

بررسی اثر تنش شوری مربوط به نمک‌های مختلف موجود در خاک‌های ایران بر برخی پاسخ‌های فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی گیاه دارویی اسپند (*Peganum harmala* L.)

سودابه نظرپور، اعظم سلیمی* و سیده هانیه زیدی

گروه علوم گیاهی، دانشکده علوم زیستی، دانشگاه خوارزمی تهران، ایران

(تاریخ دریافت: ۱۳۹۹/۰۲/۲۲، تاریخ پذیرش نهایی: ۱۳۹۹/۰۵/۰۷)

چکیده

گیاه اسپند (*Peganum harmala* L.) به‌عنوان گیاه مقدسی است که خواص دارویی آن در نسخ و متون قدیمی طب سنتی مورد توجه بوده است. اینکه آیا این گیاه متحمل به شوری بوده و نسبت به نمک‌های موجود در خاک‌های ایران چه واکنشی دارد پرسش‌هایی است که در این پژوهش مورد بررسی قرار گرفته است. به این منظور ابتدا از مناطق مختلف یکی از رویشگاه‌های آن در استان کرمان، نمونه‌برداری خاک انجام و پس از آنالیز آن، چهار نمک کلرید سدیم (NaCl)، سولفات سدیم (Na_2SO_4)، کلرید منیزیم (MgCl_2) و سولفات منیزیم (MgSO_4) برای این پژوهش انتخاب شد. تیمارها شامل سه سطح شوری ۲۰۰، ۲۵۰ و ۳۰۰ میلی‌مول در لیتر از چهار نمک فوق، شاهد (شوری صفر) بود. برای ارزیابی مقاومت این گیاه، برخی پارامترهای فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی شامل غلظت رنگیزه‌های فتوسنتزی، میزان فعالیت آنزیم کاتالاز، مقدار پروتئین، مقدار پروتئین و کربوهیدرات محلول، در مرحله رویشی گیاه اندازه‌گیری شد. داده‌های به‌دست‌آمده، نشان‌دهنده افزایش مقدار پروتئین، مقدار پروتئین و فعالیت آنزیم کاتالاز در غلظت‌های بالای هر چهار نمک بود. کلروفیل‌ها، با افزایش سطح شوری کاهش معنی‌داری نشان دادند. مقدار کاروتنوئید و مقدار کربوهیدرات محلول در تیمارهای مختلف نتایج متفاوتی را بروز دادند. لذا در جمع‌بندی، با در نظر گرفتن پاسخ‌های فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی گیاه در مقابل سطوح مختلف تنش شوری و قدرت زنده‌مانی آن‌ها، می‌توان نتیجه گرفت که گیاه اسپند قادر به زیستن در خاک‌های شور واجد چهار نمک مورد آزمایش بوده و به شوری تا غلظت ۳۰۰ میلی‌مول در لیتر از هر نمک مقاوم است. بنابراین کاشت آن در مناطق حاشیه کویر با شوری‌های متفاوت پیشنهاد می‌شود.

کلمات کلیدی: اسپند (*Peganum harmala* L.)، تنش شوری، پروتئین، رنگیزه‌های فتوسنتزی، کاتالاز، کربوهیدرات و پروتئین محلول

مقدمه

ایران یک گونه آن با نام علمی *Peganum harmala* L. زندگی می‌کند و از این گونه در ایران دو واریته به نام‌های (Var. *Stenophyllum* Boiss.; Var. *Harmala*; Var. *Grandiflorum* Hadidi) گزارش شده است (اخسانی، ۱۳۷۱؛ مظفریان، ۱۳۳۲). گیاهان این سرده علفی چند ساله، پایا با ساقه‌های منشعب، فاقد کرک، به ارتفاع حداکثر ۱۰۰ سانتی‌متر، با برگ‌های متراکم،

سرده اسپند با نام علمی *Peganum harmala* L. متعلق به تیره قره‌داغیان (Nitrariaceae) است (Aslam et al., 2014). پیش‌تر این سرده را در تیره قیجیان (Zygophyllaceae) جای داده بودند. سرده اسپند دارای شش گونه است که در بخش‌های مختلف جهان پراکنده‌اند (Aslam et al., 2014). در

* نویسنده مسؤول، نشانی پست الکترونیکی: salimi@khu.ac.ir

مهم است که اثرات زیان‌باری بر عملکرد گیاه و کیفیت محصول، رشد، جذب عناصر معدنی، متابولیسم و فتوسنتز خصوصاً در شرایط آب‌وهوایی خشک و نیمه‌خشک دارد (Cabot *et al.*, 2014).

آسیب‌ها و صدمات ناشی از تنش شوری مربوط به سمیت یونی و نیز اثرات اسمزی آن‌هاست. گیاهان با برقراری ایزوستازی یونی (تعادل یونی) به مقابله با اثر سمیت یون‌ها می‌پردازند (Parida *et al.*, 2002; Borucki and Sujkowska, 2008; Parvaiz and Satyawati, 2008; Numan *et al.*, 2018). در مقابله با اثرات اسمزی نمک‌ها از مکانیسم تنظیم اسمزی استفاده می‌کنند و این عمل را با ساخت محلول‌های سازگار یا اسمولیت‌هایی مانند پرولین، گلیسین بتائین، کربوهیدرات‌های محلول، پروتئین‌ها، پلی‌اول‌ها و غیره انجام می‌دهند. در هر حال، پاسخ اسمزی گیاهان متناسب با نوع نمک، نمونه و ژنوتیپ گیاهی، مدت زمان تنش، شدت تنش، سن و مرحله تکوینی گیاه و نوع اندام متفاوت است (Parvaiz and Satyawati, 2008; Oliveira *et al.*, 2013). گونه‌های مختلف گیاهی در مقابله با تنش شوری، یک یا چند نوع از اسمولیت‌های فوق را انباشته می‌کنند. نوع اسمولیت شاخص در هر گونه، با اعمال تیمارهای شوری و سنجش کمی آن‌ها قابل تعیین است و به‌عنوان نشانه مولکولی مقاومت و تحمل در گیاه مورد مطالعه به حساب می‌آیند. در بین اسمولیت‌ها پرولین و کربوهیدرات‌های محلول به‌عنوان دو شاخص مولکولی و نشان‌دهنده مقاومت به تنش شوری در بسیاری از گیاهان مطرح هستند (Saiema *et al.*, 2013; Kaur and Asthir, 2015, 2018). Liang *et al.*, 2018). برخی از مطالعات انجام‌شده افزایش مقدار کربوهیدرات‌های محلول تحت تنش شوری نمک کلرید سدیم و سولفات سدیم (Amini and Ehsanpour, 2005; Llanes *et al.*, 2010; Parvaiz *et al.*, 2016) و برخی دیگر افزایش مقدار پرولین در شرایط تنش شوری حاصل از نمک کلرید سدیم، سولفات منیزیم، سولفات سدیم و کلرید منیزیم را گزارش کرده‌اند (Inal, 2002; Llanes *et al.*, 2010; Tushar *et al.*, 2012; Kumar *et al.*, 2015; Liang *et al.*, 2018; Zhao *et al.*, 2017).

ریشه خزننده، گل‌های زرد و سفید کم‌رنگ با پنج گلبرگ و پنج کاسبرگ می‌باشد و میوه این گیاه کپسول است (اخیانی، ۱۳۷۱؛ زرگری، ۱۳۷۵) دانه‌های قهوه‌ای رنگ آن در ایران با ارزش است و برای رفع چشم زخم آن را در آتش دود می‌کنند و در اکثر مناطق کشور ما از میوه‌های کپسول آن آویزه‌های هنری تهیه کرده و برای حفاظت از اثر سو اشعه چشم انسان‌ها، بر سر در منازل یا فروشگاه‌ها می‌آویزند.

گیاه اسپند علاوه بر مقدس بودن، از نظر دارویی، پزشکی و طب سنتی ارزشمند بوده و در صنایع آرایشی-بهداشتی نیز کاربرد دارد (Bukhari *et al.*, 2008; Asgarpanah and Ramezanloo, 2012; Li *et al.*, 2017). وجود برخی ترکیبات اولیه همچون اسیدهای چرب، اسیدهای آمینه ویژه و نیز ترکیبات ثانویه همچون فلاونوئیدها، آلکالوئیدها، روغن‌های فرار و آنتراکینون‌ها سبب به‌کارگیری آن در درمان بیماری‌های متعدد همچون آسم، مالاریا، سرطان خون، روماتیسم، بیماری‌های قلبی، کبد و ریه شده است (Li *et al.*, 2017). همچنین این گیاه دارای خواص ضدباکتریایی، ضدقارچی، ضدویروسی و ضدلیشمانیوز (leishmaniasis) است (Jiang and Huang, 2001; Mirzaie *et al.*, 2007; Darabpour *et al.*, 2011; Li *et al.*, 2017). به‌واسطه داشتن روغن و اسیدهای چرب در صنعت ساخت صابون، لوازم آرایشی و بهداشتی، روان‌کننده و نرم‌کننده در کشور مصر مورد استفاده قرار می‌گیرد (Tarek and Almaghrabi, 2016).

گیاه اسپند در بسیاری از نواحی بایر و حاشیه‌های کویر ایران می‌روید (زرگری، ۱۳۷۵). این گیاه توانایی خوبی در حفظ و ذخیره خاک دارد (Ahmed and Khan, 2010). همچنین گیاهی متحمل به خشکی بوده و می‌تواند طیف وسیعی از شرایط محیطی را تحمل کند (Aslam *et al.*, 2014) و در بازسازی اکوسیستم محلی نقش مهمی را ایفا می‌کند. در خاک‌های مناطق مذکور نمک‌های مختلفی همچون سولفات سدیم، سولفات منیزیم، کلرید منیزیم، کربنات سدیم و کلرید پتاسیم وجود دارد و به کلرید سدیم محدود نمی‌گردد. این نمک‌ها سبب ایجاد تنش شوری در گیاه اسپند و دیگر گیاهان مجاور آن می‌شود. تنش شوری از جمله تنش‌های غیرزیستی

نتایج حاصل از آنالیز خاک، چهار نوع نمک غالب NaCl، MgSO₄، MgCl₂، Na₂SO₄ برای تیمار شوری انتخاب شد.

کاشت گیاه: ابتدا بذرها از طبیعت جمع‌آوری و از بین آنها تعدادی بذر یکنواخت برای کاشت انتخاب شد.

بذرها در گلدان در شرایط طبیعی و در فضای باز براساس طرح کاملاً تصادفی کشت گردیدند. گلدان‌های با قطر ۲۰ سانتی‌متر انتخاب و با شن‌های شسته‌شده حاوی مقداری خاک باغچه پر شدند. بذرها در عمق ۱ سانتی‌متری از سطح خاک گلدان‌ها کاشته شد. آبیاری گلدان‌ها دو روز یکبار براساس ظرفیت زراعی صورت گرفت. هر کدام از تیمارهای نمک شامل NaCl، Na₂SO₄، MgCl₂ و MgSO₄ به‌طور جداگانه در چهار سطح صفر (شاهد)، ۲۰۰، ۲۵۰ و ۳۰۰ میلی‌مولار تهیه شد. آزمایش در قالب طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار در فضای باز تحقیقاتی در زیر سایبان در دانشگاه خوارزمی تهران در تابستان سال ۱۳۹۷ اجرا گردید. برای هر تیمار چند گلدان (حداقل ۳ گلدان) در نظر گرفته شد. بعد از گذشت ۴۵ روز از کشت گیاه، تیمار نمک‌های ذکر شده به‌مدت دو هفته بر گیاهان اعمال گردید طی این دو هفته گلدان‌های تحت تیمار به صورت یک روز در میان، با غلظت‌های تهیه‌شده از هر نمک در هنگام صبح آبیاری شد و جهت اعمال صحیح تیمارها و جلوگیری از تجمع نمک، گلدان‌ها هفته‌ای یکبار با آب مقطر آشوبی شده و طی اعمال تنش به گیاه به‌طور مرتب، هدایت الکتریکی (EC) آب خارج‌شده گلدان‌ها با دستگاه هدایت‌سنج الکتریکی مدل consort c1010T اندازه‌گیری شد. برای جلوگیری از شوک اسمزی به گیاه، ابتدا تیمار باغلظت‌های رقیق‌تر نمک‌ها (محلول ۱/۶، ۱/۴ و ۱/۲) شروع و سپس غلظت کامل از هر نمک به تدریج به گیاه اعمال شد. پس از دو ماه، برداشت گیاه برای آنالیزهای بیوشیمیایی انجام گرفت.

سنجش رنگیزه‌های فتوسنتزی: کلروفیل‌ها و کاروتنوئید با استفاده از استون ۸۰ درصد استخراج‌شده و توسط دستگاه اسپکتروفتومتر UV-Visible مدل Perkin Elmer در طول‌موج‌های ۶۴۶/۸، ۶۶۳/۲ و ۴۷۰ نانومتر خوانده شده و با استفاده از فرمول‌های زیر که توسط Lichtenthaler ارائه شده

در تنش‌های غیرزیستی، از جمله تنش شوری، تعادل در تولید رادیکال‌های آزاد و تولید آنتی‌اکسیدان‌ها (مکانیسم دفاعی) به‌هم خورده و با افزایش بیش از حد تولید (Reactive ROS (Oxygen Species، تنش ثانویه اکسیداتیو رخ می‌دهد و منجر به تغییرات سلولی و انواع آسیب‌های بحرانی نیز می‌گردد (Numan *et al.*, 2018; Zhu, 2001). گیاهان برای مقابله با تنش اکسیداتیو به تولید ترکیبات آنتی‌اکسیدان شامل کاروتنوئیدها، آسکوربات، گلوکاتینون، توکوفرول (tocopherol) (Saiema *et al.*, 2013) و آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان متعدد از جمله کاتالاز، سوپراکسید دیسموتاز، گلوکاتینون پراکسیداز و پراکسیداز (Saiema *et al.*, 2013) می‌پردازند. همان‌طور که در مورد اسمولیت‌ها هم بیان شد متناسب با نوع گیاه و نوع تنش، گیاهان تنش دیده ترکیبات آنتی‌اکسیدانی و آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان متفاوتی را می‌سازند و آنزیم کاتالاز یکی از نشانگرهای آنزیمی مناسب در این مقابله است (Aydin *et al.*, 2011; Reddy *et al.*, 2015; Parvaiz *et al.*, 2016; Kibria *et al.*, 2017).

در اکثر پژوهش‌های انجام‌شده در باب تنش شوری تمرکز بیشتر بر نمک کلرید سدیم است و این در حالی است که در زمین‌های شور انواعی از نمک‌های مختلف وجود دارد. هدف ما از این پژوهش در ابتدا آنالیز خاک چند منطقه از یک رویشگاه طبیعی گیاه اسپند، در استان کرمان و سپس بررسی اثرات چهار نمک غالب آن منطقه روی زنده‌مانی و برخی جنبه‌های فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی گیاه اسپند ایرانی است که برای اولین بار صورت می‌گیرد.

مواد و روش‌ها

نمونه‌برداری خاک و تجزیه آن: برای تعیین نوع نمک‌های موجود در منطقه بافت استان کرمان، سه نوع خاک از جایگاه‌های مختلف منطقه فوق تهیه و به آزمایشگاه خاکشناسی دانشگاه تهران واحد کرج منتقل شد. نمونه‌برداری خاک‌ها از عمق ۶۰ سانتی‌متری خاک صورت گرفت. ویژگی‌های شیمیایی و میزان املاح نمکی سه نوع خاک اندازه‌گیری گردید. براساس

نانومتر با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر UV-Visible مدل Perkin Elmer اندازه‌گیری شد. فعالیت آنزیمی برحسب تغییرات جذب در دقیقه به‌ازای هر میلی‌گرم پروتئین بیان گردید.

سنجش پروتئین: سنجش غلظت پروتئین محلول براساس روش Bradford درطول موج ۵۹۵ نانومتر انجام گردید (Bradford, 1976). در ابتدا منحنی استاندارد پروتئین آلبومین رسم گردید. غلظت پروتئین با استفاده از معادله خط منحنی استاندارد ($y=2.2341x-0.0021$) بر مبنای میلی‌گرم پروتئین بر گرم وزن تر ماده بیان گردید.

تجزیه و تحلیل آماری با نرم‌افزار SPSS 22 و از آزمون یک عاملی ANOVA و تست آماری دانکن برای تعیین معنی‌داری درون و بین گروه‌ها استفاده گردید. سطح معنی‌داری اختلاف میان گروه‌ها برای همه آزمون‌ها ۰/۰۵ (۵ درصد) در نظر گرفته شد. همچنین برای تعیین ضریب همبستگی، از آزمون همبستگی پیرسون (Pearson) استفاده شد.

نتایج

تأثیر سطوح مختلف نمک‌های مورد آزمایش بر رنگی‌های فتوسنتزی: نتایج حاصل از تیمار نمک NaCl در تمامی سطوح نشان داد که مقدار رنگی‌های کلروفیل a، کلروفیل b، کلروفیل کل و کاروتنوئید نسبت به گیاه شاهد به‌طور معنی‌داری کاهش یافته و بیشترین کاهش مقدار کلروفیل مربوط به تیمار با غلظت ۳۰۰ میلی‌مولار است (شکل ۱). نتایج به‌دست‌آمده از آزمون همبستگی پیرسون (Pearson) نشان داد که بین غلظت‌های نمک NaCl با پارامترهای کلروفیل a، کلروفیل b، کلروفیل کل همبستگی منفی (ضرایب همبستگی به‌ترتیب ۰/۴۶۳، -۰/۳۴۷ و -۰/۴۳۹) و با کاروتنوئید همبستگی مثبت با ضریب همبستگی ۰/۰۳۱+ وجود دارد.

نتایج به‌دست‌آمده از تجزیه واریانس، در مقایسه میان سطوح مختلف تیمار Na_2SO_4 ، غلظت رنگی‌های کلروفیل a، کلروفیل b و کلروفیل کل نسبت به نمونه شاهد، کاهش معنی‌داری را نشان داد، اما مقدار کاروتنوئید نسبت به نمونه

است محاسبه گردید (Lichenthaler, 1987). نتایج نهایی براساس میلی‌گرم در گرم وزن تر برگ ارائه گردید.

$$\text{Chla (mg.ml}^{-1}\text{)} = 12.25 \times \text{A663.2} - 2.79 \times \text{A646.8}$$

$$\text{Chlb (mg. ml}^{-1}\text{)} = 21.51 \times \text{A646.8} - 5.1 \times \text{A663.2}$$

$$\text{ChlTotal (mg. ml}^{-1}\text{)} = \text{Chla} + \text{Chlb}$$

$$\text{Car (mg.ml}^{-1}\text{)} = (1000 \times \text{A470} - 1.8\text{chla}-85.02 \text{ chlb})/198$$

سنجش کربوهیدرات محلول: ۰/۰۱ گرم برگ‌های خشک

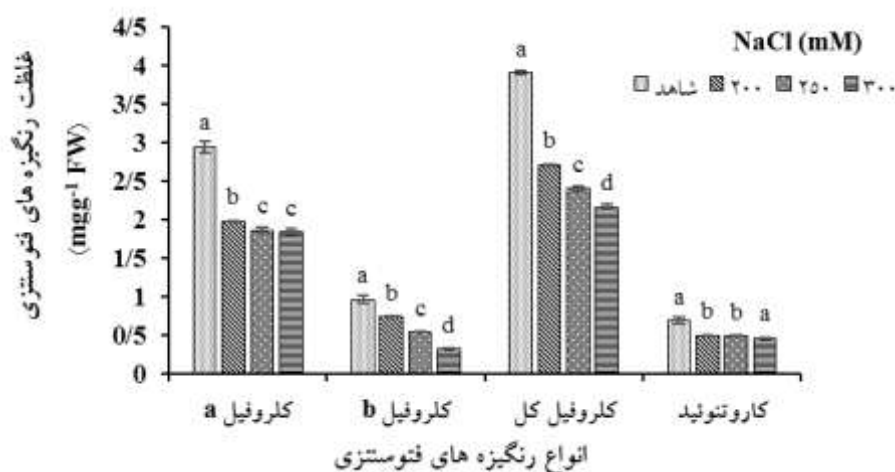
گیاه در ۳ میلی‌لیتر آب مقطر عصاره‌گیری شد سپس با اضافه کردن ۰/۵ میلی‌لیتر فنل ۵ درصد و ۲/۵ میلی‌لیتر اسید سولفوریک ۹۸ درصد به ۰/۵ میلی‌لیتر از محلول صاف‌شده همگن، بعد از ۱۰ دقیقه ایستایی محلول در شرایط آزمایشگاه، جذب هر یک از نمونه‌ها در طول موج ۴۹۰ نانومتر توسط دستگاه اسپکتروفتومتر UV-Visible مدل Perkin Elmer ثبت شد. غلظت قند محلول با استفاده از معادله خط منحنی استاندارد گلوکز ($y=17/142x-24/286$)، برحسب میلی‌گرم در گرم وزن خشک نمونه بافت گیاهی محاسبه و ارائه گردید (Dubois et al., 1956).

سنجش پرولین: برای استخراج و سنجش پرولین از روش

Bates و همکاران (۱۹۷۳) استفاده شد. ۰/۵ گرم از برگ تازه برگ در ۱۰ میلی‌لیتر اسید سولفوسالیسیلیک ۳ درصد کاملاً ساییده شده تا همگن شود و پس از سانتریفیوژ ۲ میلی‌لیتر از محلول رویی با ۲ میلی‌لیتر معرف نین‌هیدرین و ۲ میلی‌لیتر اسید استیک خالص مخلوط و به‌مدت یک ساعت حمام آب‌گرم ۱۰۰ درجه‌سانتی‌گراد قرار گرفتند. مخلوط واکنش به کمک ۴ میلی‌لیتر تولوئن جدا شده و با اسپکتروفتومتر UV-Visible مدل Perkin Elmer در طول موج ۵۲۰ نانومتر خوانده شد. نتایج حاصل از اندازه‌گیری مقدار پرولین با استفاده از معادله خط منحنی استاندارد ($y=0.0073x-0.0175$) تعیین و بر حسب میکرومول بر گرم وزن تر محاسبه و ارائه گردید.

سنجش آنزیم کاتالاز: سنجش فعالیت کاتالاز براساس

روش Dhindsa و همکاران (۱۹۸۱) صورت گرفت. با اضافه کردن آب اکسیژنه به مخلوط واکنش شامل ۲۸۰۰ میکرولیتر بافر فسفات پتاسیم ۵۰ میلی‌مولار با $\text{pH}=7$ ، ۱۰۰ میکرولیتر آب اکسیژنه ۱۵ میلی‌مولار و ۱۰۰ میکرولیتر عصاره آنزیمی، کاهش جذب آب اکسیژنه در مدت ۱۸۰ ثانیه در طول موج ۲۴۰



شکل ۱- تأثیر تیمار غلظت‌های مختلف NaCl (شاهد یا صفر، ۲۰۰، ۲۵۰ و ۳۰۰ میلی‌مولار) بر غلظت رنگیزه‌های فتوسنتزی (کلروفیل a، کلروفیل b، کلروفیل کل و محتوای کاروتنوئید) برحسب میلی‌گرم بر گرم وزن تر، در گیاه اسپند. حروف متفاوت قرار گرفته روی ستون‌ها براساس تست آماری دانکن نشان‌دهنده تفاوت معنی‌دار در سطح ۰/۰۵ است.

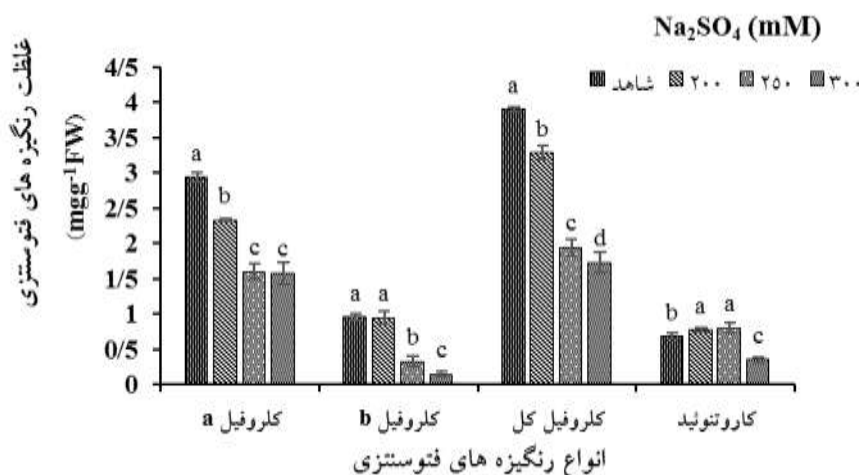
منفی (ضرایب همبستگی به ترتیب ۰/۵۲۷-، ۰/۹۰۴- و ۰/۶۷۸-) و با کاروتنوئید همبستگی مثبت با ضریب همبستگی ۰/۸۰۳+ وجود دارد.

نتایج به‌دست‌آمده از تجزیه واریانس، در مقایسه در سطوح مختلف تیمار نمک $MgSO_4$ ، مقادیر رنگیزه‌های فتوسنتزی کلروفیل a، کلروفیل b و کلروفیل کل در نمونه‌ها نسبت به شاهد کاهش معنی‌داری را نشان داد. مقدار کاروتنوئید تحت تیمار با سطوح مختلف این نمک نسبت به نمونه شاهد، افزایش معنی‌داری را نشان داد و بیشترین افزایش مقدار کاروتنوئید در غلظت ۲۰۰ میلی‌مولار مشاهده شد (شکل ۴). نتایج به‌دست‌آمده از آزمون همبستگی پیرسون (Pearson) نشان داد که بین غلظت‌های نمک $MgSO_4$ با پارامترهای کلروفیل a، کلروفیل b و کلروفیل کل همبستگی منفی (ضرایب همبستگی به ترتیب ۰/۸۷۲-، ۰/۸۷۸- و ۰/۹۶۲-) و با کاروتنوئید همبستگی مثبت با ضریب همبستگی ۰/۱۷۱+ وجود دارد.

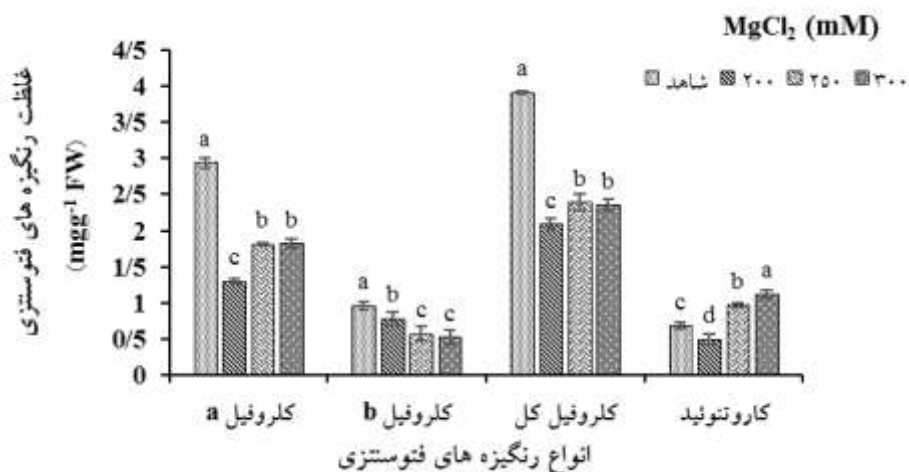
مقایسه تأثیر سطوح مختلف نمک‌های متفاوت بر محتوای کلروفیل کل و کاروتنوئید: در مقایسه تأثیر هر کدام از چهار نمک NaCl، Na_2SO_4 ، $MgCl_2$ و $MgSO_4$ بر محتوای کلروفیل کل در سطوح ۲۰۰، ۲۵۰ و ۳۰۰ میلی‌مولار نسبت به

شاهد ابتدا در غلظت ۲۰۰ و ۲۵۰ افزایش و سپس در غلظت ۳۰۰ میلی‌مولار کاهش یافت. بیشترین کاهش مقدار کلروفیل a، کلروفیل b و کلروفیل کل در غلظت ۳۰۰ میلی‌مولار مشاهده شد و تمامی نتایج معنی‌دار بود (شکل ۲). نتایج به‌دست‌آمده از آزمون همبستگی پیرسون (Pearson) نشان داد که بین غلظت‌های نمک Na_2SO_4 با پارامترهای کلروفیل a، کلروفیل b، کلروفیل کل و کاروتنوئید همبستگی منفی وجود دارد. ضرایب همبستگی به ترتیب ۰/۹۴۲-، ۰/۹۲۹-، ۰/۸۷۸- و ۰/۵۹۴- است.

نتایج به‌دست‌آمده از تجزیه واریانس، در تمامی سطوح مورد مقایسه، مقادیر رنگیزه‌های فتوسنتزی کلروفیل a، کلروفیل b و کلروفیل کل در نمونه‌ها با تیمار نمک $MgCl_2$ در مقایسه با نمونه شاهد کاهش معنی‌داری را نشان داد اما مقدار کاروتنوئید نسبت به نمونه شاهد به‌طور معنی‌داری افزایش یافت. بیشترین کاهش مقدار کلروفیل a و کلروفیل کل در غلظت ۲۰۰ میلی‌مولار مشاهده شد. مقدار کاروتنوئید ابتدا در غلظت ۲۰۰ کاهش و در غلظت‌های ۲۵۰ و ۳۰۰ میلی‌مولار افزایش یافت (شکل ۳). نتایج به‌دست‌آمده از آزمون همبستگی پیرسون (Pearson) نشان داد که بین غلظت‌های نمک $MgCl_2$ با پارامترهای کلروفیل a، کلروفیل b و کلروفیل کل همبستگی



شکل ۲- تأثیر تیمار غلظت‌های مختلف Na_2SO_4 (شاهد یا صفر، ۲۰۰، ۲۵۰، ۳۰۰ میلی‌مولار) بر غلظت رنگیزه‌های فتوستتزی (کلروفیل a، کلروفیل b، کلروفیل کل و محتوای کاروتنوئید) بر حسب میلی‌گرم بر گرم وزن تر، در گیاه اسپند. حروف متفاوت قرار گرفته روی ستون‌ها براساس تست آماری دانکن نشان‌دهنده تفاوت معنی‌دار در سطح ۰/۰۵ است.



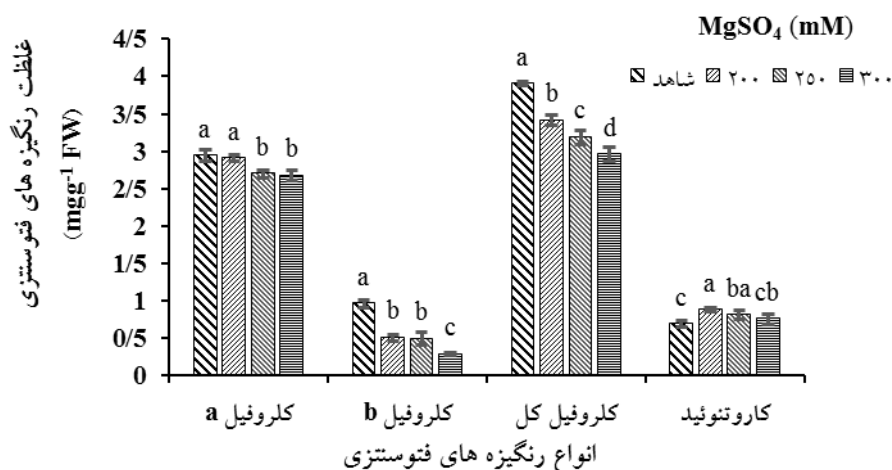
شکل ۳- تأثیر تیمار غلظت‌های مختلف MgCl_2 (شاهد یا صفر، ۲۰۰، ۲۵۰، ۳۰۰ میلی‌مولار) بر غلظت رنگیزه‌های فتوستتزی (کلروفیل a، کلروفیل b، کلروفیل کل و محتوای کاروتنوئید) بر حسب میلی‌گرم بر گرم وزن تر، در گیاه اسپند. حروف متفاوت قرار گرفته روی ستون‌ها براساس تست آماری دانکن نشان‌دهنده تفاوت معنی‌دار در سطح ۰/۰۵ است.

۵ درصد معنی‌دار است.

همچنین در مقایسه تأثیر هر کدام از چهار نمک NaCl ، Na_2SO_4 ، MgCl_2 و MgSO_4 بر محتوای کاروتنوئید در سطح ۲۰۰ میلی‌مولار نسبت به نمونه شاهد دو نمک NaCl و MgCl_2 باعث کاهش و دو نمک Na_2SO_4 و MgSO_4 باعث افزایش میزان کاروتنوئید شده‌اند. در سطح ۲۵۰ میلی‌مولار نمک NaCl باعث کاهش و نمک‌های Na_2SO_4 ، MgCl_2 و

نمونه شاهد بیشترین تأثیر به ترتیب مربوط به نمک‌های MgCl_2 و Na_2SO_4 است که موجب کاهش کلروفیل کل شده است.

در مقایسه بین تأثیر تیمارهای مختلف در سطوح مختلف بر مقدار کلروفیل کل، مشاهده شد که در سطوح ۲۰۰ و ۳۰۰ میلی‌مولار تأثیر هر چهار نوع تیمار با هم متفاوت است اما در سطح ۲۵۰ میلی‌مولار شباهت تأثیر دو تیمار NaCl و MgCl_2 مشاهده شد. همچنین تفاوت مشاهده‌شده بین تیمارها در سطح



شکل ۴- تأثیر غلظت‌های مختلف $MgSO_4$ (شاهد یا صفر، ۲۰۰، ۲۵۰ و ۳۰۰ میلی‌مولار) بر غلظت رنگیزه‌های فتوسنتزی (کلروفیل a، کلروفیل b، کلروفیل کل و محتوای کاروتنوئید) بر حسب میلی‌گرم بر گرم وزن تر، در گیاه اسپند. حروف متفاوت قرار گرفته روی ستون‌ها براساس تست آماری دانکن نشان‌دهنده تفاوت معنی‌دار در سطح ۰/۰۵ است.

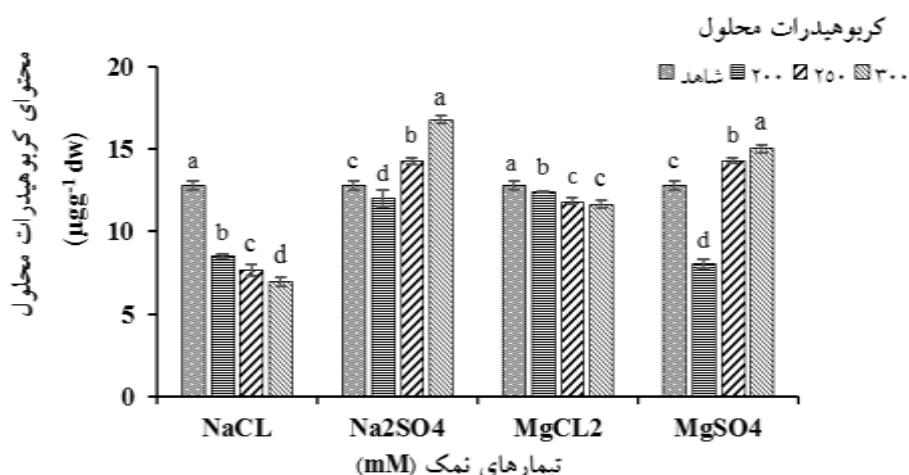
جدول ۱- نتایج به‌دست‌آمده از آنالیز آماری مقایسه بین گروهی سطوح مختلف نمک‌های کلرید سدیم، سولفات سدیم، کلرید منیزیم و سولفات منیزیم بر محتوای کلروفیل کل و کاروتنوئید

انواع تیمارها					غلظت‌ها	صفات
Control	$MgSO_4$	$MgCl_2$	Na_2SO_4	NaCl	(mM)	
$3/905 \pm 0/020^a$	$3/415 \pm 0/078^b$	$2/090 \pm 0/079^c$	$3/284 \pm 0/100^c$	$2/710 \pm 0/008^d$	۲۰۰	کلروفیل کل ($mg\ g^{-1}FW$)
$3/905 \pm 0/020^a$	$3/188 \pm 0/100^b$	$2/391 \pm 0/116^c$	$1/945 \pm 0/124^d$	$2/401 \pm 0/034^c$	۲۵۰	
$3/905 \pm 0/020^a$	$2/961 \pm 0/098^b$	$2/356 \pm 0/085^c$	$1/736 \pm 0/144^e$	$2/163 \pm 0/027^d$	۳۰۰	
$0/789 \pm 0/049^c$	$0/879 \pm 0/018^a$	$0/498 \pm 0/075^d$	$0/781 \pm 0/027^b$	$0/494 \pm 0/008^d$	۲۰۰	کاروتنوئید ($mg\ g^{-1}FW$)
$0/789 \pm 0/049^c$	$0/812 \pm 0/056^b$	$0/971 \pm 0/029^a$	$0/803 \pm 0/069^b$	$0/487 \pm 0/008^d$	۲۵۰	
$0/789 \pm 0/049^b$	$0/753 \pm 0/065^b$	$1/120 \pm 0/058^a$	$0/359 \pm 0/036^d$	$0/460 \pm 0/007^c$	۳۰۰	

حروف مشترک فاقد اختلاف معنی‌دار در سطح ۵ درصد آماری است.

کربوهیدرات محلول: نتایج به‌دست‌آمده از تجزیه واریانس مقدار کربوهیدرات محلول تحت تأثیر سطوح مختلف تیمار دو نمک کلرید سدیم و کلرید منیزیم نسبت به نمونه شاهد کاهش معنی‌داری را نشان داد و تأثیر نمک کلرید سدیم نسبت به کلرید منیزیم روی مقدار کربوهیدرات محلول بیشتر بود. در مقایسه میان سطوح مختلف تیمار دو نمک سولفات سدیم و سولفات منیزیم مقدار کربوهیدرات محلول به‌طور معنی‌داری نسبت به نمونه شاهد ابتدا کاهش و سپس افزایش نشان داد به‌طوری‌که در غلظت ۲۰۰ میلی‌مولار کاهش و در

$MgSO_4$ باعث افزایش میزان کاروتنوئید شده‌اند که بیشترین تأثیر مربوط به نمک $MgCl_2$ است. در سطح ۳۰۰ میلی‌مولار دو نمک NaCl و Na_2SO_4 باعث کاهش و دو نمک $MgCl_2$ و $MgSO_4$ باعث افزایش میزان کاروتنوئید شده‌اند (جدول ۱). در مقایسه بین تأثیر تیمارهای مختلف در سطوح مختلف بر مقدار کاروتنوئید، شباهت تأثیر دو تیمار NaCl و $MgCl_2$ در سطح ۲۰۰ میلی‌مولار، شباهت تأثیر دو تیمار Na_2SO_4 و $MgSO_4$ در سطح ۲۵۰ میلی‌مولار مشاهده گردید. همچنین تفاوت مشاهده شده بین تیمارها در سطح ۵ درصد معنی‌دار است.



شکل ۵- تأثیر غلظت‌های مختلف نمک‌های MgCl_2 و MgSO_4 ، Na_2SO_4 ، NaCl (شاهد یا صفر، ۲۰۰، ۲۵۰ و ۳۰۰ میلی‌مولار) بر محتوای کربوهیدرات محلول بر حسب میکروگرم بر گرم وزن خشک. حروف متفاوت قرار گرفته روی ستون‌ها براساس تست آماری دانکن نشان‌دهنده تفاوت معنی‌دار در سطح ۰/۰۵ است.

جدول ۲- نتایج به‌دست‌آمده از آنالیز آماری مقایسه بین گروهی سطوح مختلف نمک‌های کلرید سدیم، سولفات سدیم، کلرید منیزیم و سولفات منیزیم بر مقدار کربوهیدرات برگ گیاه اسپند

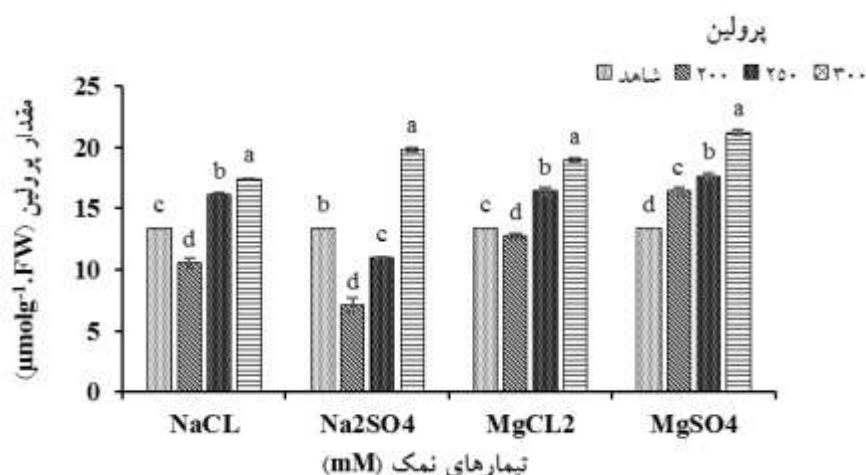
انواع تیمارها					غلظت‌ها		کربوهیدرات محلول ($\mu\text{g g}^{-1} \text{ dw}$)
Control	MgSO_4	MgCl_2	Na_2SO_4	NaCl	(mM)		
$12/812 \pm 0/259^a$	$8/036 \pm 0/253^c$	$12/408 \pm 0/036^{ab}$	$12/036 \pm 0/504^b$	$8/504 \pm 0/112^c$	۲۰۰		
$12/812 \pm 0/259^b$	$14/312 \pm 0/143^a$	$11/834 \pm 0/019^c$	$14/259 \pm 0/209^a$	$7/653 \pm 0/345^d$	۲۵۰		
$12/812 \pm 0/259^c$	$15/025 \pm 0/221^b$	$11/642 \pm 0/221^d$	$16/791 \pm 0/257^a$	$6/982 \pm 0/261^e$	۳۰۰		

حروف مشترک فاقد اختلاف معنی‌دار در سطح ۵ درصد آماری است.

نمک‌های MgSO_4 و Na_2SO_4 است و بیشترین تأثیر در کاهش میزان کربوهیدرات محلول در هر سه غلظت ۲۰۰، ۲۵۰ و ۳۰۰ میلی‌مولار مربوط به نمک NaCl می‌باشد. همچنین نتایج حاصل از آنالیز آماری بین گروهی نشان می‌دهد که در سطح ۲۰۰ میلی‌مولار تأثیر دو تیمار NaCl و MgSO_4 ، دو تیمار MgCl_2 و Na_2SO_4 به هم شبیه است. در سطح ۲۵۰ میلی‌مولار Na_2SO_4 و MgSO_4 به هم شبیه است. در سطح ۳۰۰ میلی‌مولار تأثیر هر چهار نوع تیمار با هم متفاوت است و این تفاوت‌ها در سطح ۵ درصد معنی‌دار است.

پرویلین: با توجه به شکل ۶ و نتایج به‌دست‌آمده از تجزیه واریانس تأثیر سطوح مختلف تیمار نمک‌های NaCl ، Na_2SO_4 ، MgSO_4 و MgCl_2 بر مقدار پرویلین افزایش معنی‌داری را با

غلظت ۲۵۰ و ۳۰۰ میلی‌مولار نسبت به نمونه شاهد افزایش نشان داد (شکل ۵). نتایج به‌دست‌آمده از آزمون همبستگی پیرسون (Pearson) نشان داد که بین غلظت‌های نمک‌های NaCl و MgCl_2 با میزان کربوهیدرات محلول همبستگی منفی (ضرایب همبستگی به ترتیب $-0/666$ و $-0/929$) و بین غلظت‌های نمک‌های Na_2SO_4 و MgSO_4 با میزان کربوهیدرات محلول همبستگی مثبت (ضرایب همبستگی به ترتیب $+0/865$ و $+0/529$) وجود دارد. نتایج حاصل از آنالیز آماری بین گروهی، مقایسه سطوح مختلف نمک‌های متفاوت بر مقدار کربوهیدرات در جدول ۲ نشان داده شده است. نتایج نشان می‌دهد بیشترین تأثیر بر افزایش میزان کربوهیدرات محلول در غلظت ۲۰۰ و ۳۰۰ میلی‌مولار مربوط به



شکل ۶- تأثیر غلظت‌های مختلف نمک‌های NaCl ، Na_2SO_4 ، MgSO_4 و MgCl_2 (شاهد یا صفر، ۲۰۰، ۲۵۰ و ۳۰۰ میلی‌مولار) بر محتوای پرولین بر حسب میکرومول بر گرم وزن تر. حروف متفاوت قرار گرفته روی ستون‌ها براساس تست آماری دانکن نشان‌دهنده تفاوت معنی‌دار در سطح ۰/۰۵ است.

بین گروهی نشان می‌دهد که در سطح ۲۵۰ میلی‌مولار دو تیمار NaCl و MgCl_2 به هم شبیه است و در سطح ۳۰۰ میلی‌مولار تأثیر تیمارها با هم متفاوت است.

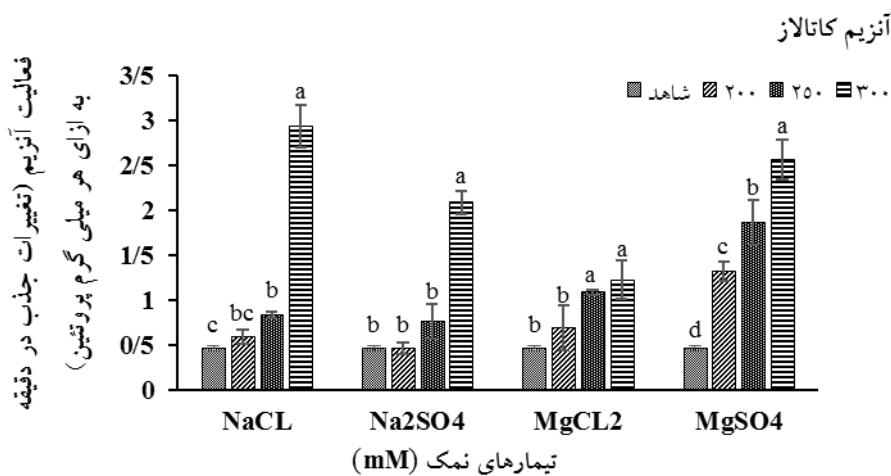
آنزیم کاتالاز: با توجه به نتایج به‌دست‌آمده از تجزیه واریانس مقدار فعالیت آنزیم کاتالاز در تمام سطوح مختلف تیمار نمک‌های NaCl ، Na_2SO_4 ، MgCl_2 و MgSO_4 نسبت به نمونه شاهد افزایش یافت. نمک MgSO_4 نسبت به سه نمک دیگر روی فعالیت آنزیم تأثیر بیشتری داشت، همچنین در سطح ۳۰۰ میلی‌مولار هر چهار نوع نمک تأثیر قابل توجهی روی فعالیت آنزیم داشتند (شکل ۷). نتایج به‌دست‌آمده از آزمون همبستگی پیرسون (Pearson) نشان داد که بین غلظت‌های نمک‌های NaCl ، MgCl_2 ، Na_2SO_4 و MgSO_4 با میزان آنزیم کاتالاز همبستگی مثبت وجود دارد. ضرایب همبستگی به ترتیب $+۰/۸۴۲$ ، $+۰/۸۱۵$ ، $+۰/۸۶۲$ و $+۰/۹۵۵$ است. نتایج حاصل از آنالیز آماری بین گروهی، مقایسه سطوح مختلف نمک‌های متفاوت بر مقدار فعالیت کاتالاز در جدول ۴ نشان داده شده است. نتایج نشان می‌دهد بیشترین تأثیر بر میزان فعالیت آنزیم کاتالاز در غلظت‌های ۲۵۰ و ۳۰۰ میلی‌مولار مربوط به نمک MgSO_4 و در غلظت ۲۰۰ میلی‌مولار مربوط به نمک NaCl است. همچنین نتایج حاصل از آنالیز آماری بین

افزایش غلظت نشان داد. نمک‌های سولفات نسبت به نمک‌های کلر تأثیر بیشتری بر مقدار پرولین در غلظت بالای نمک داشتند. در سطوح مختلف تیمار نمک‌های NaCl و MgCl_2 مقدار پرولین در غلظت ۲۰۰ کاهش و سپس در غلظت‌های ۲۵۰ و ۳۰۰ میلی‌مولار نسبت به نمونه شاهد افزایش یافت و در سطوح مختلف تیمار نمک Na_2SO_4 در غلظت ۲۰۰ و ۲۵۰ کاهش و در غلظت ۳۰۰ میلی‌مولار نسبت به گیاه شاهد افزایش یافت تحت تیمار نمک MgSO_4 در تمامی سطوح نسبت به نمونه شاهد مقدار پرولین به‌طور معنی‌داری افزایش یافت (شکل ۶). نتایج به‌دست‌آمده از آزمون همبستگی پیرسون (Pearson) نشان داد که بین غلظت‌های نمک‌های NaCl ، MgCl_2 ، Na_2SO_4 و MgSO_4 با میزان پرولین همبستگی مثبت وجود دارد. ضرایب همبستگی به ترتیب $+۰/۷۴۹$ ، $+۰/۵۶۶$ ، $+۰/۹۱۵$ و $+۰/۹۸۳$ است. نتایج حاصل از آنالیز آماری بین گروهی، مقایسه سطوح مختلف نمک‌های متفاوت بر مقدار پرولین در جدول ۳ نشان داده شده است. نتایج نشان می‌دهد بیشترین تأثیر بر افزایش میزان پرولین مربوط به نمک MgSO_4 در هر سه غلظت ۲۰۰، ۲۵۰ و ۳۰۰ میلی‌مولار است. در غلظت ۲۰۰ میلی‌مولار بیشترین تأثیر در کاهش میزان پرولین مربوط به نمک Na_2SO_4 می‌باشد. همچنین نتایج حاصل از آنالیز آماری

جدول ۳- نتایج به دست آمده از آنالیز آماری مقایسه بین گروهی سطوح مختلف نمک‌های کلرید سدیم، سولفات سدیم، کلرید منیزیم و سولفات منیزیم بر مقدار پرولین برگ گیاه اسپند

انواع تیمارها	غلظت‌ها					پرولین ($\mu\text{molg}^{-1}\text{FW}$)
	Control	MgSO ₄	MgCl ₂	Na ₂ SO ₄	NaCl	
	۱۳/۳۴۱±۰/۰۲۴ ^b	۱۶/۴۲۶±۰/۲۷۶ ^a	۱۲/۷۱۴±۰/۲۱۴ ^b	۷/۱۰۴±۰/۰۵۹۵ ^c	۱۰/۵۳۱±۰/۳۹۲ ^d	۲۰۰
	۱۳/۳۴۱±۰/۰۲۴ ^c	۱۷/۶۳۸±۰/۲۸۲ ^a	۱۶/۴۳۴±۰/۳۲۱ ^b	۱۱/۰۰۴±۰/۰۰۹ ^d	۱۶/۱۴۴±۰/۱۳۲ ^b	۲۵۰
	۱۳/۳۴۱±۰/۰۲۴ ^c	۲۱/۲۳۷±۰/۲۰۱ ^a	۱۹/۰۰۴±۰/۱۸۵ ^c	۱۹/۸۷۰±۰/۱۶۹ ^b	۱۷/۴۴۰±۰/۱۷۲ ^d	۳۰۰

حروف مشترک فاقد اختلاف معنی دار در سطح ۵ درصد آماری است.



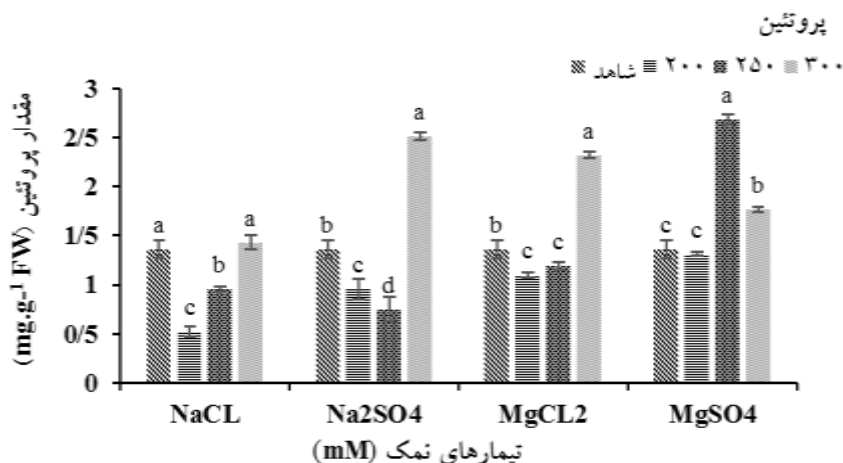
شکل ۷- تاثیر غلظت‌های مختلف نمک‌های NaCl، Na₂SO₄، MgSO₄ و MgCl₂ (شاهد یا صفر، ۲۰۰، ۲۵۰ و ۳۰۰ میلی‌مولار) بر مقدار فعالیت آنزیم کاتالاز بر حسب تغییرات جذب در دقیقه به ازای هر میلی‌گرم پروتئین. حروف متفاوت قرار گرفته روی ستون‌ها براساس تست آماری دانکن نشان‌دهنده تفاوت معنی دار در سطح ۰/۰۵ است.

جدول ۴- نتایج به دست آمده از آنالیز آماری مقایسه بین گروهی سطوح مختلف نمک‌های کلرید سدیم، سولفات سدیم، کلرید منیزیم و سولفات منیزیم بر فعالیت آنزیم کاتالاز برگ گیاه اسپند بر حسب (تغییرات جذب در دقیقه به ازای هر میلی‌گرم پروتئین)

انواع تیمارها	غلظت‌ها					فعالیت آنزیم کاتالاز
	Control	MgSO ₄	MgCl ₂	Na ₂ SO ₄	NaCl	
	۰/۴۵۹۵±۰/۰۲۸ ^b	۱/۳۲۵۰±۰/۱۰۶ ^a	۰/۶۹۱۳±۰/۲۵۲ ^b	۰/۴۶۵۶±۰/۰۶۷ ^b	۰/۵۹۰۷±۰/۰۷۶ ^b	۲۰۰ (تغییرات جذب در دقیقه)
	۰/۴۵۹۵±۰/۰۲۸ ^c	۱/۸۶۳۰±۰/۲۴۶ ^a	۱/۰۸۶۰±۰/۰۲۷ ^b	۰/۷۶۰۵±۰/۱۹۴ ^{bc}	۰/۸۴۱۱±۰/۰۳۸ ^{bc}	۲۵۰ (دقیقه به ازای هر میلی‌گرم پروتئین)
	۰/۴۵۹۵±۰/۰۲۸ ^d	۲/۵۶۶۹±۰/۲۲۰ ^{ab}	۱/۲۲۴۴±۰/۲۱۳ ^c	۲/۰۸۹۰±۰/۱۳۰ ^b	۲/۹۳۵۵±۰/۲۳۵ ^a	۳۰۰ (میلی‌گرم پروتئین)

حروف مشترک فاقد اختلاف معنی دار در سطح ۵ درصد آماری است.

گروهی نشان می‌دهد که در سطح ۲۰۰ میلی‌مولار تاثیر تیمارهای NaCl، MgCl₂، Na₂SO₄ به هم شبیه است. در سطح ۲۵۰ میلی‌مولار تاثیر تیمارهای NaCl، MgCl₂، Na₂SO₄ و تیمارهای NaCl و MgSO₄ و تیمارهای Na₂SO₄ و MgSO₄ به هم شبیه‌اند.



شکل ۸- تأثیر غلظت‌های مختلف نمک‌های MgCl_2 و MgSO_4 ، Na_2SO_4 ، NaCl (شاهد یا صفر، ۲۰۰، ۲۵۰ و ۳۰۰ میلی‌مولار) بر مقدار پروتئین برحسب میلی‌گرم بر گرم وزن تر. حروف متفاوت قرار گرفته روی ستون‌ها براساس تست آماری دانکن نشان‌دهنده تفاوت معنی‌دار در سطح ۰/۰۵ است.

جدول ۵- نتایج به‌دست‌آمده از آنالیز آماری مقایسه بین گروهی سطوح مختلف نمک‌های کلرید سدیم، سولفات سدیم، کلرید منیزیم و سولفات منیزیم بر مقدار پروتئین برگ گیاه اسپند برحسب (میلی‌گرم بر گرم وزن تر)

انواع تیمارها	غلظت‌ها				مقدار پروتئین (میلی‌گرم بر گرم وزن تر)	
	Control	MgSO_4	MgCl_2	Na_2SO_4		NaCl (mM)
	$1/3598 \pm 0/091^a$	$1/3097 \pm 0/020^a$	$1/1029 \pm 0/025^b$	$0/9583 \pm 0/107^c$	$0/5214 \pm 0/053^d$	۲۰۰
	$1/3598 \pm 0/091^b$	$2/6820 \pm 0/050^a$	$1/1933 \pm 0/037^c$	$0/7519 \pm 0/119^e$	$0/9538 \pm 0/023^d$	۲۵۰
	$1/3598 \pm 0/091^d$	$1/7684 \pm 0/028^c$	$2/3226 \pm 0/034^b$	$2/5151 \pm 0/042^a$	$1/4323 \pm 0/067^d$	۳۰۰

حروف مشترک فاقد اختلاف معنی‌دار در سطح ۵ درصد آماری می‌باشد.

پروتئین: با توجه به نتایج به‌دست‌آمده از تجزیه واریانس، در تیمار سطح ۳۰۰ میلی‌مولار نمک‌های NaCl ، MgCl_2 و MgSO_4 ، Na_2SO_4 مقدار پروتئین نسبت به نمونه شاهد افزایش یافت. در تیمارهای در سطوح ۲۰۰ و ۲۵۰ میلی‌مولار سه نمک NaCl ، Na_2SO_4 و MgCl_2 مقدار پروتئین کاهش یافت. با تیمار نمک MgSO_4 مقدار پروتئین در سطح ۲۰۰ میلی‌مولار کاهش و در سطوح ۲۵۰ و ۳۰۰ میلی‌مولار افزایش یافت، بیشترین افزایش در سطح ۲۵۰ میلی‌مولار مشاهده گردید. بیشترین افزایش مقدار پروتئین در سطح ۳۰۰ میلی‌مولار مربوط به نمک‌های Na_2SO_4 و MgCl_2 است. همین‌طور نمک سولفات منیزیم بیشترین تأثیر را در افزایش مقدار پروتئین در سطوح ۲۵۰ و ۳۰۰ میلی‌مولار داشت و تمامی نتایج معنی‌دار بود (شکل ۸). نتایج به‌دست‌آمده از آزمون همبستگی پیرسون (Pearson) نشان داد که بین غلظت‌های نمک‌های NaCl ، MgCl_2 ، Na_2SO_4 و MgSO_4 با میزان پرولین همبستگی مثبت وجود دارد. ضرایب همبستگی به ترتیب $+0/531$ ، $+0/198$ ، $+0/681$ و $+0/526$ است. نتایج حاصل از آنالیز آماری بین گروهی، مقایسه سطوح مختلف نمک‌های متفاوت بر مقدار پروتئین در جدول ۵ نشان داده شده است. نتایج نشان می‌دهد بیشترین تأثیر بر کاهش مقدار پروتئین در سطوح ۲۰۰ و ۲۵۰ میلی‌مولار مربوط به نمک‌های NaCl و Na_2SO_4 است. بیشترین تأثیر بر افزایش مقدار پروتئین در سطح ۲۵۰

پروتئین: با توجه به نتایج به‌دست‌آمده از تجزیه واریانس، در تیمار سطح ۳۰۰ میلی‌مولار نمک‌های NaCl ، MgCl_2 و MgSO_4 ، Na_2SO_4 مقدار پروتئین نسبت به نمونه شاهد افزایش یافت. در تیمارهای در سطوح ۲۰۰ و ۲۵۰ میلی‌مولار سه نمک NaCl ، Na_2SO_4 و MgCl_2 مقدار پروتئین کاهش یافت. با تیمار نمک MgSO_4 مقدار پروتئین در سطح ۲۰۰ میلی‌مولار کاهش و در سطوح ۲۵۰ و ۳۰۰ میلی‌مولار افزایش یافت، بیشترین افزایش در سطح ۲۵۰ میلی‌مولار مشاهده گردید. بیشترین افزایش مقدار پروتئین در سطح ۳۰۰ میلی‌مولار مربوط به نمک‌های Na_2SO_4 و MgCl_2 است. همین‌طور نمک سولفات منیزیم بیشترین تأثیر را در افزایش مقدار پروتئین در سطوح ۲۵۰ و ۳۰۰ میلی‌مولار داشت و تمامی نتایج معنی‌دار بود (شکل ۸). نتایج به‌دست‌آمده از آزمون همبستگی پیرسون (Pearson) نشان داد که بین غلظت‌های نمک‌های NaCl ، MgCl_2 ، Na_2SO_4 و MgSO_4 با میزان پرولین همبستگی مثبت وجود دارد. ضرایب همبستگی به ترتیب $+0/531$ ، $+0/198$ ، $+0/681$ و $+0/526$ است. نتایج حاصل از آنالیز آماری بین گروهی، مقایسه سطوح مختلف نمک‌های متفاوت بر مقدار پروتئین در جدول ۵ نشان داده شده است. نتایج نشان می‌دهد بیشترین تأثیر بر کاهش مقدار پروتئین در سطوح ۲۰۰ و ۲۵۰ میلی‌مولار مربوط به نمک‌های NaCl و Na_2SO_4 است. بیشترین تأثیر بر افزایش مقدار پروتئین در سطح ۲۵۰

رنگیزه‌های فتوستتزی شده و سبب تخریب ساختارهای تیلاکوئیدی در کلروپلاست گردند (Navaris et al., 1994).

مشابه با این پژوهش کاهش مقدار رنگیزه‌های فتوستتزی تحت تنش شوری در گزارش‌های دیگری هم مشاهده شده است. از جمله پژوهش Joshi و Naik (۱۹۸۰) گزارش کردند که در گیاه نیشکر (*Saccharum officinarum*) مقدار کلروفیل کل تحت تنش شوری نمک‌های کلرید سدیم، سولفات سدیم، کلرید منیزیم و سولفات منیزیم کاهش یافت. Parvaiz و همکاران (۲۰۱۶) کاهش میزان رنگیزه کلروفیل a، کلروفیل b و کلروفیل کل را تحت تنش شوری نمک کلرید سدیم در گیاه نخود (*Cicer arietinum* L.) گزارش کردند. همچنین Kaymakanova و Stoeva (۲۰۰۸) در مطالعه بر گیاه لوبیا قرمز (*Phaseolus vulgaris* L.) تحت تنش شوری نمک‌های کلرید سدیم و سولفات سدیم، کاهش مقدار رنگیزه‌های کلروفیل a، کلروفیل b و کلروفیل کل را گزارش نمودند. همچنین در مطالعات Bhivare و Nimbalkar (۱۹۸۴) بر گیاه لوبیا فرانسوی (*French beans*) و گیاه *Solanum lycopersicum* cv. (Bacha et al., 2017) تحت تنش شوری نمک کلرید سدیم کاهش مقدار کلروفیل کل گزارش شد که نتایج مذکور با نتایج پژوهش حاضر مطابقت دارد، اما مقدار کلروفیل کل در پژوهش Bhivare و Nimbalkar (۱۹۸۴) بر گیاه لوبیا فرانسوی (*French beans*) تحت تنش شوری نمک سولفات سدیم افزایش یافت. و نیز Llanes و همکاران (۲۰۱۰) افزایش رنگیزه کلروفیل a، کلروفیل b و کلروفیل کل را تحت تنش شوری نمک سولفات سدیم را در گیاه *Prosopis strombulifera* گزارش کردند که با نتایج به‌دست‌آمده از پژوهش حاضر همخوانی ندارد.

مقدار کاروتنوئید در پژوهش حاضر تحت تیمار با نمک‌های مختلف واکنش‌های متفاوتی از کاهش و افزایش را نشان داد و تحت تأثیر دو نمک NaCl و Na₂SO₄ به‌طور معنی‌داری کاهش یافت.

کاهش کاروتنوئیدها در شرایط شور و شرایطی که در آن گیاه با کمبود آب مواجه است می‌تواند ناشی از تخریب

میلی‌مولار مربوط به نمک MgSO₄ و در سطح ۳۰۰ میلی‌مولار مربوط به نمک‌های Na₂SO₄ و MgCl₂ است. همچنین نتایج حاصل از آنالیز آماری بین گروهی نشان می‌دهد که در سطح ۲۰۰ میلی‌مولار تأثیر تیمار دو نمک MgSO₄ و Control و در سطح ۳۰۰ میلی‌مولار تأثیر دو نمک NaCl و Control به‌هم شبیه است. در سطح ۲۵۰ میلی‌مولار تأثیر هر پنج نوع تیمار با هم متفاوت است و این تفاوت‌ها در سطح ۵ درصد معنی‌دار می‌باشد.

بحث

رنگیزه‌های فتوستتزی به‌عنوان یکی از فاکتورهای مهم حفظ ظرفیت فتوستتزی در گیاهان هستند (Jiang and Huang, 2001; Abdalla and El-Khoshiban, 2007).

در پژوهش حاضر تحت تیمار همه نمک‌ها مقدار رنگیزه‌های فتوستتزی از جمله کلروفیل a، کلروفیل b و کلروفیل کل کاهش یافت که می‌تواند نتیجه توقف مسیر بیوستتزی، تحریک مکانیسم‌های تخریبی آن و یا هر دو حالت باشد (Kovacik et al., 2009).

از عوامل مؤثر در کاهش کلروفیل در شرایط تنش شوری می‌توان به افزایش در فعالیت آنزیم کلروفیلاز، تغییر ساختار، عملکرد و کاهش محتوای پروتئین‌ها به‌ویژه پروتئین‌های غشای گیاهان و آنزیم‌های مسیر بیوستتزی کلروفیل مانند، ۵-آمینو لولونیک اسید دهیدراتاز، پورفوبیلینوژن دامیناز، پروتوکلروفیلید اکسیدوردوکتاز اشاره کرد (داودی‌فرد، ۱۳۷۱؛ Turan and Tripathy, 2014). همچنین افزایش مقدار اتیلن و اسید آسبیزیک، طی تنش شوری نیز می‌تواند یکی از عوامل مؤثر در کاهش مقدار کلروفیل باشد، زیرا دو هورمون فوق باعث تحریک فعالیت آنزیم کلروفیلاز می‌شوند (Drakewicz, 1994). تجمع یون در برگ‌ها در ضمن تنش شوری هم اثرات نامطلوبی بر غلظت کلروفیل دارد. همچنین رادیکال‌های سوپر اکسید و محصول همراه آن‌ها یعنی هیدروژن پراکسید، حاصل از تنش اکسیداتیو طی اعمال تنش شوری (Kubis, 2005) می‌تواند باعث تجزیه مولکول‌های مختلف از جمله

شامل پرولین، گلیسین بتائین، پلی‌اول‌ها و قندها را تولید و انباشته می‌کند. این مواد با تأثیر در تنظیم اسمزی موجب حفظ تعادل اسمزی می‌گردند و به دنبال آن جذب آب ادامه یافته و ساختارهای سلولی و مولکولی همچون ترکیبات پروتئینی و آنزیمی حفظ می‌شوند (کافی، ۱۳۸۸؛ Hanson, 2002) و ضمناً در واکنش‌های بیوشیمیایی سلولی اختلالی ایجاد نمی‌کنند. با این همه، تجمع قندها در اندام‌های هوایی، بر واکنش تثبیت کربن اثر بازدارندگی داشته و تولید قند گیاه را می‌کاهد.

در پژوهش حاضر مقدار کربوهیدرات محلول تحت تیمار دو نمک کلرید سدیم و کلرید منیزیم کاهش یافت و در نتیجه تیمار دو نمک سولفات سدیم و سولفات منیزیم افزایش یافت. Amini و Ehsanpour (۲۰۰۵) گزارش کردند که مقدار کربوهیدرات محلول در نتیجه تیمار شوری حاصل از نمک کلرید سدیم در دو رقم گیاه گوجه‌فرنگی (*Lycopersicon esculentum* Mill) افزایش یافت، همچنین Parvaiz و همکاران (۲۰۱۶) افزایش مقدار کربوهیدرات را در گیاه نخود (*Cicer arietinum* L.) تحت تنش شوری نمک کلرید سدیم گزارش کردند که با نتایج ما مغایرت داشت. همچنین Llana و همکاران (۲۰۱۰) گزارش کردند که مقدار کربوهیدرات محلول در نتیجه تیمار شوری حاصل از نمک سولفات سدیم در گیاه کهور (*Prosopis strombulifera*) افزایش یافت که با گزارش ما برای تأثیر نمک سولفات سدیم در گیاه اسپند روی کربوهیدرات محلول مطابقت داشت این افزایش ممکن است به دلیل تأثیر شوری روی کده‌بندی کربن باشد (Llana et al., 2010).

در ارتباط با گیاه اسپند (*Peganum harmala* L.) و تأثیر تنش شوری روی میزان کربوهیدرات محلول تحت تیمار دو نمک کلرید منیزیم و سولفات منیزیم گزارشی مشاهده نشده است و این اولین گزارش در این باره محسوب می‌شود. بررسی نقش بنیان‌های در افزایش کربوهیدرات‌ها و بررسی پیرامون مسیری که منتهی به این رویداد می‌شود ضروری است. پرولین به‌عنوان یک ماده مؤثر در تنظیم اسمزی، محافظ و پایدارکننده غشای پلاسمایی، پروتئین‌ها و آنزیم‌ها در برابر

کاروتنوئیدها یا تبدیل بتاکاروتن به ویولزاننتین و سپس تشکیل زآزانتین در چرخه گزانتوفیل باشد (Sultana et al., 1999). تحت تنش شوری گزارش‌هایی از کاهش مقدار کاروتنوئید در گیاه سیاه دانه (*Nigella sativa* L.) تحت تنش شوری نمک کلرید سدیم (Hajar et al., 1996) و در گیاه لوبیا قرمز (*Phaseolus vulgaris* L.) در اثر تنش شوری نمک‌های کلرید سدیم و سولفات سدیم (Stoeva and Kaymakanova, 2008) گزارش شده است این نتایج با پژوهش ما مطابقت دارد. افزایش کاروتنوئید تحت تنش شوری و تأثیر برخی از نمک‌ها را می‌توان به دلیل نقش این ترکیب به‌عنوان یک آنتی‌اکسیدان غیرآنزیمی در واکنش به تنش اکسیداتیو در این گیاهان دانست که به نقش نمک‌ها در تحریک تولید آنها اشاره دارد که قابل تأمل و بررسی بیشتر است. در گیاه نخود (*Cicer arietinum* L.) مقدار کاروتنوئید تحت تنش شوری نمک کلرید سدیم افزایش یافت (Parvaiz et al., 2016). در گیاه *Kalidium foliatum* تحت تیمار نمک سولفات سدیم میزان کاروتنوئید افزایش یافت (Gong et al., 2018). مقدار کاروتنوئید در گیاه اسپند تحت تیمار دو نمک $MgSO_4$ و $MgCl_2$ که در پژوهش حاضر مشاهده گردید در گیاه دیگری گزارش نشده است.

در ارتباط با گیاه اسپند (*Peganum harmala* L.) و تأثیر تنش شوری روی مقدار رنگیزه کاروتنوئید تحت تیمار نمک $MgSO_4$ گزارشی دیده نشده است و برای اولین بار در این پژوهش انجام شد. در پژوهش حاضر براساس نتایج به‌دست آمده از آنالیز مقایسه تأثیر سطوح مختلف نمک‌های متفاوت بر میزان کاروتنوئید، درجه سمیت نمک‌های مختلف بر میزان کاروتنوئید به‌ترتیب: $Na_2SO_4 < NaCl < MgSO_4 < MgCl_2$ است. یکی دیگر از پاسخ‌های گیاهان به تنش شوری افزایش مقدار قندهای محلول می‌باشد (Mohammadian et al., 2001) افزایش در غلظت قندهای محلول می‌تواند در اثر تجزیه نشاسته به کمک آنزیم‌های مربوطه از جمله آمیلازا یا سنتز جدید قند باشد (Hanson, 2002). در هنگام تنش شوری، سیتوپلاسم موادی با وزن مولکولی کم به نام مواد سازگار

(Cicer) و نخود (Kibria et al., 2017; Liang et al., 2018) و سدیوم افزایش یافت که نتایج تحقیقات مذکور با نتایج حاصل از این پژوهش مطابقت دارد. این افزایش احتمالاً به دلیل افزایش سنتز آنزیم‌های مؤثر در بیوسنتز پرولین (Δ -پیرولین-۵-کربوکسیلات سنتاز و Δ -پیرولین-۵-کربوکسیلات ردوکتاز) است (Kumar et al., 2015).

در ارتباط با گیاه اسپند (*Peganum harmala* L.) و تأثیر تنش شوری بر میزان پرولین گزارشی دیده نشده است و این اولین گزارش در این باره محسوب می‌شود. بنابراین در مقایسه بین کربوهیدرات و پرولین، در گیاه اسپند پرولین کاندید بهتری برای ارزیابی مقابله گیاه با شوری است.

برای مقابله با تنش شوری و متعاقب آن تنش اکسیداتیو، آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانت متعددی وارد عمل می‌شوند که در این پژوهش به علت گستردگی موضوع، آنزیم کاتالاز، به عنوان یک مارکر مولکولی و یک علامت برای ارزیابی مقابله گیاه اسپند با تنش شوری انتخاب گردید.

آنزیم کاتالاز یکی از اجزا تشکیل‌دهنده سیستم حفاظتی گیاه است و نقش مهمی در مهار رادیکال‌های آزاد به‌ویژه H_2O_2 تولیدشده در حین تنفس نوری و شرایط تنش دارد و این امر کمک به حفاظت از پروتئین‌ها، اسیدهای نوکلئیک و چربی‌ها در برابر ترکیبات ROS می‌نماید (Rastgoo and Alemzadeh, 2011).

در پژوهش حاضر مقدار فعالیت آنزیم کاتالاز تحت تیمار همه نمک‌ها افزایش یافت و نمک سولفات منیزیم تأثیر بیشتری نسبت به سه نوع نمک دیگر داشت. بیشترین تأثیر بر فعالیت آنزیم کاتالاز در سطح ۳۰۰ میلی‌مولار تحت تیمار همه نمک‌ها مشاهده شد.

آنزیم کاتالاز رفتار متفاوتی را در گیاهان مقاوم و حساس به شوری نشان می‌دهد به همین دلیل در برخی گیاهان پرفعالیتی و در بعضی از آنها کاهش فعالیت نشان می‌دهد. در گیاهان تحت تنش شوری حاصل از نمک کلرید سدیم مقدار فعالیت آنزیم کاتالاز افزایش می‌یابد (Sofa et al., 2015).

اثرات مخرب تنش‌های مختلف به حساب می‌آید. پرولین با جلوگیری از دنا توره شدن پروتئین‌ها و حفظ تعادل پتانسیل اکسایش-کاهش و جاروب کردن رادیکال‌های آزاد و گونه‌های فعال اکسیژن (ROS)، افزایش مقاومت به تنش، با جلوگیری از مهار نوری و ممانعت از پراکسیداسیون لیپیدهای اشباع و اکسیداسیون پروتئین‌ها، نقش دارد (Ashraf and Foolad, 2007; Islam et al., 2009). تجمع چشمگیر پرولین در بسیاری از انواع تنش‌ها مانند تنش خشکی، شوری و تنش یون‌های فلزی ناشی از افزایش سنتز و کاهش تخریب پرولین است که این موضوع در بیشتر گیاهان به اثبات رسیده است (Kavi Kishor et al., 1995; Cicek and Cakirlar, 2002). پرولین به‌عنوان یک ترکیب آلی که در گونه‌های مختلف گیاهان مقاوم به شوری رفتارهای متفاوتی از خود نشان می‌دهد در برخی گیاهان مقاوم بدون تغییر، در برخی کاهش مقدار و در برخی از آنها افزایش مقدار را نشان می‌دهد.

در پژوهش حاضر مقدار پرولین در نتیجه تیمار همه نمک‌ها به‌طور معنی‌داری افزایش یافت و در این میان تأثیر نمک‌های سولفات نسبت به نمک‌های با بنیان کلرید بیشتر بود. Inal (۲۰۰۲) گزارش کرد که مقدار پرولین در شرایط تنش شوری حاصل از نمک کلرید سدیم و سولفات سدیم در گیاه گوجه‌فرنگی (*Lycopersicon esculentum* L.) افزایش می‌یابد. در دو رقم نیشکر (sorghum) میزان پرولین با افزایش غلظت‌های نمک کلرید منیزیم افزایش یافت (Tushar et al., 2012). اما در گزارشی دیگر، مقدار پرولین در گیاه نیشکر در شرایط تنش شوری مربوط به نمک‌های کلرید سدیم، سولفات سدیم، کلرید منیزیم و سولفات منیزیم هر کدام به تنهایی، هیچ تغییری نکرد (Kovacik et al., 2009). در گیاه *Prosopis strombulifera* مقدار پرولین در نتیجه تیمار شوری با هر یک از نمک‌های کلرید سدیم و سولفات سدیم به تنهایی افزایش یافت (Llanes et al., 2010). همچنین مقدار پرولین در گیاه *Jatropha curcas* تحت تنش سولفات سدیم (Kumar et al., 2015) و در گیاهان *Populus euphratica* (Zhao et al., 2017) و *Sorghum bicolor* L. (Reddy et al., 2015)، برنج

(*al.*, 2015) گزارش شده است. Llanes و همکاران (۲۰۱۲) کاهش مقدار پروتئین محلول را در گیاه *Prosopis strombulifera* تحت تیمار نمک سولفات سدیم گزارش کردند. برای تأثیر تنش شوری حاصل از دو نمک کلرید منیزیم و سولفات منیزیم بر مقدار پروتئین گزارشی از قبل مشاهده نشد. در ارتباط با گیاه اسپند (*Peganum harmala L.*) و تأثیر تنش شوری بر مقدار پروتئین گزارشی دیده نشده است و این اولین گزارش در این باره محسوب می‌شود.

نتیجه‌گیری

در این پژوهش به‌کارگیری نمک‌های مشابه زیستگاه طبیعی گیاه اسپند در یکی از رویشگاه‌های استان کرمان، در غلظت‌های مختلف و ارزیابی پاسخ‌های فیزیولوژیک و بیوشیمیایی گیاهان اسپند نشان می‌دهد که نمک‌های با بنیان‌های کلرید یا سولفات، پاسخ‌های مشابهی را در اکثر موارد به‌ویژه در مقدار کربوهیدرات محلول، پروتئین، پروتئین و کاتالاز در گیاه اسپند ایجاد کرده است. هر چند که در مورد رنگیزه‌ها به‌ویژه کاروتنوئیدها چنین نبود که تأمل و بررسی بیشتری را می‌طلبد.

بررسی نتایج مولکولی به‌دست‌آمده نشان می‌دهد که از بین بیومارکرهای مولکولی مورد اندازه‌گیری ظاهراً پروتئین و کاتالاز بهتر از بقیه مارکرها وضعیت مقاومت گیاه را ترسیم کرده‌اند و به نظر می‌آید نقش مهمی در تحمل شوری نسبتاً بالای این گیاه داشته‌باشند. گیاه اسپند تا غلظت ۳۰۰ میلی‌مولار تحمل تنش شوری را داشته و تا ۳۰۰ میلی‌مولار این گیاه رشد طبیعی خود را داشته است. در این مقاله، با در نظر گرفتن پاسخ‌های بیوشیمیایی و فیزیولوژیکی گیاه و ویژگی زنده‌مانی آنها و نتایج حاصل از اندازه‌گیری پارامترهای رشد تحت تیمار شوری (که در این مقاله آورده نشده است) می‌توان نتیجه گرفت که گیاه اسپند در تحمل تا غلظت ۳۰۰ میلی‌مول در لیتر (با EC معادل ۲۶ دسی‌زیمنس بر متر) از هر چهار نمک Na_2SO_4 ، NaCl ، MgSO_4 و MgCl_2 توانمند و مقاوم می‌باشد. بنابراین توسعه کاشت آن در مناطق کم آب حاشیه کویر با شوری‌های معمول

گیاهان *Sorghum bicolor L.*، برنج و نخود (*Cicer arietinum L.*) میزان فعالیت آنزیم کاتالاز تحت تنش کلرید سدیم افزایش یافت (*Reddy et al.*, 2015; *Parvaiz et al.*, 2016; *Kibria et al.*, 2017). در گیاه لوبیا قرمز در نتیجه تیمار تنش شوری حاصل از نمک‌های کلرید سدیم، سولفات سدیم، کلرید منیزیم و سولفات منیزیم مقدار فعالیت آنزیم کاتالاز کاهش یافت (*Aydin et al.*, 2011) که با نتایج پژوهش ما مطابقت نداشت. در ارتباط با گیاه اسپند (*Peganum harmala L.*) و تأثیر تنش شوری بر میزان فعالیت آنزیم کاتالاز گزارشی دیده نشده است و ارزیابی فعالیت این آنزیم در گیاه اسپند اولین گزارش در پژوهش حاضر به حساب می‌آید که لازم است مورد تأمل قرار گیرد.

تنش‌های غیرزیستی در برخی از گیاهان سبب انباشتگی پروتئین‌های محلول در گیاهان می‌شوند و نقش مهمی در تنظیم اسمزی ایفا می‌کند (*Rastgoo and Alemzadeh*, 2011). این پروتئین‌ها شامل پروتئین‌های معمولی و پروتئین‌های خاص تنش هستند که با به‌کارگیری تکنیک‌های دقیق‌تر قابل ردیابی بوده این انباشتگی می‌تواند ناشی از افزایش سنتز پروتئین‌ها باشد (*Parvaiz et al.*, 2016; *Mittal et al.*, 2012).

در پژوهش حاضر مقدار پروتئین در غلظت ۳۰۰ میلی‌مولار تحت تیمار همه نمک‌ها افزایش یافت. در سطح ۲۵۰ میلی‌مولار نمک سولفات منیزیم بیشترین تأثیر را در افزایش مقدار پروتئین داشت. در سطح ۲۰۰ و ۲۵۰ میلی‌مولار مقدار پروتئین تحت تیمار نمک‌های کلرید سدیم، سولفات سدیم و کلرید منیزیم کاهش یافت. کاهش مقدار پروتئین در گیاهان تحت تنش شوری ممکن است به‌دلیل دناتورشدن آنزیم‌های درگیر در سنتز پروتئین و یا کاهش آمینواسیدهای در دسترس باشد (*Mehmet et al.*, 2005; *Baniasadi et al.*, 2018).

افزایش مقدار پروتئین محلول تحت تنش شوری نمک کلرید سدیم در گیاهان زراعی همچون برنج، آفتاب‌گردان و جو (*Ashraf and Harris*, 2014) و در گیاهان دارویی مانند گیاه پروانش (*Catharanthus roseus*) (*Osman et al.*, 2007) و در گیاه گلرنگ (*Carthamus tinctorius L.*) (*Gengmao et al.*)

خاک شرایط محیطی را نیز بهبود بخشد. از طرف دیگر وجود ترکیبات دارویی مهم همانند هارمالین و هارمان دلیل دیگری بر گسترش کاشت گیاه در کشور است. البته بهتر است که مقدار این ترکیبات نیز تحت تنش‌های مذکور و به‌کارگیری چهار نمک مورد مطالعه قرار گیرد.

و مناطق مختلف با شوری‌های متفاوت و حتی شوری‌های بیشتر پیشنهاد می‌گردد. تحمل شوری نسبتاً بالای این گیاه، نیاز آبی کم آن (به‌دلیل رویش آن در مناطق با بارندگی بسیار اندک)، خودروبودن گیاه همه تأییدی بر موفقیت گسترش کشت آن در مناطق مختلف کشور از جمله در حواشی مناطق مرکزی است و کاشت این گیاه می‌تواند ضمن کمک به حفظ

منابع

- اخیانی، خ. (۱۳۷۱) فلور ایران شماره ۷- تیره اسفند. انتشارات وزارت جهاد کشاورزی، مؤسسه تحقیقات جنگل‌ها و مراتع ایران: ۳۶-۳۹.
- داودی فرد، م.، حبیبی، د. و داودی فرد، ف. (۱۳۹۱) بررسی اثر تنش شوری بر پایداری غشا سیتوپلاسمی، میزان کلروفیل و اجزا عملکرد در گندم تلقیح‌شده با باکتری‌های محرک رشد و اسید هیومیک. مجله زراعت و اصلاح نباتات ۸: ۸۶-۷۱.
- زرگری، ع. (۱۳۷۵) گیاهان دارویی. مؤسسه انتشارات و چاپ دانشگاه تهران ۵: ۳۸-۳۴.
- کافی، م. ا.، برزوئی، م.، صالحی، ع.، کمندی معصومی، ع. و نباتی، ج. (۱۳۸۸) فیزیولوژی تنش‌های محیطی در گیاهان. انتشارات جهاد دانشگاهی، مشهد.
- مظفریان، و. (۱۳۳۲) شناخت گیاهان دارویی و معطر ایران. چاپ اول، مؤسسه تحقیقات جنگل‌ها و مراتع، فرهنگ معاصر.
- Abdalla, M. M. and El-Khoshiban, N. H. (2007) The influence of water stress on growth, relative water content, photosynthetic pigments, some metabolic and hormonal contents of two *Triticum aestivum* cultivars. Journal of Applied Sciences Research 3: 2062-2074.
- Ahmed, M. Z. and Khan, M. A. (2010) Tolerance and recovery responses of playa halophytes to light, salinity and temperature stresses during seed germination. Flora-Morphology, Distribution, Functional Ecology of Plants 205: 764-771.
- Amini, F. and Ehsanpour, A. A. (2005) Soluble proteins, proline, carbohydrates and Na^+/K^+ changes in two tomato (*Lycopersicon esculentum* Mill.) cultivars under in vitro salt stress. American Journal of Biochemistry and Biotechnology 1: 212-216.
- Asgarpanah, J. and Ramezanloo, F. (2012) Chemistry, pharmacology and medicinal properties of *Peganum harmala* L. African Journal of Pharmacy and Pharmacology 6: 1573-1580.
- Ashraf, M. and Harris, P. J. C. (2014) Potential biochemical indicators of salinity tolerance in plants. Plant Science 166: 3-16.
- Ashraf, M. and Foolad, M. (2007) Roles of glycine betaine and proline in improving plant abiotic stress resistance. Environmental and Experimental Botany 59: 206-216.
- Aslam, N., Wani, A. A., Nawchoo, I. A. and Bhat, M. A. (2014) Distribution and medicinal importance of *Peganum harmala*. A review. International Journal of Advanced Research 2: 751-755.
- Aydin, A., Canan, K. A. N. T. and Turan, M. (2011) Hydrogel substrate alleviates salt stress with increase antioxidant enzymes activity of bean (*Phaseolus vulgaris* L.) under salinity stress. African Journal of Agricultural Research 6: 715-724.
- Bacha, H., Tekaya, M., Drine, S., Guasmi, F., Touil, L., Enneb, H., Triki, T., Cheour, F. and Ferchichi, A. (2017) Impact of salt stress on morpho-physiological and biochemical parameters of *Solanum lycopersicum* cv. Microtom (of Tomato plant (*Solanum lycopersicum* L. cultivar Microtom)) leaves. South African Journal of Botany 108: 364-369.
- Baniasadi, F., Saffari, V. R. and Maghsoudi Moud, A. A. (2018) Physiological and growth responses of *Calendula officinalis* L. plants to the interaction effects of polyamines and salt stress. Scientia Horticulturae 234: 312-317.
- Bates, L. S., Waldren, R. P. and Teare, I. D. (1973) Rapid determination of free proline for water-stress studies. Plant and Soil 39: 205-207.
- Bhivare, V. N. and Nimbalkar, J. D. (1984) Salt stress effects on growth and mineral nutrition of French beans. Plant and Soil 80: 91-98.

- Borucki, W. and Sujkowska, M. (2008) The effects of sodium chloride-salinity upon growth, nodulation, and root nodule structure of pea (*Pisum sativum* L.) plants. *Acta Physiologiae Plantarum* 30: 293-301.
- Bradford, M. M. (1976) A rapid and sensitive method for the quantitation of micro gram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Analytical Biochemistry* 72: 248-254.
- Bukhari, N., Choi, J. H., Jeon, C. W., Park, H. W., Kim, W. H., Khan, M. A. and Leet, S. H. (2008) Phytochemical studies of the alkaloids from *Peganum harmala*. *Applied Chemistry* 12: 101-4.
- Cabot, C., Sibole, J. V., Barcelo, J. and Poschenrieder, C. (2014) Lessons from crop plants struggling with salinity. *Plant Science* 226: 2-13.
- Cicek, N. and Cakirlar, H. (2002) The effect of salinity on some physiological parameters in two maize cultivars. *Bulgarian Journal of Plant Physiology* 28: 66-74.
- Darabpour, E., Bavi, A. P., Motamedi, H. and Nejad, S. M. S. (2011) Antibacterial activity of different parts of *Peganum harmala* L. growing in Iran against multi-drug resistant bacteria. *External Journal* 10: 252.
- Dhindsa, R. S., Plumb-Dhindsa, P. and Thorpe, T. A. (1981) Leaf senescence: Correlated with increased levels of membrane permeability and lipid peroxidation, and decreased levels of superoxide dismutase and catalase. *Journal of Experimental Botany* 32: 93-101.
- Draikewicz, M. (1994) Chlorophyllase occurrence functions, mechanism of action, effect of extra and internal factors, *Photosynthetica* 30: 321-337.
- 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.
- Gengmao, Z., Yu, H., Xing, S., Shihui, L., Quanmei, S. and Changhai, W. (2015) Salinity stress increases secondary metabolites and enzyme activity in safflower (*Carthamus tinctorius* L.). *Industrial Crops and Products* 64: 175-181.
- Gong, D. H., Wang, G. Z., Si, W. T., Zhou, Y., Liu, Z. and Jia, J. (2018) Effects of salt stress on photosynthetic pigments and activity of ribulose-1, 5-bisphosphate carboxylase/oxygenase in *Kalidium foliatum*. *Russian Journal of Plant Physiology* 65: 98-103.
- Hajar, A. S., Zidan, M. A. and AlZahrani, H. S. (1996) Effect of salinity stress on the germination, growth and some physiological activities of black cummin (*Nigella sativa* L.). *Arab Gulf Journal of Scientific Research* 14.
- Hanson, A. D. (2002) Drought and salt tolerance: Toward understanding and application. *Trends Biotechnol* 10: 358-362.
- Inal, A. (2002) Growth, proline accumulation and ionic relations of tomato (*Lycopersicon esculentum* L.) as influenced by NaCl and Na₂SO₄ salinity. *Turkish Journal of Botany* 26: 285-290.
- Islam, M. M., Hoque, M. A., Okuma, E., Banu, M. N. A., Shimoishi, Y., Nakamura, Y. and Murata, Y. (2009) Exogenous proline and glycinebetaine increase antioxidant enzyme activities and confer tolerance to cadmium stress in cultured tobacco cells. *Journal of Plant Physiology* 166: 1587-1597.
- Jiang, Y. and Huang, N. (2001) Drought and salt stress injury to two cool season turfgrasses in relation to antioxidant metabolism and lipid peroxidation. *Crop Science* 41: 436-442.
- Joshi, G. V. and Naik, G. R. (1980) Response of sugarcane to different types of salt stress. *Plant and Soil* 56: 255-263.
- Kaur, G. and Asthir, B. (2015) Proline: A key player in plant abiotic stress tolerance. *Biologia Plantarum* 1-11.
- Kavi Kishor, P. B., Hong, Z., Miao, G. H., Hu, C. A. and Verma, D. P. S. (1995) Overexpression of delta 1-pyrroline-5-carboxylate synthetase increases proline production and confers osmotolerance in transgenic plants. *Plant Physiology* 108: 1387-1394.
- Kibria, M. G., Hossain, M., Murata, Y. and Hoque, M. A. (2017) Antioxidant defense mechanisms of salinity tolerance in rice genotypes. *Rice Science* 24: 155-162.
- Kovacik, J., Klejdus, B., Hedbavny, J. and Backor, M. (2009) Salicylic acid alleviates NaCl-induced changes in the metabolism of *Matricaria chamomilla* plants. *Ecotoxicology* 18: 544-554.
- Kubis, J. (2005) The effect of exogenous spermidine on superoxide dismutase activity, H₂O₂ and superoxide radical level in barley leaves under water deficit condition. *Plant Physiology* 28: 289-295.
- Kumar, A., Sharma, S., Mishra, S. and Dames, J. F. (2015) Arbuscular mycorrhizal inoculation improves growth and antioxidative response of *Jatropha curcas* L. under Na₂SO₄ salt stress. *Plant Biosystems-An International Journal Dealing with all Aspects of Plant Biology* 149: 260-269.
- Li, S., Cheng, X. and Wang, C. (2017) A review on traditional uses, phytochemistry, pharmacology, pharmacokinetics and toxicology of the genus *Peganum*. *Journal of Ethnopharmacology* 203: 127-162.
- Liang, W., Ma, X., Wan, P. and Liu, L. (2018) Plant salt-tolerance mechanism: A review. *Biochemical and Biophysical Research Communications* 495: 286-291.
- Lichenthaler, H. K. (1987) Chlorophyll and carotenoid: Pigment of photosynthetic biomembranes. *Enzymol* 148: 350-382.
- Llanes, A., Bertazza, G., Palacio, G. and Luna, V. (2012) Different sodium salts cause different solute accumulation in the halophyte *Prosopis strombulifera*. *Plant Biology* 1-8.

- Llanes, A., Reginato, M., Palacio, G. and Luna, V. (2010) Biochemical indicators of salinity tolerance in the halophyte *Prosopis strombulifera* are differentially affected by NaCl and Na₂SO₄. Urbanisation, land use, land degradation and environment. Daya Publishing House, New Delhi 344-355.
- Mehmet, A. D., Mehmet, A. and Alper, Y. (2005) Effect of salinity on growth chemical composition and antioxidative enzyme activity of two malting Barley (*Hordeum vulgare* L.) cultivars. Turkish Journal of Biology 29: 117-123.
- Mirzaie, M., Nosratabadi, S. J., Derakhshanfar, A. and Sharif, I. (2007) Antileishmanial activity of *Peganum harmala* extract on the in vitro growth of *Leishmania major* promastigotes in comparison to a trivalent antimony drug. Veterinarski Arhiv 77: 365.
- Mittal, Sh., Kumari, N. and Sharma, V. (2012) Differential response of salt stress on *Brassica juncea*: Photosynthetic performance, pigment, proline, D1 and antioxidant enzymes. Plant Physiology and Biochemistry 54: 17-26.
- Mohammadian, R., Khoyi, F. R., Rahimian, H., Moghaddam, M., Ghassemi-Golezani, K. and Sadeghian, S. Y. (2001) The effects of early season drought on stomatal conductance, leaf-air temperature different and proline accumulation in sugar beet genotypes. Journal of Agricultural Science and Technology 3: 181-192.
- Navaris-Izzo, F., Pinzino, G., Quartacciand, M. F. and Sgherri, C. L. M. (1994) Intracellular membrane kinetics of superoxide production and changes in thylakoids of resurrection plant upon dehydration and rehydration. Proceedings of the Royal Society of Edinburgh 102: 187-191.
- Numan, M., Bashir, S., Khan, Y., Mumtaz, R., Shinwari, Z. K., Khan, A. L., Khan, A. and Ahmed, A. H. (2018) Plant growth promoting bacteria as an alternative strategy for salt tolerance in plants: A review. Microbiological Research 209: 21-32.
- Oliveira, V. P., Marques, E. C., Lacerda, C. F., Prisco, J. T. and Gomes Filho, E. (2013) Physiological and biochemical characteristics of Sorghum bicolor and Sorghum sudanense subjected to salt stress in two stages of development. African Journal of Agricultural Research 8: 660-670.
- Osman, M. E. H., Elfeky, S. S., Abo El-Soud, K. and Hasan, A. M. (2007) Response of *Catharanthus roseus* shoots to salinity and drought in relation to vincristine alkaloid content. Asian Journal of Plant Science 6: 1223-1228.
- Parida, A. K., Das, A. B. and Das, P. (2002) NaCl stress causes changes in photosynthetic pigments, proteins and other metabolic components in the leaves of a true mangrove, *Bruguiera parviflora*, in hydroponic cultures. Journal of Plant Biology 45: 28-36.
- Parvaiz, A. and Satyawati, S. (2008) Salt stress and phyto-biochemical responses of plants. Plant Soil and Environment 54: 89.
- Parvaiz, A., Abdel Latef, A. A., Hashem, A., Abd-Allah, E. F., Gucel, S. and Tran, L. S. P. (2016) Nitric oxide mitigates salt stress by regulating levels of osmolytes and antioxidant enzymes in chickpea (*Cicer arietinum* L.). Plant Science 7: 1-11.
- Rastgoo, L. and Alemzadeh, A. (2011) Biochemical responses of gouan (*Aeluropus littoralis*) to heavy metals stress. Australian Journal of Crop Science 5: 375.
- Reddy, P. S., Jogeswar, G., Rasineni, G. K., Maheswari, M., Reddy, A. R., Varshney, R. K. and Kishor, P. K. (2015) Proline over-accumulation alleviates salt stress and protects photosynthetic and antioxidant enzyme activities in transgenic sorghum [*Sorghum bicolor* (L.) Moench]. Plant Physiology and Biochemistry 94: 104-113.
- Saiema, R., Asiya, H., Azooz, M. M., Siddiqi, T. O. and Parvaiz, A. (2013) Salt stress: Causes, types and responses of plants. Ecophysiology and responses of plants under salt stress. Department of Botany, Faculty of Science 1-24.
- Sofo, A., Scopa, A., Nuzzaci, M. and Vitti, A. (2015) Ascorbate peroxidase and catalase activities and their genetic regulation in plants subjected to drought and salinity stresses. International Journal of Molecular Sciences 16: 13561-13578.
- Stoeva, N. and Kaymakanova, M. (2008) Effect of salt stress on the growth and photosynthesis rate of bean plants (*Phaseolus vulgaris* L.). Journal of Central European Agriculture 9: 385-391.
- Sultana, N., Ikeda, T. and Itoh, R. (1999) Effect of NaCl salinity on photosynthesis and dry matter accumulation in developing rice grains. Environmental and Experimental Botany 42: 211-220.
- Tarek, A. M. and Almaghrabi, O. A. (2016) Fatty acid constituents of *Peganum harmala* plant using Gas Chromatography–Mass Spectroscopy. Saudi Journal of Biological Sciences 23: 397-403.
- Turan, S. and Tripathy, B. (2014) Salt-stress induced modulation of chlorophyll biosynthesis during de-etiolation of rice seedlings. Physiologia Plantarum 153: 477-491.
- Tushar, K., Dnyanada, D. and Vinay, K. (2012) Effect of MgCl₂ stress on germination, plant growth, chlorophyll content, proline content and lipid peroxidation in sorghum cultivars. Journal of Stress Physiology and Biochemistry 8: 169-178.
- Zhao, C. Y., Si, J. H., Feng, Q., Deo, R. C., Yu, T. F. and Du Li, P. (2017) Physiological response to salinity stress and tolerance mechanics of *Populus euphratica*. Environmental Monitoring and Assessment 189: 1-11.
- Zhu, J. K. (2001) Plant salt tolerance. Trends in Plant Science 6: 66-71.

An evaluation of the effect of the salinity stress of different of soil salts in Iran on some of the physiological and biochemical responses of Harmala (*Peganum harmala* L.)

Sodabeh Nazarpour¹, Azam Salimi^{2*}, Saydeh Hadis Zaidi³

Department of Plant Sciences, Faculty of Biological Sciences, Kharazmi University, Tehran, Iran.

(Received: 11/05/2020, Accepted: 28/07/2020)

Abstract

Harmala (*Peganum harmala* L.), is a sacred plant whose medicinal properties has long been taken into consideration in ancient texts. This study was aimed to evaluate whether the plant is salt-tolerant and to explore its reactions to the soil salts in Iran. Therefore, after soil sampling from one of the plant's habitats located in Kerman province and analyzing them, four types of salts including sodium chloride (NaCl), sodium sulfate (Na₂SO₄), magnesium chloride (MgCl₂), and magnesium sulfate (MgSO₄) were choosed. In this research 0 (as control), 200, 250, and 300 m mol per liter of the four above-mentioned salts were considered as the required treatments. For investigating the resistance of the Espand, the concentration of the photosynthetic pigments, the level of the activity of catalase enzyme, and the amount of proline, soluble proteins and carbohydrates were assessed during their vegetative stages. The data exhibited an increase in the amount of proline, proteins, and the activity of the catalase enzyme in the plants with high levels of salinity treatment, accordingly, considering some of the responses and viability of the plants we could infer that harmala was capable of tolerating the concentration of salinity up to 300 m mol per liter of the four above-mentioned salts.

Key words: Harmala (*Peganum harmala* L.), Proline, Salinity stress, Photosynthetic pigments, Catalase, Soluble carbohydrates, Protein content.

Corresponding author, Email: salimi@khu.ac.ir