اثر شدت و مدت زمان اعمال تنش کلرید سدیم بر روی رشد و برخی شاخص‌های بیوشیمیایی و فتوسنتزی توتون (*Nicotiana tabacum* L.)

علی اصغر حاتم نیا*[1]، طاهره ولدبیگی[1] و ناصر عباسپور[2]

[1] گروه زیست شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه ایلام، [2]گروه زیست شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه ارومیه

(تاریخ دریافت: ١٣٩٤/١١/١٤، تاریخ پذیرش نهایی: ١٣٩٥/٠٢/٢١)

چکیده:

شوری یک پدیده پیچیده می‌باشد که تنها سبب اثرات اسمزی نمی‌شود بلکه همچنین سبب اثرات سمی یونی و بهم خوردن تعادل مواد غذایی می‌شود. به منظور بررسی اثرات شدت و مدت زمان اعمال تنش کلرید سدیم بر برخی شاخص‌های بیوشیمیایی و فتوسنتزی توتون آزمایشی به صورت فاکتوریل در قالب طرح بلوک کامل تصادفی در سه تکرار در محیط کشت هیدروپونیک در پژوهشکده زیست فناوری دانشگاه ارومیه اجرا گردید. در این مطالعه اثرات ٥ سطح کلرید سدیم (٠، ٥٠، ١٠٠، ١٥٠ و ٢٠٠ میلی‌مولار کلرید سدیم) و سه مرحلهٔ زمانی (٢، ٥ و ١٢ روز) بررسی شد. نتایج نشان داد که تنش کلرید سدیم سبب کاهش وزن خشک و میزان رنگیزه‌های فتوسنتزی نسبت به شاهد شده در حالی‌که محتوی پرولین نسبت به شاهد افزایش یافته است. نتایج حاصل از تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد که سطوح کلرید سدیم، مدت زمان اعمال تنش و اثرات متقابل تنش و زمان، اثر معنی‌داری در سطح احتمال ١٪ بر روی میزان هدایت روزنه‌ای، تعرق، غلظت دی اکسید کربن و کارایی مصرف آب داشته است. سطوح کلرید سدیم و اثرات متقابل تنش و زمان اثر معنی‌داری بر روی میزان فتوسنتز خالص و هدایت مزوفیلی داشته است. فتوسنتز خالص، هدایت روزنه‌ای، نسبت تعرق، غلظت دی اکسید کربن بین سلولی و هدایت مزوفیلی در سطح ٢٠٠ میلی مولار کلرید سدیم در ١٢ روز بعد اعمال تنش نسبت به شاهد به ترتیب ٧٤٪، ٩٧٪، ٩٠٪، ٤٨٪ و ٥٩٪ کاهش را نشان دادند. این نتایج نشان دادند که تحت تنش کلرید سدیم ممکن است محدودیت‌های روزنه‌ای عامل اصلی کاهش میزان فتوسنتز در گیاه توتون باشند.

کلمات کلیدی: پرولین، شاخص‌های فتوسنتزی، کشت هیدروپونیک، هدایت روزنه‌ای، میزان تعرق

مقدمه:

تنش‌های غیر زیستی به میزان زیادی رشد و تولیدات گیاهان زراعی را تحت تأثیر قرار می‌دهند. تنش شوری حدود ٨٠٠ میلیون هکتار از اراضی کره زمین را تحت تأثیر قرار داده است (Kumar *et al*., 2013). تنش کلرید سدیم سبب واکنش‌های فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی متنوعی در گیاهان می‌شود. در چنین شرایطی تقریباً همه فرآیندهای گیاهی از قبیل فتوسنتز، سنتز پروتئین، انرژی و متابولیسم چربی‌ها تحت تأثیر قرار می گیرد (Stepien and Johnson, 2009; Kumar *et al*., 2013). تنش کلرید سدیم بقاء، زیست توده، اندازه و شکل گیاه را تحت تأثیر قرار داده و این تغییرات توانایی گیاه را در جذب نور، آب و مواد معدنی تغییر می‌دهد (Arzani, 2008). به عبارت دیگر تنش کلرید سدیم شایع‌ترین تنش زیستی در گیاهان می‌باشد. مهار رشد اولین و مهمترین پاسخ به کلرید سدیم بوده و رشد گیاه یکی از مهمترین شاخصه‌های کشاورزی در ارتباط با تنش کلرید سدیم می‌باشد که توسط

*نویسنده مسؤل، نشانی پست الکترونیکی: hatamniya60@gmail.com

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2024-04-25]

[DOR: 20.1001.1.23222727.1396.6.19.26.4]

مطالعات فراوانی اثبات شده است (Parida and Das, 2005).

فتوسنتز همراه با رشد سلولی جزء اولین فرایندهایی هستند که تحت تأثیر کلرید سدیم قرار می‌گیرند (Munns *et al*., 2006). اثرات کلرید سدیم روی فتوسنتز به می‌تواند به صورت اثرات مستقیم و غیر مستقیم باشد که اثرات مستقیم روی فتوسنتز به واسطه کاهش دی اکسید کربن قابل دسترس از طریق اعمال محدودیت‌هایی روی انتشار دی اکسید کربن از طریق روزنه‌ها در سلول‌های مزوفیل و یا از طریق اختلال در متابولیسم فتوسنتزی می‌باشد و اثرات غیر مستقیم روی فتوسنتز از طریق تنش اکسیداتیو اعمال می‌شود (Chaves *et al*., 2009). عوامل روزنه‌ای و غیر روزنه‌ای در تنش کلرید سدیم باعث کاهش فتوسنتز می‌شود که عوامل روزنه‌ای به علت بسته شدن روزنه ها، خود ناشی از کاهش هدایت روزنه‌ای، نسبت تعرق، غلظت دی اکسید کربن داخلی و فتوسنتز خالص می‌باشد (Lu *et al*., 2009). و عوامل غیر روزنه‌ای شامل کاهش فعالیت PSII، انتقال الکترون و فسفوریلاسیون نوری است (Das Neves *et al*., 2008).

پاسخ فتوسنتز به تنش کلرید سدیم بسیار پیچیده است. شدت، مدت و میزان تنش کلرید سدیم پاسخ‌های گیاهی را تحت تأثیر قرار می‌دهند. به عبارت دیگر فاکتورهای مذکور هستند که وجود یا عدم وجود فرآیندهای سازگاری در گیاهان را تعیین می‌کنند. پاسخ‌های سازگاری تحت تنش زمانی‌که فتوسنتز مستقیماً تحت تأثیر قرار نگرفته شامل سنتز مواد محلول سازگار و همچنین تعدیل در انتقال یون‌ها (از قبیل جذب، خروج و انباشتگی یون‌ها) می‌باشد. این پاسخ‌های گیاهی سرانجام منجر به هموستازی دوباره سلولی، سمیت زدایی و بنابراین بقاء گیاه تحت تنش کلرید سدیم می‌گردند. به هر حال زمانی‌که میزان و شدت تنش کم بوده و به میزان کمی فتوسنتز و رشد سلولی تحت تأثیر قرار می‌گیرد، تولید مواد اسموتیک یکی از مکانیسم‌هایی است که سلول گیاهی انجام می‌دهد و به واسطه آن سبب حفظ جذب آب و فشار تورژسانس تحت تنش کلرید سدیم می‌شود. اثرات کلرید سدیم روی فتوسنتز متنوع بوده و محدود کردن انتشار دی اکسید کربن به کلروپلاست از طریق ممانعت از باز شدن روزنه به واسطه مواد تنظیم کننده رشد گیاهی تولید شده و در اندام هوایی و ریشه و همچنین ممانعت از انتقال دی اکسید کربن مزوفیلی تا تغییرات در فتوشیمی برگ و متابولیسم کربن گسترده می‌باشد. این اثرات با شدت و مدت زمان تنش و همچنین با سن برگ و نوع گونه گیاهی متناسب هستند (Chaves *et al*., 2009).

تنش کلرید سدیم باعث تخریب ساختار کلروپلاست، تجزیهٔ رنگیزه‌های کلروفیلی و تغییر در محتوی کاروتنوئیدها می‌شود (Ben-Asher *et al*., 2006). کاهش میزان رنگیزه‌های کلروفیلی تحت تنش کلرید سدیم می‌تواند به دلیل افزایش فعالیت آنزیم کلروفیلاز یا کاهش نسبی سنتز کلروفیل باشد (Gunes *et al*., 2007).

تحت شرایط تنش کلرید سدیم، پرولین اثرات زیستی متعددی را ایفا می‌کند، به طوری‌که مطالعات زیادی نشان می دهد که پرولین در تعدیل اسمزی داخل سلولی بین سیتوپلاسم و واکوئل دخالت می‌کند. علاوه بر این پرولین به عنوان مولکول‌های چاپرونی عمل کرده که سبب محافظت از ساختار پروتئین‌ها و آنزیم‌های سلولی می‌شوند و به این طریق باعث افزایش فعالیت آنزیم‌ها تحت تنش کلرید سدیم می‌شود. از طرف دیگر پرولین سبب جاروب کردن گونه‌های فعال اکسیژن شده و سلول‌ها را از آسیب‌های وارد شده بوسیلهٔ تنش حفظ می‌کند (Banu *et al*., 2009; Szabados and Savoure, 2009). بنابراین، این مطالعه به منظور بررسی اثرات شدت و مدت زمان اعمال تنش کلرید سدیم روی برخی از شاخص‌های رشدی، بیوشیمیایی و فتوسنتزی توتون انجام گرفت.

مواد و روش‌ها:

برای انجام این پژوهش، آزمایشی به صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار در سال ۱۳۹۰ در پژوهشکده زیست فناوری دانشگاه ارومیه اجرا گردید. ژنوتیپ Basma S.31 توتون از مرکز تحقیقات توتون ارومیه تهیه شد. مراحل اولیه کاشت بذرها، جوانه‌زنی و رشد دانه رست‌ها تا مرحله دو برگی در داخل مخلوطی از پیت و پرلیت (به نسبت ۱ به ۱)

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2024-04-25]

[DOR: 20.1001.1.23222727.1396.6.19.26.4]

انجام گرفت. دانه رست‌ها بعد از مرحله دو برگی به گلدان‌های ۲ لیتری حاوی محلول هوگلند در فیتوترون پژوهشکده زیست فناوری دانشگاه ارومیه منتقل شدند. بعد از ۳۰ روز که گیاهان در محیط آب کشت (هیدروپونیک) رشد کردند و به مرحله ۵ برگی رسیدند، تنش کلرید سدیم اعمال شد. برای اعمال تنش کلرید سدیم از سطوح ۰، ۵۰، ۱۰۰، ۱۵۰ و ۲۰۰ میلی‌مولار کلرید سدیم استفاده گردید. تنش اعمال شده در سه مرحله زمانی ۲، ۵ و ۱۲ روزه انجام و بعد از هر زمان اندازه‌گیری‌ها و نمونه برداری‌های مربوطه صورت گرفت.

برای اندازه‌گیری محتوی پرولین از روش Bates و همکاران (۱۹۷۳) استفاده شد. بر اساس این روش ابتدا ۵۰۰ میلی‌گرم از بافت تر برگ توزین شده و با ۱۰ میلی‌لیتر اسید سولفوسالسیلیک ۳٪ در هاون ساییده شد و سپس مخلوط حاصله توسط کاغذ صافی واتمن صاف گردید. به ۲ میلی‌لیتر از عصاره حاصله ۲ میلی‌لیتر اسید استیک گلاسیال و ۲ میلی‌لیتر معرف نین هیدرین اضافه شد. سپس لوله‌ها به مدت یک ساعت داخل بن ماری ۱۰۰ درجه سانتی‌گراد قرار داده شدند تا رنگ آجری نمایان شود. سپس لوله‌ها داخل آب یخ قرار داده شده و به هر کدام از لوله‌ها ٤ میلی‌لیتر تولوئن اضافه گردید. بعد از بهم زدن محتویات لوله‌ها، دو فاز تشکیل شد و سپس از فاز رویی توسط پیپت پاستور نمونه‌برداری گردید. میزان جذب پرولین با استفاده از اسپکتروفتومتر در طول موج ۵۲۰ nm اندازه‌گیری شد.

برای اندازه‌گیری رنگیزه‌های فتوسنتزی از روش Lichtenthaler و Wellburn (۱۹۸۵) استفاده شد. به این ترتیب که ۰/۱ گرم از وزن تر برگ به همراه ۵ میلی لیتر استون ۱۰۰ درصد در هاون چینی ساییده شد. عصاره حاصل به مدت ۱۰ دقیقه در ۲۵۰۰ دور سانتریفیوژ شد. سپس جذب فاز بالایی هر یک از نمونه‌های سانتریفوژ شده توسط اسپکتروفتومتر در طول موج‌های ٦٦٢ nm، ٦٤٥ nm و ٤٧٠ nm خوانده شد. برای محاسبه کلروفیل a، کلروفیل b و کاراتنوئیدها از فرمول ذیل استفاده گردید (A میزان جذب خوانده شده در هر طول موج توسط اسپکتروفتومتر می‌باشد):

$$Chl\ a = 11.75_{A662} - 2.350_{A645}$$

$$Chl\ b = 18.61_{A645} - 3.960_{A662}$$

$$C_{X+C} = 1000_{A470} - 2.270_{Chl\ a} - 81.4_{Chl\ b} / 227$$

اندازه‌گیری پارامترهای فتوسنتزی با استفاده از سیستم hcm-1000 ساخت شرکت WALZ (آلمان) انجام گرفت. پارامترهایی که در این تحقیق مورد اندازه‌گیری قرار گرفتند شامل میزان فتوسنتز خالص (Pn)، هدایت روزنه‌ای (Gs)، میزان تعرق روزنه‌ای (Tr)، میزان دی اکسید کربن بین سلولی (Ci)، هدایت مزوفیلی و کارایی مصرف آب لحظه‌ای بودند. هدایت مزوفیلی با تقسیم فتوسنتز به میزان دی اکسید کربن بین سلولی و کارایی مصرف آب لحظه‌ای با تقسیم فتوسنتز به میزان تعرق محاسبه شد. در طول اندازه‌گیری شدت نور و دمای محفظه‌ای که برگ داخل آن قرار می‌گرفت ثابت و به ترتیب ۱۵۰۰ $\mu mol/ m^2 s$ و ۳۳-۳۰ درجه سانتی‌گراد بود. سطح برگی که داخل محفظه قرار می‌گرفت ۵ سانتی‌متر مربع بود. در این مطالعه اندازه‌گیری فتوسنتز در سه مرحله (روزهای ۲، ۵ و ۱۲ بعد از اعمال تنش) انجام گرفت و تغییرات شاخص‌های فتوسنتزی نه تنها با توجه به سطح تنش کلرید سدیم بلکه همچنین با توجه به مدت زمان تنش اعمال شده مورد ارزیابی قرار گرفت.

آنالیز آماری: برای همه آزمایش‌های انجام شده سه تکرار در نظر گرفته شد. اختلاف بین سطوح مختلف کلرید سدیم با استفاده از آنالیز واریانس تک سویه (ANOVA) و تست Tukey در سطح آماری ۵ درصد ($p<0/05$) آنالیز گردید. همچنین برای تجزیهٔ واریانس اثر سطوح کلرید سدیم، زمان-های متفاوت اعمال تنش کلرید سدیم و اثرات متقابل آنها از تست GLM (General Linear Mode) استفاده شد. برای رسم نمودارها از نرم افزار SPSS نسخهٔ ١٦ استفاده شد.

نتایج:

وزن خشک اندام هوایی: نتایج حاصل از تجزیه واریانس نشان داد که سطوح کلرید سدیم، مدت زمان اعمال تنش و اثرات متقابل تنش و زمان تأثیر معنی‌داری در سطح احتمال ۱٪ بر روی وزن خشک اندام هوایی داشت (جدول ۱). مقایسه میانگین‌ها نشان داد با افزایش سطح کلرید سدیم وزن خشک اندام هوایی کاهش یافته است (جدول ۲). نتایج حاصله نشان

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2024-04-25]

[DOR: 20.1001.1.23222727.1396.6.19.26.4]

جدول ۱- تجزیه واریانس اثر سطوح کلرید سدیم (۰، ۵۰، ۱۰۰، ۱۵۰ و ۲۰۰ میلی مولار کلرید سدیم)، مدت زمان اعمال تنش کلرید سدیم (۲، ۵ و ۱۲ روز) و اثر متقابل آنها بر شاخص‌های رشدی و بیوشیمیایی گیاه توتون.

منابع تغییر	درجه آزادی	میانگین مربعات						
		وزن خشک	پرولین	کلروفیل a	کلروفیل b	کاروتنوئید	کلروفیل کل	کلروفیل a/b
مدت زمان اعمال تنش	۲	۰/۰۳**	۲۷٤/۰۷**	۰/۰۸ns	۰/۰۰۱ns	۰/۰۰۲ns	۰/۰۷ns	۰/۱۷٤ns
تیمار کلرید سدیم	٤	۱/۰۲**	٦۱٦/۱۳**	۳/۱٤**	۰/۵۸۹**	۰/۰۷۷**	٦/٤**	۰/٦۳۰**
اثر متقابل تنش و زمان	۸	۰/۱۲**	۲٦/۰۹**	۰/۱۱ns	۰/۰۰۹*	۰/۰۰۲ns	۰/۱۷*	۰/۰۲۷ns
خطا	۳۰	۰/۰۰٤	۱/۹٤	۰/۰٦	۰/۰۰٤	۰/۰۰۱	۰/۰۷٦	۰/۱۳۷
ضریب تغییرات (درصد)		۵/۹	۷/۵	۳/۲	۳/۷	۲	۳/۲	۱/۹

ns غیر معنی‌دار، *: معنی‌دار در سطح احتمال ۰/۰۵ و **: معنی‌دار در سطح احتمال ۰/۰۱.

جدول ۲- مقایسه میانگین اثر سطوح کلرید سدیم (۰، ۵۰، ۱۰۰، ۱۵۰ و ۲۰۰ میلی مولار کلرید سدیم) و مدت زمان اعمال تنش کلرید سدیم (۲، ۵ و ۱۲ روز) برای شاخص‌های رشدی و بیوشیمیایی گیاه توتون

مدت زمان تنش	سطح کلرید سدیم	وزن خشک (گرم)	پرولین (میلی گرم بر گرم وزن تر)	کلروفیل b (میلی گرم بر گرم وزن تر)	کلروفیل کل (میلی گرم بر گرم وزن تر)
۲ روز	۰	۱/۰۵ ±۰/۰٤ de*	۷/۱۰ ±۰/۱۷ i	۰/۹۷ ±۰/۰۲ d	۳/۷۱ ±۰/۱۳ cde
	۵۰	۰/۹۳ ±۰/۰۲ def	۸/۹٦ ±۰/۱٦ i	۱/۱٦ ±۰/۰۵ abc	٤/۵۰ ±۰/۲۰ abc
	۱۰۰	۰/۸۷ ±۰/۰۳ efg	۱۳/۳٦ ±۰/۵۲ gh	۱/۱۲ ±۰/۰۵ abc	٤/۳۱ ±۰/۱۲ abc
	۱۵۰	۰/۷۹ ±۰/۰٦ fgh	۱۵/۸۵ ±۰/٤٦ fg	۰/۷۸ ±۰/۰۲ e	۳/۳۲ ±۰/۱٤ def
	۲۰۰	۰/۵۷ ±۰/۰۲ ijk	۲۲/۱٦ ±۱/۱۰ de	۰/٦۸ ±۰/۰۱ ef	۲/۸۲ ±۰/۱۵ fg
۵ روز	۰	۱/۲٦ ±۰/۰۵ bc	۷/۲۳ ±۰/٤۱ i	۱/۰۲ ±۰/۰۲ cd	۳/۸۷ ±۰/۰۸ bcd
	۵۰	۱/۱۰ ±۰/۰۲ cd	۱۰/۳۳ ±۰/۳۲ hi	۱/۲۱ ±۰/۰٤ ab	٤/٦٦ ±۰/۱۸ ab
	۱۰۰	۰/۹٤ ±۰/۰۵ def	۱٦/٤۷ ±۰/۵۹ fg	۱/۱۵ ±۰/۰۵ abc	۳/۹۹ ±۰/۰٤ bcd
	۱۵۰	۰/۷۲ ±۰/۰۳ ghi	۱۸/٦۱ ±۰/۳٦ ef	۰/۷۵ ±۰/۰۲ e	۲/۹۷ ±۰/۱۲ efg
	۲۰۰	۰/۵۲ ±۰/۰۲ jk	۲٦/۲۵ ±۰/۸۷ bc	۰/٦۱ ±۰/۰۱ ef	۲/۵۹ ±۰/۱۸ fg
۱۲ روز	۰	۱/٤۷ ±۰/۰۳ a	۷/۵٦ ±۰/۱۹ i	۱/۰۵ ±۰/۰۸ bcd	٤/۱۵ ±۰/۲۲ bcd
	۵۰	۱/۲۹ ±۰/۰۳ b	۱۳/۲۹ ±۰/۲٦ gh	۱/۲۹ ±۰/۱۰ a	۵/۱۰ ±۰/۱۹ a
	۱۰۰	۰/٦۸ ±۰/۰۳ hij	۲۳/۲۵ ±۰/٤۹ cd	۱/۰٦ ±۰/۰۷ bcd	٤/۰۱ ±۰/۱٤ bcd
	۱۵۰	۰/٤۳ ±۰/۰۲ k	۲۹/۰۰ ±۰/۸۵ b	۰/٦۹ ±۰/۰۵ ef	۲/۹٤ ±۰/۱۸ efg
	۲۰۰	۰/۲۱ ±۰/۰۲ m	۳۵/۵۹ ±۱/۷۹ a	۰/۵۵ ±۰/۰۵ f	۲/٤۸ ±۰/۱٦ g

*** برای هر صفت، میانگین‌هایی که حداقل دارای یک حروف مشترک می‌باشند بر اساس آزمون Tukey در سطح احتمال ۵٪ از نظر آماری فاقد تفاوت معنی‌دار هستند. داده‌ها میانگین سه تکرار ± SE است.**

داد که بیشترین میزان وزن خشک اندام هوایی مربوط به تیمار شاهد در روز ۱۲ بعد اعمال تنش (۱/٤۷ گرم) و کمترین آن مربوط به تیمار ۲۰۰ میلی مولار کلرید سدیم در روز ۱۲ بعد اعمال تنش (۰/۲۱ گرم) می‌باشد. مقایسه میانگین‌ها نشان داد که وزن خشک اندام هوایی در ۲۰۰ میلی مولار کلرید سدیم در مقایسه با شاهد در سه دوره زمانی ۲، ۵ و ۱۲ روزه به

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2024-04-25]

[DOR: 20.1001.1.23222727.1396.6.19.26.4]

جدول ۳- مقایسه میانگین مربوط به رنگیزه‌های فتوسنتزی در سطوح ۰، ۵۰، ۱۰۰، ۱۵۰ و ۲۰۰ میلی مولار NaCl (۱۲ روز بعد از شروع تنش شوری).

مدت زمان تنش	سطح شوری	کلروفیل a (میلی گرم بر گرم وزن تر)	کلروفیل a/b	کاروتنوئید (میلی گرم بر گرم وزن تر)
۱۲ روز	۰	۳/۰۷ ±۰/۱۹ ab*	۲/۸٤ ±۰/۱٦ b	۰/٥٤ ±۰/۰۳ b
	۵۰	۳/۸۳ ±۰/۲۱ a	۳/۰۳ ±۰/۲۳ a	۰/٦۸ ±۰/۰۸ a
	۱۰۰	۲/۹۵ ±۰/۱۱ b	۲/۸۱ ±۰/۰۱ b	۰/۷۱ ±۰/۰۵ a
	۱۵۰	۲/۲۵ ±۰/۲۰ bc	۳/۲۵ ±۰/۳۸ a	۰/٦۸ ±۰/۰۲ a
	۲۰۰	۱/۹۲ ±۰/۱۳ c	۳/٤۹ ±۰/۲۹ a	۰/۵۰ ±۰/۰۲ b

*** ستون‌های عمودی نشانگر میانگین و انحراف معیار هستند. میانگین‌های مربوط به هر ستون که حداقل دارای یک حرف مشترک هستند در سطح احتمال ۵٪ اختلاف معنی‌دار ندارند.**

ترتیب ٤٦٪، ۵۹٪ و ۸۵٪ کاهش یافته است (جدول ۲).

محتوی پرولین: سطوح کلرید سدیم، مدت زمان اعمال تنش و اثرات متقابل تنش و زمان تأثیر معنی‌داری در سطح احتمال ۱٪ بر روی محتوی پرولین دارد (جدول ۱). سطوح مختلف کلرید سدیم تأثیر معنی‌داری روی محتوی پرولین برگ داشته است ($p<۰/۰۵$)، به طوری‌که مقایسه میانگین‌ها نشان داد که با افزایش سطح کلرید سدیم محتوی پرولین برگ افزایش یافته است (جدول ۲). محتوی پرولین برگ در روز ۱۲ بعد از اعمال تنش کلرید سدیم در سطوح بالا (۲۰۰ میلی مولار کلرید سدیم) در مقایسه با شاهد ٤/۷ برابر افزایش یافته است. نتایج نشان داد که محتوی پرولین برگ با افزایش مدت زمان تنش کلرید سدیم افزایش یافته است، به طوری‌که بیشترین و کمترین محتوی پرولین به ترتیب در ۱۲ و ۲ روز بعد از شروع تنش مشاهده شد. محتوی پرولین برگ در ۲۰۰ میلی مولار کلرید سدیم در مقایسه با شاهد در سه دوره زمانی ۲، ۵ و ۱۲ روزه به ترتیب حدود ۳/۱، ۳/۹ و ٤/۷ برابر بود (جدول ۲).

رنگیزه‌های فتوسنتزی: نتایج حاصل از تجزیه واریانس نشان داد که سطوح کلرید سدیم تأثیر معنی‌داری در سطح ۱٪ بر روی میزان رنگیزه‌های فتوسنتزی داشته است. با این حال مدت زمان اعمال تنش تأثیر معنی‌دار روی هیچکدام از رنگیزه ها نداشته و اثرات متقابل تنش و زمان تنها روی میزان کلروفیل b و کلروفیل کل در سطح احتمال ۵٪ معنی دار بود (جدول ۱).

نتایج حاصله نشان داد که بیشترین میزان کلروفیل b در سطح ۵۰ میلی مولار کلرید سدیم در ۱۲ روز بعد از اعمال تنش (۱/۲۹ میلی گرم بر گرم وزن تر) مشاهده شد و سپس میزان کلروفیل b کاهش می‌یابد به طوری‌که کمترین میزان کلروفیل b در تیمار ۲۰۰ میلی مولار کلرید سدیم در ۱۲ روز بعد از اعمال تنش (۰/۵۵ میلی گرم بر گرم وزن تر) مشاهده شد (جدول ۲).

مقایسهٔ میانگین مربوط به سطوح شوری نشان داد که میزان کلروفیل a به طور معنی‌داری تحت تأثیر سطوح مختلف کلرید سدیم قرار گرفت، به‌طوری‌که در سطح ۵۰ میلی مولار کلرید سدیم نسبت به شاهد افزایش میزان کلروفیل a مشاهده شد، ولی از سطح ۱۰۰ میلی مولار کلرید سدیم کاهش کلروفیل a مشاهده گردید. بیشترین کاهش کلروفیل a در تیمار ۲۰۰ میلی مولار کلرید سدیم (۱/۹۲ میلی گرم بر گرم وزن تر) مشاهده شد (جدول ۳).

مقایسهٔ میانگین مربوط به سطوح شوری نشان داد که میزان کاروتنوئیدها به طور معنی‌داری تحت تأثیر سطوح مختلف تنش قرار گرفت. با افزایش سطح کلرید سدیم میزان کاروتنوئیدها تا ۱۰۰ میلی مولار کلرید سدیم نسبت به شاهد افزایش و سپس کاهش یافته، به‌طوری‌که بیشترین میزان کاروتنوئیدها در ۱۰۰ میلی مولار کلرید سدیم گزارش گردید (۰/۷۱ میلی گرم بر گرم وزن تر) که نسبت به شاهد ۱/۳۱ برابر افزایش یافته است (جدول ۳).

نتایج حاصله نشان داد که بیشترین میزان محتوی کلروفیل

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2024-04-25]

[DOR: 20.1001.1.23222727.1396.6.19.26.4]

جدول ٤- تجزیه واریانس اثر سطوح کلرید سدیم (۰، ۵۰، ۱۰۰، ۱۵۰ و ۲۰۰ میلی مولار کلرید سدیم)، مدت زمان اعمال تنش کلرید سدیم (۲، ۵ و ۱۲ روز) و اثر متقابل آنها بر شاخص‌های فتوسنتزی گیاه توتون.

منابع تغییر	درجه آزادی	میانگین مربعات					
		فتوسنتز خالص	هدایت روزنه‌ای	تعرق	غلظت CO_2	هدایت مزوفیلی	کارایی مصرف آب لحظه‌ای
مدت زمان اعمال تنش	۲	۰/۰٤^{ns}	۲۲۸/۱۲**	۲/۱۲**	۲٤۵/۰۲*	۱٤٤٦۰^{ns}	۹/٦۹**
تیمار کلرید سدیم	٤	۱۳/۳٤**	۲۷۲۱/۹۵**	۵/۱٤**	۳۸۳۹/٦۲**	۱/۲**	۵/۹۸**
اثر متقابل تنش و زمان	۸	۰/٤۱**	۹۸/۹۱**	۰/۲۱**	۲٤٤/۸۷**	۱۳۲۹۰*	۱/۸۱**
خطا	۳۰	۰/۰۷	۹/۷۸	۰/۰۲	٤۹/۹۱	٥٦۰/۱۱	۰/٤۲
ضریب تغییرات (درصد)		٦/۷	۹/۳	۷/۵	۲/٦	٤/۷	۸/٤

^{ns} غیر معنی‌دار، *: معنی‌دار در سطح احتمال ۰/۰۵ و **: معنی‌دار در سطح احتمال ۰/۰۱.

کل در سطح ۵۰ میلی مولار کلرید سدیم در ۱۲ روز بعد از اعمال تنش (۵/۱ میلی گرم بر گرم وزن تر) و کمترین میزان آن در تیمار ۲۰۰ میلی مولار کلرید سدیم در ۱۲ روز بعد از اعمال تنش (۲/٤۸ میلی گرم بر گرم وزن تر) مشاهده شد (جدول ۲). مقایسهٔ میانگین مربوط به سطوح شوری نشان داد که نسبت کلروفیل a به b به طور معنی‌داری تحت تأثیر سطوح مختلف تنش قرار گرفته است (جدول ۳).

شاخص‌های فتوسنتزی: نتایج حاصل از تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد که اگر چه سطوح کلرید سدیم، مدت زمان اعمال تنش و اثرات متقابل تنش و زمان اثر معنی‌داری روی میزان فتوسنتز خالص، هدایت روزنه‌ای، تعرق، غلظت دی اکسید کربن بین سلولی و کارایی مصرف آب لحظه‌ای داشت، اما در صفت فتوسنتز خالص و هدایت مزوفیلی اثر مدت زمان اعمال تنش معنی دار نبود (جدول ٤).

نتایج نشان داد که کمترین و بیشترین میزان فتوسنتز خالص به ترتیب مربوط به روز ۱۲ بعد از اعمال تنش در سطوح تیمار ۲۰۰ میلی مولار کلرید سدیم (۱/۱۳ میکرو مول بر متر مربع بر ثانیه) و شاهد (٤/٦٤ میکرو مول بر متر مربع بر ثانیه) می‌باشد (جدول ۵). با افزایش سطح کلرید سدیم کاهش معنی‌داری در میزان هدایت روزنه‌ای در سه دورهٔ زمانی اعمال تنش مشاهده شد. در سه دورهٔ زمانی اعمال تنش کلرید سدیم اختلاف معنی‌داری بین سطوح ۰ و ۵۰ میلی مولار کلرید سدیم در میزان هدایت روزنه‌ای مشاهده نشد، ولی در سطوح ۱۰۰ میلی مولار کلرید سدیم کاهش شدید در میزان هدایت روزنه‌ای مشاهده شد. میزان کاهش هدایت روزنه‌ای در سطح ۲۰۰ میلی مولار کلرید سدیم در دورهٔ سوم (۱۲ روز) بعد از اعمال تنش نسبت به شاهد حدود ۹۷٪ بود (جدول ۵). میزان هدایت روزنه‌ای با افزایش مدت زمان تنش کلرید سدیم کاهش یافت، به طوری‌که بیشترین و کمترین کاهش میزان هدایت روزنه‌ای به ترتیب در ۱۲ و ۲ روز بعد از شروع تنش مشاهده شد. مقایسه میانگین‌ها نشان داد که میزان هدایت روزنه‌ای در ۲۰۰ میلی مولار کلرید سدیم در مقایسه با شاهد در سه دوره زمانی ۲، ۵ و ۱۲ روز بعد از شروع تنش کلرید سدیم به ترتیب ۷۳٪، ۹۰٪ و ۹۷٪ کاهش یافت. در این تحقیق نه تنها بین سطوح مختلف کلرید سدیم بلکه همچنین بین زمان‌های متفاوت اعمال تنش اختلاف معنی‌داری مشاهده گردید (جدول ۵). تعرق بین سطوح ۰ و ۵۰ میلی مولار کلرید سدیم در سه دورهٔ زمانی مشاهده نشد، ولی در سطح ۱۰۰ میلی مولار کلرید سدیم کاهش شدید در میزان تعرق مشاهده شد. در سطوح افزایش سطح کلرید سدیم و میزان مدت تنش میزان تعرق کاهش یافته است، با این وجود اختلاف معنی‌داری در میزان سطوح مختلف کلرید سدیم و مدت زمان تنش تأثیر معنی‌داری روی میزان تعرق داشتند ($p<۰/۰۵$). به‌طوری‌که با ۱۵۰ و ۲۰۰ میلی مولار کلرید سدیم (۱۲ روز بعد اعمال تنش) کاهش در میزان تعرق به ترتیب

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2024-04-25]

[DOR: 20.1001.1.23222727.1396.6.19.26.4]

جدول ۵- اثر سطح کلرید سدیم، مدت زمان اعمال تنش کلرید سدیم و برهمکنش آنها بر شاخص‌های فتوسنتزی در گیاه توتون

کلرید سدیم (میلی مولار)	مدت زمان اعمال تنش کلرید سدیم			میانگین
	۲ روز	۵ روز	۱۲ روز	
	فتوسنتز خالص (میکرو مول بر متر مربع بر ثانیه)			
۰	۳/۶۸ ±۰/۲۴ b*	۳/۸۴ ±۰/۲۴ ab	۴/۶۴ ±۰/۱۱ a	۴/۰۵ ±۰/۱۹ A
۵۰	۳/۲۸ ±۰/۱۲ bc	۳/۶۳ ±۰/۱۵ b	۳/۹۱ ±۰/۲۵ ab	۳/۶۰ ±۰/۱۷ B
۱۰۰	۲/۳۱ ±۰/۱۶ de	۲/۵۸ ±۰/۱۲ cd	۲/۰۵ ±۰/۱۲ def	۲/۳۱ ±۰/۱۶ C
۱۵۰	۱/۸۰ ±۰/۰۶ efg	۱/۶۱ ±۰/۰۸ efg	۱/۲۰ ±۰/۱۴ g	۱/۵۳ ±۰/۰۹ D
۲۰۰	۱/۴۹ ±۱/۳۱ fg	۱/۳۹ ±۰/۱۳ fg	۱/۱۳ ±۰/۱۳ g	۱/۳۴ ±۰/۱۶ D
میانگین	۲/۵۱ ±۰/۲۳ A	۲/۶۱ ±۰/۲۷ A	۲/۵۷ ±۰/۳۹ A	
	هدایت روزنه‌ای (میکرو مول بر متر مربع بر ثانیه)			
۰	۴۶/۴۰ ±۱/۸۱ ab	۴۷/۲۳ ±۱/۵۳ ab	۵۱/۴۶ ±۲/۵۳ a	۴۸/۳۷ ±۱/۹۶ A
۵۰	۳۹/۱۰ ±۱/۸۴ bc	۳۹/۱۳ ±۲/۸۸ bc	۴۰/۷۳ ±۱/۹۴ b	۳۹/۵۶ ±۲/۳۲ B
۱۰۰	۳۰/۳۶ ±۱/۶۳ cd	۲۶/۲۳ ±۱/۰۱ de	۱۷/۳۰ ±۲/۰۳ ef	۲۴/۶۳ ±۱/۵۶ C
۱۵۰	۲۶/۴۱ ±۱/۹۵ de	۸/۶۵ ±۱/۵۶ fgh	۵/۳۰ ±۲/۱۰ gh	۱۳/۴۵ ±۱/۸۵ D
۲۰۰	۱۲/۵۶ ±۱/۲۴ fg	۵/۴۷ ±۰/۸۱ gh	۲/۶۰ ±۰/۸۳ h	۶/۸۸ ±۱/۰۲ E
میانگین	۳۰/۹۷ ±۳/۱۴ A	۲۵/۳۴ ±۴/۴۲ B	۲۳/۴۸ ±۵/۲۴ B	
	تعرق (میلی مول بر متر مربع بر ثانیه)			
۰	۲/۴۲ ±۰/۱۰ a	۲/۱۱ ±۰/۱۲ abc	۲/۲۱ ±۰/۰۴ ab	۲/۲۵ ±۰/۰۹ A
۵۰	۲/۴۲ ±۰/۰۵ a	۲/۰۶ ±۰/۱۱ abc	۲/۱۲ ±۰/۰۶ abc	۲/۲۰ ±۰/۰۷ A
۱۰۰	۲/۱۷ ±۰/۰۹ abc	۱/۷۳ ±۰/۰۳ cd	۱/۲۶ ±۰/۱۲ de	۱/۷۲ ±۰/۰۸ B
۱۵۰	۱/۸۵ ±۰/۰۴ bc	۰/۷۳ ±۰/۱۲ fg	۰/۳۸ ±۰/۰۸ gh	۰/۹۹ ±۰/۰۸ C
۲۰۰	۰/۹۳ ±۰/۱۴ ef	۰/۴۶ ±۰/۰۹ fgh	۰/۲۰ ±۰/۰۲ h	۰/۵۳ ±۰/۰۹ D
میانگین	۱/۹۶ ±۰/۱۵ A	۱/۴۲ ±۰/۱۸ B	۱/۲۳ ±۰/۲۲ C	
	غلظت دی اکسید کربن (میکرو مول بر مول)			
۰	۱۳۹/۱۳ ±۵/۹۴ b	۱۴۲/۴۷ ±۵/۱۹ ab	۱۶۰/۵۳ ±۵/۲۰ a	۱۴۷/۳۷ ±۵/۴۴ A
۵۰	۱۳۳/۰۷ ±۵/۲۳ bc	۱۲۲/۰۷ ±۵/۳۳ bcd	۱۲۸/۸۰ ±۴/۴۸ bcd	۱۲۷/۹۷ ±۵/۰۱ B
۱۰۰	۱۲۳/۱۰ ±۲/۵۴ bcd	۱۱۰/۴۳ ±۴/۲۴ def	۱۱۲/۰۷ ±۴/۳۳ cde	۱۱۵/۲۰ ±۳/۷۱ C
۱۵۰	۱۱۲/۷۰ ±۳/۶۹ cde	۱۰۶/۰۳ ±۲/۲۵ ef	۹۵/۹۳ ±۲/۲۸ fg	۱۰۴/۸۹ ±۲/۷۴ D
۲۰۰	۱۰۴/۹۳ ±۲/۴۸ ef	۹۵/۲۶ ±۲/۳۹ fg	۸۲/۵۴ ±۲/۳۳ g	۹۴/۲۵ ±۲/۴۲ E
میانگین	۱۲۲/۵۹ ±۳/۷۲ A	۱۱۵/۲۵ ±۴/۵۷ B	۱۱۵/۹۸ ±۳/۸۵ B	

*** برای هر صفت، میانگین‌هایی که حداقل دارای یک حروف مشترک می‌باشند بر اساس آزمون Tukey در سطح احتمال ۵٪ از نظر آماری فاقد تفاوت معنی‌دار هستند. داده‌ها میانگین سه تکرار ± SE است.**

حدود ۸۲٪ و ۹۰٪ گزارش گردید (جدول ۵). نتایج حاصل از تجزیه واریانس نشان داد که مدت زمان اعمال تنش تأثیر معنی‌داری در سطح ۵٪ بر روی میزان تعرق داشت و همچنین افزایش مدت زمان اعمال تنش کاهش میزان تعرق را به همراه

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2024-04-25]

[DOR: 20.1001.1.23222727.1396.6.19.26.4]

جدول ٦- اثر سطح کلرید سدیم، مدت زمان اعمال تنش کلرید سدیم و برهمکنش آنها بر هدایت مزوفیلی و کارایی مصرف آب لحظه‌ای در گیاه توتون

کلرید سدیم (میلی مولار)	مدت زمان اعمال تنش کلرید سدیم			میانگین
	۲ روز	۵ روز	۱۲ روز	
	هدایت مزوفیلی (میلی‌مول دی اکسید کربن بر متر مربع بر ثانیه)			
۰	۰/۰۲٦ ±۰/۰۰۲ ab*	۰/۰۲۷ ±۰/۰۰۱٤ a	۰/۰۲۹ ±۰/۰۰۰۸ a	۰/۰۲۷ ±۰/۰۰۰۸ A
۵۰	۰/۰۲٤ ±۰/۰۰۰۹ abc	۰/۰۳۰ ±۰/۰۰۲۳ a	۰/۰۳۰ ±۰/۰۰۱۰ a	۰/۰۲۸ ±۰/۰۰۱۱ A
۱۰۰	۰/۰۱۸ ±۰/۰۰۱۷ bcd	۰/۰۲۳ ±۰/۰۰۰٦ abc	۰/۰۱۸ ±۰/۰۰۱۳ cde	۰/۰۲۰ ±۰/۰۰۱ B
۱۵۰	۰/۰۱٦ ±۰/۰۰۱ de	۰/۰۱۵ ±۰/۰۰۱ e	۰/۰۱۲ ±۰/۰۰۱۸ e	۰/۰۱۷ ±۰/۰۰۲۵ C
۲۰۰	۰/۰۱٤ ±۰/۰۰۱۳ e	۰/۰۱٤ ±۰/۰۰۱۱ e	۰/۰۱۲ ±۰/۰۰۲ e	۰/۰۱٤ ±۰/۰۰۲۳ C
میانگین	۰/۰۲۰ ±۰/۰۰۱٤ A	۰/۰۲۲ ±۰/۰۰۱۷ A	۰/۰۲۱ ±۰/۰۰۲ A	
	کارایی مصرف آب لحظه‌ای (میکرومول دی اکسید کربن بر مول آب)			
۰	۱/۵۲ ±۰/۰۹ bcd	۱/۸۳ ±۰/۱۸ bcd	۲/۱۰ ±۰/۰۳ bcd	۱/۸۱ ±۰/۱۱ A
۵۰	۱/۳۵ ±۰/۰۷ cd	۱/۷۷ ±۰/۱٦ bcd	۱/۸۵ ±۰/۱٦ bcd	۱/٦٦ ±۰/۱۵ B
۱۰۰	۱/۰٦ ±۰/۰۳ d	۱/٤۹ ±۰/۰۹ cd	۱/٦٤ ±۰/۱۸ bcd	۱/٤۰ ±۰/۱۲ B
۱۵۰	۰/۹۷ ±۰/۰٦ d	۲/۳۷ ±۰/۵٤ bcd	۳/٤٤ ±۰/۸۰ b	۲/۲٦ ±۰/٤۸ B
۲۰۰	۱/٦٦ ±۰/۲٦ bcd	۳/۱۸ ±۰/۵۳ bc	۵/۵٦ ±۰/۷۹ a	۳/٤۷ ±۰/۵۷ B
میانگین	۱/۳۱ ±۰/۰۸ C	۲/۱۳ ±۰/۲۱ B	۲/۹۲ ±۰/٤۳ A	

*** برای هر صفت، میانگین‌هایی که حداقل دارای یک حروف مشترک می‌باشند بر اساس آزمون Tukey در سطح احتمال ۵٪ از نظر آماری فاقد تفاوت معنی‌دار هستند. داده‌ها میانگین سه تکرار ± SE است.**

دارد. مقایسه میانگین‌ها نشان داد که میزان تعرق در ۲۰۰ میلی مولار کلرید سدیم در مقایسه با شاهد در سه دوره زمانی ۲، ۵ و ۱۲ روزه به ترتیب ۵۰٪، ٦٤٪ و ۹٤٪ کاهش یافته است (جدول ۵).

نتایج نشان داد که غلظت دی اکسید کربن با افزایش سطح کلرید سدیم به طور معنی‌داری کاهش یافته است، به طوری‌که در سطوح ۱۵۰ و ۲۰۰ میلی مولار کلرید سدیم (۱۲ روز بعد اعمال تنش) در مقایسه با شاهد میزان کاهش به ترتیب ٤۰٪ و ٤۸٪ می‌باشد. نتایج حاصل از تجزیه واریانس نشان داد که مدت زمان اعمال تنش تأثیر معنی‌داری در سطح ۵٪ بر روی غلظت دی اکسید کربن داشته و افزایش مدت زمان اعمال تنش کاهش غلظت دی اکسید کربن را به همراه دارد. مقایسه میانگین‌ها نشان داد که غلظت دی اکسید کربن در ۲۰۰ میلی مولار کلرید سدیم در مقایسه با شاهد در سه دوره زمانی ۲، ۵ و ۱۲ روزه به ترتیب ۲٤٪، ۳۳٪ و ٤۸٪ کاهش یافته است (جدول ۵).

هدایت مزوفیلی با افزایش سطح کلرید سدیم و مدت زمان اعمال تنش در تمام تیمارها یک روند کاهشی معنی‌دار را نشان داد و کمترین میزان هدایت مزوفیلی (۰/۰۱۲ میلی‌مول دی اکسید کربن بر متر مربع بر ثانیه) در تیمار ۲۰۰ میلی مولار کلرید سدیم و مدت زمان ۱۲ روز بعد تنش مشاهده شد (جدول ٦). نتایج نشان داد که بیشترین میزان کارایی مصرف آب لحظه‌ای (۵/۵٦ میکرومول دی اکسید کربن بر مول آب) در تیمار ۲۰۰ میلی مولار کلرید سدیم و مدت زمان ۱۲ روز بعد تنش مشاهده گردید (جدول ٦).

بحث:

نتایج نشان داد که با افزایش سطح کلرید سدیم و مدت زمان اعمال تنش وزن خشک گیاه کاهش یافته است. تحت تنش

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2024-04-25]

[DOR: 20.1001.1.23222727.1396.6.19.26.4]

کلرید سدیم جذب و استفاده از عناصر معدنی به میزان زیادی کاهش یافته که این عامل یکی از مهمترین دلایل کاهش وزن خشک گیاه است. با توجه به اینکه وزن خشک شاخص مناسبی جهت ارزیابی عملکرد فتوسنتزی می‌باشد، کاهش این صفت نشان دهندهٔ کاهش میزان فتوسنتز در گیاهان تحت تنش کلرید سدیم می‌باشد (آقایی و همکاران، ۱۳۹۳).

نتایج مربوط به شاخص‌های کلروفیلی در این تحقیق نشان می دهد که با افزایش غلظت کلرید سدیم و مدت زمان اعمال تنش کلرید سدیم، میزان محتوی کلروفیل a، b و کلروفیل کل در گیاه توتون به طور معنی‌داری کاهش می‌یابد. به طوری‌که کمترین میزان آنها مربوط به سطح ۲۰۰ میلی مولار کلرید سدیم در ۱۲ روز بعد اعمال تنش می‌باشد. نتایج مربوط به کاروتنوئیدها نیز نشان می‌دهد که میزان کاروتنوئیدها در سطوح کلرید سدیم پایین (۵۰ و ۱۰۰ میلی مولار کلرید سدیم) افزایش و در سطوح بالاتر کاهش یافته است. به نظر می‌رسد که افزایش ابتدایی محتوی کاروتنوئیدها مرتبط با نقش حفاظتی این رنگیزه‌ها باشد و زمانی‌که گیاه تحت تنش کلرید سدیم قرار گیرد با افزایش میزان کاروتنوئیدهای خود سعی در حفاظت از دستگاه فتوسنتزی و افزایش تحمل نسبت به کلرید سدیم دارد. همچنین، نتایج نشان داد که با افزایش مدت زمان تنش کلرید سدیم از ۲ روز به ۱۲ روز بعد از اعمال تنش میزان کلروفیل a، کلروفیل b و کلروفیل کل کاهش یافته و میزان کاروتنوئیدها در سطوح کلرید سدیم پایین افزایش و در سطوح بالاتر کاهش یافته است.

بررسی محتوی کلروفیل به عنوان جزئی از دستگاه فتوسنتز یکی از راه‌های اساسی جهت ارزیابی اثرات تنش‌های محیطی است (Silva-Ortega *et al*., 2008). به عبارت دیگر فتوسنتز عامل اصلی تولید گونه‌های فعال اکسیژن (ROS) در کلروپلاست می‌باشد و ROS می‌تواند سبب مهار نوری و آسیب رساندن به کلروپلاست شود (Edreva, 2005; Qureshi *et al*., 2005). زرد شدگی بافت‌ها یک پاسخ معمولی به تنش کلرید سدیم می‌باشد و سبب مهار فتوسنتز می‌شود. بنابراین تجزیه رنگیزه‌های کلروفیلی یک شاخص مناسب جهت پاسخ گیاهان به تنش کلرید سدیم می‌باشد (Jampeetong and Brix, 2009). تنش کلرید سدیم باعث کاهش تعداد پلاستیدها، شکسته شدن کلروپلاست‌ها، عدم پایداری ترکیبات رنگیزه‌ای و در نهایت کاهش محتوی کلروفیل می‌شود (Singh and Dobey, 1995).

مطالعات قبلی نشان می‌دهد که تنش کلرید سدیم تأثیرات منفی روی محتوی کلروفیل داشته، به طوری‌که تنش کلرید سدیم سبب کاهش محتوی کلروفیل در پنبه (Meloni *et al*., 2003)، نخل (Youssef and Awad, 2008)، گیاه *Salvinia natans* (Jampeetong and Brix, 2009)، توتون (Celik and Atak, 2012) و تربچه (Munir *et al*., 2013) شده است. بنابراین نتایج بدست آمده از این تحقیق مشابه نتایج ذکر شده در بالا و به ویژه نتایج مربوط به Celik و Atak (۲۰۱۲) روی توتون می‌باشد که نشان دادند با افزایش غلظت کلرید سدیم محتوی کلروفیل a و b و میزان کلروفیل کل کاهش می‌یابد. آنها همچنین نشان دادند که محتوی کاروتنوئیدها تا سطح ۱۰۰ میلی مولار کلرید سدیم افزایش یافته ولی سپس کاهش یافته و کمترین میزان محتوی کاروتنوئیدها مربوط به سطح ۳۵۰ میلی مولار کلرید سدیم می‌باشد.

بررسی اثر متقابل تنش کلرید سدیم و مدت زمان اعمال تنش بر گیاه توتون نشان داد که افزایش سطح کلرید سدیم و مدت زمان تنش هر دو باعث افزایش معنی‌دار در میزان پرولین شده‌اند. آنالیز محتوی پرولین نشان داد که با افزایش سطح کلرید سدیم محتوی پرولین به عنوان یک اسمو پروتکتانت در برگ افزایش یافته است. انباشتگی پرولین یک پاسخ اولیه و عمومی در تنش‌های زیستی و غیر زیستی می‌باشد (Bohnert *et al*., 1995). مطالعات انجام شده روی میزان پرولین برگ گیاه توتون تحت سطوح مختلف کلرید سدیم به وسیله Razavizadeh و همکاران (۲۰۰۹) نشان داد که با افزایش سطح کلرید سدیم تا ۳۰۰ میلی مولار کلرید سدیم میزان پرولین برگ حدود ۳ برابر افزایش یافته است، ولی در سطح ۴۰۰ میلی مولار کلرید سدیم میزان پرولین برگ به طور معنی‌داری کاهش یافته است. همچنین مطالعات انجام گرفته توسط Celik و Atak (۲۰۱۲) روی دو واریته توتون نشان داد

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2024-04-25]

[DOR: 20.1001.1.23222727.1396.6.19.26.4]

که افزایش سطح کلرید سدیم تا ۳۵۰ میلی مولار کلرید سدیم سبب افزایش میزان انباشتگی پرولین در دانه رست‌های هر دو واریته شده است. مطالعات انجام گرفته توسط Razavizadeh و Ehsanpour (۲۰۰۹) نشان داد با افزایش مدت زمان اعمال تنش کلرید سدیم محتوی پرولین برگ افزایش یافته است. نتایج حاصل از این تحقیق نیز تایید کننده نتایج بالا می‌باشد، به طوری‌که با افزایش سطح کلرید سدیم و مدت زمان اعمال تنش میزان انباشتگی پرولین در برگ افزایش یافته و بالاترین میزان انباشتگی پرولین در سطح ۲۰۰ میلی مولار کلرید سدیم (روز دوازدهم بعد از اعمال تنش کلرید سدیم) می‌باشد. بنابراین با نقش‌هایی که پرولین در طی تنش کلرید سدیم ایفا می‌کند این قابل توجیه می‌باشد که افزایش سطح کلرید سدیم و مدت زمان اعمال تنش باعث افزایش میزان انباشتگی پرولین شود و همچنین میزان این انباشتگی با تحمل پذیری توتون ارتباط مستقیم دارد.

کاهش در میزان تثبیت دی اکسید کربن در گیاه توتون تحت تنش کلرید سدیم به میزان زیادی به بسته شدن روزنه‌ها وابسته بوده که سبب کاهش غلظت دی اکسید کربن بین سلولی شده و به هدر رفتن آب از طریق تعرق محدود می گردد. به نظر می‌رسد این عامل می‌تواند در جلوگیری از کاهش بیشتر پتانسیل آب برگ موثر باشد و بنابراین ظاهراً این یک عامل اساسی جهت جلوگیری از هدر رفتن آب تحت تنش در توتون می‌باشد.

تنش کلرید سدیم به طور معنی‌داری پارامترهای مختلف فتوسنتزی را تحت تأثیر قرار داد به طوری‌که با افزایش غلظت کلرید سدیم کاهش در پارامترهای فتوسنتزی مشاهده گردید. نتایج بررسی‌ها نشان داد که میزان فتوسنتز خالص و هدایت روزنه‌ای به طور مشابهی کاهش یافته است. بنابراین پیشنهاد می‌شود که کاهش فتوسنتز خالص عمدتا به دلیل کاهش هدایت روزنه‌ای بوده و بسته شدن روزنه ظرفیت فتوسنتزی برگ را در توتون تحت تنش کلرید سدیم محدود کرده است، در تایید نتایج حاصل نیز بررسی اثر تنش کلرید سدیم در گیاهان مختلف نشان داد که با افزایش سطح کلرید سدیم میزان هدایت روزنه‌ای و در نتیجه فتوسنتز خالص کاهش معنی‌دار نشان داده‌اند (پاپی موسوی و همکاران، ۱۳۹۳: علیایی و همکاران، ۱۳۹٤).

نتایج مربوط به پارامترهای فتوسنتزی نشان داد که با افزایش سطح کلرید سدیم و مدت زمان اعمال تنش میزان شاخص‌های فتوسنتزی در گیاه توتون به طور معنی‌داری کاهش یافته است. به طوری‌که کمترین میزان آنها در سطح ۲۰۰ میلی مولار کلرید سدیم در ۱۲ روز بعد اعمال تنش گزارش شده است. فتوسنتز خالص، هدایت روزنه‌ای، نسبت تعرق، غلظت دی اکسید کربن بین سلولی و هدایت مزوفیلی در سطح ۲۰۰ میلی مولار کلرید سدیم در ۱۲ روز بعد اعمال تنش نسبت به شاهد به ترتیب ۷٤٪، ۹۷٪، ۹۰٪، ٤۸٪ و ۵۹٪ کاهش را نشان دادند.

نتایج نشان داد که در شرایط تنش کلرید سدیم میزان فتوسنتز خالص کاهش یافته است. به طور کلی این اعتقاد وجود دارد فاکتورهایی که باعث کاهش فتوسنتز خالص می‌شوند شامل محدودیت‌های روزنه‌ای و غیر روزنه‌ای می‌باشند، اما اینکه عوامل روزنه‌ای، غیر روزنه‌ای یا ترکیبی از هر دو عامل سبب کاهش فتوسنتز خالص می‌شود هنوز به طور کامل شناخته نشده است. همان طور که در بالا ذکر شد بسیاری از محققین اعتقاد دارند که محدودیت‌های روزنه‌ای عامل کاهش فتوسنتز تحت تنش کلرید سدیم می‌باشند (Koyro, 2006; Lu *et al*., 2009) و در طرف مقابل عده‌ی دیگری از محققین بر این باورند که محدودیت‌های غیر روزنه‌ای سبب کاهش فتوسنتز می‌شوند (Dunn and Neales, 1993; Chartzoulakis *et al*., 1995; Das Neves *et al*., 2008). علاوه بر این دسته دیگری از محققین اعتقاد دارند در شرایطی که تنش کلرید سدیم ملایم می‌باشد یا به عبارتی در سطوح پایین کلرید سدیم عامل اصلی کاهش میزان فتوسنتز محدودیت‌های روزنه‌ای می‌باشد و در سطوح بالاتر کلرید سدیم زمانی‌که تنش شدید می‌باشد محدودیت‌های غیر روزنه‌ای عامل اصلی کاهش محسوب می‌شود (Everard *et al*., 1994; Netondo *et al*., 2004). به طور کلی تحت شرایط تنش کلرید سدیم میزان فتوسنتز خالص کاهش یافته و همراه با آن میزان هدایت روزنه‌ای و نسبت تعرق نیز

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2024-04-25]

[DOR: 20.1001.1.23222727.1396.6.19.26.4]

کاهش می‌یابد، اگر در این شرایط غلظت دی اکسید کربن بین سلولی نیز کاهش یافته و سلول‌های مزوفیل هنوز فعال باشند، نشان دهنده این امر است که محدودیت‌های روزنه‌ای عامل اصلی کاهش فتوسنتز بوده است. در مقابل اگر فعالیت سلول های مزوفیل کاهش یافته ولی غلظت دی اکسید کربن بین سلولی بدون تغییر یا حتی افزایش یابد و در عوض میزان فتوسنتز خالص، هدایت روزنه‌ای و نسبت تعرقی کاهش یابد، نشان دهنده این واقعیت است که محدودیت‌های غیر روزنه‌ای عامل کاهش فتوسنتز می‌باشد.

عوامل روزنه‌ای به علت بسته شدن روزنه‌ها که ناشی از کاهش هدایت روزنه‌ای (Gs)، نسبت تعرق (Tr)، غلظت دی اکسید کربن بین سلولی (Ci) و فتوسنتز خالص (Pn) می‌باشد (Koyro, 2006; Lu *et al*., 2009) و عوامل غیر روزنه‌ای شامل کاهش فعالیت PSII، انتقال الکترون و فسفوریلاسیون نوری می‌باشد (Dunn and Neales, 1993; Chartzoulakis *et al*., 1995; Das Neves *et al*., 2008).

بنابراین همان‌طور که نتایج نشان داده‌اند، کاهش فتوسنتز در توتون ناشی از بسته شدن روزنه‌ها می‌باشد، یا به عبارت دیگر محدودیت‌های روزنه‌ای عامل اصلی کاهش در میزان فتوسنتز در گیاه توتون می‌باشد. بنابراین، نتایج بدست آمده از این تحقیق در توافق با نتایج قبلی می‌باشد که روی گیاهان مختلفی از جمله پنبه (Brugnoli and Lauteri, 1991)، ذرت (Yang and Lu, 2005)، لوبیای چشم بلبلی (Wilson *et al*., 2006) و سویا (Lu *et al*., 2009) بدست آمده و نشان می‌دهد که عامل اصلی کاهش فتوسنتز محدودیت‌های روزنه‌ای می باشد. همچنین نتایج بدست آمده از این تحقیق در تناقض با نتایج بدست آمده در گیاهانی از جمله جو (Sharma and Hall, 1991; Dunn and Neales, 1993)، کیوی *Atriplex portulacoides* L. (Chartzoulakis *et al*., 1995)، و *Limoniastrum monopetalum* L. (Das Neves *et al*., 2008) می‌باشد که نشان می‌دهند که عامل اصلی کاهش فتوسنتز محدودیت‌های غیر روزنه‌ای است.

نتیجه‌گیری کلی:

کاهش در وزن خشک توتون تحت تنش کلرید سدیم احتمالاً به علت کاهش در جذب و استفاده از عناصر معدنی، کاهش در جذب نیتروژن کل، کاهش متابولیسم، کاهش فتوسنتز و یا ترکیبی از همهٔ این فاکتورها می‌باشد. کاهش فتوسنتز خالص ناشی از کاهش هدایت روزنه‌ای بوده و کاهش این دو شاخص با کاهش نسبت تعرق و غلظت دی اکسید کربن بین سلولی توام شده که بیانگر این واقعیت است که کاهش فتوسنتز در توتون ناشی از بسته شدن روزنه‌ها می‌باشد یا به عبارت دیگر محدودیت‌های روزنه‌ای عامل اصلی کاهش در میزان فتوسنتز در گیاه توتون می‌باشد.

منابع:

آقایی، ک.، طایی، ن.، کنعانی، م. و یزدانی، م. (۱۳۹۳) اثر تنش شوری بر برخی صفات فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی دو گونه مریم گلی (*Salvia*). فرآیند و کارکرد گیاهی ۹: ۹۶-۸۵.

علیایی، ف.، بانی نسب، ب. و قبادی، س. (۱۳۹٤) اثر تنش شوری بر برخی شاخص‌های تبادلات گازی برگ در چهار رقم زیتون. فرآیند و کارکرد گیاهی ۱۲: ۵۸-۵۱.

پاپی موسوی، ف.، ارزانی، ا. و سعیدی، ق. (۱۳۹۳) ارزیابی تنوع مؤلفه‌های فتوسنتزی در لاین‌های دابل هاپلویید کلزا و روابط آنها با عملکرد دانه در شرایط مزرعه. فرآیند و کارکرد گیاهی ۸: ۵۵-٤۷.

Arzani, A. (2008) Improving salinity tolerance in crop plants: a biotechnological view. In Vitro Cellular & Developmental Biology - Plant 44: 373-383.

Banu, N. A., Hoque, A., Watanabe-Sugimoto, M., Matsuoka, K., Nakamura, Y., Shimoishi, Y. and Murata, Y. (2009) Proline and glycine betaine induce antioxidant defense gene expression and suppress cell death in cultured tobacco cells under salt stress. Journal of Plant Physiology 30: 166: 146-156.

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2024-04-25]

[DOR: 20.1001.1.23222727.1396.6.19.26.4]

Bates, L. S., Waldern, R. P. and Tear, I. D. (1973) Rapid determination of free proline for water stress studies. Plant and Soil 39: 205-207.

Ben-Asher, J., Tsuyuki, I., Bravdo, B. A. and Sagih, M. (2006) Irrigation of grapevines with saline water. I. Leaf area index, stomatal conductance, transpiration and photosynthesis. Agricultural Water Management 83: 13-21.

Bohnert, H. J., Nelson, D. E. and Jensen, R. G. (1995) Adaptations to environmental stresses. Plant Cell 7: 1099-1111.

Brugnoli, E. and Lauteri, M. (1991) Effects of salinity on stomatal conductance, photosynthetic capacity, and carbon isotope discrimination of salt-tolerant (*Gossypium hirsutum* L.) and salt-sensitive (*Phaseolus vulgaris* L.) C3 non-halophytes. Plant Physiology 95: 628-635.

Celik, O. and Atak, C. (2012) The effect of salt stress on antioxidative enzymes and proline content of two Turkish tobacco varieties. Turkish Journal of Biology 36: 339-356.

Chartzoulakis, K. S., Therios, I. N., Misopolinos, N. D. and Noitsakis, B. I. (1995) Growth, ion content and photosynthetic performance of salt-stressed kiwifruit plants. Irrigation Science 16: 23-28.

Chaves, M. M., Flexas, J. and Pinheiro, C. (2009) Photosynthesis under drought and salt stress: regulation mechanisms from whole plant to cell. Annals of Botany 103: 551-560.

Das Neves, J. P. C., Ferreira, L. F. P., Vaz, M. M. and Gazarini, L.C. (2008) Gas exchange in the salt marsh species *Atriplex portulacoides* L. and *Limoniastrum monopetalum* L. in southern portugal. Acta Physiologiae Plantarum 30: 91-97.

Dunn, G. M. and Neales, T. F. (1993) Are the effects of salinity on growth and leaf gas exchange related? Photosynthetica 29: 33-42.

Everard, J. D., Gucci, R., Kann, S. C., Flore, J. A. and Loescher, W. H. (1994) Gas exchange and carbon partitioning in the leaves of celery (*Apium Graveolens* L.) at various levels of root zone salinity. Plant Physiology 106: 281-292.

Edreva, A. (2005) Generation and scavenging of reactive oxygen species in chloroplasts: a sub molecular approach. Agriculture, Ecosystems & Environment 106: 119-133.

Gunes, A., Inal, A., Guneri Bagci, E. and Pilbeam, D. J. (2007) Silicon-mediated changes of some physiological and enzymatic parameters symptomatic for oxidative stress in spinach and tomato grown in sodic-B toxic soil. Plant and Soil 290: 103-114.

Jampeetong, A. and Brix, H. (2009) Effects of NaCl salinity on growth, morphology, photosynthesis, and proline accumulation of *Salvinia natans*. Aquatic Botany 91: 181-186.

Koyro, H. W. (2006) Effect of salinity on growth, photosynthesis, water relations and solute composition of the potential cash crop halophyte *Plantago coronopus* (L.). Environmental and Experimental Botany 56: 136-146.

Kumar, K., Kumar, M., Kim, S-R., Ryu, H. and Cho, Y-G. (2013) Insinghts into genomics of salt stress responses in rice. Rice 6 (1):27.

Lichtenthaler, H. K. and Wellburn, A. R. (1985) Determination of total carotenoids and chlorophylls *a* and *b* of leaf in different Solvent. Biochemical Society Transaction 11: 591-592.

Lu, K. X., Cao, B. H., Feng, X. P., He, Y. and Jiang, D. A. (2009) Photosynthetic response of salt-tolerant and sensitive soybean varieties. Photosynthetica 47: 381-387.

Meloni, D. A., Oliva, M. A., Martinez, C. A. and Cambraia, J. (2003) Photosynthesis and activity of superoxide dismutase, peroxidase and glutathione reductase in cotton under salt stress. Environmental and Experimental Botany 49: 69-76.

Munir, S., Siddiqi, E. H., Bhatti, K. H., Nawaz, K., Hussain, K., Rashid, R. and Hussain, I. (2013) Assessment of inter-cultivar variations for salinity tolerance in winter radish (*Raphanus sativus* L.) using photosynthetic attributes as effective selection criteria. World Applied Sciences Journal 21: 384-388.

Munns, R., James, R. A. and La¨uchli, A. (2006) Approaches to increasing the salt tolerance of wheat and other cereals. Journal of Experimental Botany 57: 1025-1043.

Netondo, G. W., Onyango, J. C. and Beck, E. (2004) Sorghum and salinity: II. Gas exchange and chlorophyll fluorescence of sorghum under salt stress. Crop Science 44: 806-811.

Parida, A. K. and Das, A. B. (2005) Salt tolerance and salinity effect on plants: a review. Ecotoxicology and Environmental Safety 60: 324-349.

Qureshi, M. I., Israr, M., Abdin, M. Z. and Iqbal, M. (2005) Responses of *Artemisia annua* L. to lead and salt-induced oxidative stress. Environmental and Experimental Botany 53: 185-193.

Razavizadeh, R. and Ehsanpour A. A. (2009) Effects of salt stress on proline content, expression of delta-1-pyrroline-5-carboxylate synthetase, and activities of catalase and ascorbate peroxidase in transgenic tobacco plants. Biology Letters 46: 63-75.

Razavizadeh, R., Ehsanpour, A. A., Ahsan, N. and Komatsu, S. (2009) Proteome analysis of tobacco leaves under salt stress. Peptids 30: 1651-1659.

Sharma, P. K. and Hall, D. O. (1991) Interaction of salt stress and photoinhibition on photosynthesis in barley and sorghum. Journal of Plant Physiology 138: 614-619.

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2024-04-25]

[DOR: 20.1001.1.23222727.1396.6.19.26.4]

Silva-Ortega, C. O., Ochoa-Alfaro, A. E., Reyes-Agüero, A. R., Aguado-Santacruz, G. A. and Jiménez-Bremont J. F. (2008) Salt stress increases the expression of p5cs gene and induces proline accumulation in cactus pear. Plant Physiology and Biochemistry 46: 82-92.

Singh, A. K. and Dobey, R. S. (1995) Changes in Chlorophyll a and b content and activities of photosystem I and II in rice seedling induced by NaCl. Phytosynthetica 31: 489-499.

Stepien, P. and Johnson, G. N. (2009) Contrasting responses of photosynthesis to salt stress inthe glycophyte Arabidopsis and the halophyte Thellungiella: role of the plas-tid terminal oxidase as an alternative electron sink. Plant Physiology 149:1154-1165.

Szabados, L. and Savoure, A. (2009) Proline: a multifunctional amino acid. Trends in Plant Sciences15: 89-97.

Wilson, C., Liu, X., Lesch, S. M. and Suarez, D. L. (2006) Growth response of major USA cowpea cultivars II. effect of salinity on leaf gas exchange. Plant Science 170: 1095-1101.

Yang, X. H. and Lu, C. M. (2005) Photosynthesis is improved by exogenous glycinebetaine in salt-stressed maize plants. Physiologia Plantarum 124: 343-352.

Youssef, T. and Awad, M. A. (2008) Mechanisms of enhancing photosynthetic gas exchange in date palm seedlings (*Phoenix dactylifera* L.) under salinity stress by a 5-aminolevulinic acid-based fertilizer. Journal of Plant Growth Regulation 27: 1-9.

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2024-04-25]

[DOR: 20.1001.1.23222727.1396.6.19.26.4]

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2024-04-25]

[DOR: 20.1001.1.23222727.1396.6.19.26.4]