

تأثیر تنش شوری بر میزان فعالیت آنتی اکسیدان‌ها و رشد گیاهچه در ژنوتیپ‌های مختلف گلنگ

احسان شهریاری^۱ و پوراندخت گلکار^{*۲}

^۱ گروه اصلاح نباتات و بیوتکنولوژی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شهرکرد

^۲ پژوهشکده زیست فناوری و مهندسی زیستی، دانشگاه صنعتی اصفهان

(تاریخ دریافت: ۹۳/۰۸/۲۴، تاریخ پذیرش نهایی: ۹۳/۱۲/۲۴)

چکیده:

تنش شوری یکی از مهمترین تنش‌های غیر زنده در مناطق خشک و نیمه خشک می‌باشد. به منظور ارزیابی اثر تنش شوری بر فعالیت آنزیم‌های آسکوربیات پراکسیداز، سوپر اکسیدیسموتاز و رشد گیاهچه در ژنوتیپ‌های مختلف گلنگ، آزمایش بصورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار در سال ۱۳۹۱ در گلخانه دانشگاه صنعتی اصفهان انجام شد. فاکتورهای آزمایشی شامل شش ژنوتیپ گلنگ (اراک، اصفهان، خراسان، کوسه AC-stirling و Saffire C₁₁₁) و پنج سطح شوری شامل صفر (شاهد)، ۵۰، ۱۰۰، ۱۵۰ و ۲۰۰ میلی مولار نمک طعام بود. نتایج آزمایش نشان داد که با افزایش شدت تنش شوری میزان فعالیت هر دو آنزیم (آسکوربیات پراکسیداز، سوپر اکسیدیسموتاز) افزایش پیدا کرد که این افزایش بسته به ژنوتیپ متفاوت بود. در سطح شوری ۲۰۰ میلی مولار، فعالیت این آنزیم‌ها (آسکوربیات پراکسیداز و سوپر اکسیدیسموتاز) کاهش پیدا کرده است. در تیمار شاهد، ژنوتیپ اصفهان با میزان فعالیت‌های آنتی اکسیدانی آسکوربیات پراکسیداز ۹۱٪ جذب بر گرم ماده تر و سوپر اکسیدیسموتاز ۹۹٪/۱۶٪ جذب بر گرم ماده تر (سوپر اکسیدیسموتاز) دارای کمترین فعالیت و ژنوتیپ AC-Stirling با فعالیت ۵۸٪ جذب بر گرم ماده تر (آسکوربیات پراکسیداز) و ۳۹٪ جذب بر گرم ماده تر (سوپر اکسیدیسموتاز) دارای کمترین فعالیت بوده است. همچنین، ژنوتیپ اصفهان از نظر صفات مربوط به رشد گیاهچه‌ای (طول ریشه‌چه، طول ساقه‌چه، وزن خشک و تر ریشه‌چه و ساقه‌چه) بالاترین و ژنوتیپ AC-Stirling دارای پایین‌ترین میزان بودند. به طور کلی، ژنوتیپ اصفهان می‌تواند به عنوان یک ژنوتیپ احتمالی سازگار به تنش شوری در برنامه‌های اصلاحی بکار گرفته شود.

کلمات کلیدی: آسکوربیات پراکسیداز، آنزیم، سوپر اکسیدیسموتاز، وزن گیاهچه

مقدمه:

طبيعت اصولاً چند تنش با هم رخ می‌دهند و تفكیک آنها از یکدیگر مشکل است (Zamani *et al.*, 2010). حدود ۲۰٪ از اراضی زراعی و نزدیک ۵٪ از اراضی آبی جهان تحت تأثیر تنش شوری قرار دارند (Zhu, 2001). پیش‌بینی می‌شود تا سال ۲۰۵۰ بیش از ۵۰٪ از زمین‌های زراعی دنیا شور شوند (Mokhamed *et al.*, 2006). بطور کلی شوری از سه طریق تنش اسمزی، سمیت عناصر و به هم زدن تعادل یونی موجب اختلال در فعالیت گیاه و در نتیجه کاهش رشد و عملکرد می‌شود (Arzani, 2008).

همچنین تنش شوری منجر به تولید گلنگ (Carthamus tinctorius L.) گیاهی یکساله و از خانواده مرکبان است. این گیاه بومی قسمت‌هایی از آسیا، خاورمیانه و آفریقا است که امروزه بیشتر برای استخراج روغن از دانه آن کشت می‌شود (آلیاری و همکاران، ۱۳۷۹). تنش‌های محیطی در حقیقت از عوامل محدود کننده رشد می‌باشند که باعث کاهش عملکرد گیاهان می‌شوند. از میان تنش‌های غیر زنده، تنش خشکی و شوری در سطح جهان گسترده‌تر بوده و به همین جهت بیشتر مورد مطالعه قرار گرفته‌اند، اگر چه در

در سمیت‌زدایی از آب اکسیژن می‌باشد (Hafsi *et al.*, 2010). فعالیت این آنزیم اولین بار در کلروپلاست و در چرخه گلوتاتیون آسکوربات شناخته شد (Hafsi *et al.*, 2010; Seckin *et al.*, 2010). پژوهش‌های مختلف نشان داده است که ارتباطی قوی بین تحمل به تنش‌های اکسیداتیو و افزایش در غلاظت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان در گیاهان فتوسترزکننده وجود دارد (Alscher *et al.*, 1997). تولید گونه‌های اکسیژن فعال در افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان در اثر تیمار شوری در گیاهان مختلف گزارش شده است (Sairam *et al.*, 2002; Koca و همکاران, 2003; Vaidyanathan *et al.*, 2003). افزایش فعالیت آنزیم‌های سوپر اکسیدیسموتاز، کاتالاز، گلوتاتیون‌ردوکتاز و مالون‌دی‌آلدئید را در اثر تیمار شوری در Huei Chi Lin و Kao (2000) بر روی برج مساحده شد که میزان فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان سوپر اکسیدیسموتاز، گلوتاتیون‌ردوکتاز، کاتالاز و پراکسیداز تحت تنش شوری ۲۰۰ میلی‌مولار افزایش پیدا کرد. Sairam و همکاران (2002) با مطالعه تنش شوری بر تغییرات آنتی‌اکسیدان‌های برگ دو ژنوتیپ متتحمل و نیمه متتحمل گندم دریافتند که شوری در تمام سطوح باعث افزایش فعالیت آنزیم‌های سوپر اکسیدیسموتاز، گلوتاتیون‌ردوکتاز و کاتالاز شده است. همچنین آنها دریافتند که میزان افزایش فعالیت این آنزیم‌ها در ژنوتیپ متتحمل نسبت به ژنوتیپ نیمه متتحمل بیشتر بوده است. Shahbazi و همکاران (2011) فعالیت آنتی‌اکسیدان‌های گلوتاتیون ردوکتاز، آسکوربات پراکسیداز و سوپر اکسیدیسموتاز را در مرحله گیاهچه‌ای روی ژنوتیپ‌های مختلف کلزا تحت تنش شوری مورد مطالعه قرار دادند. آنها گزارش کردند که در تنش شوری ۲۰۰ میلی‌مولار نمک کلرید سدیم فعالیت آنتی‌اکسیدان‌های کاهش یافت. چندین مطالعه به منظور بررسی میزان تحمل به شوری در ژنوتیپ‌های مختلف گلنگ در مرحله گیاهچه‌ای صورت گرفته است (Ghazizade *et al.*, 2012; Mostafavi, 2011), نتایج این پژوهش‌ها نشان داد که شوری، اثرات نامطلوبی بر صفات گیاهچه‌ای دارد. Culha و Cakirlar

Mittler, (2002). Bolkhia و همکاران (2003) گزارش کردند که بیشترین خسارت ناشی از تنش‌های مختلف در ارتباط با خسارت اکسیداتیو در سطوح مختلف سلولی است. فعالیت گونه‌های اکسیژن فعال ممکن است سبب بروز صدماتی مانند اکسیدشدن لیپیدها (در نتیجه تغییر ساختار غشاء و در نهایت از دست رفتن یکپارچگی آن می‌شود)، تغییر ساختمان پروتئین‌ها و اکسیدشدن گروه‌های سولفیدریل (SH)، غیرفعال شدن آنزیم‌ها، فرآیندهای اکسیداتیو مثل پراکسیداسیون چربی‌ها، بی‌رنگ شدن کلروفیل، اکسیداسیون پروتئین و تخریب اسید نوکلئیک شود (Gambarova and Gins, 2008; Yan *et al.*, 2006).

گیاهان برای مقابله با تنش اکسیداتیو ایجاد شده دارای سیستم دفاعی با کارائی بالا هستند که می‌تواند رادیکال‌های آزاد را از بین برده و یا خنثی کنند. این سیستم دفاعی شامل سوپر اکسیدیسموتاز (SOD)، آسکوربات پراکسیداز (APX)، گلوتاتیون ردوکتاز (GR)، کاتالاز (CAT) و نظام غیر آنزیمی شامل متابولیت‌هایی مانند آسکوربیک اسید، گلوتاتیون، کاروتونید و آلفا-توکوفرول (ویتامین E) می‌باشد (Sairam *et al.*, 2002). سوپر اکسیدیسموتاز یکی از مهمترین سدهای دفاعی گیاه در برابر تنش اکسیژن دارد (Yan *et al.*, 2006). سوپر اکسیدیسموتاز باعث تنظیم میزان سوپر اکسید و پراکسید هیدروژن که دو فرآورده چرخه هاپر-ویبر می‌باشد، می‌شود. همچنین، آسیب‌های ناشی از رادیکال آزاد هیدروکسیل OH⁻ که رادیکالی بسیار واکنش‌پذیر می‌باشد و موجب می‌شود تا صدمات اساسی به غشاء پروتئین‌ها و DNA کاهش یابد (Sudhakar *et al.*, 2001). فعالیت این آنزیم در میتوکندری همراه با گلوتاتیون پراکسیداز باعث پیشگیری از اکسایش و تخریب غشاء میتوکندری می‌شود (Alscher *et al.*, 1997).

آسکوربات پراکسیداز به لحاظ تمایل زیاد که نسبت به آب اکسیژن‌های دارد، پراکسید هیدروژنی را که مورد مصرف کاتالاز قرار نمی‌گیرد خنثی می‌کند، بنابراین یکی از آنتی‌اکسیدان‌های اصلی

زنی و استقرار گیاهچه‌ها در گلدانها که به مدت پانزده روز طول کشید، اعمال تیمارهای شوربیه مدت ۲۰ روز اعمال گردید. در پایان روز بیستم، جهت اندازه‌گیری فعالیت آنزیم آنتیاکسیدان (آسکوربات پراکسیداز و سوپر اکسیدیسموتاز) از هر واحد آزمایشی ۵ گیاهچه (قسمت هوایی) برداشت شد. گیاهچه‌ها توسط ازت مایع پودر شده و میزان ۰/۵ گرم از آن به وسیله ۱/۵ میلی‌لیتر بافر فسفات سدیم ۵۰ میلی‌مolar با pH معادل ۷/۳ حاوی EDTA ۱ میلی‌مolar و PVP٪/۲ (پلی‌وینیل پیرولیدون) بر روی یخ به صورت همگن شد. سپس عصاره‌های حاصل در ۱۴۰۰۰ دور در دقیقه و دمای ۴ درجه سانتی‌گراد به مدت ۳۰ دقیقه سانتریفیوژ شد و محلول شفاف بدست آمده در ویال‌های استریل جمع‌آوری گردیده، به عنوان عصاره‌های آنزیمی جهت اندازه‌گیری فعالیت آنزیم‌های سوپر اکسیدیسموتاز و آسکوربات پراکسیداز استفاده شدند. به منظور حفظ فعالیت آنزیمی، تمامی مراحل استخراج و اندازه‌گیری میزان فعالیت آنزیم بر روی یخ انجام شد (Sairam and Srivastava 2001).

فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز بر اساس روش Nakano و Asada (۱۹۸۱) انجام گرفت. یک میلی‌لیتر بافر واکنش شامل ۵۰ میلی‌مolar بافر فسفات سدیم با pH معادل ۷، آسکوربیک اسید ۵۰ میلی‌مolar، آب اکسیژنه ۱/۲ میلی‌مolar و ۰/۱ میلی‌لیتر عصاره آنزیمی بود. کاهش جذب اسکوربات پراکسیداز در اثر فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر در طول موج ۲۹۰ نانومتر در مدت یک دقیقه اندازه‌گیری شد. جهت ارزیابی فعالیت آنزیم سوپر اکسیدیسموتاز از احیای Beauchamp نوری نیتروبلوترازولیوم کلراید (NBT) به روش Fridovich (۱۹۷۱) استفاده شد. سه میلی‌لیتر مخلوط واکنش شامل فسفات سدیم ۵۰ میلی‌مolar با pH معادل ۷/۸، متیونین ۱۰ میلی‌مolar، نیتروبلوترازولیوم کلراید ۳۳ میکرومolar، ۰/۱۱ EDTA ۰ میلی‌مolar، ریبوفلاوین ۰/۰۰۳۳ میلی‌مolar و ۳۰ میکرولیتر عصاره خام بود. پس از آنکه مخلوط به هم زده شد، سل‌های اسپکتروفتومتری به مدت ۱۰ دقیقه در زیر شش لامپ

(۲۰۱۱) تاثیر غلظتها م مختلف نمک کلراید سدیم (۰، ۱۵۰، ۲۲۵ و ۳۰۰ میلی مolar) را بر روی میزان جوانه زنی و صفات گیاهچه‌ای در سه ژنوتیپ گلرنگ بررسی کردند و گزارش کردند که افزایش سطح شوری باعث کاهش معنیدار در طول ریشه‌چه و طول ساقه چه شد. Kaya و همکاران (۲۰۰۳) گزارش کردند که با افزایش تنش شوری در گلرنگ، طول ریشه‌چه و ساقه‌چه و وزن خشک ساقه‌چه و ریشه‌چه کاهش نشان داد. افزایش تنش شوری در مرحله گیاهچه‌ای میتواند منجر به بازدارندگی از فعالیت‌های متابولیکی، تخریب آنزیمی و عدم تعادل در رشد هورمونهای رشدی شود و علاوه بر تاثیر بر روی درصد جوانه‌زنی منجر به تاثیر منفی بر روی سرعت جوانه زنی و سرعت رشد گیاهچه شود (Huang et al., 2003). گیاهان زراعی تا یک حد آستانه میتوانند شوری را تحمل کنند و بعد از آن با افزایش شدت شوری، عملکرد دچار کاهش می‌شود. لذا با شناخت آستانه تحمل گیاهان میتوان بهترین انتخاب در رقم را با توجه به شرایط منطقه داشت. با توجه به اهمیت تحمل گیاه به شوری در مرحله گیاهچه‌ای، بررسی میزان فعالیت آنتی‌اکسیدان‌های برگی موجود در گلرنگ میتواند به عنوان معیاری جهت انتخاب ژنوتیپهای متحمل به تنش شوری در مرحله گیاهچه‌ای قلمداد گردد.

مواد و روش‌ها:

برای بررسی میزان تحمل به شوری ژنوتیپ‌های گلرنگ در مرحله گیاهچه‌ای، آزمایشی بصورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار در سال ۱۳۹۱ در گلخانه دانشگاه صنعتی اصفهان اجرا گردید. در این آزمایش ۶ ژنوتیپ گلرنگ (Saffire و AC-Stirling, C₁₁₁ ارak, اصفهان، خراسان، کوسه) به عنوان فاکتور اول و پنج سطح شوری شامل صفر (شاهد)، ۵۰، ۱۰۰، ۱۵۰ و ۲۰۰ میلی‌مolar نمک طعام به عنوان فاکتور دوم در نظر گرفته شدند. ۱۰ بذر از هر ژنوتیپ در گلدان حاوی ماسه (شسته شده) کشت گردید و با محلول غذایی هوگلنده به صورت یک روز در میان آبیاری شد. پس از جوانه-

اکسید دیسموتاز گردید. در این ژنوتیپ میزان فعالیت آنزیم سوپر اکسید دیسموتاز در سطح شوری ۲۰۰ میلی مولار نسبت به شاهد افزایش معنی داری (۹۲/۱۸ درصد) نشان داد (شکل ۱). Dai و همکاران (۲۰۰۹) نیز گزارش کردند که میزان سوپر اکسید دیسموتاز در گیاهچه کلزا تحت شرایط شوری افزایش یافته است. روند فعالیت آنزیم سوپر اکسید دیسموتاز برای ژنوتیپ های ارک، کوسه C_{III} و Saffire تقریباً مشابه ژنوتیپ اصفهان بود، اما که میزان فعالیت این آنزیم در این ژنوتیپ ها نسبت به ژنوتیپ اصفهان کمتر بود. میزان فعالیت آنزیم سوپر اکسید دیسموتاز در ژنوتیپ AC-Stirling بطور متوسط کمتر از AC-Stirling در سطح ۱۰۰ میلی مولار نمک (۳۹٪ جذب بر گرم ماده تر) بود که با سطح ۵۰ میلی مولار نمک اختلاف معنی دار نداشت (شکل ۱). تغییرات در فعالیت آنزیم های آنتی اکسیدان بسته به شدت و مدت تنش، ژنوتیپ گیاه، غلظت نمک و شرایط محیطی متفاوت است (Koca *et al.*, 2007).

Vaidyanathan و همکاران (۲۰۰۳) افزایش میزان فعالیت سوپر اکسید دیسموتاز را با افزایش شدت شوری در مطالعه خود بر روی برنج گزارش کردند. Ashraf و Ali (۲۰۰۸) نیز با مطالعه تأثیر شوری بر روی ژنوتیپ های کلزا افزایش میزان فعالیت سوپر اکسید دیسموتاز را با افزایش شدت شوری گزارش کردند. سایر گزارشات نیز در همانگی با نتایج مطالعه حاضر حاکی از این است که فعالیت سوپر اکسید دیسموتاز تحت شرایط تنش شوری در ژنوتیپ های متحمل افزایش یافته است (Hoque *et al.*, 2007; Rout and Shaw, 2001).

آفتابگردان، تأثیر تنش به واسطه فلز کادمیوم در برگها منجر به افزایش معنی دار در فعالیت سوپر اکسید دیسموتاز، گلوتاتیون ردوکتاز و کاتالاز گردید (Yannerelli *et al.*, 2006).

مقایسه میانگین ها نشان داد که ژنوتیپ اصفهان با میزان ۹۱٪ (جذب بر گرم ماده تر) دارای بیشترین و ژنوتیپ AC-Stirling با ۵۸٪ (جذب بر گرم ماده تر) کمترین میزان فعالیت آسکوربیات پراکسیداز را در تیمار شاهد داشتند (شکل ۲). سطح شوری ۵۰ میلی مولار نمک طعام موجب افزایش میزان فعالیت آنزیم

فلورسنت ۱۵ وات به فاصله ۳۰ سانتی متر قرار داده شد. با خاموش کردن لامپ واکنش متوقف و جذب مخلوط واکنش در ۵۶۰ نانومتر خوانده شد. یک واحد فعالیت آنزیم سوپر اکسید دیسموتاز، مقدار آنزیمی در نظر گرفته می شود که می تواند ۵۰٪ مانع از احیای نوری نیتروبیوترازو لیوم کلراید گردد. صفات گیاهچه ای شامل طول ریشه چه، طول ساقه چه، وزن خشک ریشه چه، وزن تر ریشه چه، وزن خشک ساقه چه و وزن تر ساقه چه بر روی ۵ نمونه باقیمانده در هر گلدان اندازه گیری شد. وزن خشک پس از قرار دادن نمونه ها در آون در ۷۰ درجه سانتی گراد به مدت ۴۸ ساعت اندازه گیری شد واز میانگین نمونه ها در هر تکرار برای آزمایشات مقایسه میانگین استفاده شد. برای تجزیه واریانس و مقایسات میانگین (به روش SAS) از نرم افزار SAS استفاده شد.

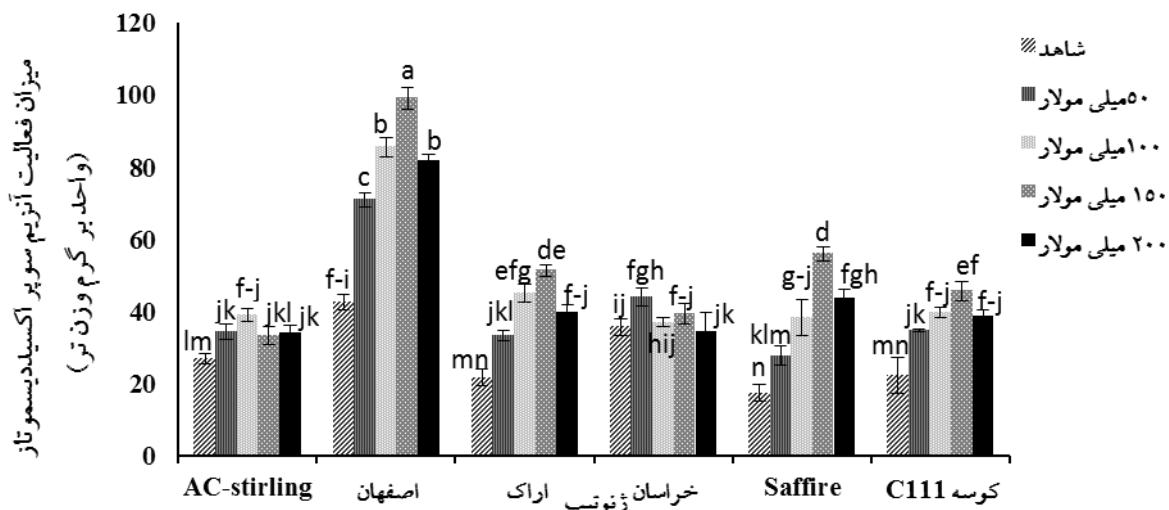
نتایج و بحث:

فعالیت آنزیم های آنتی اکسیدان: نتایج تجزیه واریانس نشان داد که سطوح شوری، ژنوتیپ های گلنگ و برهمکنش شوری و ژنوتیپ تأثیر معنی داری بر میزان فعالیت آنزیم سوپر اکسید دیسموتاز داشت (جدول ۱). نتایج مقایسه میانگین فعالیت آنزیم سوپر اکسید دیسموتاز تحت تیمارهای مختلف شوری در ژنوتیپ های مختلف گلنگ در شکل ۱ نشان داده شده است. با افزایش سطح شوری به ۵۰ میلی مولار نمک طعام در محیط غذایی میزان فعالیت آنزیم سوپر اکسید دیسموتاز در همه ژنوتیپ ها نسبت به شاهد افزایش یافت. بیشترین افزایش در ژنوتیپ اصفهان (۶۶/۴٪) و کمترین آن در ژنوتیپ خراسان در ۲۳/۳۶٪ مشاهده گردید (شکل ۱). با افزایش سطح شوری از ۵۰ به ۱۰۰ میلی مولار نمک طعام میزان فعالیت آنزیم سوپر اکسید دیسموتاز در ژنوتیپ اصفهان افزایش یافت. ضمن اینکه این افزایش تا سطح ۱۵۰ میلی مولار نمک ادامه داشت و بیشترین فعالیت سوپر اکسید دیسموتاز در ژنوتیپ اصفهان برابر با ۹۹/۱۶٪ (جذب بر گرم ماده تر) در تیمار ۱۵۰ میلی مولار نمک بدست آمد. در حالی که، افزایش مقدار نمک از ۱۵۰ به ۲۰۰ میلی مولار باعث کاهش معنی دار فعالیت آنزیم سوپر

جدول ۱- نتایج تجزیه واریانس شش ژنوتیپ گلرنگ در پنج سطح شوری برای صفات مختلف

میانگین مربعات										منابع تغییر
ژنوتیپ	شوری	ژنوتیپ × شوری	اشتباه	CV (درصد)	درجه آزادی	طول	طول	وزن خشک	وزن خشک	
					ساقه چه ساقه چه	ساقه چه ریشه چه	ساقه چه ریشه چه	وزن تر	وزن تر	آسکوربیات سوپر اکسید
۳۹۴۸/۷۶**	۱۲۱۰/۵**	۲۲/۶۰**	۰/۰۸۸**	۲/۲۲**	۰/۰۱۶**	۴۲۸۳**	۱۳۲۹۹**	۵	۵	ژنوتیپ
۱۷۴۱/۱۷**	۱۸۸۴/۸۷**	۹۸/۴۹**	۰/۳۷۳**	۵/۲۸**	۰/۰۵۲**	۱۹۸۰۱**	۵۰۰۴۷**	۴	۴	شوری
۱۹۷/۴۳**	۲۲۸/۸۶**	۴/۳۰ ns	۰/۰۱۴ ns	۰/۱۳ ns	۰/۰۰۱۳ ns	۴۰۵/۱۶ ns	۱۱۸۱ ns	۲۰	۲۰	ژنوتیپ × شوری
۱۹/۶۲	۳۸/۰۳	۳/۲۸	۰/۰۱۱	۰/۱۴۱	۰/۰۰۱۴	۲۹۸	۱۲۴۷/۲۹	۶۰	۶۰	اشتباه
۱۰/۲۶	۷/۲۱	۳۷/۱۶	۳۰/۴۶	۳۴/۹۹	۳۱/۹۶	۲۵/۴۹	۳۳/۹۶	-	-	CV (درصد)

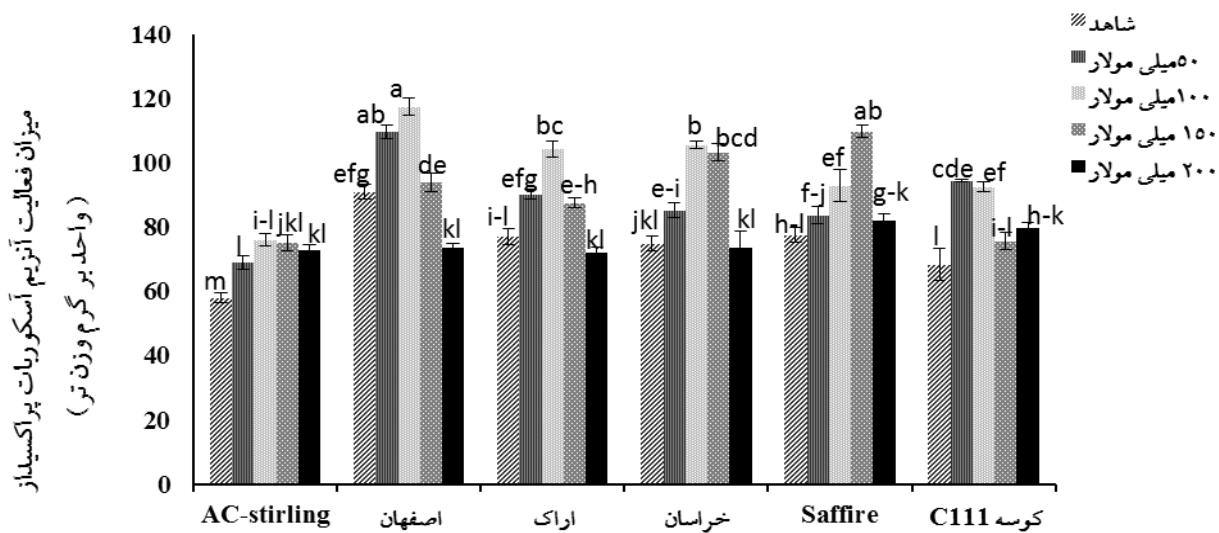
ns و ** به ترتیب غیر معنی‌دار و معنی‌دار در سطح خطای٪



شکل ۱ - مقایسه میانگین میزان فعالیت آنژیم سوپر اکسیدیسموتاز در غلظت‌های مختلف نمک NaCl در ژنوتیپ‌های گلرنگ. میانگین‌هایی که حداقل دارای یک حرف مشترک هستند بر اساس آزمون $LSD_{\alpha=0.05}$ با هم اختلاف معنی‌داری ندارند.

افزودن ۱۵۰ میلی‌مolar نمک طعام به محیط غذایی باعث کاهش معنی‌دار میزان فعالیت آنژیم آسکوربیات پراکسیداز نسبت به سطح شوری ۱۰۰ میلی‌مolar در ژنوتیپ‌های اصفهان، اراک و کوسه ۱۱۱ گردید (شکل ۲). در حالیکه افزودن ۱۵۰ میلی‌مolar نمک طعام موجب افزایش معنی‌دار میزان آنژیم آسکوربیات پراکسیداز در ژنوتیپ Saffire شد، بطوریکه در بین ژنوتیپ‌ها بیشترین فعالیت آنژیم آسکوربیات پراکسیداز در این سطح شوری به این رقم اختصاص داشت. افزودن ۲۰۰ میلی‌مolar نمک طعام به محیط غذایی باعث کاهش معنی‌دار میزان فعالیت آنژیم آسکوربیات پراکسیداز نسبت به سطح شوری

آسکوربیات پراکسیداز گردید، اما روند افزایش در ژنوتیپ‌های مورد مطالعه متفاوت بود، بطوریکه در این سطح شوری ژنوتیپ کوسه ۱۱۱ با ۳۸ درصد دارای بیشترین و ژنوتیپ Saffire با ۷/۷ درصد دارای کمترین افزایش فعالیت این آنژیم در مقایسه با شاهد بودند. افزایش میزان شوری از ۵۰ میلی‌مolar به ۱۰۰ میلی‌مolar باعث افزایش معنی‌دار میزان فعالیت آنژیم آسکوربیات پراکسیداز در ژنوتیپ‌های اراک و خراسان ژنوتیپ اصفهان در شرایط تنش ۱۰۰ میلی‌مolar نمک بود (شکل ۲).

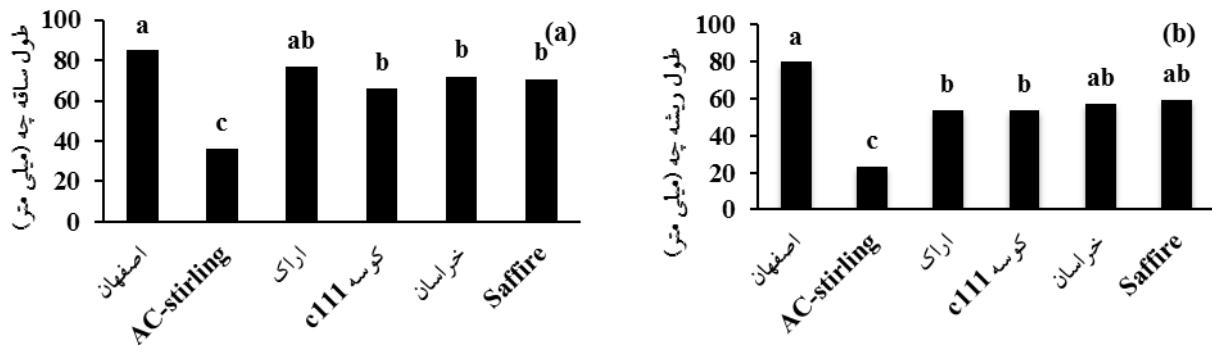


شکل ۲- مقایسه میانگین میزان فعالیت آنزیم آسکوربیات پراکسیداز در غلظت‌های مختلف نمک NaCl در ژنوتیپ‌های گلنگ. میانگین‌هایی که حداقل دارای یک حرف مشترک هستند بر اساس آزمون $LSD_{\alpha=0.05}$ با هم اختلاف معنی‌داری ندارند.

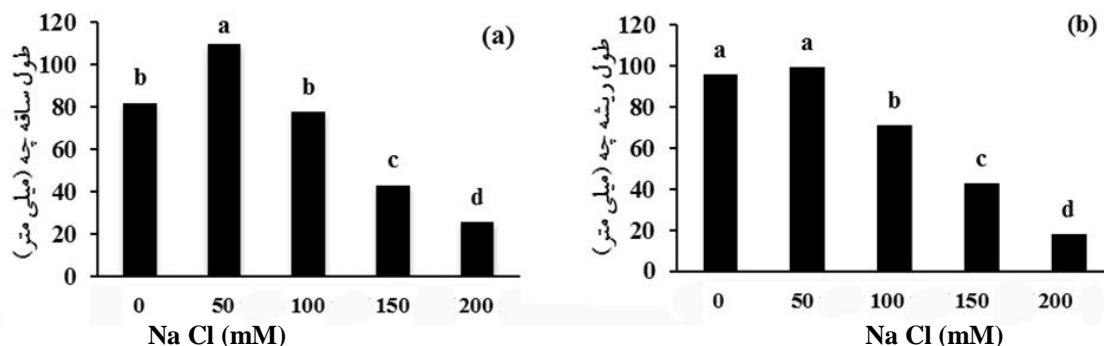
اکسیدان‌ها در حفظ تعادل گیاه در زمان مواجه با تنش‌های محیطی زنده و غیر زنده می‌توان استنباط نمود ژنوتیپ‌هائی که فعالیت آنتی‌اکسیدانی بیشتری داشتند (از جمله اصفهان)، از نظر فیزیولوژیکی توانائی بالاتری از نظر تحمل تنش‌های محیطی غیر زنده و حفظ توان فتوسترزی داشتند (Esfandiari et al., 2007).

طول ریشه‌چه و ساقه‌چه: نتایج تجزیه واریانس نشان داد که بین ژنوتیپ‌های مورد مطالعه و سطوح مختلف شوری تفاوت معنی‌داری از نظر طول ریشه‌چه و ساقه‌چه وجود داشت، در حالی که برهمکنش ژنوتیپ و شوری معنی‌دار نبود (جدول ۱). بالاترین مقدار طول ریشه‌چه و ساقه‌چه در ژنوتیپ اصفهان و کمترین آن در ژنوتیپ Ac-Stirling بدست آمد، که ژنوتیپ اصفهان از نظر طول ریشه‌چه با ژنوتیپ‌های خراسان و Saffire و از نظر طول ساقه‌چه با ژنوتیپ اراک اختلاف معنی داری نداشت (شکل ۳). مقایسه میانگین سطوح مختلف شوری برای طول رشنه‌چه و ساقه‌چه نشان داد که افزایش ۵۰ میلی مولار نمک باعث افزایش طول ساقه‌چه گردید، ولی از نظر طول ریشه‌چه با تیمار شاهد اختلاف معنی‌داری نداشت (شکل ۴). در مطالعه Mohammadizad و همکاران (۲۰۱۳) نیز طول ریشه‌چه در سطح خشکی-۳- بار نسبت به شاهد افزایش نشان

۱۵۰ میلی‌مولار در ژنوتیپ‌های اراک، Saffire، خراسان و اصفهان گردید. بطور متوسط میزان فعالیت آنزیم آسکوربیات پراکسیداز در ژنوتیپ AC-Stirling نسبت به سایر ژنوتیپ‌ها کمتر بود. با توجه به اینکه در تیمار شوری میزان فعالیت آنزیم آسکوربیات پراکسیداز نسبت به شاهد افزایش معنی‌داری داشت (شکل ۲)، به نظر می‌رسد که ژنوتیپ‌های گلنگ در شرایط تنش شوری از مکانیسم دفاعی آنتی‌اکسیدانی به منظور مقابله با رادیکال‌های آزاد اکسیژن (ROS)، که ناشی از آزادسازی آنها در شرایط تنش سلولی هستند، نیز استفاده می‌کنند. بدین ترتیب بسته به آستانه تحمل متفاوت ژنوتیپ‌ها، واکنش متفاوت در رابطه با میزان فعالیت آنزیم آسکوربیات پراکسیداز در سطوح مختلف شوری مشاهده شد. در بررسی تاثیر تنش شوری در مرحله گیاهچه‌ای در گیاه تنبک، کاهش فعالیت آنزیم آسکوربیات پراکسیداز در سطوح شوری ۱۰۰ و ۱۵۰ میلی‌مولار، در ژنوتیپ‌های SPT-406 و بساما-۳۱ مشاهده شد، که با نتایج این مطالعه مطابقت نشان داد (Hatamnia et al., 2013). در مطالعه حاضر در سطح شوری ۲۰۰ میلی‌مولار نمک فعالیت آنتی‌اکسیدان آسکوربیات پراکسیداز کاهش پیدا کرد که احتمالاً ناشی از آسیب‌پذیری اندام‌های درگیر در فعالیت آنتی‌اکسیدانی در اثر شوری بالا بوده باشد. با توجه به نقش اساسی آنتی



شکل ۳- مقایسه میانگین طول ساقچه(a) و طول ریشه‌چه(b) در ژنوتیپ‌های مختلف گلنگ. میانگین‌هایی که حداقل دارای یک حرف مشترک هستند بر اساس آزمون LSD_{a=0.05} با هم اختلاف معنی‌داری ندارند.

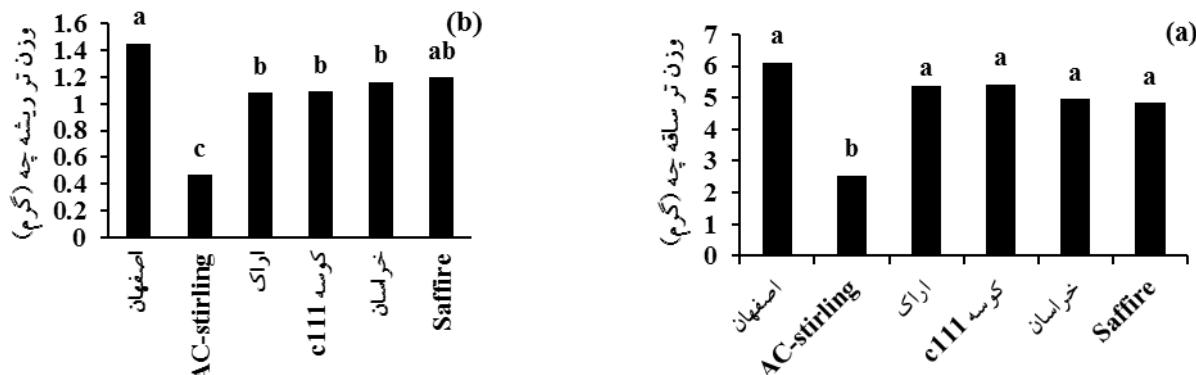


شکل ۴- مقایسه میانگین طول ساقچه(a) و طول ریشه‌چه(b) در سطوح مختلف شوری. میانگین‌هایی که حداقل دارای یک حرف مشترک هستند بر اساس آزمون LSD_{a=0.05} با هم اختلاف معنی‌داری ندارند.

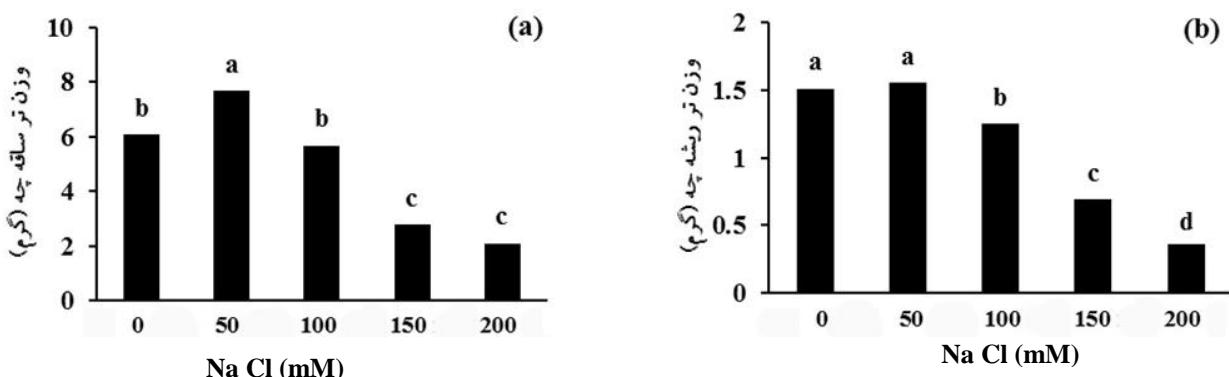
ژنوتیپ برای این صفات معنی‌دار نبود (جدول ۱). ژنوتیپ Ac-Stirling با میانگین ۲/۵۴ گرم وزن تر ساقچه دارای کمترین وزن با اختلاف معنی‌دار نسبت به سایر ژنوتیپ‌ها بود، درحالی که بین سایر ژنوتیپ‌ها اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد (شکل ۴a). ژنوتیپ اصفهان دارای بیشترین وزن تر ریشه چه بود که با ژنوتیپ Saffire تفاوت معنی‌داری نداشت همچنین ژنوتیپ Ac-Stirling دارای کمترین وزن تر ریشه چه بود که با سایر ژنوتیپ‌ها اختلاف معنی‌داری داشت (شکل ۴b). تیمار ۵۰ میلی‌مولار نمک باعث افزایش معنی‌دار وزن تر ساقچه گردید، در حالی که سطح ۱۰۰ میلی‌مولار اختلاف معنی‌داری با شاهد نداشت ولی وزن تر ساقچه با افزایش بیشتر نمک (۱۵۰ و ۲۰۰ میلی‌مولار) بطور معنی‌داری کاهش یافت (شکل ۴a). افزایش وزن خشک ساقچه در غلظت ۵۰ میلی‌مولار، شاید به نوعی گویای عدم حساسیت این پارامتر به تنفس شوری باشد (Mane *et al.*, 2011). این افزایش می‌تواند ناشی

داد. افزایش بیش از ۵۰ میلی‌مولار نمک باعث کاهش معنی‌دار این دو صفت شد (شکل ۴). در مطالعه‌ای که اثر تنفس شوری در مرحله گیاهچه‌ای گلنگ مورد بررسی قرار گرفت، کاهش معنی‌دار طول ریشه‌چه با افزایش میزان شوری در این گیاه گزارش گردید (Kaya *et al.*, 2003). طول ریشه از صفات مهم در تحمل به تنفس شوری می‌باشد، زیرا برای جذب آب و مواد غذایی بصورت مستقیم با خاک در ارتباط است (Golkar, 2011). کاهش طول ریشه در شرایط شور ناشی از کاهش پتانسیل آب در محیط ریشه است که موجب کمبود آب، آثار سمیت یونی و کاهش جذب مواد غذایی توسط ریشه می‌شود (Kaya *et al.*, 2003).

وزن تر ریشه‌چه و ساقچه: نتایج تجزیه واریانس نشان داد که تأثیر سطوح مختلف شوری بر وزن تر ساقچه و ریشه‌چه معنی‌دار بود(جدول ۱) همچنین بین ژنوتیپ‌های مختلف گلنگ تفاوت معنی‌داری مشاهده شد ولی برهمکنش شوری و



شکل ۵- مقایسه میانگین وزن تر ساقه چه (a) و وزن تر ریشه چه (b) در ژنتیپ‌های مختلف گلرنگ میانگین‌هایی که حداقل دارای یک حرف مشترک هستند بر اساس آزمون $LSD_{\alpha=0.05}$ با هم اختلاف معنی‌داری ندارند.

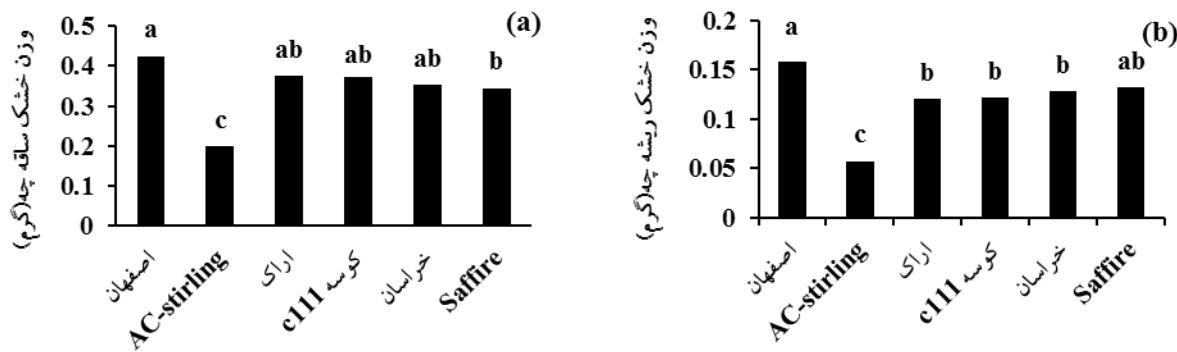


شکل ۶- مقایسه میانگین وزن تر ساقه چه (a) و وزن تر ریشه چه (b) در سطوح مختلف شوری. میانگین‌هایی که حداقل دارای یک حرف مشترک هستند بر اساس آزمون $LSD_{\alpha=0.05}$ با هم اختلاف معنی‌داری ندارند.

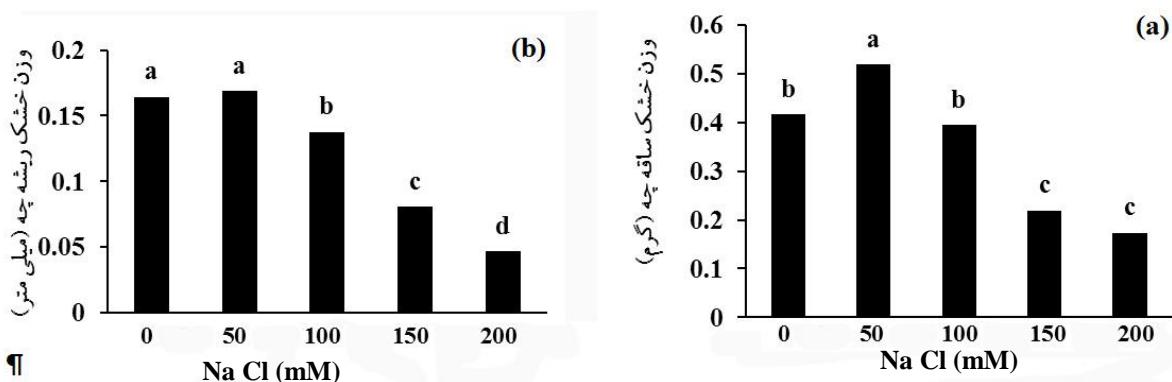
حاکی از تأثیر معنی‌دار سطوح شوری بر وزن خشک ریشه‌چه و ساقه‌چه بود. همچنین اختلاف معنی‌داری بین ژنتیپ‌های گلرنگ از لحاظ وزن خشک ریشه‌چه و ساقه‌چه وجود داشت، در حالی که برهمکنش ژنتیپ و شوری معنی‌دار نبود (جدول ۱). ژنتیپ اصفهان با ۴۲۴ میلی‌گرم بیشترین وزن خشک ساقه‌چه را دارا بود که با ژنتیپ‌های اراك، كوسه C₁₁₁ و Ac-Stirling خراسان تفاوت معنی‌داری نداشت و ژنتیپ دارای کمترین وزن (۱۹۸ میلی‌گرم) بود که با سایر ژنتیپ‌ها اختلاف معنی‌داری نشان داد (شکل a). ژنتیپ اصفهان دارای بیشترین وزن خشک ریشه‌چه (۱۵۷ میلی‌گرم) بود که با ژنتیپ Saffire تفاوت معنی‌داری نداشت و ژنتیپ Ac-Stirling دارای کمترین وزن ریشه‌چه (۵۷ میلی‌گرم) بود (شکل b). شکل a نشان می‌دهد که بیشترین مقدار وزن خشک ساقه‌چه در سطح شوری ۵۰ میلی‌مolar و کمترین آن در سطح

از تجمع یونهای غیر آلی و محلول‌های آلی به منظور سازگاری اسموتویکی در سطح ۵۰ میلی‌مolar باشد، اما در سطوح شوری بالاتر، فرآیند تجزیه منابع ذخیره‌ای و انتقال آنها به قسمت‌های در حال رشد گیاهچه منجر به کاهش وزن می‌شود (Mane *et al.*, 2011). با توجه به شکل ۶ بین تیمار ۵۰ میلی‌مolar نمک و شاهد از نظر طول ریشه‌چه تفاوت معنی‌داری مشاهده نشد، ولی با افزایش بیشتر شوری طول ریشه‌چه کاهش معنی‌داری داشت. در مطالعه Almansouri و همکاران (۲۰۰۱) نیز اثر شوری و تنش اسمزی در گندم دوروم مورد بررسی قرار گرفت که با افزایش میزان شوری وزن تر ریشه‌چه کاهش پیدا کرد، و این کاهش می‌تواند ناشی از تنش اسمزی حاصل از نمک در ناحیه ریشه بوده که باعث جذب کمتر آب توسط ریشه شده است.

وزن خشک ریشه‌چه و ساقه‌چه: نتایج تجزیه واریانس



شکل ۷- مقایسه میانگین وزن خشک ساقه چه (a) و وزن خشک ریشه چه (b) در ژنوتیپ‌های مختلف گلنگ. میانگین‌هایی که حداقل دارای یک حرف مشترک هستند بر اساس آزمون $LSD_{\alpha=0.05}$ با هم اختلاف معنی‌داری ندارند.



شکل ۸- مقایسه میانگین وزن خشک ساقه چه (a) و وزن خشک ریشه چه (b) در سطوح مختلف شوری. میانگین‌هایی که حداقل دارای یک حرف مشترک هستند بر اساس آزمون $LSD_{\alpha=0.05}$ با هم اختلاف معنی‌داری ندارند.

مناسبی از قدرت رویش گیاه بوده و می‌تواند در شناسایی پتانسیل تحمل به شوری ژنوتیپ‌ها موثر باشد. در مجموع، نتایج این تحقیق نشان داد که ژنوتیپ اصفهان در غلاظت‌های مختلف شوری از نظر صفات گیاهچه‌ای جزء بهترین ژنوتیپ‌ها بود و ژنوتیپ Ac-Stirling کمترین تحمل را داشت. همچنین مشاهده شد تحت تنش تنش شوری میزان فعالیت آنزیم‌ها بخصوص سوپراکسیدسموتاز در ژنوتیپ اصفهان (متحمل) افزایش و در ژنوتیپ AC-Stirling (حساس) تغییر چندانی نداشت (شکل ۱ و ۲). بنابراین استفاده از ژنوتیپ اصفهان در برنامه‌های اصلاحی گلنگ برای بهبود تحمل به تنش شوری توصیه می‌گردد.

روغنی، زراعت و فیزیولوژی. انتشارات عمیدی، تبریز.

Almansouri, M., Kinet, J. M. and Lutts, S. (2001) Effect of salt and osmotic stresses on germination in durum

شوری ۲۰۰ میلی مولار مشاهده شد. وزن خشک ریشه چه در سطوح شوری صفر (شاهد) و ۵۰ میلی مولار تفاوت آماری معنی‌داری نشان ندادند، در حالیکه افزایش بیشتر نمک (سطح ۱۰۰، ۱۵۰ و ۲۰۰ میلی مولار نمک طعام) باعث کاهش معنیداری در وزن خشک ریشه چه گردید (شکل ۸). Munns (۲۰۰۶) کاهش وزن خشک را ناشی از سمیت یونی و عدم تعادل غذایی عنوان کردند که باعث کاهش جذب مواد غذایی توسط ریشه از خاک می‌شود.

از آنجایی که گونه‌های خانواده آستراسه از جمله گلنگ در مراحل اولیه رشد به شوری حساس می‌باشند (Golkar, 2011)، بنابراین انتخاب رقم‌ها بر اساس صفات گیاهچه‌ای شاخص

منابع:

آلیاری، م.، شکاری، ف. و شکاری، ف. (۱۳۷۹) دانه‌های

- stress by increased activity of antioxidant enzymes. *Iranian Journal of Plant Physiology* 3: 801-808.
- Hoque, M., Okuma, E., Banu, M., Nakamura, Y., Shimoishi, Y. and Murata, Y. (2007) Exogenous proline mitigates the detrimental effects of salt stress more than exogenous betaine by increasing antioxidant enzyme activities. *Journal of Plant Physiology* 164: 553-561.
- Huang, Z., Zhang, X., Zheng, G. and Guterman, Y. (2003) Influence of light, temperature, salinity and storage on seed germination of *Haloxylon ammodendro*. *Journal of Arid Environment* 55: 453-464.
- Kaya, M. D., Ipek, A. and Ozturk, A. (2003) Effects of different soil salinity levels on germination and seedling growth of safflower (*Carthamus tinctorius* L.). *Turkish Journal of Agriculture & Forestry* 27: 221-227.
- Koca, H., Bor, M., Ozdemir, F. and Turkan, I. (2007) The effect of salt stress on lipid peroxidation, antioxidative enzymes and proline content of sesame cultivars. *Environmental and Experimental Botany* 60: 344-351.
- Mane, A. V., Saratale, G. D., Karadge, B. A. and Samant, J.S. (2011) Studies on the effects of salinity on growth, polyphenol content and photosynthetic response in *Vetiveria zizanioides* (L.) Nash. *Emirates Journal of Food and Agriculture* 23: 59-70.
- Mittler, R. (2002). Oxidative stress, antioxidants and stress tolerance. *Trends in Plant Science* 7: 405-410.
- Mohammadizad, H.A., Khazaei, I., Ghafari, M., Fatehi, M.F. and Barzegar, R. (2013) Effect of Salt and Drought Stresses on Seed Germination and Early Seedling Growth of *Nepeta persica*. *International Journal of Farming and Allied Sciences* 2: 895-899.
- Mokhamed, A. M., Raldugina, G. N., Kholodova, V. P. and Koznetov, V. V. (2006) Osmolyte accumulation in different rape genotypes under sodium chloride salinity. *Russian Journal of Plant Physiology* 53: 649-655.
- Mostafavi, K. (2011) An evaluation of safflower genotypes (*Carthamus tinctorius* L.), seed germination and seedling characters in salt stress conditions. *African Journal of Agricultural Research* 6: 1667-1672.
- Munns, R., James, R. A. and Lauchli, A. (2006) Approaches to increasing the salt tolerance of wheat and other cereals. *Journal of Experimental Botany* 57: 1025-1043.
- Nakano, Y. and Asada, K. (1981) Hydrogen peroxide is scavenged by ascorbate-specific peroxidase in spinach chloroplasts. *Plant & Cell Physiology* 22: 867-880.
- Rout, N. P. and Shaw, B. P. (2001) Salt tolerance in aquatic macrophytes: Possible involvement of the antioxidative enzymes. *Plant Science* 160: 415-423.
- Sairam, R. K., Rao, K. V. and Srivastava, G. C. (2002) Differential response of wheat genotypes to long wheat (*Triticum durum* Desf.). *Plant and Soil* 231: 243-254.
- Alschner, R., Donahue, J. and Cramer, C. (1997) Reactive oxygen species and antioxidants: relationship in green cells. *Physiologia Plantarum* 100: 224-233.
- Arzani, A. (2008) Improving salinity tolerance in crop plants: a biotechnological view. *In Vitro Cellular & Developmental Biology - Plant* 44: 373-383.
- Ashraf, M. and Ali, Q. (2008) Relative membrane permeability and activities of some antioxidant enzymes as the key determinants of salt tolerance in canola (*Brassica napus* L.). *Environmental and Experimental Botany* 63: 266-273.
- Beauchamp, C. and Fridovich, I. (1971) Superoxide dismutase: improved assays and an assay applicable to acrylamide gels. *Analytical Biochemistry* 44: 276-287.
- Bolkhia, O., Virolinen, E. and Fagerstedt, K. V. (2003) Antioxidants oxidative damage and oxygen deprivation stress. *Annals of Botany* 91: 179-194.
- Chi Lin, C. and Huei Kao, C. (2000) Effect of NaCl stress on H₂O₂ metabolism in rice leaves. *Plant Growth Regulation* 30: 151-155.
- Culha, S. and Cakirlar, H. (2011) Effect of salt stress induced by NaCl on safflower (*Carthamus tinctorius* L.) cultivars at early seedling stages. *Hacettepe Journal of Biology and Chemistry*, 39: 61-64.
- Dai, Q. L., Chen, C., Feng, B., Liu, T. T., Tian, X., Gong, Y. Y., Sun, Y. K., Wang, J. and Du, S. Z. (2009) Effects of different NaCl concentration on the antioxidant enzymes in oilseed rape (*Brassica napus* L.) seedlings. *Plant Growth Regulation* 59: 273-278.
- Esfandiari, E., Shekari, F., Farid, Shekari, Esfandiari, M. 2007. The effect of salt stress on antioxidant enzymes' activity and lipid peroxidation on the wheat seedling. *Notulae Botanicae Horti Agrobotanici Cluj-Napoca* 35: 48-56.
- Gambarova, N. G. and Gins, M. S. (2008) Characteristics of oxidative stress of plants with C₃ and C₄ photosynthesis during salinization. *Russian Agricultural Sciences* 34: 77-80.
- Ghazizade, M., Golkar, P. and Salehinejad, F. (2012) Effect of Salinity Stress on Germination and Seedling characters in Safflower (*Carthamus tinctorius* L.) genotypes. *Annals of Biological Research* 3: 114-118.
- Golkar, P. (2011) Inheritance of salt tolerance in safflower (*Carthamus Tinctorius* L.). *Advances in Environmental Biology* 5: 3694-3699.
- Hafsi, C., Romero-Puertas, M., Gupta, D. K., Del Río, L. A., Sandalio, L. M. and Abdelly, C. (2010) Moderate salinity enhances the antioxidative response in the halophyte *Hordeum maritimum* L. under potassium deficiency. *Environmental and Experimental Botany* 69: 129-136.
- Hatamnia, A.A., Abbaspour, N., Darvishzadeh, R., Rahmani, F., Heidari, R. Tobacco responds to salt

- species in NaCl-stressed rice (*Oryza sativa* L.) – differential response in salt-tolerant and sensitive varieties. *Plant Science* 165: 1411-1418.
- Yan, P., Li, J. W. and Zeng, L. Y. (2006) Effect of salt and drought stress on antioxidant enzymes activities and SOD isoenzymes of liquorice (*Glycyrrhiza uralensis* Fisch). *Plant Growth Regulation* 49: 157-165.
- Yannerelli, G. G., Gallego, S. M. and Tamaro, M. L. (2006) Effect of UV-B radiation on the activity and isoforms of enzymes with peroxidase activity in sunflower cotyledons. *Environmental and Experimental Botany* 56:174-181.
- Zamani, S., Nezami, M. T., Habibi, D. and Khorshidi, M. B. (2010) Effect of quantitative and qualitative performance of four canola cultivars (*Brassica napus* L.) to salinity conditions. *Advances in Environmental Biology* 4: 422-427.
- Zhu, J. K. (2001) Over expression of a delta-pyrroline-5-carboxylate synthetase gene and analysis of tolerance to water and salt stress in transgenic rice. *Trends in Plant Science* 6: 66-72.
- term salinity stress in relation to oxidative stress, antioxidant activity and osmolyte concentration. *Plant Science* 163:1037-1046.
- Sairam,R.K. and Srivastava G.C. (2001) Water stress tolerance of wheat *Triticum aestivum* L.: Variation in hydrogen peroxide accumulation and antioxidant activiy in tolerant and susceptible genotype. *Journal of Agronomy and Crop Science* ,186: 63-70.
- Seckin, B., Turkcan, I., Sekmen, A .H. and Ozfidan, C. (2010) The role of antioxidant defense systems at differential salt tolerance of *Hordeum marinum* Huds. (sea barleygrass) and *Hordeum vulgare* L. (cultivated barley). *Environmental and Experimental Botany* 69: 76–85.
- Shahbazi, E., Arzani, A. and Saeidi, G. (2011) Effects of NaCl treatments on seed germination on seed and antioxidant activity of canola (*Brassica napus* L.) cultivars. *Bangladesh Journal of Botany* 41: 67-73.
- Sudhakar, C., Lakshmi, A. and Giridarakumar, S. (2001) Changes in the antioxidant enzymes efficacy in two high yielding genotypes of mulberry (*Morus alba* L.) under NaCl salinity. *Plant Science* 161: 613–619.
- Vaidyanathan, H., Sivakumar, P., Chakrabarty, R. and Thomas, G. (2003) Scavenging of reactive oxygen