غلظت‌های بالای یون کلر بر جذب و تجمع عناصر کلر و کلسیم، رنگیزه‌های فتوسنتزی و پرولین در برگ‌های گیاه توتون وارپته کوکر ۳۴۷ انجام شد.

جدول ۱- نتایج بررسی های فیزیکی و شیمیایی نمونه خاک محل اجرای طرح

عمق خاک (سانتی متر)	۳۰-۰
هدایت الکتریکی خاک (ds/m)	۲/۲۳
بافت خاک	لومی-شنی
آهک	۲/۲۵
سیلت (درصد)	۱۳
شن (درصد)	۱۸
رس (درصد)	۶۹
اسیدیته	۵/۳
کربن آلی (درصد)	۰/۹۴
نیترژن (درصد)	۰/۱۶۷
پتاسیم (ppm)	۶۱۹
فسفر (ppm)	۳۸/۲
کلسیم (میلی اکی والان بر لیتر)	۴/۶
منیزیم (میلی اکی والان بر لیتر)	۱/۴
کلر (میلی اکی والان بر لیتر)	۰/۸

CaCl₂، از قسمت میانه و بین رگبرگ های برگ یازدهم بوته ها (از برگ های میانی)، دیسک برگ تهیه و پس از پیچیدن آنها در فویل، در نیتروژن مایع حمل و به فریزر ۷۰- درجه سلسیوس منتقل شد. باقیمانده برگ ها برای تهیه پودر برگ به آون منتقل گردید.

سنجش یون کلسیم: در این سنجش از روش تیتراسیون با نیترات نقره استفاده شد (Emami, 1996). به این منظور ۰/۵ گرم پودر برگ توتون همراه با ۵۰ میلی لیتر آب مقطر به مدت ۰/۵ ساعت در بن ماری قرار گرفت و سپس صاف شد. ۱۰ میلی لیتر از این عصاره همراه با ۴۰ میلی لیتر آب مقطر و ۱ میلی لیتر کرومات پتاسیم به عنوان معرف در یک ارلن ریخته شد. از یک ارلن حاوی ۵۰ میلی لیتر آب مقطر و ۱ میلی لیتر کرومات پتاسیم به عنوان شاهد استفاده شد. سپس با نیترات نقره ۰/۰۲۵ نرمال تیترا شدند. به طوری که رنگ محلول از زرد روشن به نارنجی متمایل به قهوه ای تبدیل گردد. درصد کلر در گرم نمونه برگ خشک از رابطه ۱ محاسبه گردید، $v_0 =$ میزان تیترا برای محلول شاهد به میلی لیتر و $v_1 =$ میزان تیترا برای نمونه به میلی لیتر.

$$\text{رابطه ۱: } [(v_1 - v_0) \times 35.5 / 40 \times 95] \times 100$$

سنجش یون کلسیم: با روش سوزاندن خشک و ترکیب با کلریدریک اسید انجام شد (Emami, 1996). در این روش، ۲ گرم نمونه برگ خشک در کوره به مدت ۴ ساعت در حرارت ۵۵۰ درجه سانتیگراد قرار داده شد. پس از سرد شدن نمونه خاکسترها با اندکی آب خیسانده و با شیشه ساعت پوشانده شدند. ۱۰ میلی لیتر کلریدریک اسید ۲ مولار به آن اضافه شد. محتویات پس از گذشتن از کاغذ صافی به حجم ۱۰۰ میلی لیتر رسانده شد. ۱۰ میلی لیتر از این

در اردیبهشت ماه ۱۳۹۰ نشاهای سالم و یکنواخت به ارتفاع ۱۲ سانتی متر انتخاب شدند و در گلدان هایی که به فاصله یک متر از هم در خاک قرار داده شده بودند، کاشته شدند. نشاها به مدت چهار هفته و در هر هفته سه بار تنها با آب مقطر آبیاری شدند تا به خوبی در خاک استقرار یافته و وارد مرحله رشد سریع شوند. پس از آن، آبیاری با محلول CaCl₂ سه مرتبه در هفته با غلظت های کلر ۵۰، ۱۵۰ و ۳۰۰ میلی گرم در لیتر به مدت ۴ هفته انجام شد. متیل جاسمونات در سه مرحله روی برگ ها افشانه شد (مرحله ۱: یک هفته پس از انتقال نشاها به گلدان ها؛ مرحله ۲: در هفته سوم پس از اعمال تیمار کلر در مرحله رسیدگی برگ های پایینی؛ مرحله ۳: یک هفته پیش از رسیدگی و برداشت برگ های میانی). یک هفته پس از آخرین آبیاری با

است.

$$\text{Chl.a} = (12.25 A_{663.2} - 2.79 A_{646.8}) \times V/A$$

$$\text{Chl.b} = (21.50 A_{646.8} - 5.1 A_{663.2}) \times V/A$$

$$\text{Chl.T} = \text{Chl.a} + \text{Chl.b}$$

$$\text{Car.T} = (1000 A_{470} - 1.82 \text{Chl.a} - 85.02 \text{Chl.b}) / (198 \times V/A)$$

سنجش پرولین: از روش Bates و همکاران

(۱۹۷۳) استفاده شد. به این منظور ابتدا ۰/۵ گرم از بافت تازه برگ در ۵ میلی لیتر محلول سولفوسالیسیلیک اسید ساییده و سپس با کاغذ واتمن شماره دو صاف شد. ۲ میلی لیتر از آن در لوله آزمایش ریخته شد و به آن ۲ میلی لیتر معرف نین هیدرین (۱/۲۵ گرم نین هیدرین + ۲ میلی لیتر فسفریک اسید) و ۲ میلی لیتر استیک اسید خالص اضافه شد. محلول‌های حاصل، درون بن ماری در دمای ۱۰۰ درجه سانتیگراد به مدت یک ساعت قرار گرفتند. سپس به مدت نیم ساعت در حمام یخ گذاشته شدند. در ادامه، ۶ میلی لیتر تولوئن به هر لوله اضافه شد. لوله‌ها کاملاً تکان داده شدند و به مدت ۲۰ ثانیه ثابت ماندند تا دو لایه مجزا تشکیل گردد. در پایان، جذب لایه رنگی بالایی (پرولین محلول در تولوئن) در طول موج ۵۲۰ نانومتر با دستگاه اسپکتروفتومتر خوانده شد و مقدار پرولین با استفاده از منحنی استاندارد بر حسب میکروگرم بر گرم تعیین گردید. داده‌های با نرم افزار SPSS نسخه ۱۶ تحلیل آماری شدند. مقایسه میانگین‌ها با آزمون دانکن انجام شد. شکل‌ها با نرم افزار Excel رسم شدند. شایان ذکر است که غلظت‌های کلر آب آبیاری استفاده شده و آثار متیل جاسمونات بر آن در پژوهش حاضر برای نخستین بار با همکاری مرکز

عصاره در ارلن ۲۵۰ با آب مقطر به حجم رسانده شد. ۸ میلی لیتر سود ۴ نرمال و کمی پودر معرف پاتون ریدر (H.H.S.N.N.A) به آن افزوده شد تا رنگ محلول، قرمز مایل به صورتی شود. محلول حاصل با محلول استاندارد یک پنجاهم نرمال EDTA تا تغییر رنگ از قرمز صورتی به آبی خالص تیترا شد. درصد کلسیم در گرم نمونه برگ خشک از رابطه ۲ محاسبه گردید. $=a$ حجم نمونه پی پت شده به میلی لیتر، x = حجم EDTA مصرفی برای تیتراسیون به میلی لیتر، v = حجم محلول حاصل از انحلال خاکستر به میلی لیتر، m = وزن نمونه گیاه خاکستر شده به گرم، $D.M$ = درصد ماده خشک. رابطه ۲: $(x \times v \times 100) / (a \times m \times 25 \times D.M)$

سنجش کلروفیل‌ها و کاروتنوئیدها: از روش

Lichtenthaler (۱۹۹۴) استفاده شد. بدین منظور یک دیسک برگ از هر بوته تهیه و به مدت ۲۴ ساعت در پنج میلی لیتر استون ۸۰ درصد در شرایط سرما و تاریکی قرار داده و سپس در هاون چینی ساییده شد. مخلوط به دست آمده به مدت ۱۵ دقیقه در دمای چهار درجه سانتیگراد، با ۳۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفیوژ (مدل KD2، شرکت Sigma، آلمان) گردید. عصاره استونی شفاف جدا شد و مقدار جذب محلول در طول موج‌های ۴۷۰، ۶۴۶/۸ و ۶۶۳/۲ نانومتر با استفاده از اسپکتروفتومتر (مدل M501، شرکت Camspec، انگلستان) در مقابل نمونه شاهد خوانده شد. مقدار کلروفیل a (Chl.a)، کلروفیل b (Chl.b)، کلروفیل کل (Chl.T) و کاروتنوئیدها (Car.t) از رابطه‌های ۳ تا ۶ بر حسب میکروگرم در سانتی متر مربع سطح برگ محاسبه شد، V = حجم استون مورد استفاده به میلی لیتر و A = سطح دیسک برداشت شده از برگ به سانتی متر مربع

آب آبیاری تا تیمار ۳۰۰ میلی گرم در لیتر در شرایط عدم حضور متیل جاسمونات، تجمع کلسیم در برگ‌های میانی را به طور معنی‌داری افزایش داده است. کاربرد متیل جاسمونات خارجی تجمع کلسیم در برگ‌ها را نسبت به تیمارهای بدون متیل جاسمونات فقط در تیمار کلر ۳۰۰ کاهش داد (شکل ۲).

بر اساس تجزیه واریانس داده‌ها اثر متیل جاسمونات و غلظت‌های مختلف یون کلر بر محتوای رنگیزه‌های کلروفیلی (کلروفیل a، کلروفیل b و کلروفیل کل) برگ‌های میانی با سطح احتمال یک درصد معنی‌دار بود. مقایسه میانگین داده‌ها نشان داد که با افزایش غلظت کلر آب آبیاری در تیمار ۳۰۰ میلی گرم بر لیتر کلر و بدون حضور متیل جاسمونات، مقدار کلروفیل‌ها کاهش معنی‌داری یافت و کاربرد متیل جاسمونات به شکل افشانه روی برگ گیاهان توتون، موجب افزایش معنی‌دار رنگیزه‌های کلروفیلی شد. بیشترین مقدار رنگیزه‌های کلروفیلی در تیمار کلر ۵۰ و در حضور متیل جاسمونات و کمترین آن در تیمار کلر ۳۰۰ و عدم حضور متیل جاسمونات دیده شد (شکل ۳). نمودارهای مربوط به سنجش کلروفیل a و کلروفیل b به دلیل تبعیت از الگوی کلروفیل کل نشان داده نشده است.

بر اساس تجزیه واریانس داده‌ها اثر متیل جاسمونات و غلظت‌های مختلف یون کلر بر محتوای کاروتنوئید کل برگ‌های میانی در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار است. میانگین داده‌ها نشان داد که افزایش کلر آب آبیاری تا میزان ۳۰۰ در مقدار کاروتنوئید کل تغییر معنی‌داری ایجاد نکرد. کاربرد متیل جاسمونات خارجی مقدار کاروتنوئیدها را تنها در تیمار کلر ۵۰ با سطح معنی‌دار یک درصد افزایش داد (شکل ۴).

تحقیقات توتون رشت توسط نگارندگان انجام و گزارش می‌گردد.

Salimi و همکاران (۲۰۱۱) با بررسی تأثیر متیل جاسمونات خارجی بر شوری ناشی از کلرید سدیم در گیاه بابونه آلمانی گزارش کردند که افزایش شوری از ۲/۱ تا ۱۴ دسی زیمنس بر متر تغییر معنی‌داری در میزان پرولین ایجاد نکرد. در حالی که حضور متیل جاسمونات خارجی با غلظت ۷۵ میکرومولار موجب افزایش پرولین در غلظت‌های مختلف شوری شده است.

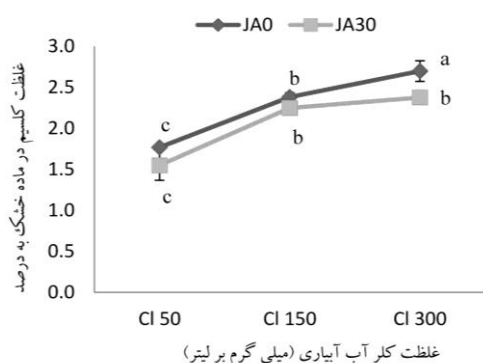
بر اساس پژوهش Jang و همکاران (۲۰۰۸) افزودن کلرید سدیم به مقدار ۵۰ میلی گرم در لیتر در گیاه توتون، میزان پرولین را افزایش و فتوسنتز را کاهش داد و محلول‌پاشی متیل جاسمونات به میزان ۳۰ میکرومولار موجب کاهش جزئی پرولین و افزایش فتوسنتز شد.

نتایج

بر اساس تجزیه واریانس داده‌ها اثر متیل جاسمونات و غلظت‌های مختلف یون کلر بر غلظت کلر برگ‌های میانی گیاه توتون در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار است. مقایسه میانگین داده‌ها نشان داد که در عدم حضور متیل جاسمونات با افزایش کلر آب آبیاری، تجمع کلر در برگ به طور معنی‌داری افزایش یافت. کاربرد متیل جاسمونات خارجی موجب کاهش معنی‌دار میزان تجمع کلر برگ‌های میانی در تیمارهای ۵۰ و ۱۵۰ به ترتیب به میزان ۵۵ و ۷ درصد شد (شکل ۱).

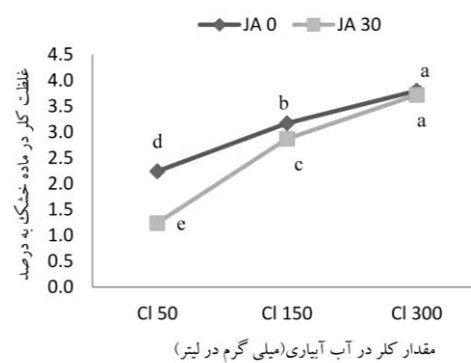
بر اساس تجزیه واریانس داده‌ها اثر متیل جاسمونات و غلظت‌های مختلف یون کلر بر غلظت کلسیم برگ‌های میانی در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار بود و مقایسه میانگین داده‌ها نشان داد که افزایش کلر

آن در تیمار کلر ۳۰۰ به طور معنی‌داری کاهش یافت (شکل ۵). کاربرد متیل جاسمونات خارجی موجب کاهش معنی‌دار میزان پرولین در تیمارهای کلر ۵۰ و ۱۵۰ کلر و افزایش معنی‌دار آن در تیمار کلر ۳۰۰ در مقایسه با تیمارهای کلر بدون متیل جاسمونات گردید.

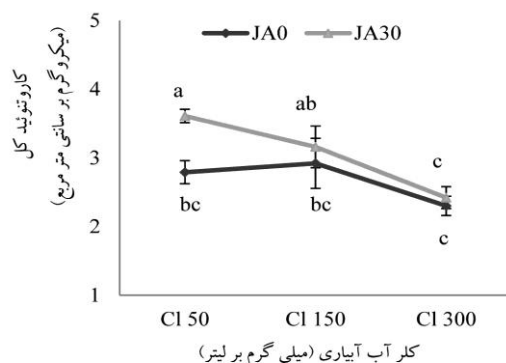


شکل ۲- اثر متیل جاسمونات و غلظت‌های کلر آب آبیاری بر غلظت کلسیم در برگ‌های میانی توتون. مقادیر میانگین ۴ تکرار است. حروف یکسان بیانگر عدم اختلاف معنی‌دار با استفاده از آزمون دانکن است ($P < 0.01$).

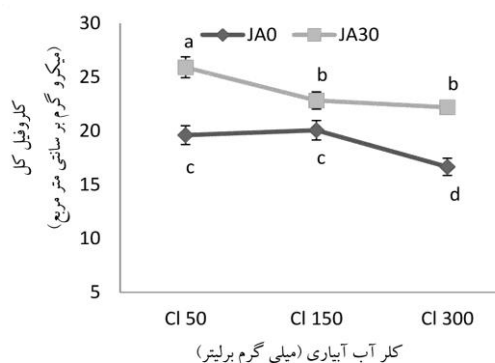
بر اساس تجزیه واریانس داده‌ها، اثر متیل جاسمونات و غلظت‌های مختلف یون کلر بر محتوای پرولین برگ‌های میانی در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار بود. مقایسه میانگین داده‌ها نشان داد که با وجود محتوای بالای پرولین برگ‌ها در تیمارهای ۵۰ و ۱۵۰ کلر، مقدار



شکل ۱- اثر متیل جاسمونات و غلظت‌های کلر آب آبیاری بر غلظت کلسیم در برگ‌های میانی توتون. مقادیر میانگین ۴ تکرار است. حروف یکسان بیانگر عدم اختلاف معنی‌دار با استفاده از آزمون دانکن است ($P < 0.01$).



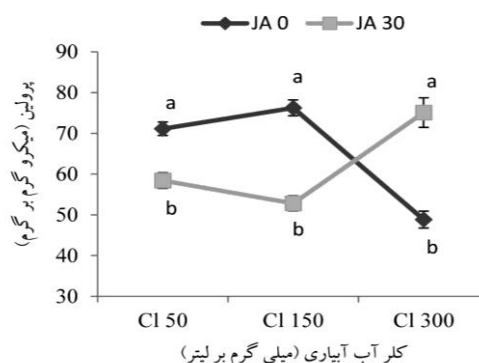
شکل ۴- اثر متیل جاسمونات و غلظت‌های کلر آب آبیاری بر محتوای کاروتنوئید کل در برگ‌های میانی توتون. مقادیر میانگین ۴ تکرار است. حروف یکسان بیانگر عدم اختلاف معنی‌دار با استفاده از آزمون دانکن است ($P < 0.01$).



شکل ۳- اثر متیل جاسمونات و غلظت‌های کلر آب آبیاری بر محتوای کلروفیل کل در برگ‌های میانی توتون. مقادیر میانگین ۴ تکرار است. حروف یکسان بیانگر عدم اختلاف معنی‌دار با استفاده از آزمون دانکن است ($P < 0.01$).

کلسیم در تعدیل آثار مخرب کلرید سدیم (NaCl) به وسیله مهار جذب سدیم نشان داده شده است (Chin *et al.*, 1991). نتایج این تحقیق نشان داد که با افزایش غلظت کلر آب آبیاری تا تیمار ۳۰۰ میلی گرم در لیتر، میزان کلر و کلسیم برگ‌ها به صورت خطی افزایش یافت (شکل‌های ۱ و ۲).

غلظت بالای کلر در خاک شرایط سختی را برای جذب آب توسط ریشه ایجاد می‌کند و موجب بروز نشانه‌های سمیت در گیاه می‌شود. آنیون کلر که توسط ریشه جذب می‌شود علاوه بر رشد، بر کیفیت برگ گیاه توتون نیز بسیار تأثیرگذار است. تجمع زیاد یون کلر در توتون باعث می‌شود که برگ‌ها ترد، شکننده و ضخیم شوند. وجود بیش از ۱ درصد کلر در توتون از موجب کاهش قابلیت اشتعال و کاهش کیفیت توتون می‌شود (Tso, 1990). کلسیم نیز به میزان ۱ تا ۲/۵ درصد موجب بهبود کیفیت برگ توتون می‌گردد در حالی که بیشتر از این مقدار انعطاف‌پذیری توتون را کم و موجب کاهش کیفیت توتون می‌شود (Tso, 1990). Ruiz و همکاران (۱۹۹۷) گزارش کردند که با افزایش میزان کلرید کلسیم خاک، مقدار این عناصر در برگ گیاه توتون افزایش می‌یابد. در ادامه، نتایج تحقیق حاضر نشان داد که کاربرد متیل جاسمونات خارجی، محتوای کلر برگ‌ها را در تیمارهای ۵۰ و ۱۵۰ میلی گرم در لیتر کلر آب آبیاری به طور معنی‌دار کاهش داد (شکل ۱). انتقال کلر به آوند چوبی مکانیسمی غیرفعال است که توسط کانال‌های آنیونی صورت می‌گیرد و فعالیت این کانال‌ها توسط هورمون آبسزیک اسید تنظیم می‌گردد. به دنبال تنش شوری، انتقال کلر به ساقه و برگ‌ها محدود می‌شود (Gilliham and Tester,



شکل ۵- اثر متیل جاسمونات و غلظت‌های کلر آب آبیاری بر میزان پرولین در برگ‌های میانی توتون. مقادیر میانگین ۴ تکرار است. حروف یکسان بیانگر عدم اختلاف معنی‌دار با استفاده از آزمون دانکن است ($P < 0.01$).

بحث

توتون از معدود گیاهان زراعی غیر خوراکی و یکی از کالاهای تجارت جهانی است که تنها بر اساس استفاده از برگ آن در مقیاس بسیار وسیع در جهان کشت می‌شود. با وجود این که طی ۳۰ سال گذشته در مراکز تحقیقاتی توتون کشور، تعداد زیادی طرح تحقیقاتی در زمینه آب آبیاری انجام شده است تنها تعداد محدودی از آنها در سال‌های اخیر به موضوع کیفیت آب آبیاری به ویژه در رابطه با زیاده‌یون کلر پرداخته‌اند. جذب کلر اضافی از طریق کود، خاک شور یا آب آبیاری به سرعت کیفیت برگ توتون را کاهش می‌دهد (Tso, 1990). به علت سرعت و مقدار بالای انباشت یون کلر در گیاه توتون، سطح کلر موجود در آب و خاک مورد استفاده در زراعت توتون بسیار مهم ارزیابی می‌شود. در بررسی حاضر، برای بررسی آثار بالقوه یون کلر و کاهش آثار تخریبی یون سدیم بر کیفیت برگ توتون از نمک کلرید کلسیم ($CaCl_2$) برای تأمین یون کلر استفاده شد. توانایی

پراکسیداز به طور معنی‌داری در سطح احتمال ۵ درصد افزایش یافت و کاربرد متیل جاسمونات خارجی با غلظت ۳۰ میکرومولار در سه بار افشانه برگی موجب کاهش آسیب‌های حاصل از تنش اکسیداتیو آنها در غلظت ۵۰ میلی‌گرم در لیتر یون کلر گردید. کاروتنوئیدها توسط اکسیژن یکتایی اکسید می‌شوند و می‌توانند تولید گونه‌های فعال اکسیژن را کاهش دهند (Kumari et al., 2006). تیمار با متیل جاسمونات خارجی در شرایط تنش با افزایش فعالیت آنتی‌اکسیدان‌های آنزیمی و غیر آنزیمی می‌تواند موجب حذف رادیکال‌های آزاد و کاهش تنش اکسیداتیو در گیاهان شود (Wang, 1999).

نتایج نشان داد در حالی که محتوای پرولین برگ‌ها در تیمارهای ۵۰ و ۱۵۰ میلی‌گرم در لیتر کلر بالا بود، با کاربرد متیل جاسمونات خارجی مقدار پرولین برگ‌ها در این تیمارها به طور معنی‌داری کاهش یافت (شکل ۵). پرولین به عنوان تنظیم‌کننده فشار اسمزی می‌تواند موجب تعدیل تنش شوری در گیاه شود. بر اساس پژوهش‌های Jang و همکاران (۲۰۰۸)، افزودن آب آبیاری به صورت کلرید سدیم و به مقدار ۵۰ میلی‌گرم در لیتر در گیاه توتون، میزان پرولین را افزایش و مقدار فتوسنتز را کاهش می‌دهد و محلول‌پاشی با متیل جاسمونات به میزان ۳۰ میکرومولار موجب کاهش جزئی پرولین و افزایش فتوسنتز می‌شود. Salimi و همکاران (۲۰۱۱) با بررسی تأثیر متیل جاسمونات خارجی بر شوری ناشی از کلرید سدیم در گیاه بابونه آلمانی گزارش کردند که افزایش شوری از ۲/۱ تا ۱۴ دسی‌زیمنس بر متر تغییر معنی‌داری در میزان پرولین ایجاد نکرد. در حالی که حضور متیل جاسمونات

(2005). با توجه به مشترک بودن بخشی از مسیر عملکرد متیل جاسمونات و آپسیزیک اسید و اثرگذاری متیل جاسمونات روی ژن‌هایی که آپسیزیک اسید را کد می‌کنند (Marschner, 2012)، احتمالاً متیل جاسمونات خارجی با اثر بر بیوسنتز آپسیزیک اسید و به دنبال آن اثر بر کانال‌های آنیونی موجب کاهش انتقال کلر به اندام‌های هوایی و کاهش محتوای کلر برگ‌ها شده است.

نتایج حاصل از تحلیل داده‌ها نشان داد که با افزایش غلظت کلر آب آبیاری تا تیمار ۳۰۰ میلی‌گرم در لیتر، رنگیزه‌های کلروفیلی از جمله کلروفیل کل کاهش یافت. در حالی که کاربرد متیل جاسمونات خارجی با غلظت ۳۰ میکرومولار میزان رنگیزه‌ها و کلروفیل کل را افزایش داد (شکل ۳). کاهش رنگیزه‌های کلروفیلی تحت تنش یونی می‌تواند به علت تخریب ساختمان کلروپلاست، فتواکسیداسیون کلروفیل‌ها، واکنش آنها با اکسیژن منفرد، تخریب پیش‌ماده سنتز کلروفیل و ممانعت از بیوسنتز کلروفیل جدید باشد (Neocleous and Vasilakakis, 2007). با این وجود، کاربرد متیل جاسمونات خارجی می‌تواند با کاهش آثار مخرب تنش شوری موجب افزایش سنتز کلروفیل شود (Jang et al., 2008). نتایج پژوهش حاضر نشان داد که کاربرد متیل جاسمونات خارجی (۳۰ میکرومولار) موجب افزایش معنی‌دار رنگیزه‌های کاروتنوئیدی در تیمار کلر ۵۰ شده است (شکل ۴). Divband (۲۰۱۳) در بررسی اثر متیل جاسمونات بر برخی وقایع بیوشیمیایی توتون وارپته کوکر ۳۴۷ در پاسخ به غلظت‌های ۵۰ تا ۳۰۰ میلی‌گرم در لیتر یون کلر نشان داد که محتوای مالون‌دی‌آلدئید و فعالیت آنزیم

حالی که رنگیزه‌های کلروفیلی و کاروتنوئیدی به ترتیب در تمامی تیمارهای کلر و در تیمار کلر ۵۰ افزایش یافتند. به نظر می‌رسد این نتایج در ارتباط با بخشی از نقش بهبود دهندگی متیل جاسمونات در تنش حاصل از غلظت‌های بالای یون کلر در گیاه توتون رقم کوکر ۳۴۷ باشد.

خارجی با غلظت ۷۵ میکرومولار موجب افزایش پرولین در غلظت‌های مختلف شوری شده است. کاهش و افزایش معنی دار مقدار پرولین برگ‌ها در تیمار ۳۰۰ میلی‌گرم در لیتر کلر به ترتیب در عدم حضور و حضور متیل جاسمونات (شکل ۵) شاید به واسطه سمیت یونی ناشی از غلظت بالای یون کلر رخ داده باشد.

جمع‌بندی نهایی

با کاربرد خارجی متیل جاسمونات (۳۰ میکرومولار) محتوای کلر و پرولین برگ‌ها در تیمارهای ۵۰ و ۱۵۰ به طور معنی داری کاهش یافت در

سپاسگزاری

نگارندگان مراتب سپاس خود را از ریاست مرکز تحقیقات توتون رشت به خاطر تأمین بخشی از منابع مالی این پژوهش اعلام می‌نمایند.

منابع

- Bates, L. S., Waldren, R. P. and Teare, I. D. (1973) Rapid determination of free proline for water stress studies. *Plant and Soil* 39: 205-208.
- Chavoushi, M., Arvin, M. J. and Kalantari, K. H. (2010) Effect of jasmonate on photosynthetic pigments, protein content, Na^+ , K^+ ions and some growth parameters in *Carthamus tinctorios* under salinity stress. *Iranian Journal of Biology* 23: 397-408 (in Persian).
- Chin, C. T., Shetty, K., Mortimer, M. and Oser, C. S. (1991) Calcium induced salt tolerance in *Rhizobium leguminosarum* biovar *vicias* strain C1204b. *Federation of European Microbiological Societies Microbiology Letters* 83(2): 219-224.
- Denduangboripant, J., Setaphan, S., Suwanprasart, W. and Panda, S. (2010) Determination of local tobacco cultivars using ISSR molecular markers. *Journal of the Science faculty of Chiang Mai University* 37: 293-303.
- Divband, S. M. (2013) A study on the effect of methyl jasmonate on some biochemical events in tobacco (Cooker 347 Cultivar) in response to different chlorid concentrations. MSc thesis. University of Guilan, Rasht, Iran (in Persian).
- Emami, A. (1996) Methods of plant analysis. Soil and Water Agricultural Research Institute, Tehran (in Persian).
- Fedina, I. S. and Benderliev, K. M. (2000) Response of *Secundusmus incrassatulus* to salt stress as affected by methyl jasmonate. *Biologia Plantarum* 43(4): 625-627.
- Gilliham, M. and Tester, M. (2005) The regulation of anion loading to the maize root xylem. *Journal of Plant Physiology* 137: 819-828.
- Hajlaoui, H., El Ayeb, N., Garrec, J. P. and Denden, M. (2009) Differential effects of salt stress on osmotic adjustment and solutes allocation on the basis of root and leaf tissues senescence of two silage maize (*Zea mays* L.) varieties. *Industrial Crops and Products* 31: 122-130.
- Horvath, E., Szalai, G. and Janda, T. (2007) Induction of abiotic stress tolerance by salicylic acid

- signaling. *Journal of Plant Growth Regulation* 26: 290-300.
- Jang, S. W., Lee, I. G., Cha, K. H., Shin, S. K. and Jo, C. J. (2008) Effects of methyl jasmonate application on the growth of Tobacco (*Nicotiana tabacum* L.) against salinity stress. Cooperation Centre for Scientific Research Relative to Tobacco, France (Coresta)
- Kafi, M., Borzoei, A., Salehi, M., Kamadi, A., Masoumi, A. and Nabati, J. (2012) Physiology of environmental stresses in plants. 1st edition. Iranian Academic Center for Education, Culture and Research (ACECR), Mashhad (in Persian).
- Kumari, G. J., Reddy, A. M., Naik, S. T., Kumar, S. G., Prasanthi, J., Srirangayakulu, G., Reddy, P. C. and Sudhakar, Ch. (2006) Jasmonic acid induced change in protein pattern, antioxidative enzyme activities and peroxidase isozymes in peanut seedlings. *Biologia Plantarum* 50: 219-226.
- Lichtenthaler, K. H. (1994) Chlorophyll and carotenoids of photosynthetic biomembranes. *Methods in Enzymology* 148: 350-382.
- Marschner, H. (2012) Mineral Nutrition of Higher Plants. 3rd edition, Academic Press, San Diego.
- Munns, R. and Tester, T. (2008) Mechanisms of salinity tolerance. *Annual Review of Plant Physiology* 59: 651-681.
- Munns, R., James, R. A. and Läuchli, A. (2006) Approaches to increasing the salt tolerance of wheat and other cereals. *Journal of Experimental Botany* 57(5): 1025-1043.
- Neocleous, D. and Vasilakakis, M. (2007) Effects of NaCl stress on red raspberry (*Rubus idaeus* L. Autumn Bliss). *Scientia Horticulturae* 112: 282-289.
- Ruiz, D., Martinez, V. and Creda, A. (1997) Citrus response to salinity: growth and nutrient uptake. *Tree Physiology* 17: 141-150.
- Sadrzamani, K. (2011) The survey of growth indices and mineral uptake in Tobacco cv. Cooker 347 under chloride anion concentration. MSc thesis, University of Guilan, Rasht, Iran (in Persian).
- Salimi, F., Shekari, F., Azimi, M. R. and Zangani, E. (2011) The role of methyl jasmonate and salinity stress on some physiological characteristics of German chamomile (*Matricaria chamomilla* L.). 1st National Conference on Modern Agricultural Sciences and Technologies (MAST), Zanjan Iran (in Persian).
- Singh, B. and Usha, K. (2003) Salicylic acid induced physiological and biochemical changes in wheat seedlings under water stress. *Journal of Plant Growth Regulation* 39: 137-141.
- Tso, T. C. (1990) Production, physiology and biochemistry of tobacco plant. Institute of International Development and Education in Agricultural and Life Sciences, Inc. Beltsville, Maryland.
- Wang, S. Y. (1999) Methyl jasmonate reduces water stress in strawberry. *Journal of Plant Growth Regulation* 18: 127-134.
- Xu, G., Magen, H., Tarchitzky, J. and Kafkafi, U. (2000) Advances in chloride nutrition of plants. *Advances in Agronomy* 68: 97-150.
- Yildiz-Aktas, L., Dagnon, S., Gurel, A., Gesheva, E. and Edreva, A. (2009) Drought tolerance in cotton: involvement of non-enzymatic ROS-scavenging compounds. *Journal of Agronomy and Crop Science* 195: 247-253.
- Zamani, P. (2010) Tobacco, cultivation and processing. 1st edition. Behandishan Publications, Iranian Tobacco Company, Tehran.

The effect of methyl jasmonate and different chloride concentrations on photosynthetic pigments and proline content in *Nicotiana tabacum* L. cv. Cooker 347

Mohammad Reza Tizhoosh-Jalaly¹, Jannat Sarmad^{1*}, Akbar Norastehnia¹,
Mohsen Zavareh² and Mahyar Moshtaghi³

¹ Department of Biology, Faculty of Sciences, University of Guilan, Rasht, Iran

² Department of Agronomy and Plant Breeding, Faculty of Agriculture Sciences, University of Guilan, Rasht, Iran

³ Department of Agronomy, Rasht Tobacco Institute, Iranian Tobacco Company, Rasht, Iran

Abstract

Jasmonic acid and its methylated ester (methyl jasmonate), as natural plant growth regulators, are widely found in plants. In this study, the effect of methyl jasmonate (30 μ M), in the early stages of *Nicotiana tabacum* L. cv. Cooker 347 growth, on photosynthetic pigments and proline was studied at high concentration of chloride. This experiment was performed in randomized complete block design with 4 replications, during 2011 crop year at Guilan Tobacco Research Center, outside greenhouse and under pot conditions. After transplanting similar seedlings to pots in rapid growth phase, the plants were irrigated with three levels chloride (50, 150 and 300 mg/L) as CaCl₂ both in presence and absence of methyl jasmonate for 4 weeks. Data analysis showed that by increasing Cl⁻ concentrations up to 300 (mg/L), chloride and calcium accumulation of leaves increased, whilst photosynthetic pigments and proline decreased. Exogenous application of methyl jasmonate (30 μ M) significantly increased photosynthetic pigments in all treatments and proline in the 300 mg/L treatment. It seemed that the application of external methyl jasmonate (30 μ M) could improve tobacco plant injuries at high chloride concentration.

Key words: Proline, Tobacco, Photosynthetic pigments, Methyl jasmonate, Chloride