

اثرات آبیاری چشمه آب معدنی گراب بر عملکرد فتوسنتز، رشد و فیزیولوژی گندم (*Triticum aestivum*) رقم دهدشت

شکوفه حاجی‌هاشمی^{۱*}، ام البنین جهان تیغ^۲ و فریبا نوعدوست^۱
گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه صنعتی خاتم‌الانبیاء بهبهان، خوزستان
(تاریخ دریافت: ۱۳۹۸/۰۴/۲۴، تاریخ پذیرش نهایی: ۱۳۹۸/۰۷/۰۲)

چکیده

افزایش روز افزون نیاز به منابع آبی جدید منجر به استفاده از چشمه‌های آب معدنی به منظور کشت گیاهان زراعی شده است. در مطالعه حاضر، نتایج آنالیز آب چشمه معدنی گراب حاکی از وجود غلظت بالای عناصر سدیم، گوگرد، کلسیم، منیزیم، پتاسیم و سیلیس به ترتیب فراوانی بود. در نتیجه چشمه گراب جزء چشمه‌های آب معدنی می‌باشد. گیاه گندم (رقم دهدشت) در یک آزمایش گلدانی در قالب طرح کاملاً تصادفی با رقت‌های صفر، ۵۰٪ و ۱۰۰٪ از آب چشمه دو ماه آبیاری شد. آنالیز دوره‌ای فلورسانس (F_v/F_m و PI_{ABS}) و کلروفیل‌ها با فواصل سه روز نشان داد که آب چشمه سبب افزایش تدریجی و معنی‌دار آنها در مدت ۶۰ روز شد. همچنین آبیاری با آب چشمه سبب افزایش معنی‌دار فتوسنتز خالص و دی‌اکسید کربن درون سلولی گیاهان شد درحالی‌که بر کارایی مصرف آب تأثیر معنی‌داری نداشت. افزایش فتوسنتز در پاسخ به آب چشمه سبب افزایش معنی‌دار کربوهیدرات‌ها و در نتیجه شاخص‌های رشد گیاه گندم شد. همچنین آبیاری گیاهان با آب چشمه سبب افزایش معنی‌دار میزان فنل‌ها، فلاونوئیدها، آنتوسیانین‌ها، پرولین، پروتئین‌ها، آلفاتوکوفرول، آنتی‌اکسیدان کل و فعالیت آنزیم‌های سوپراکسیددیسموتاز، آسکوربات‌پراکسیداز و کاتالاز شد درحالی‌که تفاوت معنی‌داری در میزان هیدروژن‌پراکسید، پراکسیداسیون لیپیدهای غشا و نش‌یونی غشا مشاهده نشد. براساس نتایج مطالعه حاضر می‌توان پیشنهاد نمود که فراوانی عناصر ضروری و مفید گوگرد، پتاسیم، کلسیم، منیزیم و سیلیس در آب چشمه با تحریک بیوسنتز محلول‌های سازگار اسمزی و آنتی‌اکسیدان‌ها و بهبود عملکرد سیستم فتوسنتزی سبب افزایش رشد گیاه گندم شد.

کلمات کلیدی: املاح معدنی، آنتی‌اکسیدان‌ها، فلورسانس کلروفیل‌ها، مورفولوژی

مقدمه

محصولات کشاورزی سبب افزایش تقاضای آب می‌شود زیرا کشاورزی یکی از بزرگترین صنایع مصرف‌کننده آب است (Mancosu et al., 2015). مشکل کمبود آب، کشاورزان را به استفاده از منابع مختلف آبی در صنعت کشاورزی به‌ویژه در مناطق خشک و نیمه‌خشک ترغیب می‌کند (Rizk and Alsharhan, 2003). باتوجه به کمبود آب در سال‌های اخیر،

در طول دهه‌های گذشته، جمعیت جهان طی سال‌های ۱۹۱۵ تا ۲۰۱۹، از ۱/۸ میلیارد به ۷/۷ میلیارد نفر رسیده است. براساس برآورد سازمان ملل جمعیت جهانی تا سال ۲۰۵۰ به ۹/۲ میلیارد نفر می‌رسد که همراه با افزایش تقاضای مواد غذایی همراه است (Bongaarts, 2009). افزایش نیاز برای تولید

جوبیارهای این چشمه از روستای گراب و روستاهای پایین دست آن گذشته و نخلستان‌ها را سیراب می‌کند. این چشمه در نتیجه نفوذ آب‌های ناشی از بارندگی به‌درون گسل ارجان در مجاورت این گسل به‌وجود آمده است و حاوی مواد گوگردی فراوان است. آب‌های گوگردی حاوی هیدروژن سولفید، هیدروژن آزاد و یون‌های سولفید است که برای تحمل دردهای رماتیسمی و عفونت‌های پوستی توصیه می‌گردد. بنابراین چشمه گراب علاوه بر اینکه جزء چشمه‌های آب درمانی است، جوبیارهای منشاء گرفته از آن دارای مصارف کشاورزی نیز هستند (Citypedia, 2019).

تغذیه معدنی نقش مهمی در رشد، عملکردهای فیزیولوژی و بیوشیمیایی و محصول‌دهی گیاهان دارد (Ibrahim *et al.*, 2013). فتوسنتز یکی از فرآیندهای اصلی فیزیولوژیک گیاه بوده که به شرایط محیطی رشد گیاه حساس است. تغییر شرایط محیطی و تغذیه‌ای گیاه از طریق تأثیر بر میزان فتوسنتز خاص (P_N)، دی‌اکسید کربن درون سلولی (C_i)، بهره‌وری مصرف آب (WUE) و رنگیزه‌های فتوسنتزی بر سایر فرآورده‌های متابولیسمی مانند کربوهیدرات‌ها، پروتئین‌ها، اسیدهای آمینه و غیره تأثیر گذاشته که می‌تواند با تغییرات رشد گیاه بروز یابد (Gamage *et al.*, 2018; Hajihashemi *et al.*, 2018). یکی از مهم‌ترین و سریع‌ترین تکنیک‌ها برای ارزیابی عملکرد سیستم فتوسنتزی گیاه سنجش فلورسانس کلروفیل‌ها است (Sharma *et al.*, 2015). بررسی عملکرد فتوسیستم II (PSII) به‌عنوان نسبت فلورسانس متغیر به فلورسانس حداکثر (F_v/F_m) تعریف می‌شود (Sharma *et al.*, 2014). شاخص PI_{ABS} ابزار دیگری است که نشان‌دهنده کارایی PSI و PSII در شرایط محیطی مختلف است (Zivcak *et al.*, 2008). یکی از مزیت‌های اصلی سنجش فلورسانس کلروفیل‌ها و شاخص‌های فتوسنتزی اندازه‌گیری آنها در گیاهان سالم و دست‌نخورده است که امکان مطالعه متوالی آنها را در طول آزمایش فراهم می‌نماید (Hajihashemi *et al.*, 2018; Stirbet *et al.*, 2018). گیاهان دارای انواع آنتی‌اکسیدان‌های آنزیمی و غیرآنزیمی هستند که افزایش آنها در پاسخ به شرایط محیطی سبب حذف

آب چشمه‌ها می‌تواند یک منبع ارزشمند جهت تأمین نیازهای آبی در کشاورزی باشند (Rizk and Alsharhan, 2003). استفاده از چشمه‌های آب معدنی در آبیاری گیاهان نه تنها می‌تواند منابع آب شیرین را ذخیره کند، بلکه می‌تواند برخی از عناصر معدنی مورد نیاز گیاهان را فراهم کند (بوسلیک و همکاران، ۱۳۹۱). باوجود اینکه چشمه‌های آب معدنی می‌تواند مواد مغذی ضروری مانند N, P, K, Fe, Mg, Zn, Cu, Mo, Ca, S و Si را تأمین کنند ولی ممکن است به‌دلیل عدم تعادل مواد مغذی و شوری بالا مشکلات متعددی را برای فرایندهای فیزیولوژیکی گیاهی ایجاد کنند (بوسلیک و همکاران، ۱۳۹۱). به‌عنوان مثال سدیم یکی از فراوان‌ترین عناصر در چشمه‌های آب معدنی است (بوسلیک و همکاران، ۱۳۹۱) که سبب کاهش جذب عناصر مغذی گیاه همانند کلسیم، پتاسیم و منیزیم شده و تعادل تغذیه‌ای گیاه را به‌هم می‌زند (Munns, 2002). بوسلیک و همکاران (۱۳۹۱) مطالعه وسیعی بر روی اثرات آبیاری چشمه گوگردی دالکی بر عملکرد ۱۵ گیاه زراعی مختلف انجام دادند و کشت گیاهان خرما، جو، پنبه، چغندر قند و گندم را جهت آبیاری با آب چشمه معدنی دالکی پیشنهاد دادند. گندم (*Triticum aestivum* L.) یکی از مهم‌ترین گیاهان زراعی است که بیش از ۲۱۶ میلیون هکتار از زمین‌های کشاورزی در سراسر جهان به کشت این گیاه اختصاص داده می‌شود و تولید کل آن حدود ۶۵۱ میلیون تن می‌باشد. در حال حاضر حدود ۷۰ درصد از این محصول برای غذا استفاده می‌شود، ۱۹ درصد برای خوراک دام و ۱۱ درصد باقیمانده برای اهداف صنعتی مورد استفاده قرار می‌گیرد (FAO, 2014). لذا در مطالعه حاضر به‌بررسی عملکرد گندم در پاسخ به آبیاری با چشمه آب معدنی گراب پرداخته شد. افزایش نیاز به منابع آبی به‌ویژه در مناطق خشک و نیمه‌خشک سبب ترغیب کشاورزان به‌استفاده از منابع آبی نامتعارف مانند چشمه‌ها، سیلاب‌ها و آب‌های زیرزمینی شده است (Rizk and Alsharhan, 2003). یکی از این منابع آبی نامتعارف چشمه آب معدنی گراب می‌باشد که در روستای گراب و در ۱۶ کیلومتری شهرستان بهبهان واقع گردیده است.

بذرها از الکل به محلول ۲۰٪ حجمی/حجمی وایتکس (هیپوکلریت سدیم) منتقل و به مدت ۱۵ دقیقه در این محلول قرار گرفتند و بعد از آن سه بار با آب مقطر شستشو داده شدند. پس از ضدعفونی کردن بذرها، ۳۰ عدد پتری دیش سترون واجد کاغذ صافی هر کدام حاوی ۱۰ عدد بذر تهیه شد. به پتری دیش‌ها ۵ میلی‌لیتر آب مقطر اضافه شد و توسط پارافیلیم پوشیده شدند. سپس ظروف پتری دیش‌ها در ژرمیناتور با دوره نوری ۱۶ ساعت روشنایی و ۸ ساعت تاریکی با شدت نور ۴۰۰۰ لوکس به مدت یک هفته قرار داده شدند. سپس ۱۰ عدد از گیاهچه‌های ۷ روزه تقریباً یکسان به گلدان‌های ۲ لیتری حاوی حجم ۲ به ۱ از خاک و پرلیت انتقال داده شد. پس از آن گلدان‌ها به سه گروه کنترل (آبیاری با آب مقطر)، ۵۰٪ (آبیاری با آب چشمه گوگردی با نسبت ۱:۱ از آب چشمه: آب مقطر) و ۱۰۰٪ (آبیاری با آب چشمه گوگردی خالص) دسته‌بندی شدند که هر کدام شامل ۵ گلدان بود. پس از آبیاری گلدان‌ها با محلول‌های مذکور گلدان‌ها به اتاقک رشد با شرایط کنترل شده با دوره روشنایی ۱۶ ساعت و ۸ ساعت تاریکی و تناوب دمایی ۱۵±۲۵ و ۱۸±۱ درجه سانتیگراد منتقل شدند. پس از یک هفته گلدان‌ها به چهار گیاه دارای ظاهر تقریباً یکسان تنک شدند. آبیاری گلدان‌ها هر چهار روز یکبار و به مدت ۶۰ روز انجام شد.

یکی از نکات برجسته این مطالعه، اندازه‌گیری متوالی میزان کلروفیل‌ها و فلورسانس کلروفیل‌ها هر سه روز یکبار و اندازه‌گیری شاخص‌های فتوستتزر خالص، غلظت CO₂ درون سلولی و کارایی مصرف آب با فواصل ۱۲ روز در گیاهان سالم است که امکان بررسی تغییرات تدریجی در مدت تیمار را فراهم نمود. برای تعیین محتوای کلروفیل کل از دستگاه کلروفیل‌متر قابل حمل (CCM-200 plus) ساخت شرکت Opti-sciences (Tyngsboro, Massachusetts, USA) استفاده شد. اندازه‌گیری شاخص‌های F_v/F_m و PI_{ABS} با دستگاه کلروفیل فلوریمتر (Poket PEA) ساخت شرکت Hansatech انگلستان به دست آمد. سنجش میزان فتوستتزر خالص، کارایی مصرف آب و CO₂ درون سلولی با دستگاه فتوستتزر متر مدل

رادیکال‌های آزاد اکسیژن و افزایش عملکرد گیاه می‌شود (Anjum et al., 2015). شرایط تغذیه‌ای مناسب سبب بهبود سیستم آنتی‌اکسیدانی گیاه و ارتقاء سلامت و عملکرد فتوشیمیایی گیاه می‌شود (Ibrahim et al., 2013).

پژوهش حاضر به منظور مطالعه تأثیر چشمه آب معدنی گراب بر عملکرد گیاه گندم به عنوان یک منبع آبیاری انجام شده است. از اهداف پژوهش حاضر اندازه‌گیری عناصر معدنی آب چشمه گراب و بررسی اثرات آبیاری رقت‌های مختلف آب چشمه بر عملکرد گیاه گندم است. بدین منظور پاسخ‌های فیزیولوژیکی و مورفولوژیکی گیاه از قبیل فلورسانس کلروفیل‌ها، فتوستتزر، کربوهیدرات‌ها، پروتئین‌ها، پرولین، کلروفیل‌ها، فنل‌ها، فلاونوئیدها، آنتوسیانین‌ها، پراکسیداسیون لیپیدهای غشا، نشت یونی غشا، هیدروژن پراکسید، ظرفیت آنتی‌اکسیدان کل و آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان شامل سوپراکسید دیسموتاز، کاتالاز و آسکوربات پراکسیداز مورد ارزیابی قرار گرفتند.

مواد و روش‌ها

چشمه آب معدنی گراب در ۱۶ کیلومتری شهرستان بهبهان خوزستان قرار دارد. عناصر آب به دست آمده از چشمه آب معدنی گراب با طیف سنجی انتشار نانو پلاسمایی با همبستگی (ICP-OES, Varian, 735, Australia) مورد تحلیل قرار گرفت. نتایج حاصل از آنالیز ICP-OES در جدول ۱ نمایش داده شده است. نتایج به دست آمده از آب چشمه گراب نشان داد که عناصر سدیم، گوگرد، کلسیم، سیلیس، پتاسیم و منیزیم بیشترین مقدار را داشتند و غلظت سایر عنصر کمتر از ۰/۰۵ mg/l بود. از آنجایی که چشمه آب معدنی حاوی سطوح بالای املاح است، آب چشمه به منظور آبیاری گیاهان در سطوح مختلف صفر، ۵۰٪ و ۱۰۰٪ با آب مقطر رقیق شد. گندم رقم دهدشت از منابع طبیعی بهبهان خوزستان تهیه گردید. ابتدا بذرها را چند بار با آب معمولی شسته تا مواد زاید آن جدا شود. سپس بذرها به محلول الکل ۷۰٪ حجمی/حجمی منتقل شد و حدود ۳۰ ثانیه در آن محلول باقی ماندند. پس از آن

جدول ۱- میزان عناصر حاصل از آنالیز آب چشمه گراب به روش ICP-OES

عنصر	Na	S	Ca	Mg	K	Si
واحد (mg/l)	۱۲۲۱	۲۶۸	۲۲۳	۶۳/۸۸	۱۷/۶۱	۷/۸۹

میلی‌لیتر معرف فولین ۰.۵٪ افزوده شد. نمونه‌ها به مدت یک ساعت در تاریکی نگهداری شدند و سپس جذب نمونه‌ها در طول موج ۷۲۵ نانومتر خوانده شد. میزان فنل براساس منحنی استاندارد حاصل از گالیک‌اسید محاسبه گردید.

سنجش آنتوسانین: به منظور سنجش مقدار آنتوسانین‌ها، ۱۰۰ میلی‌گرم بافت تر برگ با ۱۰ میلی‌لیتر متانول اسیدی (متانول ۹۹/۵ درصد و HCl یک درصد به نسبت ۹۹ به ۱) به خوبی ساییده شد. عصاره حاصل به مدت ۲۴ ساعت در تاریکی و در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد قرار داده شد. سپس نمونه با سرعت ۶۰۰۰ دور در دقیقه به مدت ۱۰ دقیقه سانتریفیوژ شد. به عصاره حاصل ۱۰۰ میکرولیتر کلروفرم جهت حذف کلروفیل اضافه شد. ۳ میلی‌لیتر از محلول زیری را درون کووت ریخته و جذب آن در طول موج ۵۵۰ نانومتر با اسپکتروفتومتر خوانده شد و با استفاده از ضریب خاموشی $33000 \text{ mM}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ (Wagner, 1979) محاسبه شد.

سنجش فلاونوئیدها: به منظور سنجش مقدار فلاونوئیدها، ۱ گرم از بافت برگ تازه در ۱۰ میلی‌لیتر متانول ساییده شد و محلول به دست آمده با سرعت ۶۰۰۰ دور در دقیقه به مدت ۱۰ دقیقه سانتریفیوژ شد. سپس نیم میلی‌لیتر عصاره متانولی با ۱/۵ میلی‌لیتر متانول، ۰/۱ میلی‌لیتر آلومینیوم کلرید (۱۰٪ متانولی)، ۰/۱ میلی‌لیتر استات پتاسیم (۱ M) و ۲/۸ میلی‌لیتر آب مقطر ترکیب شد. نمونه در دمای اتاق به مدت ۳۰ دقیقه قرار داده شد و سپس جذب آن در ۴۱۵ نانومتر با دستگاه اسپکتروفتومتر اندازه‌گیری شد. منحنی استاندارد با محلول‌های کوئرستین متانولی تهیه شد (Chang et al., 2002).

سنجش پروتئین‌ها: استخراج پروتئین کل با استفاده از بافر فسفات پتاسیم ۰/۱ مولار (pH 6.8) انجام شد. عمل عصاره‌گیری در بافت تر برگ و با نسبت ۱:۳ (۱ گرم بافت برگ به ۳ حجم بافر استخراج) درون حمام یخ انجام گرفت. سپس نمونه‌ها با سرعت ۱۳۰۰۰ دور در دقیقه به مدت ۲۰ دقیقه

KR8700 ساخت شرکت Korea Tech کشور کره انجام شد. شاخص‌های مذکور در جوان‌ترین برگ‌های کاملاً توسعه یافته در ده گیاه از ۵ گلدان متفاوت به‌ازای هر تیمار اندازه‌گیری شدند (Hajihashemi et al., 2018).

اندازه‌گیری شاخص‌های رشد: پس از اتمام دوره تیمار به مدت ۶۰ روز، سطح و طول برگ در جوان‌ترین برگ‌های کاملاً توسعه یافته توسط دستگاه سطح سنج برگ (KR9700system, Korea Tech Inc., Korea) در ده گیاه از ۵ گلدان متفاوت به‌ازای هر تیمار اندازه‌گیری شد. سپس گیاهان به منظور سنجش پارامترهای مورفولوژیک و فیزیولوژیک برداشت شدند. برای اندازه‌گیری وزن تر ده برگ مذکور، هر کدام به‌طور جداگانه بلافاصله پس از برداشت توسط ترازویی با دقت ۰/۰۰۰۱ میلی‌گرم توزین شدند. نمونه‌ها به مدت ۴۸ ساعت در آون با دمای ۷۰ درجه سانتی‌گراد خشک شدند و مجدداً توسط ترازو وزن خشک اندازه‌گیری شد.

سنجش هیدروژن پراکسید: نیم گرم بافت تر در ۵ میلی‌لیتر تری‌کلرواستیک اسید ۰/۱ درصد در حمام یخ ساییده و با سانتریفیوژ یخچال‌دار با سرعت ۱۰۰۰۰ دور در دقیقه به مدت ۱۰ دقیقه سانتریفیوژ شد. ۱ میلی‌لیتر محلول روشن‌آور با ۱ میلی‌لیتر بافر فسفات پتاسیم ۱۰ میلی‌مولار (pH ۷) و ۲ میلی‌لیتر پتاسیم یدید ۱ مولار مخلوط گردید. در نهایت جذب نمونه در طول موج ۳۹۰ نانومتر خوانده شد. مقدار هیدروژن پراکسید در هر نمونه با استفاده از ضریب خاموشی $280 \text{ mM}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ (Velikova et al., 2000) محاسبه شد.

سنجش فنل: میزان فنل با معرف فولین اندازه‌گیری شد (Singleton and Rossi, 1965). ۱۰۰ میلی‌گرم از نمونه توسط اتانول ۹۵ درصد ساییده شده و به مدت ۲۴ ساعت در تاریکی نگهداری گردید. سپس نمونه با سرعت ۱۰۰۰۰ دور در دقیقه به مدت ۱۰ دقیقه سانتریفیوژ شده و سپس به ۱ میلی‌لیتر از عصاره، ۱/۵ میلی‌لیتر اتانول ۹۵٪، ۵ میلی‌لیتر آب مقطر و ۰/۵

در دمای ۴ درجه سانتیگراد سانتیفریوژ شدند. مقدار پروتئین روشن‌آور با استفاده از روش برادفورد اندازه‌گیری شد (Bradford, 1976). برای رسم منحنی استاندارد پروتئین‌ها از سرم آلبومین گاوی استفاده شد.

ظرفیت آنتی‌اکسیدان کل: اندازه‌گیری ظرفیت آنتی‌اکسیدان کل به روش FRAP انجام شد (Benzie and Strain, 1996). محلول واکنش شامل ۵۰ میکرولیتر عصاره آنزیمی و ۱/۵ میلی‌لیتر محلول FRAP که حاوی بافر استات ۳۰۰ میلی‌مولار (pH ۷)، تری‌پری‌دیل‌تریازن ۱۰ میلی‌مولار و آهن کلرید ۲۰ میلی‌مولار است. شدت جذب این محلول در طول موج ۵۹۳ نانومتر خوانده شد. برای رسم منحنی استاندارد از آسکوربیک اسید خالص استفاده شد.

اندازه‌گیری فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز: مخلوط واکنش نمونه شامل بافر فسفات ۵۰ میلی‌مولار pH = ۷، ۰/۰۷۵ میکرومولار نیتروبلوترازولیوم (NBT)، ۰/۱ میلی‌مولار EDTA، ۷۵ میکرومولار ریوفلاوین، ۱۳ میلی‌مولار متیونین و ۵۰ میکرولیتر عصاره پروتئین است. برای سنجش فعالیت آنزیم علاوه بر شاهد، برای صفرکردن دستگاه اسپکتروفتومتر نیاز به نمونه کنترل است. نمونه‌ها به مدت ۲۰ دقیقه در زیر لامپ فلورسانت ۴۰ در دمای ۲۵ درجه سانتیگراد قرار گرفتند. یک لوله شاهد تهیه شد که شامل مواد ذکر شده در فوق و بدون عصاره آنزیمی بود و در روشی نیز قرار نگرفت. در لوله کنترل نیز مخلوط واکنش ذکر شده وجود داشت با این تفاوت که به آن عصاره آنزیمی اضافه نشد. بنابراین به دلیل عدم حضور آنزیم در کنترل، احیا NBT در حضور نور به طور ۱۰۰٪ در کنترل انجام و تمام NBT در مخلوط واکنش در حضور نور به فورمازون تبدیل می‌شود. میزان جذب در کنترل در ۵۶۰ نانومتر نشان‌دهنده ۱۰۰٪ احیای نوری NBT و نیمی از آن معادل یک واحد آنزیمی است. بنابراین یک واحد آنزیمی SOD مقدار آنزیمی است که موجب ۵۰٪ ممانعت از احیای نوری می‌گردد. اختلاف جذب نمونه‌ها و کنترل در ۵۶۰ نانومتر نشان‌دهنده مهار احیای نوری NBT در حضور SOD موجود در نمونه می‌باشد (Beauchamp and Fridovich, 1973).

اندازه‌گیری فعالیت آنزیم آسکوربیک اسید پراکسیداز: واکنش آنزیم APX از ۶۲۵ میکرولیتر بافر فسفات حاوی ۰/۲ میلی‌مولار EDTA، ۱۷۵ میکرولیتر آسکوربیک اسید و ۵۰ میکرولیتر هیدروژن پراکسید ۱ میلی‌مولار تشکیل شده بود. جهت اندازه‌گیری فعالیت آنزیم APX، مقدار ۹۰۰ میکرولیتر از محلول واکنش و ۱۰۰ میکرولیتر از عصاره پروتئین مخلوط شدند و منحنی کاهش جذب در طول موج ۲۹۰ نانومتر در مدت ۶۰ ثانیه رسم شد (Asada, 1992). محاسبه فعالیت APX در هر نمونه با ضریب خاموشی $2/8 \text{ mM}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ محاسبه شد.

سنجش پرولین: نیم گرم از بافت برگ با ۱۰ میلی‌لیتر سولفوسالیسیلیک اسید ۳٪ (وزن/حجم) به خوبی ساییده شد. نمونه حاصل با سرعت ۱۰۰۰۰ دور در دقیقه به مدت ۱۰ دقیقه سانتیفریوژ شد. سپس ۲ میلی‌لیتر عصاره گیاه با ۲ میلی‌لیتر استیک اسید گلاسیال و ۲ میلی‌لیتر معرف نین‌هیدرین مخلوط شد. نمونه‌ها به مدت یک ساعت در دمای ۱۰۰ درجه سانتیگراد داخل بن‌ماری حرارت داده شدند. سپس جهت توقف واکنش نمونه‌ها سریعاً به ظرف محتوی آب و یخ منتقل شدند. پس از سرد شدن نمونه‌ها، چهار میلی‌لیتر تولوئن به آنها اضافه شد و به مدت ۳۰ ثانیه به شدت مخلوط گردید. این عمل موجب دو فاز شدن محتویات لوله شد (فاز تولوئن رنگی حاوی پرولین در بالا و فاز آبی شفاف در پایین). در نهایت جذب بخش رویی در طول موج ۵۲۰ نانومتر خوانده شد. برای رسم منحنی استاندارد از پرولین خالص استفاده شد (Bates et al., 1973).

سنجش کربوهیدرات‌های محلول: در ابتدا به منظور

در دمای ۴ درجه سانتیگراد سانتیفریوژ شدند. مقدار پروتئین روشن‌آور با استفاده از روش برادفورد اندازه‌گیری شد (Bradford, 1976). برای رسم منحنی استاندارد پروتئین‌ها از سرم آلبومین گاوی استفاده شد.

ظرفیت آنتی‌اکسیدان کل: اندازه‌گیری ظرفیت آنتی‌اکسیدان کل به روش FRAP انجام شد (Benzie and Strain, 1996). محلول واکنش شامل ۵۰ میکرولیتر عصاره آنزیمی و ۱/۵ میلی‌لیتر محلول FRAP که حاوی بافر استات ۳۰۰ میلی‌مولار (pH ۷)، تری‌پری‌دیل‌تریازن ۱۰ میلی‌مولار و آهن کلرید ۲۰ میلی‌مولار است. شدت جذب این محلول در طول موج ۵۹۳ نانومتر خوانده شد. برای رسم منحنی استاندارد از آسکوربیک اسید خالص استفاده شد.

اندازه‌گیری فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز: مخلوط واکنش نمونه شامل بافر فسفات ۵۰ میلی‌مولار pH = ۷، ۰/۰۷۵ میکرومولار نیتروبلوترازولیوم (NBT)، ۰/۱ میلی‌مولار EDTA، ۷۵ میکرومولار ریوفلاوین، ۱۳ میلی‌مولار متیونین و ۵۰ میکرولیتر عصاره پروتئین است. برای سنجش فعالیت آنزیم علاوه بر شاهد، برای صفرکردن دستگاه اسپکتروفتومتر نیاز به نمونه کنترل است. نمونه‌ها به مدت ۲۰ دقیقه در زیر لامپ فلورسانت ۴۰ در دمای ۲۵ درجه سانتیگراد قرار گرفتند. یک لوله شاهد تهیه شد که شامل مواد ذکر شده در فوق و بدون عصاره آنزیمی بود و در روشی نیز قرار نگرفت. در لوله کنترل نیز مخلوط واکنش ذکر شده وجود داشت با این تفاوت که به آن عصاره آنزیمی اضافه نشد. بنابراین به دلیل عدم حضور آنزیم در کنترل، احیا NBT در حضور نور به طور ۱۰۰٪ در کنترل انجام و تمام NBT در مخلوط واکنش در حضور نور به فورمازون تبدیل می‌شود. میزان جذب در کنترل در ۵۶۰ نانومتر نشان‌دهنده ۱۰۰٪ احیای نوری NBT و نیمی از آن معادل یک واحد آنزیمی است. بنابراین یک واحد آنزیمی SOD مقدار آنزیمی است که موجب ۵۰٪ ممانعت از احیای نوری می‌گردد. اختلاف جذب نمونه‌ها و کنترل در ۵۶۰ نانومتر نشان‌دهنده مهار احیای نوری NBT در حضور SOD موجود در نمونه می‌باشد (Beauchamp and Fridovich, 1973).

سانتریفیوژ شد. سپس شدت جذب این محلول در طول موج ۵۳۲ نانومتر خوانده شد. جذب بقیه رنگیزه‌های غیراختصاصی در ۶۰۰ نانومتر تعیین و از این مقدار کسر شد. برای محاسبه غلظت مالون دآلدئید از ضریب خاموشی معادل $155 \text{ mM}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ استفاده شد.

درصد نشت یونی غشا: برای هر تیمار ۱۰ عدد دیسک با ابعاد ۱ سانتی‌متر تهیه شد و هر نمونه به‌طور جداگانه به مدت ۲۴ ساعت درون ۵ میلی‌لیتر آب مقطر دوبار تقطیر در لوله آزمایش در پیچ‌دار در دمای ۲۵ درجه سانتیگراد قرار گرفت. سپس میزان هدایت الکتریکی آب (EC_1) با EC متر اندازه‌گیری شد. سپس نمونه‌ها به مدت ۲۰ دقیقه در دمای ۱۲۱ درجه سانتیگراد اتوکلاو شد و پس از رسیدن دمای نمونه‌ها به ۲۵ درجه سانتیگراد میزان هدایت الکتریکی آب (EC_2) با استفاده از EC متر اندازه‌گیری و با فرمول زیر میزان نشت یونی نمونه‌ها اندازه‌گیری گردید (Hamed *et al.*, 2007).

$\text{میزان نشت یونی} = EC_1/EC_2 * 100\%$

آنالیز آماری داده‌ها: تمام آزمایشات بر پایه طرح بلوک‌های کاملاً تصادفی انجام شد. برای هر تیمار پنج گلدان و هر گلدان حاوی چهار گیاه در نظر گرفته شد. شاخص‌های F_v/F_m و PI_{ABS} ، فتوسنتز خالص، دی‌اکسید کربن درون سلولی، کارایی مصرف آب، طول برگ، سطح برگ، وزن تر برگ و وزن خشک برگ در ده تکرار از گیاهان متفاوت اندازه‌گیری شدند. بدین منظور ده گیاه متفاوت از پنج گلدان به‌طور تصادفی انتخاب و شاخص‌های مذکور اندازه‌گیری شدند. اندازه‌گیری شاخص‌های فیزیولوژیکی پس از برداشت گیاهان و در چهار تکرار انجام شد. پردازش داده‌ها به‌وسیله نرم افزار آماری SPSS version 23 و رسم نمودارها با نرم افزار Excel انجام شد. مقایسه میانگین داده‌ها با استفاده از آزمون دانکن در سطح معنی‌داری $P \leq 0.05$ صورت گرفت.

نتایج

بر اساس نتایج حاصل از آنالیز ICP-OES آب چشمه معدنی گراب عناصر سدیم، گوگرد، کلسیم، منیزیم، پتاسیم و سیلیس

استخراج کربوهیدرات‌ها، ۰/۰۱ گرم از بافت خشک توزین شد و با ۱۰ میلی‌لیتر آب-مقطر گرم در هاون ساییده شد و با کمک کاغذ واتمن شماره یک صاف شد. برای اندازه‌گیری هیدرات‌های کربن محلول از روش فنل - سولفوریک اسید استفاده شد. بدین منظور ۲ میلی‌لیتر از عصاره گیاهی استخراج شده را با ۵۰ میکرولیتر فنل ۸۰٪ وزنی (حل شده در آب مقطر) مخلوط کرده و سپس ۵ میلی‌لیتر سولفوریک اسید غلیظ به آن اضافه شد. این مخلوط به مدت ۱۰ دقیقه در دمای اتاق نگهداری شده و پس از آن به مدت ۲۰-۱۰ دقیقه در حمام آب گرم ۳۰-۲۵ درجه سانتیگراد قرار داده شد و سپس جذب محلول در ۴۹۰ خوانده شد و با کمک منحنی استاندارد مربوطه میزان کربوهیدرات‌های محلول محاسبه گردید (DuBois *et al.*, 1956).

آلفاتوکوفرول: برای اندازه‌گیری آلفاتوکوفرول ۰/۵ گرم از نمونه با ۱۰ میلی‌لیتر متانول اسیدی ساییده و به مدت ۱۰ دقیقه با سرعت ۱۰۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفیوژ شد (Baker *et al.*, 1980). سپس ۵ میلی‌لیتر عصاره را با ۱ میلی‌لیتر تری‌پیریدیل تریازین مخلوط می‌کنیم و پس از ۱۰ دقیقه در تاریکی، ۲۰ میلی‌لیتر آب مقطر اضافه شده و جذب نمونه‌ها را در ۵۲۰ نانومتر می‌خوانیم. برای رسم منحنی استاندارد از آلفاتوکوفرول خالص استفاده شد.

سنجش پراکسیداسیون لیپیدهای غشا: برای سنجش مقدار پراکسیداسیون لیپیدهای غشا، غلظت مالون دآلدئید (MDA) که محصول پراکسیداسیون اسیدهای چرب غیر اشباع می‌باشد، اندازه‌گیری شد. اندازه‌گیری مالون دآلدئید به روش Heath و Packer (۱۹۸۶) انجام شد. طبق این روش ۰/۲ گرم از بافت تر با ۵ میلی‌لیتر ۰/۰۱ درصد تری‌کلرواستیک اسید ساییده شد. به یک میلی‌لیتر از عصاره حاصل از سانتریفیوژ، ۴ میلی‌لیتر محلول تری‌کلرواستیک اسید ۲۰ درصد که حاوی ۰/۵ درصد تیوباریتوریک اسید (TBA) بود، اضافه شد. مخلوط حاصل به مدت ۳۰ دقیقه در دمای ۹۵ درجه سانتیگراد در حمام آبگرم حرارت داده شد سپس بلافاصله بر روی یخ سرد شد و دوباره مخلوط به مدت ۱۰ دقیقه با سرعت ۱۰۰۰۰ دور در دقیقه

به دست آمد. مقدار کارایی مصرف آب در پاسخ به آبیاری گیاه با آب چشمه گراب تفاوت معنی داری در طی ۶۰ روز نشان نداد (شکل c ۲).

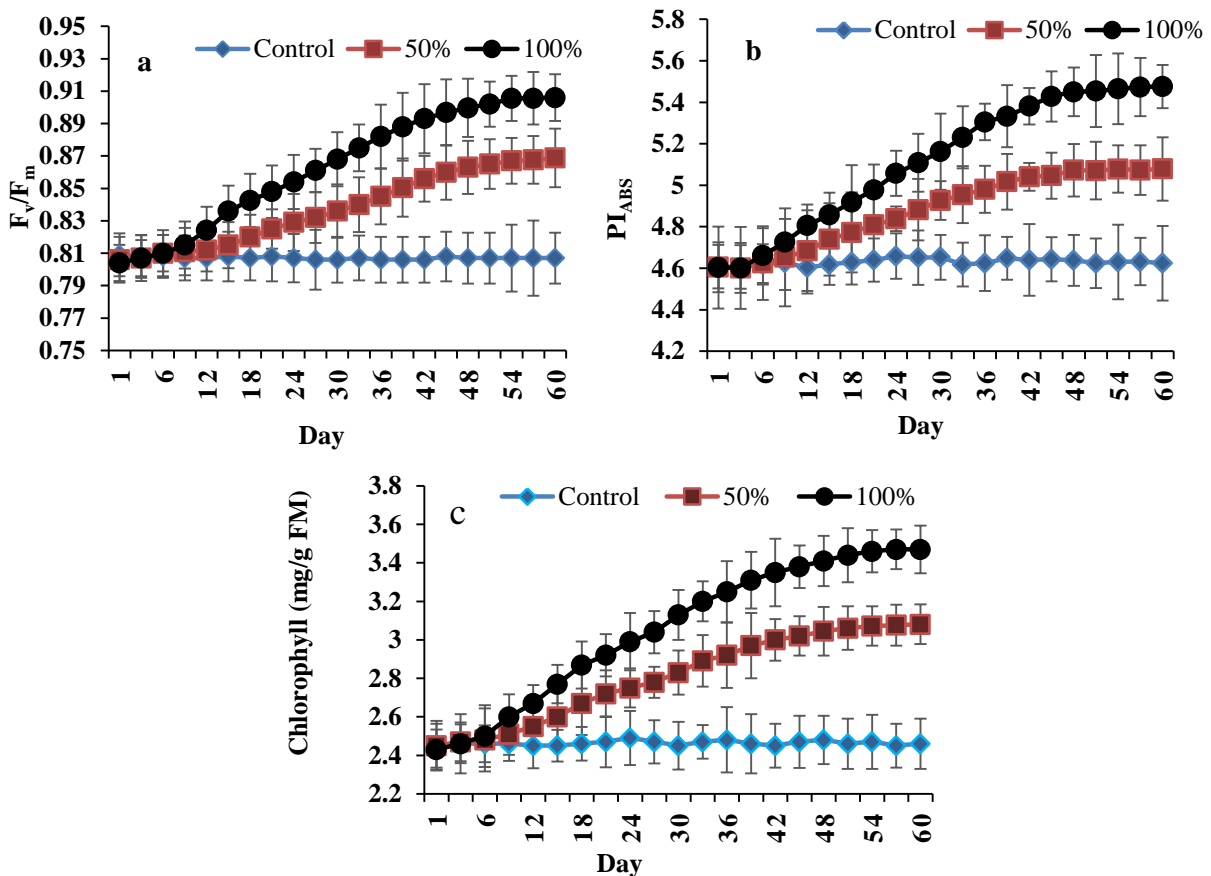
نتایج آنالیز رشد گیاهان نشان داد که آب چشمه معدنی بر سطح، طول، وزن تر و خشک برگ تأثیر معنی داری ($P < 0.05$) داشت (شکل a, b, c و d ۳). طول برگ در پاسخ به تیمار ۱۰۰٪ آب چشمه معدنی افزایش معنی داری در حدود ۱۳٪ بیشتر از گیاهان شاهد نشان داد درحالیکه افزایش ملاحظه شده در غلظت ۵۰٪ معنی دار نبود (شکل a ۳). آبیاری گیاهان با آب چشمه گراب باعث افزایش معنی دار سطح برگ شد. بیشترین سطح برگگی در آبیاری گیاهان با آب خالص چشمه معدنی و تقریباً ۶۴٪ بیشتر از گیاهان شاهد به دست آمد (شکل b ۳). وزن تر و خشک برگ در گیاهان آبیاری شده با آب چشمه معدنی افزایش معنی داری در مقایسه با گیاهان شاهد نشان دادند که افزایش ملاحظه شده در تیمار ۱۰۰٪ در سطح معنی داری بیشتر از غلظت ۵۰٪ بود (شکل c و d ۳). میزان افزایش مشاهده شده در وزن تر و خشک برگ در پاسخ به آبیاری با آب خالص چشمه و رقت ۵۰٪ به ترتیب ۲۰٪ و ۳۵٪، و ۲۳٪ و ۳۸٪ بیشتر از گیاهان شاهد بود.

نتایج اندازه گیری ظرفیت آنتی اکسیدان کل گیاه نشان داد که آبیاری گیاهان با آب چشمه گراب سبب افزایش FRAP شد که بیشترین میزان افزایش در آبیاری با آب خالص چشمه و تقریباً دو برابر گیاه شاهد مشاهده شد (شکل a ۴). آبیاری گیاهان با آب چشمه معدنی سبب افزایش معنی داری در مقادیر فنلها، آنتوسیانینها و فلاونوئیدها شد. بیشترین مقدار پارامترهای مذکور در تیمار ۱۰۰٪ آب چشمه ملاحظه شد درحالیکه رقت ۵۰٪ آب چشمه نیز تفاوت معنی داری با گیاهان کنترل و آب خالص چشمه نشان داد (شکل b, c و d ۴). میزان افزایش مشاهده شده در فنلها، آنتوسیانینها و فلاونوئیدها در آبیاری گیاهان با آب خالص چشمه و رقت ۵۰٪ به ترتیب ۱۳٪ و ۳۳٪، ۲۸٪ و ۴۶٪، و ۶۱٪ و ۹۱٪ بیشتر از گیاهان شاهد بود. بدین ترتیب بیشترین میزان افزایش در فلاونوئیدها در مقایسه با فنلها و آنتوسیانینها مشاهده شد.

به ترتیب فراوان-ترین عناصر بودند (جدول ۱). عناصر نقره، آرسنیک، باریوم، بریلیوم، بیسموت، کادمیوم، سربوم، کبالت، کروم، مس، آهن، لانتانوم، منگنز، مولیبدن، نیکل، فسفر، روبیدیوم، آنتیموان، اسکاندیوم، تیتانیوم، اورانیوم، وانادیوم، تنگستن و روی به دلیل غلظت کمتر از ۰/۰۵ گرم در لیتر قابل اندازه گیری نبودند (جدول ۱).

نتایج نشان داد که آبیاری گیاهان با آب چشمه گراب تا روز نهم تأثیر معنی داری بر روی F_v/F_m و PI_{ABS} نداشت ولی پس از آن افزایش میزان شاخصهای فلورسانس آغاز گردید (شکل a و b ۱). هر دو شاخص F_v/F_m و PI_{ABS} پاسخ یکسانی به آبیاری با آب چشمه گراب نشان دادند و میزان آنها در مدت ۶۰ روز آبیاری افزایش تدریجی معنی داری را نشان دادند. بیشترین افزایش شاخصهای مذکور در روز ۶۰ ملاحظه شد. در آبیاری گیاهان با آب خالص چشمه گوگردی بیشترین میزان F_v/F_m و PI_{ABS} دیده شد درحالیکه غلظت ۵۰٪ آب چشمه گراب نیز سبب افزایش معنی دار شاخصهای F_v/F_m و PI_{ABS} در مقایسه با گیاهان شاهد شد. میزان کلروفیل کل نیز همانند شاخصهای فلورسانس کلروفیل از روز نهم آبیاری با آب چشمه افزایش نشان داد که با گذر زمان میزان کلروفیلها افزایش بیشتری را نشان داد. با وجود اینکه هر دو غلظت آب چشمه گوگردی سبب افزایش معنی دار کلروفیلها شدند ولی میزان کلروفیلها در تیمار ۱۰۰٪ آب چشمه معدنی در سطح معنی داری بیشتر از تیمار ۵۰٪ آب چشمه معدنی بود (شکل c ۱).

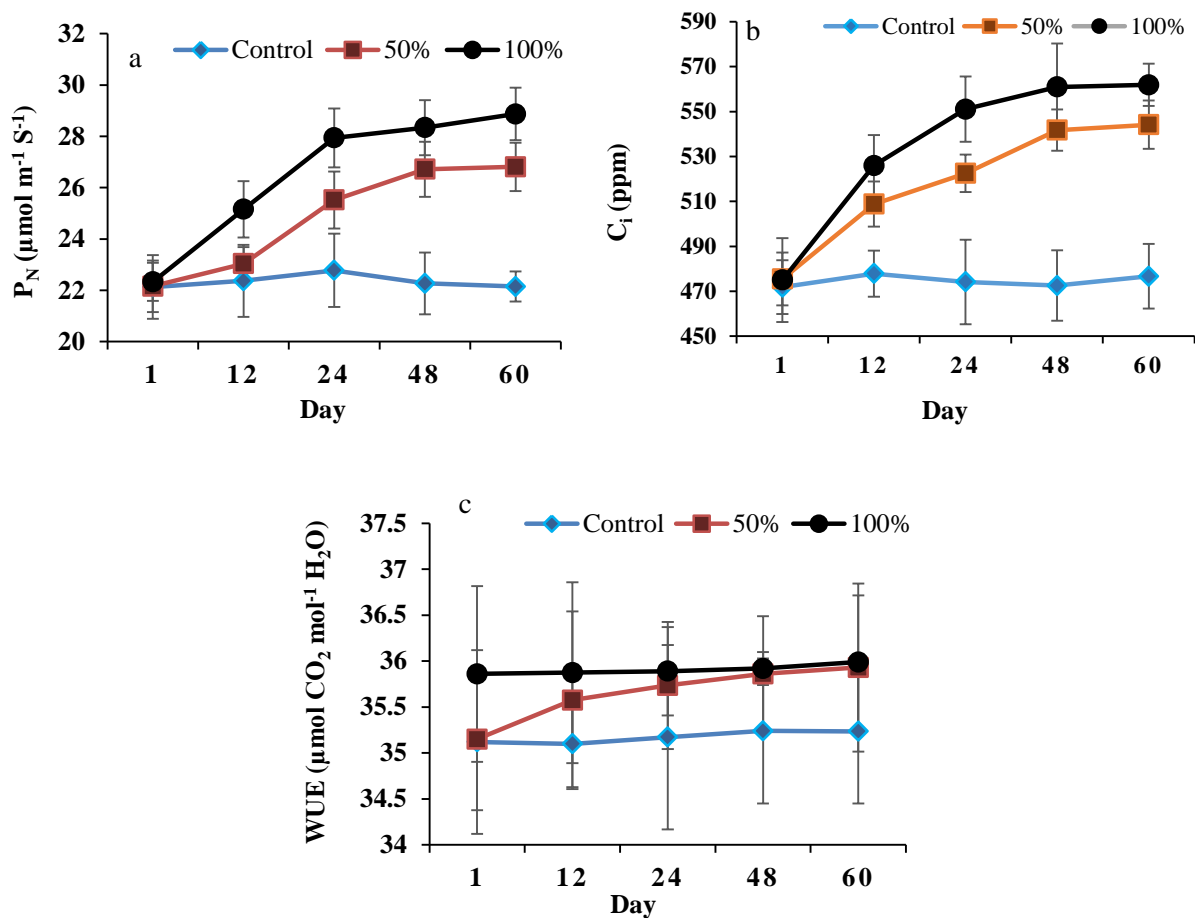
مقادیر فتوسنتز خالص، دی اکسید کربن درون سلولی و کارایی مصرف آب با فواصل ۱۲ روز به مدت ۶۰ روز اندازه گیری شدند. شاخصهای فتوسنتز خالص و دی اکسید کربن درون سلولی در روز ۱۲ پس از آبیاری با غلظتهای مختلف آب چشمه گراب افزایش قابل توجهی را در غلظتهای ۵۰٪ و ۱۰۰٪ آب چشمه نشان دادند (شکل a و b ۲). مقدار هر دو شاخص فتوسنتز خالص و دی اکسید کربن درون سلولی با گذر زمان یک افزایش تدریجی و معنی داری را نشان دادند که بیشترین افزایش در روز ۶۰ و در غلظت ۱۰۰٪



شکل ۱- (a) حداکثر بازده فتوسیستم II (F_v/F_m)، (b) بازده هر دو فتوسیستم I و II (PI_{ABS}) و (c) مقدار کلروفیل کل گندم رقم دهدشت تحت تأثیر آبیاری آب چشمه معدنی گراب در سه غلظت صفر (کنترل)، ۵۰٪ (رقت ۱:۱ از آب چشمه: آب مقطر) و ۱۰۰٪ (آب خالص چشمه) هر سه روز یکبار به مدت ۶۰ روز.

توجه به شکل a ۶، میزان کربوهیدرات‌های محلول در تیمارهای ۵۰٪ و ۱۰۰٪ آب چشمه در سطح معنی‌داری بیشتر از گیاه شاهد بود. بیشترین میزان کربوهیدرات‌ها در غلظت ۱۰۰٪ آب چشمه و تقریباً ۷۰٪ بیشتر از گیاهان شاهد بود. براساس نتایج، در پاسخ به آبیاری گیاهان با آب چشمه گراب میزان پرولین در سطح معنی‌داری نسبت به گیاه شاهد افزایش یافت. میزان پرولین در آب خالص و رقت ۵۰٪ چشمه گراب تقریباً ۳۳٪ و ۴۸٪، به ترتیب بیشتر از گیاهان شاهد بود (شکل ۱b). بررسی پروتئین‌ها نشان داد که آب چشمه معدنی سبب افزایش معنی‌داری آن در مقایسه با گیاه شاهد بود. بیشترین میزان پروتئین‌ها در تیمار ۱۰۰٪ آب چشمه و تقریباً ۴۴٪ بیشتر از گیاهان شاهد به دست آمد (شکل ۱c). آبیاری گیاهان با آب چشمه میزان آلفا توکوفرول را در هر دو سطح ۵۰٪ و ۱۰۰٪

نتایج اندازه‌گیری مقدار آب اکسیژنه نشان داد که آبیاری گیاهان با آب چشمه گراب تأثیر معنی‌داری بر میزان آب اکسیژنه برگ نداشت (شکل ۱a). آبیاری گیاهان با آب چشمه خالص و رقت ۵۰٪ سبب افزایش معنی‌دار میزان فعالیت آنزیم‌های سوپراکسید دیسموتاز (شکل ۱b) و کاتالاز (شکل ۱c) شد درحالی‌که افزایش معنی‌دار در فعالیت آسکوربات پراکسیداز فقط در آب چشمه خالص (شکل ۱d) مشاهده شد. میزان افزایش مشاهده شده در فعالیت سوپراکسید دیسموتاز، کاتالاز و آسکوربات پراکسیداز در آب خالص چشمه به ترتیب ۶۲٪، ۹۵٪ و ۴۷٪ بیشتر از گیاهان شاهد بود. آبیاری گیاهان با آب چشمه گراب میزان متابولیت‌های کربوهیدرات‌های محلول، پرولین، اسید آمینه کل و پروتئین‌های گیاه گندم را در سطح معنی‌داری افزایش داد (شکل ۱b). با



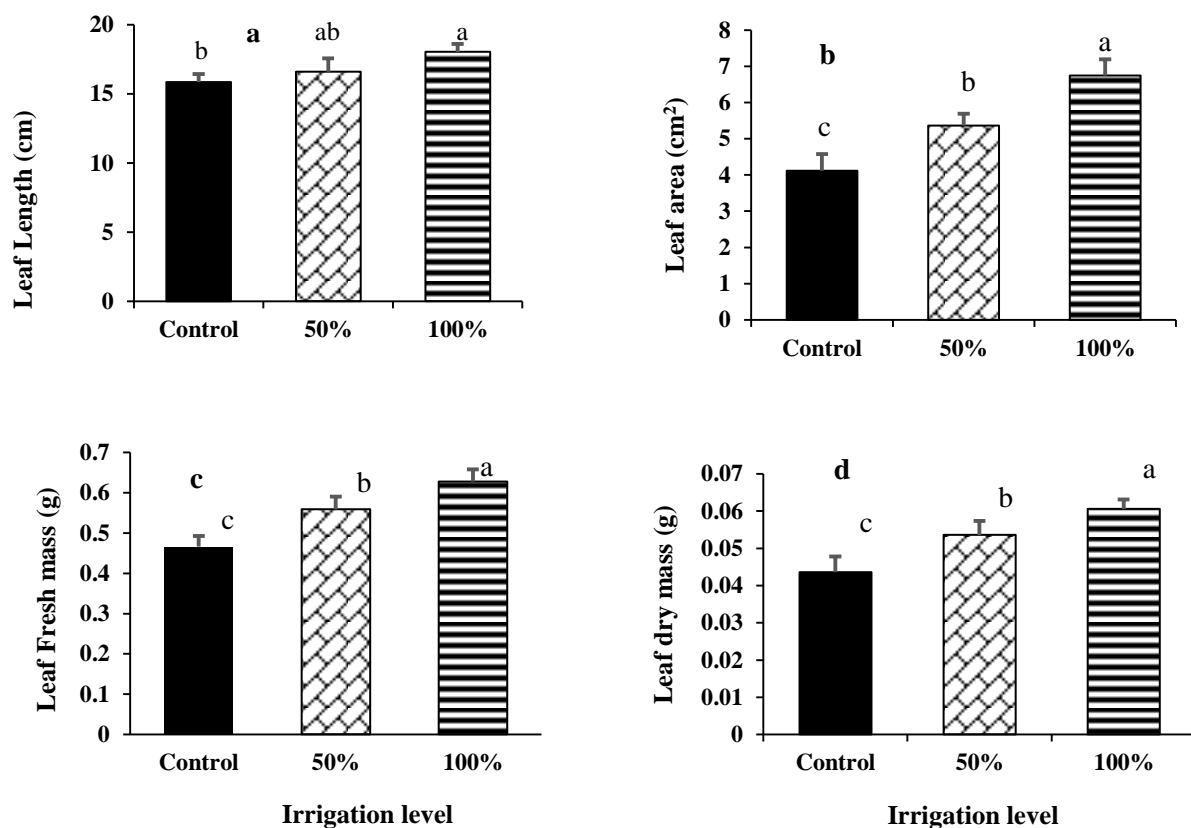
شکل ۲- (a) فتوسنتز خالص (P_N)، (b) دی اکسید کربن درون سلولی (C_i) و (c) کارایی مصرف آب (WUE) گندم رقم دهدشت تحت تأثیر آبیاری آب چشمه معدنی گراب در سه غلظت صفر (کنترل)، ۵۰٪ (رقت ۱:۱ از آب چشمه: آب مقطر) و ۱۰۰٪ (آب خالص چشمه) هر ۱۲ روز یکبار به مدت ۶۰ روز.

گوگرد، کلسیم، منیزیم، پتاسیم و سیلیس بود که عنصر سدیم بیشترین میزان را در بین عناصر یادشده به خود اختصاص داده بود. پس از سدیم، گوگرد فراوانترین عنصر آب چشمه گراب است که سبب نامگذاری محلی چشمه آب معدنی گراب به چشمه آب گوگردی گراب شده است و بوی گوگرد شدیدی در اطراف چشمه استشمام می شود. بدین ترتیب چشمه گراب جزء چشمه های گوگردی شور شناسایی شده است (Citypedia, 2019). بوسلیک و همکاران (۱۳۹۱) مطالعاتی بر روی اثرات شوری چشمه های گوگردی دالکی، بوشهر بر روی محصولات کشاورزی انجام دادند. در منطقه دالکی چشمه های آب گوگردی وجود دارد که به دلیل غلظت بالای سدیم خطر تنش شوری برای گیاهان به وجود می آورد. آب چشمه ها منطقه

در سطح معنی داری افزایش داد. میزان آلفاتوکوفرول در آب خالص و رقت ۵۰٪ چشمه گراب تقریباً ۵۸٪ و ۱۵۰٪، به ترتیب، بیشتر از گیاهان شاهد بود (شکل e ۶). میزان مالون دالدئید که شاخص پراکسیداسیون لیپیدهای غشا است در گیاهان آبیاری شده با آب چشمه گراب تفاوت معنی داری با گیاهان شاهد نشان نداد (شکل e ۶). به منظور بررسی میزان آسیب وارد شده به غشا میزان نشت یونی اندازه گیری شد. نتایج نشان داد که میزان نشت یونی در آبیاری گیاهان با آب چشمه تفاوت معنی داری با گیاهان شاهد نشان نداد (شکل f ۶).

بحث

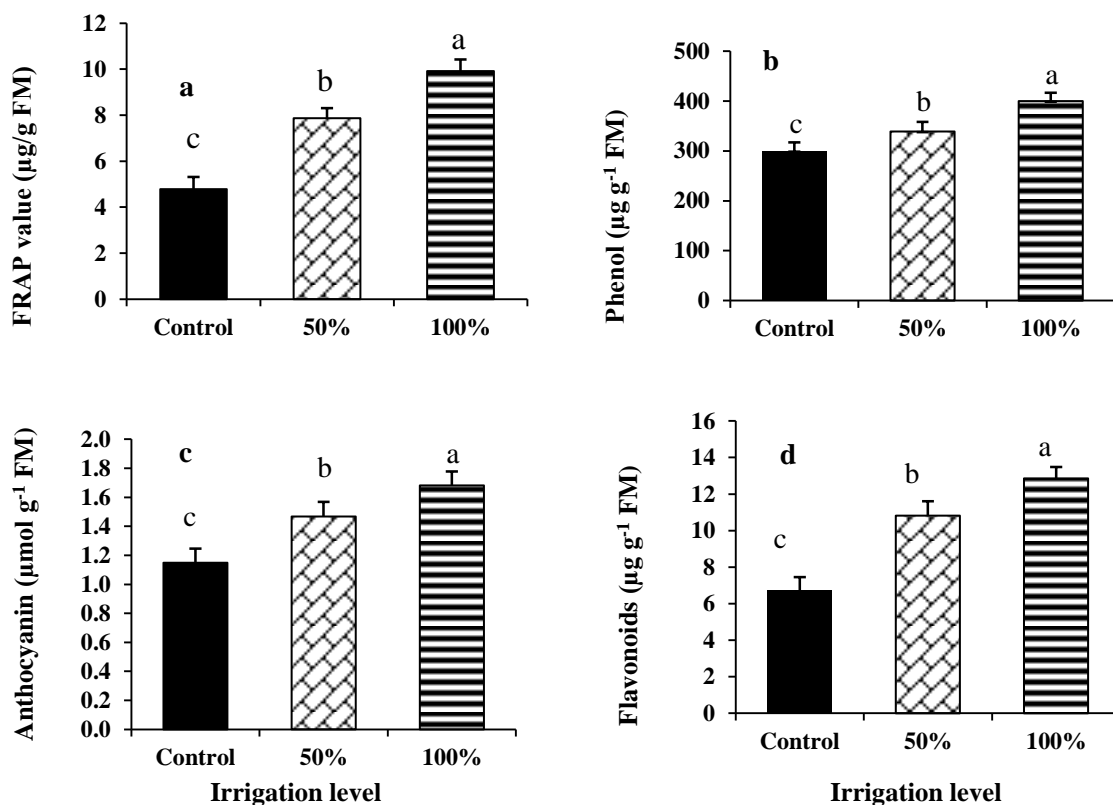
آب چشمه معدنی گراب دارای غلظت بالایی از عناصر سدیم،



شکل ۳- (a) طول برگ، (b) سطح برگ، (c) وزن تازه برگ و (d) وزن خشک برگ گندم رقم دهدشت تحت تأثیر آبیاری آب چشمه معدنی گراب در سه غلظت صفر (کنترل)، ۵۰٪ (رقت ۱:۱ از آب چشمه:آب مقطر) و ۱۰۰٪ (آب خالص چشمه) پس از ۶۰ روز. میانگین‌هایی که در هر ستون حداقل دارای یک حرف مشترک هستند مطابق آزمون چند دامنه‌ای دانکن اختلاف معنی‌داری ندارند.

های محیطی قرار می‌گیرد فتوستتز است (Fatma *et al.*, 2014). یکی از نقاط قوت این تحقیق بررسی متوالی تغییرات شاخص‌های وابسته به فتوستتز است که روند تدریجی تغییرات پاسخ فرایند فتوستتز به آبیاری گیاهان با آب چشمه گراب را فراهم می‌کند. میزان فلورسانس کلروفیل، سلامت غشای تیلاکوئید و کارایی انتقال الکترون از فتوسیستم‌ها را مشخص می‌کند (O'Neill *et al.*, 2006). بنابراین افزایش تدریجی مشاهده‌شده در شاخص‌های F_v/F_m و PI_{ABS} در مطالعه حاضر می‌تواند نشانگر اثر مثبت آب چشمه گراب بر روی سیستم فتوستتزی گیاه باشد. در گندم آبیاری‌شده با آب چشمه معدنی رابطه مستقیمی بین افزایش شاخص‌های فلورسانس کلروفیل‌ها و میزان کلروفیل‌ها مشاهده شد. آغاز روند افزایشی در میزان کلروفیل‌ها، F_v/F_m و PI_{ABS} از روز نهم و پس از دومین آبیاری آغاز شد و با گذر زمان روند افزایش شیب صعودی بیشتری

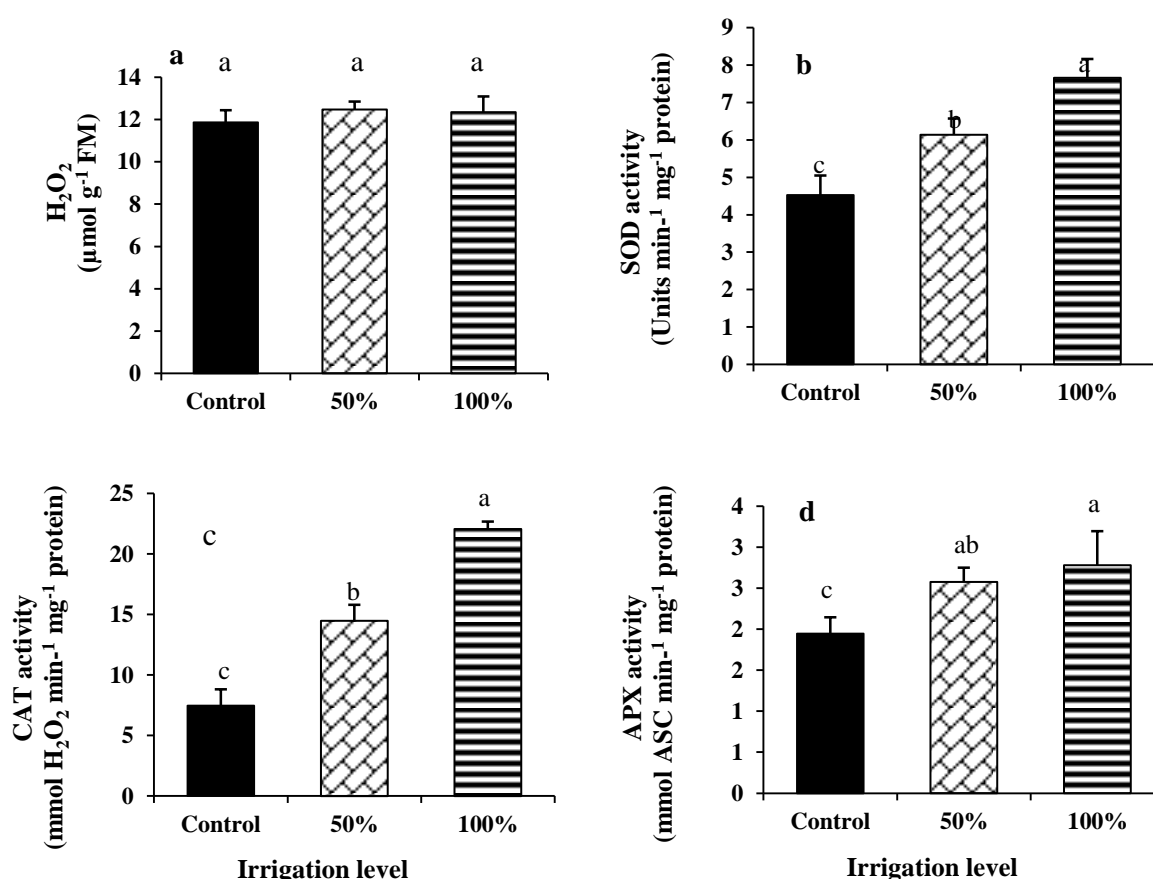
دالکی برای آبیاری درختان نخل در منطقه کاربرد دارد (بوسلیک و همکاران ۱۳۹۱). همان‌طوریکه در روستای گراب درختان نخل با آب چشمه گراب آبیاری می‌شوند لذا آب چشمه معدنی گراب نیز می‌تواند به‌عنوان جایگزین آب شیرین برای کشت محصولات زراعی در مزارع اطراف چشمه پیشنهاد شود. بوسلیک و همکاران (۱۳۹۱) به‌منظور استفاده بهینه از آب چشمه‌های گوگردی در کشاورزی به مطالعه اثر آب آبیاری چشمه‌های گوگردی دالکی بر روی انواع گیاه زراعی پرداختند و با توجه به بازده گیاهان محصولات زراعی خرما، جو، پنبه، چغندر قند و گندم را مناسب آبیاری با آب شور چشمه‌های گوگردی پیشنهاد نمودند. در مطالعه حاضر به‌بررسی پاسخ گندم، به‌عنوان یکی از مهم‌ترین محصولات زراعی آبیاری‌شده با آب چشمه معدنی گراب پرداخته شده است. یکی از مهم‌ترین پدیده‌های فیزیولوژیکی که تحت تأثیر تنش



شکل ۴- (a) آنتی‌اکسیدان کل (FRAP)، (b) فنل‌ها، (c) آنتوسیانین‌ها و (d) فلاونوئیدهای گندم رقم دهدشت تحت تأثیر آبیاری آب چشمه معدنی گراب در سه غلظت صفر (کنترل)، ۵۰٪ (رقت ۱:۱ از آب چشمه: آب‌مقطر) و ۱۰۰٪ (آب خالص چشمه) پس از ۶۰ روز. میانگین‌هایی که در هر ستون حداقل دارای یک حرف مشترک هستند مطابق آزمون چند دامنه‌ای دانکن اختلاف معنی‌داری ندارند.

حالیکه با وجود غلظت بالای سدیم در آب آبیاری چشمه گراب میزان فلورسانس کلروفیل‌ها و کلروفیل‌ها افزایش یافت. مشاهدات Rais و همکاران (۲۰۱۳) حاکی از اثر گوگرد بر افزایش معنی‌دار میزان فلورسانس کلروفیل‌ها و رنگیزه‌های فتوسنتزی در گیاه Mustard بود (Rais *et al.*, 2013) که منطبق با نتایج اثر گوگرد در آب چشمه گراب است. غلظت بالای سدیم می‌تواند با ایجاد اختلال در جذب سایر عناصر ضروری مانند پتاسیم، کلسیم و منیزیم در سیستم فتوسنتزی گیاه اختلال به‌وجود آورد. سدیم می‌تواند با کاهش پتاسیم سبب اختلال در بازده کوانتومی فتوسیستم II شود (Khan *et al.*, 2013) در حالیکه به‌دلیل وجود غلظت بالای پتاسیم در آب چشمه گراب از اثرات مضر سدیم کاسته شد. منیزیم عنصر مرکزی در مولکول کلروفیل است که تنش شوری با اختلال در جذب آن سبب کاهش میزان کلروفیل‌ها و در نتیجه انتقال الکترون بین فتوسیستم‌ها و کاهش بازده فلورسانس گیاه می‌شود (Farhat *et*

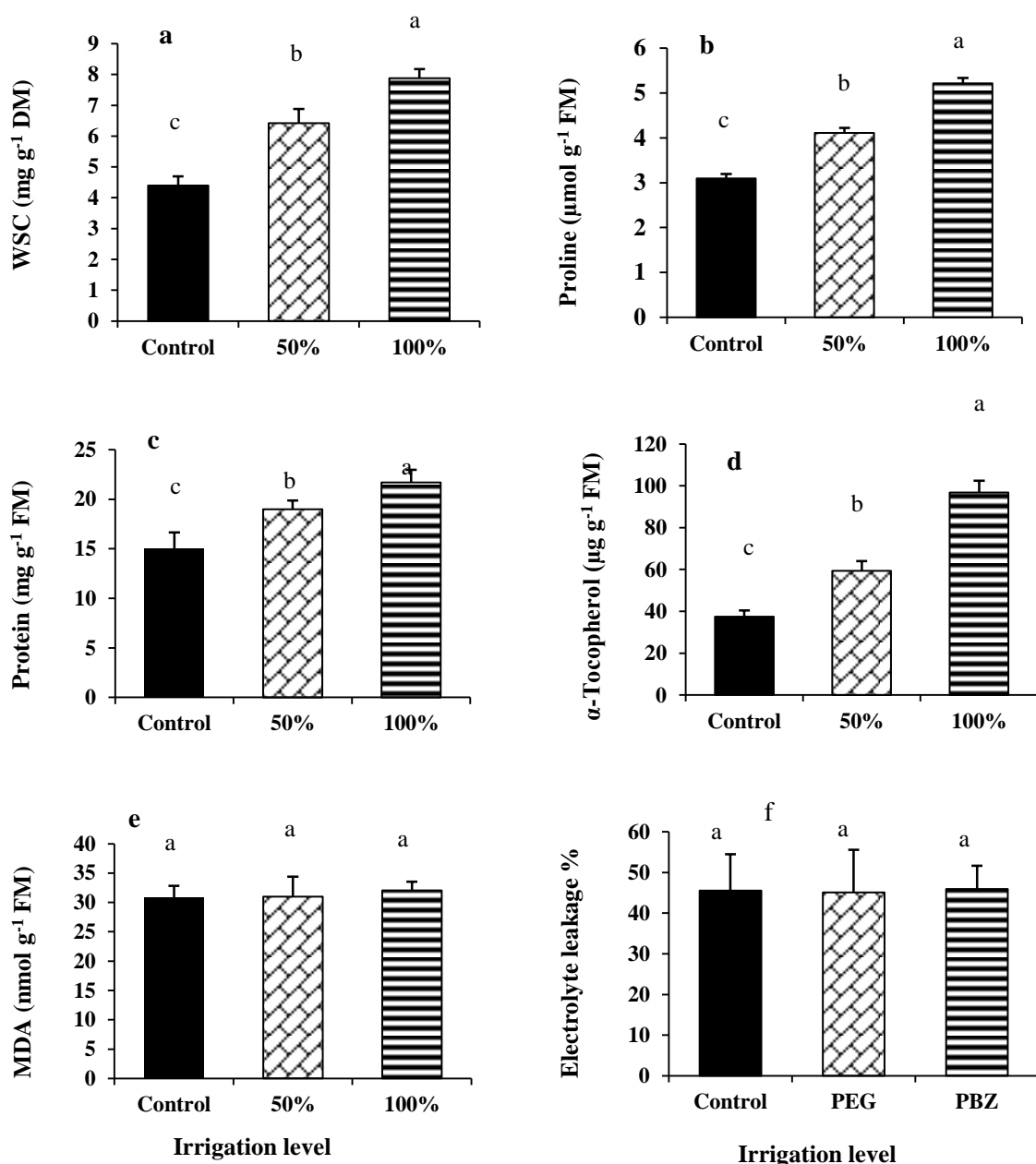
پیدا نمود. تقریباً در روز ۵۱ بیشترین میزان افزایش پارامترهای مذکور به‌دست آمد و از آن پس تا روز شصتم میزان آنها تقریباً ثابت بود. در روز پنجاه و یکم، میزان کلروفیل‌ها، F_v/F_m و PI_{ABS} در آبیاری با آب چشمه رقیق‌شده (۱:۱) و رقیق‌نشده به‌ترتیب ۲۵٪، ۴۰٪، ۷٪ و ۱۲٪، و ۱۰٪ و ۱۸٪ بیشتر از گیاهان شاهد بود و در روز شصتم میزان افزایش آنها به‌ترتیب ۲۵٪، ۴۱٪، ۷٪ و ۱۲٪، و ۱۰٪ و ۱۸٪ بود. بدین ترتیب افزایش میزان کلروفیل‌ها و بازده کوانتومی فتوسیستم‌ها می‌تواند به‌دلیل غلظت بالای عناصر مفید در آب چشمه باشد. زمانیکه گیاهان در معرض تنش قرار می‌گیرند متابولیسم برگ‌ها کاهش یافته و میزان عملکرد کوانتومی (F_v/F_m) به‌منظور ایجاد تعادل بین میزان انتقال الکترون فتوسنتزی و متابولیسم کربن کاهش می‌یابد (Krause and Weis, 1991). تنش شوری سبب کاهش بازدهی فلورسانس کلروفیل‌ها به‌دلیل کاهش انتقال الکترون در فتوسیستم‌ها می‌شود (Mehta *et al.*, 2010) در



شکل ۵- (a) میزان هیدروژن پراکسید، (b) فعالیت سوپراکسید دیسموتاز، (c) فعالیت کاتالاز و (d) فعالیت آسکوربات پراکسیداز گندم رقم دهدشت تحت تأثیر آبیاری آب چشمه معدنی گراب در سه غلظت صفر (کنترل)، ۵۰٪ (رقت ۱:۱ از آب چشمه: آب مقطر) و ۱۰۰٪ (آب خالص چشمه) پس از ۶۰ روز. میانگین‌هایی که در هر ستون حداقل دارای یک حرف مشترک هستند مطابق آزمون چند دامنه‌ای دانکن اختلاف معنی‌داری ندارند.

های یادشده در مدت آبیاری با آب چشمه گراب بود درحالیکه تفاوت معنی‌داری در WUE مشاهده نشد. در روز ۴۸ آبیاری گیاهان با آب چشمه رقیق‌شده (۱:۱) و رقیق‌نشده میزان P_N و C_i به ترتیب ۲۰٪ و ۲۷٪، ۱۴٪ و ۱۸٪ بیشتر از گیاهان شاهد بود و در روز شصتم میزان افزایش آنها به ترتیب ۲۱٪ و ۳۰٪، و ۱۴٪ و ۱۸٪ بود. بدین ترتیب میزان افزایش مشاهده‌شده در میزان فتوسنتز و دی‌اکسید کربن درون سلولی تقریباً مطابق با افزایش مشاهده‌شده در میزان کلروفیل‌ها و فلورسانس کلروفیل‌ها در گیاهان آبیاری‌شده با آب چشمه بود. غلظت بالای سدیم با کاهش هدایت روزنه‌ای و کاهش غلظت دی-اکسید کربن سبب کاهش میزان فتوسنتز می‌شود (Khan et al., 2013) درحالیکه غلظت بالای سدیم آب چشمه اثر منفی بر

(al., 2016). بر خلاف غلظت بالای سدیم در آب چشمه گراب میزان کلروفیل‌های گندم در این مطالعه افزایش نشان داد که یکی از دلایل آن می‌تواند بالابودن غلظت منیزیم باشد. در گیاه *Kochia scoparia* تیمارهای کلسیم و پتاسیم سبب کاهش اثرات مضر سدیم بر میزان F_v/F_m شدند (کافی و همکاران، ۱۳۹۱). همچنین گزارشی مبنی بر تأثیر سیلیس بر افزایش میزان کلروفیل و F_v/F_m در گیاه گوجه فرنگی وجود دارد (Al-aghaby et al., 2005). بدین ترتیب غلظت بالای عناصر معدنی کلسیم، پتاسیم، گوگرد، منیزیم و سیلیس در آب چشمه معدنی جزء دلایل بهبود فرایند انتقال الکترون در فتوسیستم‌ها و کلروفیل‌ها هستند. اندازه‌گیری متوالی P_N و C_i نشانگر افزایش تدریجی شاخص-



شکل ۶- (a) کربوهیدرات‌های محلول آب، (b) پرولین، (c) پروتئین‌ها، (d) آلفاتوکوفرول، (e) مالون دآلدئید و (f) نشت یونی غشا گندم رقم دهدشت تحت تأثیر آبیاری آب چشمه معدنی گراب در سه غلظت صفر (کنترل)، ۵۰٪ (رقت ۱:۱ از آب چشمه:آب‌مقطر) و ۱۰۰٪ (آب خالص چشمه) پس از ۶۰ روز. میانگین‌هایی که در هر ستون حداقل دارای یک حرف مشترک هستند مطابق آزمون چند دامنه‌ای دانکن اختلاف معنی‌داری ندارند.

میزان بالای آن در آب چشمه می‌تواند دلیل افزایش فتوسنتز باشد. عناصر کلسیم و پتاسیم نقش مهمی در کاهش اثرات غلظت بالای سدیم در فرایندهای فیزیولوژیکی گیاه دارند. پتاسیم نقش مهمی در تنظیم اسمزی، حفظ فشار تورگور سلول، بیوسنتز پروتئین‌ها، فعالیت آنزیم‌ها و افزایش فتوسنتز

شاخص‌های یادشده نداشت. ترکیبات گوگرددار مانند فیتوکلاتین‌ها و گلوکاتینون احیا در افزایش مقاومت گیاهان به غلظت‌های بالای سدیم نقش دارند. گوگرد با افزایش بیوسنتز گلوکاتینون احیا در گیاهان سبب افزایش معنی‌دار فتوسنتز و به‌دنبال آن رشد گیاهان می‌شود (Fatma et al., 2014) که

نیترژن، فسفر و پتاسیم است که قادر به کاهش اثرات مضر تنش‌های غیرزیستی در گیاهان است. گوگرد در ساختمان اسیدهای آمینه، پروتئین‌ها، آنتی‌اکسیدان‌ها (GSH)، سولفولیپیدها، پلی‌ساکاریدها، کوفاکتورها، ویتامین‌ها و متابولیت‌های ثانویه وجود دارد. بنابراین، گوگرد با کنترل میزان انواع متابولیت‌ها و آنتی‌اکسیدان‌ها قادر به کاهش اثرات مضر تنش شوری در گیاهان است (Khan et al., 2013). منیزیم از طریق دخالت در عملکردهای کلیدی گیاه از قبیل فتوسنتز، تثبیت دی‌اکسید کربن فتوسنتزی، سنتز پروتئین، سنتز کلروفیل، بارگیری آوند آبکش، کدهبندی فرآورده‌های متابولیکی و فعالیت آنزیم‌ها در رشد و عملکرد گیاه دخالت می‌کند (Cakmak and Yazici, 2010). کلسیم نیز یکی از عناصر ضروری مورد نیاز برای رشد و نمو گیاهان است که در فرایند نفوذپذیری و پایداری غشا، سیگنال‌دهی در سلول، تقسیم سلولی و ساختار دیواره سلولی نقش مهمی دارد (Turan et al., 2009) و تنش شوری با کاهش غلظت آن سبب اختلال در بسیاری از فرایندهای فیزیولوژیک گیاهان می‌شود (Abbasi et al., 2016). سیلیس دومین عنصر فراوان سطح کره زمین است که با وجود اینکه جزء عناصر ضروری گیاه محسوب نمی‌شود، این عنصر اثرات مفیدی در کاهش اثرات مضر تنش شوری در گیاهان دارد. مثلاً، گزارشاتی مبنی بر نقش سیلیس در کاهش اثرات مضر تنش شوری در گیاهان گندم، جو، ذرت و گوجه فرنگی وجود دارد (Liang, 1999; Al-aghaby et al., 2005; Kaya et al., 2006; Tuna et al., 2008). رسوب سیلیس در سلول‌های ریشه سبب کاهش نفوذپذیری سدیم از غشای پلاسمایی و در نتیجه سبب کاهش جذب و انتقال سدیم از ریشه‌ها می‌شود درحالی‌که با فعال کردن H-ATPase‌های غشای پلاسمایی سبب افزایش جذب پتاسیم از ریشه‌ها و در نتیجه کاهش نسبت Na:K می‌شود و بدین ترتیب سبب کاهش اثرات مضر تنش شوری در گیاهان می‌شود. در گیاه آرابیدوبسیس تحت شرایط تنش شوری، سیلیس با فعال کردن ژن‌هایی در گیاه آرابیدوبسیس سبب افزایش ناقلین کلسیم از غشای پلاسمایی شده و میزان کلسیم را افزایش می‌دهد، درحالی‌که به‌طور طبیعی تنش شوری سبب

دارد که افزایش میزان آن در شرایط بالابودن غلظت سدیم سبب کاهش اثرات مضر شوری می‌شود. پتاسیم نقش مهمی در فعالیت روزنه‌ها و روابط آبی گیاهان دارد و ظرفیت گیاهان برای حفظ غلظت‌های بالا پتاسیم در بافت‌هایشان را می‌توان به‌عنوان صفت مهم برای ژنوتیپ‌هایی با تحمل بالا به تنش شوری در نظر گرفت (Arjenaki et al., 2012). یکی از اندامک‌های ذخیره‌کننده کلسیم، کلروپلاست‌ها هستند که در شارش کلسیم از عرض غشای تیلاکوئیدها در تنظیم انتقال الکترون در فرایند فتوسنتز نقش دارد (Hochmal et al., 2015). مشاهدات Liang و همکاران (۱۹۹۶) نشان داد که تیمار سیلیس باعث افزایش میزان فتوسنتز خالص *Hordeum vulgare* و *Phaseolus vulgaris* تحت تأثیر تنش شوری شد (Liang et al., 1996; Zuccarini, 2008). بنابراین افزایش میزان فتوسنتز در آبیاری گیاهان با آب چشمه گراب می‌تواند ناشی از غلظت بالای گوگرد، منیزیم، کلسیم، پتاسیم و سیلیس باشد که در راستای افزایش کلروفیل‌ها و فلورسانس کلروفیل‌ها است.

وضعیت تغذیه‌ای گیاهان تأثیر زیادی بر افزایش مقاومت آنها به تنش‌های محیطی دارد (Marschner, 2011). میزان شاخص‌های رشد گیاه گندم از قبیل سطح، طول، وزن تر و خشک برگ در پاسخ به آبیاری با آب چشمه گراب افزایش معنی‌داری نشان دادند که می‌تواند به‌دلیل میزان زیاد عناصر معدنی مفید در آب چشمه باشد. تنش اسمزی ناشی از شوری سبب کاهش میزان آب سلول و کوچک شدن آن می‌شود و ادامه شرایط تنش سبب کاهش تقسیم و رشد سلول و کاهش سطح برگ می‌شود که در نتیجه میزان فتوسنتز و محصولات فتوسنتزی و رشد گیاه کاهش می‌یابد (Munns et al., 2006). عنصر پتاسیم نقش مهمی در افزایش تحمل گیاهان به شوری دارد زیرا پتاسیم جزء مواد فعال اسمزی است که به‌جذب آب در سلول و کل گیاه کمک می‌کند. همچنین گزارشاتی مبنی بر تأثیر مثبت پتاسیم بر ارتفاع و وزن خشک گندم (El-Lethy et al., 2013) و برنج (Din et al., 2001) تحت شرایط شوری وجود دارد. از لحاظ کشاورزی، گوگرد چهارمین عنصر مهم در گیاهان پس از

همچنین آبیاری گیاهان با آب چشمه سبب افزایش ظرفیت آنتی‌اکسیدان کل (FRAP) شد که باعث حذف رادیکال‌های آزاد اکسیژن در گیاه گندم گردید. در گیاه تحت تنش شوری، تیمار گوگرد سبب افزایش غلظت GSH می‌شود که در حذف ROS نقش دارد (Fatma et al., 2014; Khan et al., 2013). یکی از عواقب اصلی تجمع ROS در گیاهان پراکسیداسیون لیپیدهای غشا است که از طریق سنجش غلظت مالون دالدئید اندازه‌گیری می‌شود (Taibi et al., 2016). غلظت بالای سدیم در آب چشمه گراب سبب افزایش میزان پراکسیداسیون لیپیدهای غشا و نشت یونی غشا نشد که می‌تواند به دلیل نقش عناصر مفید آب چشمه در افزایش ظرفیت آنتی‌اکسیدان کل گیاه و حذف رادیکال‌های آزاد اکسیژن باشد. گیاهانی که برای مقابله با تنش اکسیداتیو ایجاد شده در اثر تنش شوری دارای سیستم آنتی‌اکسیدانی با کارایی بالا هستند، می‌توانند رادیکال‌های آزاد را از بین برده یا خنثی کنند و از تنش اکسیداتیو جلوگیری کنند (Taibi et al., 2016). در اثر آبیاری گندم با آب چشمه گوگردی مقدار آنتی‌اکسیدان‌های آنزیمی (کاتالاز و آسکوربات پراکسیداز) و غیرآنزیمی (فنل‌ها، آنتوسیانین‌ها، فلاونوئیدها، آلفا توکوفرول و پرولین) در سطح معنی‌داری افزایش یافت که مانع از تجمع ROS و آسیب به غشای سلولی شدند. ترکیبات فنولی از جمله این مواد آنتی‌اکسیدان غیرآنزیمی محلول در آب هستند که با دادن اتم هیدروژن به ROS سبب خنثی‌شدن آنها در گیاهان شود. فلاونوئیدها جزء ترکیبات پلی‌فنلی هستند که در سم زدایی ROS نقش دارند (Frary et al., 2010). آنتوسیانین‌ها نیز جزء ترکیبات فنولی هستند و نسبت به فلاون‌ها و فلاونول‌ها خاصیت آنتی‌اکسیدانی بیشتری دارند (He et al., 2010). آلفاتوکوفرول یک آنتی‌اکسیدان غیرآنزیمی چربی‌دوست است که یکی از جایگاه‌های آن در ساختار لیپیدی غشاهای سلولی است و بدین ترتیب سبب محافظت غشا در برابر ROS و آسیب به لیپیدهای غشا می‌شود (Wang and Quinn, 2000) که با نتایج ملاحظه‌شده در این مطالعه هماهنگ است. تغذیه معدنی نقش مهمی در افزایش عملکرد سیستم آنتی‌اکسیدانی

کاهش جذب کلسیم در گیاه می‌شود (Tuna et al., 2008). در نتیجه عناصر گوگرد، پتاسیم، کلسیم، منیزیم و سیلیس با نقش‌های اساسی در متابولیسم گیاه پیشگیری از اثرات مضر غلظت بالای سدیم بر رشد و نمو گیاه گندم شدند. تنش شوری سبب تولید رادیکال‌های آزاد اکسیژن (ROS) و آسیب اکسیداتیو به لیپیدهای غشا، پروتئین‌ها و اسیدهای نوکلئیک می‌شوند (Taibi et al., 2016). غلظت بالای سدیم سبب ایجاد اختلال در سیستم انتقال الکترون در فتوسیستم‌ها و کاهش غلظت Ci و فعالیت آنزیم‌های چرخه کالوین می‌شود. بدین ترتیب تنش شوری سبب القا تنفس نوری شده و با حرکت الکترون‌ها به سمت اکسیژن تولید H_2O_2 افزایش می‌یابد (Khan et al., 2013). سوپراکسید دیسموتاز یک آنزیم آنتی‌اکسیدان مهم و اولین خط دفاعی در مقابل تنش اکسیداتیو در گیاهان است که دیسموتاسیون رادیکال‌های سوپراکسید و تولید H_2O_2 را سبب می‌شود (Gupta et al., 2018). در گیاهان گندم آبیاری‌شده با رقت‌های مختلف آب چشمه گراب تغییر معنی‌داری در میزان H_2O_2 ملاحظه نشد که با افزایش مشاهده شده در فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز هماهنگ نبود. نتایج مطالعه حاضر نشان داد که آبیاری گیاهان با آب چشمه سبب افزایش معنی‌دار فعالیت کاتالاز و آسکوربات پراکسیداز شد که نتیجه آن عدم‌افزایش غلظت H_2O_2 در گیاهان بود. آنزیم کاتالاز یک آنزیم آنتی‌اکسیدان است که در تجزیه H_2O_2 به آب و O_2 بدون نیاز به رداکتانت‌ها به‌عنوان منابع انرژی نقش دارد. آنزیم آسکوربات پراکسیداز در سیکل آسکوربات - گلوتاتیون آنزیمی بسیار مهم است که احیا H_2O_2 به آب را با قدرت احیاکنندگی آسکوربات کاتالیز می‌کند (Gupta et al., 2018). عناصر پتاسیم، کلسیم، منیزیم و سیلیس با افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان در شرایط تنش سبب جلوگیری از تجمع رادیکال‌های آزاد اکسیژن و تنش اکسیداتیو می‌شوند (Al-aghabary et al., 2005; Jaleel et al., 2008; Farhat et al., 2016; Abbasi et al., 2016). بنابراین یک همبستگی منفی بین القا فعالیت کاتالاز و آسکوربات پراکسیداز در گیاهان آبیاری‌شده با آب چشمه و عدم‌افزایش H_2O_2 مشاهده شد.

2016; Khan *et al.*, 2013; Jaleel *et al.*, 2008; Farhat *et al.*, 2016) که موافق با نتایج مطالعه حاضر است.

به طور کلی آب چشمه معدنی گراب به دلیل غلظت بالای سدیم و گوگرد جزء چشمه‌های گوگردی شور محسوب می‌شود. بررسی اثرات آبیاری گیاه گندم با آب چشمه معدنی گراب حاکی از بهبود شاخص‌های رشد، فلورسانس کلروفیل‌ها، محتوی کلروفیل‌ها، فرایند فتوسنتز، میزان کربوهیدرات‌ها، آنتی‌اکسیدان‌های غیرآنژیمی (فنل‌ها، فلاونوئیدها، آنتوسیانین‌ها، پرولین و آلفاتوکوفرول) و آنژیمی (سوپراکسید دسموتاز، کاتالاز و آسکوربات پراکسیداز) و پروتئین‌ها و در نتیجه حذف رادیکال‌های آزاد اکسیژن و ممانعت از آسیب به غشاهای سلولی و در نتیجه رشد گیاه برخلاف غلظت بالای سدیم بود. فراوانی عناصر مغذی گوگرد، پتاسیم، کلسیم، منیزیم و سیلیس در آب چشمه می‌تواند دلیل بازدارندگی اثرات تنش شوری بر گیاهان آبیاری‌شده با آب چشمه باشد. نتایج این آزمایش زمینه را برای مطالعات بیشتر در زمینه استفاده از منابع چشمه‌های آب معدنی به‌عنوان منابع آبی جدید به‌منظور آبیاری گیاهان زراعی فراهم نمود که نیاز به مطالعات بیشتر بر روی محصول‌دهی گیاهان دارد تا بتوان به یک نتیجه قطعی دست یافت. همچنین نتایج این آزمایش تأیید نمود که سنجش شاخص‌های فلورسانس کلروفیل‌ها و فتوسنتز در گیاهان سالم ابزارهای توانمندی جهت پیش‌بینی عملکرد گیاه در پاسخ به شرایط محیطی هستند.

گیاهان دارد که سبب افزایش مقاومت گیاهان به تنش‌های محیطی می‌شود (Verma *et al.*, 2015). بنابراین وجود عناصر مفید در آب چشمه گراب می‌تواند دلیل افزایش آنتی‌اکسیدان‌های آنژیمی و غیرآنژیمی در گیاه گندم آبیاری‌شده با آب چشمه باشد.

در گیاهان آبیاری‌شده با رقت‌های مختلف آب چشمه گراب میزان کربوهیدرات‌ها افزایش معنی‌داری نشان داد که حاصل افزایش فعالیت فتوسنتزی گیاهان است. گیاهان در تنش‌های محیطی از قبیل خشکی و شوری با ذخیره مواد تنظیم‌کننده اسمزی با این تنش‌ها مقابله می‌کنند. مواد تنظیم‌کننده اسمزی بیشتر شامل اسیدهای آمینه، قندها برخی یون‌های معدنی و پروتئین‌ها هستند (Liu *et al.*, 2000). گیاهان تحت شرایط تنش اسمزی از طریق سنتز و انباشت پرولین در سیتوزول به تنظیم فشار اسمزی ناشی از افزایش بیش از حد یون‌های سمی (Na^+ و Cl^-) کمک می‌کنند (Munns *et al.*, 2016). محتوی پرولین در گیاهان گندم تحت آبیاری آب چشمه گراب افزایش معنی‌داری نشان داد که می‌تواند جهت تنظیم اسمزی در پاسخ به غلظت‌های بالای سدیم آب باشد. میزان پروتئین‌ها نیز در پاسخ به آبیاری گیاهان با آب چشمه گراب افزایش معنی‌داری نشان داد که در تنظیم اسمزی نقش مهمی دارد. عناصر گوگرد، کلسیم، پتاسیم، منیزیم و سیلیس سبب افزایش بیوسنتز و تجمع ترکیبات سازگار اسمزی در پاسخ به تنش شوری می‌شوند (Abbasi *et al.*,

منابع

- کافی، م، نباتی، ج، زارع مهرجردی، م، گلدانی، م، خانی نژاد، س، کشمیری، ا، و نوروزیان، ع. (۱۳۹۱) بررسی اثرات بهبود دهندگی کلسیم و پتاسیم بر خصوصیات فیزیولوژیک کوشیا (*Kochia scoparia*) تحت تنش شوری. مجله تنش‌های محیطی در علوم زراعی ۵: ۱۹۲-۱۸۱.
- بوسلیک، ز، کلانتری، ن، چرچی، ع. و احمدنژاد، ز. (۱۳۹۱) بررسی اثرات شوری چشمه‌های گوگردی دالکی بر خاک و محصولات کشاورزی منطقه دالکی. مجله ژئوشیمی ۱: ۱۰۷-۱۱۶.
- Abbasi, H., Jamil, M., Haq, A., Ali, S., Ahmad, R. and Malik, Z. (2016) Salt stress manifestation on plants, mechanism of salt tolerance and potassium role in alleviating it: a review. *Zemdirbyste-Agriculture* 103: 229-238.
- Aebi, H. (1984) Catalase in vitro. *Methods in Enzymology* 105: 121-126.
- Al-aghabary, K., Zhu, Z. and Shi, Q. (2005) Influence of silicon supply on chlorophyll content, chlorophyll fluorescence, and antioxidative enzyme activities in tomato plants under salt stress. *Journal of Plant Nutrition* 27: 2101-2115.

- Anjum, N. A., Sofu, A., Scopa, A., Roychoudhury, A., Gill, S. S., Iqbal, M., Lukatkin, A. S., Pereira, E., Duarte, A. C. and Ahmad, I. (2015) Lipids and proteins-major targets of oxidative modifications in abiotic stressed plants. *Environmental Science and Pollution Research* 22: 4099-4121.
- Arjenaki, F. G., Jabbari, R. and Morshedi, A. (2012) Evaluation of drought stress on relative water content, chlorophyll content and mineral elements of wheat (*Triticum aestivum* L.) varieties. *International Journal of Agriculture and Crop Sciences* 4: 726-729.
- Asada, K. (1992) Ascorbate peroxidase—a hydrogen peroxide-scavenging enzyme in plants. *Physiologia Plantarum* 85: 235-241.
- Baker, H., Frank, O., De Angelis, B. and Feingold, S. (1980) Plasma tocopherol in man at various times after ingesting free or acetylated tocopherol. *Nutrition Reports International* 21: 531-536.
- Bates, L., Waldren, R. and Teare, I. (1973) Rapid determination of free proline for water-stress studies. *Plant and Soil* 39: 205-207.
- Beauchamp, C. and Fridovich, I. (1971) Superoxide dismutase: improved assays and an assay applicable to acrylamide gels. *Analytical Biochemistry* 44: 276-287.
- Benzie, I. F. and Strain, J. J. (1996) The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of “antioxidant power”: the FRAP assay. *Analytical Biochemistry* 239: 70-76.
- Bongaarts, J. (2009) Human population growth and the demographic transition. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences* 364: 2985-2990.
- Bradford, M. M. (1976) A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Analytical Biochemistry* 72: 248-254.
- Cakmak, I. and Yazici, A. M. (2010) Magnesium: a forgotten element in crop production. *Better Crops* 94: 23-25.
- Chang, C. C., Yang, M. H., Wen, H. M. and Chern, J. C. (2002) Estimation of total flavonoid content in propolis by two complementary colorimetric methods. *Journal of Food and Drug Analysis* 10: 178-182.
- Din, C., Mehdi, S., Sarfraz, M., Hassan, G. and Sadiq, M. (2001) Comparative efficiency of foliar and soil application of K on salt tolerance in rice. *Pakistan Journal of Biological Sciences* 4: 815-817.
- DuBois, M., Gilles, K. A., Hamilton, J. K., Rebers, P. t. and Smith, F. (1956) Colorimetric method for determination of sugars and related substances. *Analytical Chemistry* 28: 350-356.
- El-Lethy, S. R., Abdelhamid, M. T. and Reda, F. (2013) Effect of potassium application on wheat (*Triticum aestivum* L.) cultivars grown under salinity stress. *World Applied Science Journal* 26: 840-850.
- FAO. (2014) FAO statistical yearbook: World food and agriculture. FAO.
- Farhat, N., Elkhouni, A., Zorrig, W., Smaoui, A., Abdelly, C. and Rabhi, M. (2016) Effects of magnesium deficiency on photosynthesis and carbohydrate partitioning. *Acta Physiologiae Plantarum* 38: 145-154.
- Fatma, M., Asgher, M., Masood, A. and Khan, N. A. (2014) Excess sulfur supplementation improves photosynthesis and growth in mustard under salt stress through increased production of glutathione. *Environmental and Experimental Botany* 107: 55-63.
- Frary, A., Gol, D., Keles, D., Okmen, B., Pinar, H., Sıgva, H. O., Yemencioğlu, A. and Doganlar, S. (2010) Salt tolerance in *Solanum pennellii*: antioxidant response and related QTL. *BMC Plant Biology* 10: 58-71.
- Gamage, D., Thompson, M., Sutherland, M., Hirotsu, N., Makino, A. and Seneweera, S. (2018) New insights into the cellular mechanisms of plant growth at elevated atmospheric carbon dioxide concentrations. *Plant, Cell and Environment* 41: 1233-1246.
- Gupta, D. K., Palma, J. M. and Corpas, F. J. (2018) Antioxidants and Antioxidant Enzymes in Higher Plants. 1st Ed Springer International Publishing.
- Hajihashemi, S., Noedoost, F., Geuns, J. M. C., Djalovic, I. and Siddique, K. H. M. (2018) Effect of cold stress on photosynthetic traits, carbohydrates, morphology, and anatomy in nine cultivars of *Stevia rebaudiana*. *Frontiers in Plant Science* 9: 1-12.
- Hamed, K. B., Castagna, A., Salem, E., Ranieri, A. and Abdelly, C. (2007) Sea fennel (*Crithmum maritimum* L.) under salinity conditions: a comparison of leaf and root antioxidant responses. *Plant Growth Regulation* 53: 185-194.
- He, F., Mu, L., Yan, G. L., Liang, N. N., Pan, Q. H., Wang, J., Reeves, M. J. and Duan, C. Q. (2010) Biosynthesis of anthocyanins and their regulation in colored grapes. *Molecules* 15: 9057-9091.
- Heath, R. L. and Packer, L. (1968) Photoperoxidation in isolated chloroplasts: I. Kinetics and stoichiometry of fatty acid peroxidation. *Archives of Biochemistry and Biophysics* 125: 189-198.
- Hochmal, A. K., Schulze, S., Trompelt, K. and Hippler, M. (2015) Calcium-dependent regulation of photosynthesis. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Bioenergetics* 1847: 993-1003.
- Ibrahim, M., Jaafar, H., Karimi, E. and Ghasemzadeh, A. (2013) Impact of organic and inorganic fertilizers application on the phytochemical and antioxidant activity of Kacip Fatimah (*Labisia pumila* Benth). *Molecules* 18: 10973-10988.
- Jaleel, C. A., Kishorekumar, A., Manivannan, P., Saankar, B., Gomathinayagam, M. and Panneerselvam, R. (2008) Salt stress mitigation by calcium chloride in *Phyllanthus amarus*. *Acta Botanica Croatica* 67: 53-62.

- Kaya, C., Tuna, L. and Higgs, D. (2006) Effect of silicon on plant growth and mineral nutrition of maize grown under water-stress conditions. *Journal of Plant Nutrition* 29: 1469-1480.
- Khan, M. I. R., Asgher, M., Iqbal, N. and Khan, N. A. (2013) Potentiality of sulphur-containing compounds in salt stress tolerance. In *ecophysiology and responses of plants under salt stress*. In: *Ecophysiology and Responses of Plants under Salt Stress* (eds. Ahmad, P. and Prasad, M. N. V.) Pp. 443-472. Springer-Verlag, New York.
- Krause, G. and Weis, E. (1991) Chlorophyll fluorescence and photosynthesis: the basics. *Annual Review of Plant Biology* 42: 313-349.
- Liang, Y. (1999) Effects of silicon on enzyme activity and sodium, potassium and calcium concentration in barley under salt stress. *Plant and Soil* 209: 217-224.
- Liang, Y., Shen, Q., Shen, Z. and Ma, T. (1996) Effects of silicon on salinity tolerance of two barley cultivars. *Journal of Plant Nutrition* 19: 173-183.
- Liu, Q., Zhang, Y. and Chen, S. (2000) Plant protein kinase genes induced by drought, high salt and cold stresses. *Chinese Science Bulletin* 45: 1153-1157.
- Mancosu, N., Snyder, R. L., Kyriakakis, G. and Spano, D. (2015) Water scarcity and future challenges for food production. *Water* 7: 975-992.
- Marschner, H. (2011) *Marschner's Mineral Nutrition of Higher Plants*. Academic Press, New York.
- Mehta, P., Jajoo, A., Mathur, S. and Bharti, S. (2010) Chlorophyll a fluorescence study revealing effects of high salt stress on photosystem II in wheat leaves. *Plant Physiology and Biochemistry* 48: 16-20.
- Munns, R. (2002) Comparative physiology of salt and water stress. *Plant, Cell and Environment* 25: 239-250.
- Munns, R., James, R. A., Gilliham, M., Flowers, T. J. and Colmer, T. D. (2016) Tissue tolerance: an essential but elusive trait for salt-tolerant crops. *Functional Plant Biology* 43: 1103-1113.
- 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.
- O'Neill, P. M., Shanahan, J. F. and Schepers, J. S. (2006) Use of chlorophyll fluorescence assessments to differentiate corn hybrid response to variable water conditions. *Crop Science* 46: 681-687.
- Rais, L., Masood, A., Inam, A. and Khan, N. (2013) Sulfur and nitrogen co-ordinately improve photosynthetic efficiency, growth and proline accumulation in two cultivars of mustard under salt stress. *Journal of Plant Biochemistry and Physiology* 1: 1-6.
- Rizk, Z. S. and Alsharhan, A. S. (2003) Water resources in the United Arab Emirates. In *Developments in Water Science* 50: 245-264.
- Sharma, D. K., Andersen, S. B., Ottosen, C. O. and Rosenqvist, E. (2015) Wheat cultivars selected for high Fv/Fm under heat stress maintain high photosynthesis, total chlorophyll, stomatal conductance, transpiration and dry matter. *Physiologia Plantarum* 153: 284-298.
- Sharma, D. K., Fernandez, J. O., Rosenqvist, E., Ottosen, C. O. and Andersen, S. B. (2014) Genotypic response of detached leaves versus intact plants for chlorophyll fluorescence parameters under high temperature stress in wheat. *Journal of Plant Physiology* 171: 576-586.
- Singleton, V. and Rossi, J. A. (1965) Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. *American Journal of Enology and Viticulture* 16: 144-158.
- Stirbet, A., Lazar, D. and Kromdijk, J. (2018) Chlorophyll a fluorescence induction: Can just a one-second measurement be used to quantify abiotic stress responses? *Photosynthetica* 56 : 86-104.
- Taibi, K., Taibi, F., Abderrahim, L. A., Ennajah, A., Belkhdja, M. and Mulet, J. M. (2016) Effect of salt stress on growth, chlorophyll content, lipid peroxidation and antioxidant defence systems in *Phaseolus vulgaris* L. *South African Journal of Botany* 105: 306-312.
- Tuna, A. L., Kaya, C., Higgs, D., Murillo-Amador, B., Aydemir, S. and Girgin, A. R. (2008) Silicon improves salinity tolerance in wheat plants. *Environmental and Experimental Botany* 62: 10-16.
- Turan, M. A., Awad Elkarim, A. H., Taban, N. and Taban, S. (2009) Effect of salt stress on growth, stomatal resistance, proline and chlorophyll concentrations on maize plant. *African Journal of Agricultural Research* 4: 893-897.
- Velikova, V., Yordanov, I. and Edreva, A. (2000) Oxidative stress and some antioxidant systems in acid rain-treated bean plants: protective role of exogenous polyamines. *Plant Science* 151: 59-66.
- Verma, S., Sharma, A., Kumar, R., Kaur, C., Arora, A., Shah, R. and Nain, L. (2015) Improvement of antioxidant and defense properties of tomato (var. *Pusa Rohini*) by application of bioaugmented compost. *Saudi Journal of Biological Sciences* 22: 256-264.
- Wagner, G. J. (1979) Content and vacuole/extravacuole distribution of neutral sugars, free amino acids, and anthocyanin in protoplasts. *Plant Physiology* 64: 88-93.
- Wang, X. and Quinn, P. J. (2000) The location and function of vitamin E in membranes. *Molecular Membrane Biology* 17: 143-156.
- Zivcak, M., Brestic, M., Olsovska, K. and Slamka, P. (2008) Performance index as a sensitive indicator of water stress in *Triticum aestivum* L. *Plant Soil and Environment* 54: 133-139.

Zuccarini, P. (2008) Effects of silicon on photosynthesis, water relations and nutrient uptake of *Phaseolus vulgaris* under NaCl stress. *Biologia Plantarum* 52: 157-160.

The effect of Gorab mineral spring irrigation on photosynthesis, growth and physiology of wheat (*Triticum aestivum*): Dehdasht cultivar

Shokoofeh Hajhashemi*, Omolbanin Jahantigh, Fariba Noedoost

Plant Biology Department, Faculty of Science, Behbahan Khatam Alanbia University of Technology, Khuzestan, Iran

(Received: 15/07/2019, Accepted: 24/09/2019)

Abstract

The increasing need for new water resources has led to the use of mineral springs for the crop cultivation. In this study, the results of Gorab mineral water spring analysis showed high concentrations of sodium, sulfur, calcium, magnesium, potassium and silica elements, respectively. Consequently, water of Gorab spring is regarded as mineral spring. The wheat plant (Dehdasht cultivar) was irrigated with 0, 50% and 100% of Gorab mineral spring in a pot experiment with a completely randomized design for two months. Analysis of chlorophyll fluorescence (F_v/F_m and PI_{ABS}) and chlorophylls, at intervals of three days, showed that irrigation with Gorab spring caused a gradual and significant increase in them during 60 days. Irrigation with Gorab spring caused a significant increase in net photosynthesis and intracellular carbon dioxide, but it had no significant effect on water use efficiency. Increasing the amount of photosynthesis in response to Gorab spring irrigation led to an increase in carbohydrates and subsequently in plant growth parameters. The amount of phenols, flavonoids, anthocyanins, proline, proteins, α -tocopherol, total antioxidants capacity, and the activity of superoxide dismutase, catalase and ascorbate peroxidase significantly increased in Gorab spring-irrigated plants, while the amounts of hydrogen peroxide, membrane lipids peroxidation and membrane ion leakage did not show any significant difference. Based on the results of this study, it can be suggested that high concentrations of essential elements of sulfur, potassium, calcium, magnesium and silica in the Gorab spring increased the growth of wheat plant through increasing the osmotic compatible solutions and antioxidants, and the improvement of photosynthetic performance.

Key words: Antioxidants, Chlorophyll fluorescence, Minerals, Morphology