

تأثیر تنش شوری بر برخی از خصوصیات فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی گیاه بنگ‌دانه (*Hyoscyamus reticulatus* L.)

مهناز وفادار^{۱*}، زینب قادری حبیب^۱ و الهه وطن خواه^۱

^۱گروه زیست شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه زنجان، زنجان، ایران

(تاریخ دریافت: ۱۳۹۵/۱۰/۲۰، تاریخ پذیرش نهایی: ۱۳۹۶/۰۳/۲۰)

چکیده

شوری خاک یکی از جدی‌ترین مشکلات زیست محیطی جهان است. با توجه به گسترش شوری در خاک، جهت بررسی سطوح تحمل شوری در مراحل جوانه‌زنی و رویشی هم‌چنین اثر تنش شوری بر آلکالوئیدهای گیاه بنگ‌دانه، پژوهشی در قالب طرح کاملاً تصادفی با ۳ تکرار در اتاقک رشد صورت گرفت. درصد جوانه‌زنی بذر در سطوح شوری ۵، ۱۰ و ۱۵ dS/m بررسی شد. پس از جوانه‌زنی بذر ها و انتقال دانه‌رست‌ها به محیط‌های کشت گلدانی، شوری در چهار سطح ۲/۹ dS/m (شاهد)، ۵، ۱۰ و ۱۵ اعمال شد. دو هفته بعد از اعمال تنش، صفات جوانه‌زنی بذر و برخی شاخص‌های فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی مورد سنجش قرار گرفت. نتایج حاصل از این پژوهش نشان داد که پارامترهایی مثل درصد و سرعت جوانه‌زنی بذر، وزن خشک ریشه، طول اندام هوایی، محتوای نسبی آب برگ، مقدار عناصر پتاسیم، منیزیم و کلسیم و نسبت پتاسیم به سدیم ریشه و اندام‌های هوایی در شرایط شوری نسبت به شاهد کاهش معنی‌دار و محتوای پرولین، پروتئین کل، آلکالوئیدها و مقدار سدیم نسبت به تیمار شاهد افزایش معنی‌دار نشان داد. میانگین میزان پرولین در سطح شوری ۱۵ dS/m برابر با ۱/۵۸۳ mg/g DW و در تیمار شاهد ۰/۵۲۴ mg/g DW بود. سطح شوری ۱۰ dS/m، مقدار هیوسامین اندام هوایی را حدود ۶ برابر و مقدار اسکوپولامین ریشه را حدود دو برابر نسبت به شاهد افزایش داد (۰/۶۱۲ μg/g DW و ۰/۲۱۵ به ترتیب). در مجموع اعمال تنش شوری منجر به افزایش ترکیبات مؤثره این گیاه گردید.

واژگان کلیدی: آلکالوئید، بنگ‌دانه، پارامترهای رشد، اسمولیت‌ها، تنش شوری

مقدمه

ایجاد می‌شود. از مهم‌ترین اثرات منفی شوری انباشت بالای یون‌های سدیم و کلر در درون سلول‌هاست که منجر به عدم تعادل یونی شده و بی‌نظمی‌های فیزیولوژیک ایجاد می‌نماید. جذب بالای یون سدیم جذب یون پتاسیم را مهار می‌کند. عنصر پتاسیم یکی از عناصر مهم و اساسی برای رشد و نمو در گیاه است و کمبود جذب آن باعث کاهش رشد و تولید می‌شود. تنش شوری موجب تغییرات بیوشیمیایی، فیزیولوژیک و

شوری خاک یا آب یکی از جدی‌ترین مشکلات زیست محیطی در جهان است. این عامل یکی از فاکتورهای مهم محدودکننده رشد و تولید در گیاهان بوده و در مناطق خشک، نیمه خشک و ساحلی از مهم‌ترین چالش‌های پیش روی گیاهان است (Demir and Mavi, 2008). شوری به علت حضور بالای نمک به ویژه یون‌های سدیم و کلر در محیط

*نویسنده مسؤول، نشانی پست الکترونیکی: vafadar@znu.ac.ir

از منابع طبیعی گیاهی حاوی این ترکیبات و استخراج آنها بسیار ارزشمند است (بهمن زادگان و همکاران، ۱۳۸۷).

مطالعات مختلفی در رابطه با تأثیر تنش شوری بر روی گیاهان مختلف و از جمله خانواده سیب زمینی شامل *Datura*، *Physalis*، *Lycopersicon*، *Hyoscyamus* و *Solanum* صورت پذیرفته است (Ali, 2010., Bojović et al., 2010., Claussen, 2005., Yildirim et al., 2011., Abdel Rahman et al., 2011., Gupta and Huang, 2014., al., 2013.). میزان تولید پرولین، آمینواسیدهای آزاد و آلکالوئیدها در شرایط شوری افزایش یافته است. هم چنین اعمال تنش‌های دیگر نظیر فلزات سنگین بر روی گیاه بنگ‌دانه نیز منجر به افزایش ساخت آلکالوئیدها و افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدان می‌شود (حیدری و همکاران، ۱۳۹۳). گونه *Hyoscyamus reticulatus* به وفور در استان زنجان رویش دارد. تا کنون مطالعه‌ای در مورد اثرات شوری بر روی گونه فوق انجام نگرفته است و سطوح تحمل به شوری در این گیاه تعیین نشده است. بنابراین با توجه به موضوع گسترش رو به رشد شوری در خاک مناطق مختلف کشور، شناخت گونه‌های گیاهی مقاوم برای نمک زدایی زمین‌های کشاورزی ضروری به نظر می‌رسد. هم‌چنین با توجه به اهمیت دارویی و اقتصادی گیاه بنگ‌دانه، در این پژوهش بر آن شدیم تا پاسخ‌های مورفولوژیکی، فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی این گیاه را در دو مرحله جوانه‌زنی بذر و رویشی تحت تیمار شوری مورد بررسی قرار دهیم.

مواد و روش‌ها

مرحله جوانه‌زنی: جهت بررسی اثر شوری بر جوانه‌زنی بذر گیاه بنگ‌دانه، پژوهشی در قالب طرح کاملاً تصادفی با ۳ تکرار صورت گرفت. بذرهای رسیده گیاه بنگ‌دانه در تابستان ۹۲ از زنجان جمع‌آوری گردید. از آنجایی که بذراین گیاه دارای خواب است به منظور شکست خواب و تسریع جوانه‌زنی بذرها از تیمار اسید جیبرلیک با غلظت ۲۵۰ میلی‌گرم بر لیتر به مدت ۴۸ ساعت استفاده شد. در مرحله بعد بذرها توسط هیپوکلریت سدیم ۲۵ درصد به مدت ۱۰ دقیقه و اتانول ۷۰ درصد به مدت ۲ دقیقه ضدعفونی شدند (قربانپور و همکاران،

مورفولوژیک متعددی در گیاهان شده و رشد، فتوسنتز، سنتز پروتئین، تنفس و تولید انرژی را تحت تأثیر قرار می‌دهد (Gupta and Huang, 2014). در مراحل اولیه مواجهه گیاه با تنش شوری به علت خشکی فیزیولوژیک، آب از دسترس گیاه خارج می‌شود و پتانسیل اسمزی محیط اطراف ریشه به علت افزایش یون‌های سدیم و کلر کاهش می‌یابد و در نتیجه پتانسیل آب اطراف ریشه در مقایسه با گیاه کاهش می‌یابد و آب به جای جذب از دسترس خارج می‌شود. از جمله صدمات حاصل از تنش اسمزی می‌توان به صدمات فیزیولوژیکی چون لطمه به غشاها، عدم تعادل عناصر غذایی، تغییرات در آنزیم‌های آنتی اکسیدان و توانایی کم در سمیت زدایی گونه‌های فعال اکسیژن و همین‌طور کاهش فعالیت‌های فتوسنتزی اشاره کرد (Hojjat Nooghi and Mozaffari, 2012., Gupta and Huang, 2014).

گیاه بنگ‌دانه با نام علمی *Hyoscyamus reticulatus* L. متعلق به خانواده سیب زمینی یکی از مهم‌ترین گیاهان دارویی است. این گیاه سرشار از تروپان آلکالوئیدها (اسکوپولامین و هیوسیامین) می‌باشد که در پزشکی مورد استفاده قرار می‌گیرند. آلکالوئیدها گروهی از ترکیبات متابولیت ثانویه هستند و حدود ۱۵ درصد گیاهان متعلق به خانواده‌هایی مثل خشخاش، سیب زمینی، خرزهره، آلاله، روناس و حبوبات حاوی چنین ترکیباتی می‌باشند (دهقان و همکاران، ۱۳۸۸). آلکالوئیدها در اندام ریشه گیاه بنگ‌دانه ساخته می‌شوند، اما تمام بخش‌های رویشی و زایشی گیاه دارای آلکالوئید است (Adibfar et al., 2011). موارد استعمال گیاه بنگ‌دانه در طب سنتی عبارتند از: ضد سیاه سرفه، ضد آسم، ضد اسپاسم و ضد سرفه‌های تشنجی. از هیوسیامین و اسکوپولامین به عنوان داروهای مهارکننده اعصاب پاراسمپاتیک استفاده می‌شود. هیوسامین در داروهای اعصاب و روان، به عنوان داروی ضد اسپاسم و داروی ضد تهوع کاربرد داشته و از اسکوپولامین برای تسکین ناراحتی‌های عصبی، پارکینسون و به عنوان گشادکننده مردمک چشم استفاده می‌شود. از آنجایی که ساخت شیمیایی آلکالوئیدها در صنایع داروسازی پرهزینه بوده و مقرون به صرفه نمی‌باشد لذا استفاده

خشک با قراردادن نمونه‌ها در انکوباتور با دمای ۷۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۴۸ ساعت و توزین با ترازوی دقیق با دقت ۰/۰۰۱ بر حسب گرم تعیین گردید.

محتوای نسبی آب برگ (RWC): برای اندازه‌گیری این شاخص، از هر گیاه دو برگ تهیه و از هر برگ ۳ دیسک با قطر ۱ سانتی‌متر تهیه شد و با ترازو وزن گردید (FW). سپس دیسک‌ها در ظروف پتری حاوی آب مقطر به مدت ۴-۵ ساعت غوطه‌ور گردیدند. دیسک‌ها پس از این مدت از پتری خارج شده و با استفاده از کاغذ صافی خشک و دوباره وزن گردیدند تا وزن حالت تورژسانس کامل (TW) به دست آید. برای محاسبه وزن خشک (DW)، دیسک‌ها درون فویل آلومینیوم پیچیده شدند و به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۷۰ درجه سانتی‌گراد انکوباتور قرار داده شدند و سپس وزن گردیدند. محتوای نسبی آب برگ از رابطه زیر محاسبه شد (Wheatherley, 1973).

$$RWC(\%) = [(FW-DW)/(TW-DW)] \times 100$$

سنجش غلظت یون‌ها: به منظور سنجش محتوای سدیم، پتاسیم و منیزیم ریشه و اندام هوایی، ابتدا نمونه‌های گیاهی در دمای ۶۰ درجه سانتی‌گراد خشک شدند. سپس به ۰/۳ گرم از پودر خشک به دست آمده، ۳ میلی‌لیتر اسید نیتریک اضافه شد. بعد از گذشت ۲۴ ساعت، مخلوط گرم شده و چند قطره پر اکسید هیدروژن اضافه شد تا محلول بیرنگ شود. سپس صاف شده و با آب مقطر به حجم ۵۰ میلی‌لیتر رسانده شد. از محلول به دست آمده جهت اندازه‌گیری عناصر با استفاده از دستگاه طیف سنجی پلاسمای جفت شده القایی (ICP-OES Spectrogenesis) استفاده شد و غلظت یون‌ها بر حسب میلی‌گرم بر گرم وزن خشک محاسبه گردید (بنی اردلان، ۱۳۹۲).

سنجش رنگیزه‌های فتوسنتزی: بدین منظور ۰/۲۵ گرم بافت تازه در ۲۰ میلی‌لیتر استن ۸۰ درصد سائیده شد و محلول حاصل با کاغذ صافی، صاف گردید و حجم نهایی به ۲۰ میلی‌لیتر رسانده شد و جذب محلول‌ها به طور جداگانه در طول موج‌های ۶۶۳ نانومتر برای کلروفیل a و ۶۴۵ نانومتر برای کلروفیل b و ۴۷۰ نانومتر برای کاروتنوئیدها توسط اسپکتروفوتومتر مدل Jenway 6305 خوانده شد. در نهایت با

تعداد ۲۰ بذر ضد عفونی شده به تعداد مساوی در پتری دیش‌هایی که توسط دولایه کاغذ صافی پوشانده شده بود قرار داده شدند. سپس بذرها در معرض غلظت‌های مختلف NaCl شامل ۰ dS/m (شاهد)، ۵، ۱۰ و ۱۵ (معادل صفر، ۵۰، ۱۰۰ و ۱۵۰ میلی‌مولار) قرار گرفتند. ظروف پتری روزانه بازمینی و تعداد بذرهای جوانه زده ثبت شد. شمارش بذرهای جوانه زده تا زمانی که شمارش دو نوبت متوالی تفاوتی نشان ندهد انجام پذیرفت. سپس درصد جوانه‌زنی با استفاده از رابطه ۱ و سرعت جوانه‌زنی با استفاده از رابطه ۲ محاسبه گردید. هم چنین طول ساقچه‌چه و ریشه‌چه و وزن خشک ساقچه‌چه و ریشه‌چه نیز اندازه‌گیری شد.

$$\text{رابطه ۱} \quad = \sum G / N \quad \text{درصد جوانه زنی}$$

$$\text{رابطه ۲} \quad = \sum_{i=1}^n Si / Di \quad \text{سرعت جوانه زنی}$$

در رابطه ۱، G تعداد بذرهای جوانه زده و N تعداد کل بذرهاست. در رابطه ۲، Di: تعداد روز تا شمارش n ام و Si: تعداد بذرهای جوانه زده در هر n ام دفعات شمارش می‌باشد. **مرحله رویشی:** جهت اعمال تنش شوری در مرحله رویشی گیاه، دانه‌رست‌های حاصل از جوانه‌زنی بذر به گلدان‌هایی با قطر ۲۰ و ارتفاع ۱۲ سانتی‌متر منتقل شدند. خاک درون گلدان‌ها خاک محیط (لومی شنی) با هدایت الکتریکی dS/m ۲/۹ و (۷/۹۲) pH بود. سپس گلدان‌ها به اتاق رشد تحت شرایط نوری ۱۶ ساعت روشنایی و ۸ ساعت تاریکی و دمای ۲±۲ درجه سانتی‌گراد منتقل گردید (Adibfar et al., 2011). جهت آبیاری از آب مقطر استفاده شد. شوری در ۴ سطح dS/m ۲/۹ (شاهد)، ۵، ۱۰ و ۱۵ با اضافه کردن نمک کلرید سدیم به خاک گلدان‌ها اعمال گردید. دو هفته پس از اعمال تنش، نمونه‌های گیاهی برداشت شد و نسبت به ارزیابی پارامترهای مورفولوژیکی، فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی اقدام گردید.

شاخص‌های رشد: برای سنجش خشک، نمونه‌های گیاهی برداشت و جهت زدودن بقایای خاک، با آب مقطر شستشو داده شدند و پس از خشک شدن، بخش هوایی از محل یقه جدا و طول آن‌ها با استفاده از خط‌کش اندازه‌گیری شد. وزن

۲۰ دقیقه، دو لایه مجزا تشکیل شد. جذب بخش بالایی در طول موج ۵۲۰ نانومتر خوانده شد. با استفاده از منحنی استاندارد پرولین، مقدار این ماده بر حسب میلی گرم بر گرم وزن تر محاسبه گردید (Bates et al., 1973).

سنجش پروتئین‌ها: سنجش پروتئین‌ها با استفاده از روش برادفورد انجام گرفت (Bradford, 1976). بدین منظور، از معرف برادفورد و بافر استخراج فسفات ۵۰ میلی مولار با pH ۶/۸ استفاده شد. عمل عصاره‌گیری به نسبت ۱:۱ (میلی لیتر بافر: گرم بافت) انجام شد. پس از انجام سانتریفیوژ با شتاب ۱۲۰۰۰ دور به مدت ۳۰ دقیقه، روشناور حاصل جدا گردید و از آن برای سنجش پروتئین در طول موج ۵۹۵ نانومتر استفاده شد. با کمک منحنی استاندارد، غلظت پروتئین موجود در نمونه بر حسب میلی گرم بر گرم وزن تر محاسبه گردید.

سنجش آلکالوئیدها: استخراج آلکالوئیدها به روش اختصاصی و با استفاده از حلال‌های مختلف انجام شد (Kamada et al., 1986). ابتدا محلول بافر کلروفورم، متانول، هیدروکسید آمونیوم به نسبت ۱:۵:۱۵ تهیه شد. به منظور عصاره‌گیری، به ۰/۰۲ گرم از نمونه گیاهی پودر شده، ۵ میلی-لیتر از محلول بافر اضافه شد. سپس محلول حاصل پس از ۱۰ دقیقه سونیکیت با دستگاه HD 2070 به مدت ۱ ساعت در دمای اتاق قرار داده شد. محلول توسط کاغذ صافی، صاف شد و دو مرتبه با ۱ میلی‌لیتر کلروفورم شستشو داده شد. پس از تبخیر با استفاده از دستگاه روتاری، به آن ۵ میلی‌لیتر کلروفورم و ۲ میلی‌لیتر اسید سولفوریک ۱ نرمال اضافه شد. با استفاده از دکانتور، فاز کلروفومی محلول جدا شده و دور ریخته شد. پس از قرار دادن فاز اسید سولفوریک در یخ توسط هیدروکسید پتاسیم، pH آن به ۱۰ رسانیده شد. مجدداً ۲ میلی‌لیتر کلروفورم اضافه شد و پس از تشکیل دو فاز، فاز کلروفومی جدا و دوباره به فاز اسید سولفوریک، ۱ میلی‌لیتر کلروفورم افزوده شد و در نهایت با استفاده از سولفات سدیم محلول حاصل آبگیری و با کاغذ صافی، صاف شد و اجازه داده شد تا محلول تبخیر شود. به نمونه به دست آمده، ۱ میلی‌لیتر متانول اضافه شد و با استفاده از HPLC، مقدار هیوسامین و اسکوپولامین موجود در

استفاده از روابط زیر، میزان کلروفیل a، کلروفیل b، کلروفیل کل و کاروتنوئیدها بر حسب میلی گرم بر گرم وزن تر نمونه محاسبه شد (Arnon, 1967).

Chl. a = (19/3 A663 - 0/86 A645)V/100W

Chl. b = (19.3 A645 - 3.6 A663)V/100W

Chl. T = Chl. a + Chl. b

Car. = 100 A470 - 3.27 Chl. a - 104 Chl. b /227

در این روابط، A: جذب نور در طول موج‌های موردنظر، W: وزن تر نمونه بر حسب گرم و V: حجم محلول صاف شده می باشد.

سنجش قندهای محلول: سنجش قندهای محلول با استفاده

از معرف آنترون و براساس روش Roe (۱۹۵۵) انجام شد. ابتدا، ۰/۱ گرم بافت تر برگ در ۲/۵ میلی‌لیتر اتانول ۸۰ درصد ساییده شد و سپس در بن ماری در دمای ۹۵ درجه سانتی‌گراد به مدت ۶۰ دقیقه قرار گرفت. عصاره حاصل با استفاده از کاغذ صافی صاف گردید و الکل آن تبخیر شد. رسوب حاصل در ۲/۵ میلی‌لیتر آب مقطر حل گردید. برای سنجش قندهای محلول ۲۰۰ میکرولیتر از هر نمونه به لوله آزمایش منتقل شد و ۵ میلی‌لیتر معرف آنترون به آن اضافه گردید. مخلوط حاصل به مدت ۱۷ دقیقه در بن ماری ۹۰ درجه سانتی‌گراد قرار گرفت و پس از سرد شدن، جذب نمونه‌ها در ۶۲۵ نانومتر توسط دستگاه اسپکتروفتومتر مدل Jenway 6305 خوانده شد. مقادیر نمونه‌ها با استفاده از منحنی استاندارد گلوکز بر حسب میلی‌گرم بر گرم وزن تر محاسبه گردید.

سنجش پرولین: به منظور سنجش پرولین ابتدا ۰/۲ گرم

وزن تر ماده گیاهی در ۵ میلی‌لیتر سولفو سالیسیلیک اسید ۳٪ ساییده شد و سپس با کاغذ صافی و اتمن صاف کرده و مخلوط یکنواختی تهیه شد. سپس به ۱ میلی‌لیتر از مایع رویی حاصل از صاف کردن عصاره، ۱ میلی‌لیتر محلول نین هیدرین و ۱ میلی‌لیتر اسید استیک گلاسیال اضافه و مخلوط گردید و یک ساعت در دمای ۱۰۰ درجه سانتی‌گراد حمام آب گرم قرار گرفت. بعد از این مدت جهت قطع انجام کلیه واکنش‌ها، لوله‌های محتوی مخلوط در حمام آب سرد قرار داده شدند. سپس ۲ میلی‌لیتر تولوئن به مخلوط اضافه گردید و لوله‌ها به خوبی مخلوط شدند. با ثابت نگه داشتن لوله‌ها به مدت ۱۵-

(Fidalgo et al., 2004). مطالعه درصد جوانه‌زنی بذر در شرایط شوری در دو گونه از گیاه *Physalis* از خانواده سیب زمینی در سطوح ۰، ۳۰، ۶۰، ۹۰، ۱۲۰، ۱۵۰ و ۱۸۰ میلی‌مولار نشان داد که افزایش شوری باعث کاهش درصد جوانه‌زنی بذر می‌شود (Yildirim et al., 2011). هم‌چنین بررسی تأثیر تنش شوری بر روی جوانه‌زنی بذر در گیاهان گوجه‌فرنگی و فلفل از خانواده سیب زمینی در غلظت‌های ۲۰۰، ۴۰۰، ۶۰۰ و ۸۰۰ میلی‌مولار انجام گرفته است (Bojović et al., 2010). مقایسه نتایج Bojović و همکاران (۲۰۱۰) با پژوهش حاضر حاکی از آن است که بذر گیاهان گوجه‌فرنگی و فلفل که از جمله گیاهان زراعی هستند تحمل بالاتری نسبت به شوری در مقایسه با گیاه بنگ‌دانه که گیاهی خودرو است دارد. نتایج ما نشان داد گیاه بنگ‌دانه در غلظت ۲۰۰ میلی‌مولار قادر به جوانه‌زنی نبود. علاوه بر این، بذر گیاه بنگ‌دانه تحت شرایط طبیعی جوانه‌زنی کمی داشته و دارای خواب نیز هست.

شاخص‌های فیزیولوژیکی: نتایج حاصل از تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد که شوری کاهش معنی‌داری بر وزن خشک ریشه داشت (جدول ۲، شکل ۲A). بیشترین میانگین وزن خشک ریشه در تیمار شاهد مشاهده شد (۰/۰۰۴۹ g). تأثیر شوری بر وزن خشک اندام هوایی معنی‌دار نبود. شوری منجر به کاهش طول ساقه شد (شکل ۲B). بیشترین طول مربوط به گیاهان تیمار شاهد بود (۸/۵cm) اما بر روی طول ریشه تأثیر معنی‌داری نداشت. هم‌چنین اثر شوری بر محتوای نسبی آب برگ نیز معنی‌دار و این کاهش به ویژه در سطوح شوری ۱۰ و ۱۵ dS/m قابل توجه بود (٪ ۳/۹۶ برای تیمار شاهد و ٪ ۴۳/۸۱ در شوری ۱۰ dS/m) (جدول ۲، شکل ۲C). در شرایط شوری، گیاه با کمبود پتانسیل آب مواجه شده و درگیر تنش اسمزی می‌شود، از این رو با کاهش آماس و مهار طولیل شدن سلول، کاهش رشد اتفاق می‌افتد. علاوه بر این کاهش رشد می‌تواند ناشی از اثرهای سمی یون‌های سدیم و کلر و یا عدم تعادل در جذب عناصر غذایی به وسیله گیاه باشد (Jamil et al., 2006). گیاهان جوان در مواجهه با شوری

نمونه‌ها بر حسب میکروگرم بر گرم وزن خشک ماده گیاهی و در سه تکرار اندازه‌گیری شد. دستگاه گاز کروماتوگرافی استفاده شده از نوع Knauer pump k2501، دتکتور Knauer UV K1001 با طول موج ۲۱۰ نانومتر، ستون از نوع Tennokroma c18 با ابعاد ۲۵ در ۴/۶ سانتی‌متر و ضخامت لایه ۵ میکرومتر بود. فاز متحرک ترکیب KH_2PO_4 ۵۰ میکرومولار و ACN (استونیتریل) با نسبت ۸۰ به ۲۰ بود. برنامه دمایی دستگاه بدون گرادیان (تک دمایی) بوده و اسکوپولامین در حدود دقیقه ۶ و هیوسیامین در حدود دقیقه ۱۸ جداسازی شدند. محاسبه ترکیبات آکالوئید بر اساس منحنی استاندارد بود و استانداردهای مورد استفاده از شرکت سیگما تهیه شد.

تجزیه و تحلیل آماری: محاسبات آماری با استفاده از نرم افزار SAS 9.1 انجام شد و رسم شکل‌ها با نرم افزار Excel صورت گرفت. طرح آماری مورد استفاده، طرح کاملاً تصادفی و با ۳ تکرار است. مقایسه میانگین‌ها با استفاده از آزمون دانکن در سطح احتمال ۵ و ۱ درصد انجام شد.

نتایج و بحث

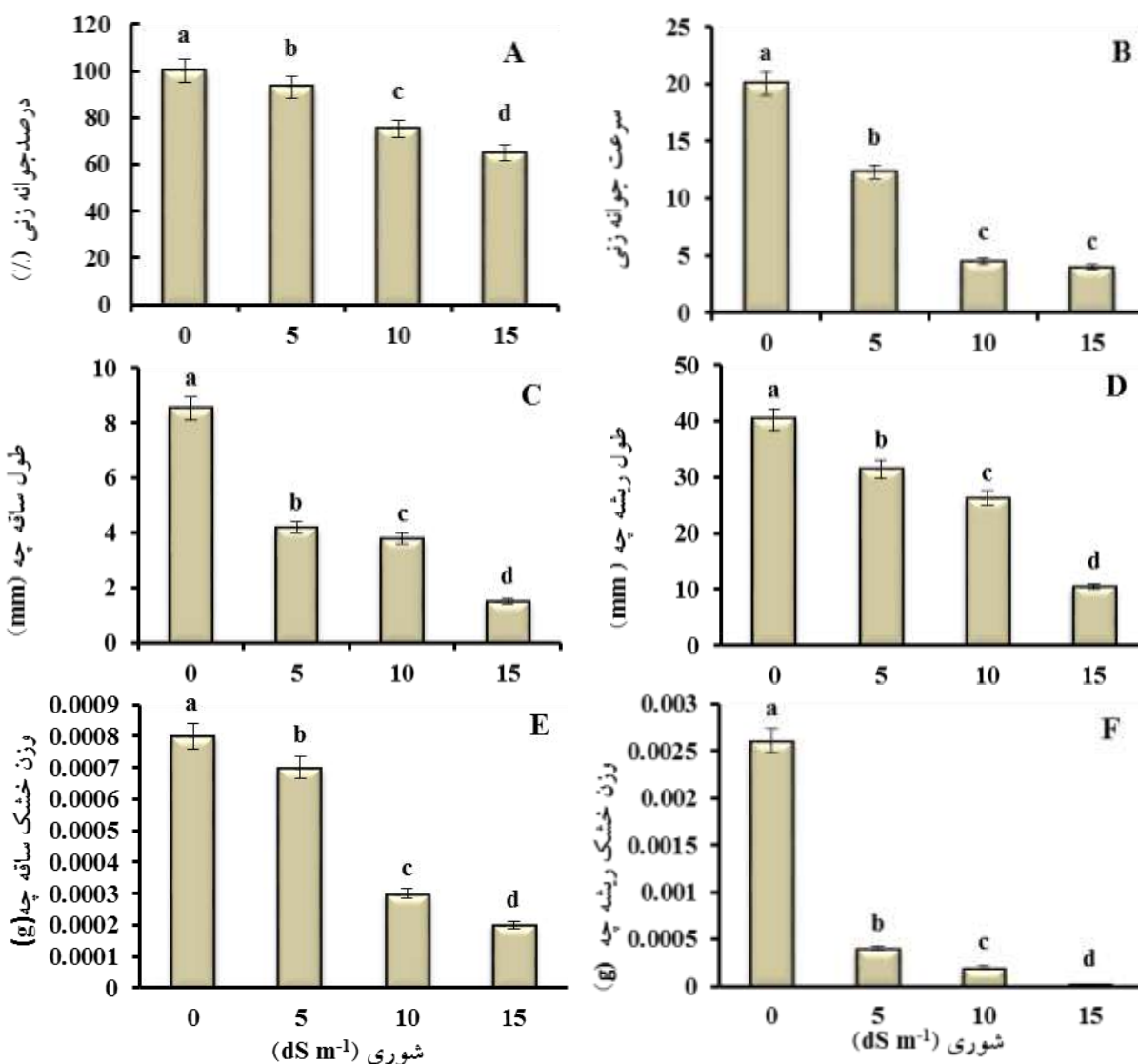
شاخص‌های جوانه‌زنی: نتایج حاصل از تجزیه واریانس اثر سطوح مختلف شوری بر شاخص‌های جوانه‌زنی بذر شامل درصد جوانه‌زنی، سرعت جوانه‌زنی، طول ساقه‌چه و ریشه‌چه و وزن خشک ساقه‌چه و ریشه‌چه نشان داد که این شاخص‌ها تحت تنش شوری کاهش معنی‌داری ($P \leq 0.01$) داشته‌اند (جدول ۱)، به طوری که بیشترین مقدار این شاخص‌ها در تیمار شاهد مشاهده شد و با افزایش سطوح شوری مقدار این شاخص‌ها کاهش یافت (شکل‌های ۱A-F).

در بسیاری از گیاهان مرحله جوانه‌زنی بذر به شوری حساس است. شوری از طریق افزایش فشار اسمزی و در نتیجه کاهش جذب آب توسط بذر و همین‌طور از طریق اثرات سمی یون‌های سدیم و کلر جوانه‌زنی بذر را تحت تأثیر قرار می‌دهد. کاهش جوانه‌زنی بذر در شرایط شوری را می‌توان به کاهش میزان و سرعت جذب آب می‌توان نسبت داد

جدول ۱- تجزیه واریانس اثر تنش شوری بر برخی شاخص‌های رشدی گیاه *H. reticulatus* در مرحله جوانه‌زنی بذر

منابع تغییرات	df	GP	GR	L _H	L _R	DW _H	DW _R
شوری	۳	۷۷۱/۳**	۷۰/۹۶۳۰**	۲۵/۶۰۱**	۴۶۸/۳۳۹**	۰/۰۰۰۰۳**	۰/۰۰۰۰۵**
اشتباه آزمایشی	۸	۱/۰۸	۰/۰۰۰۹۵	۰/۱۷۸	۰/۱۲۱	.	.
ضریب تغییرات (%)	-	۱۸	۷/۷	۱/۶	۱۳	۷	۱۰

** نشان دهنده‌ی معنی‌دار بودن در سطح احتمال ۱ درصد است. GP: درصد جوانه‌زنی بذر، GR: سرعت جوانه‌زنی بذر، L_H: طول ساقه‌چه، L_R: طول ریشه‌چه، DW_H: وزن خشک ساقه‌چه و DW_R: وزن خشک ریشه‌چه.



شکل ۱- اثر سطوح مختلف شوری بر درصد جوانه‌زنی بذر (A)، سرعت جوانه‌زنی (B)، طول ساقه‌چه (C)، طول ریشه‌چه (D)، وزن خشک ساقه‌چه (E)، وزن خشک ریشه‌چه (F) دانه‌رست گیاه *H. reticulatus* حروف یکسان بیانگر عدم اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال ۱ درصد با استفاده از آزمون دانکن می‌باشد.

در معرض آسیب بیشتری هستند زیرا ریشه‌های آنها در لایه های فوقانی خاک که حاوی غلظت‌های بیشتری از نمک است

جدول ۲- تجزیه واریانس اثر شوری بر برخی شاخص‌های رشدی، فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی گیاه *H. reticulatus* در مرحله رویشی

منابع تغییرات	df	DW _S	DW _R	L _S	L _R	RWC	Chla	Chl b
شوری	۳	ns	۸/۴۵**	۲۷۴/۷۵**	ns	۱۹۳/۳۲*	ns	ns
اشتباه آزمایشی	۸	۰/۰۰۰۰۲	۰/۰۰۰۰۱	۹۷/۲۷	۱۸/۶۳	۲۲/۹۵	۰/۰۰۷۴	۰/۰۳۷۶
ضریب تغییرات (%)	۱۷	۲/۸۴	۱۳/۸۴	۸/۵۹	۵/۴۱	۷/۶۹۱	۱۱/۸۷۱	

ns: * و **: به ترتیب نشان دهنده‌ی عدم معنی‌دار بودن، معنی‌دار بودن در سطح احتمال ۵ و ۱ درصد، DW_S: وزن خشک اندام هوایی، DW_R: وزن خشک ریشه، L_S: طول اندام هوایی، L_R: طول ریشه، RWC: محتوای نسبی آب برگ، chl a: کلروفیل a برگ، chl b: کلروفیل b برگ.

ادامه جدول ۲-

منابع تغییرات	df	TChl	Car	SS	P	Pro	Na _S	Na _R
شوری	۳	ns	ns	ns	۰/۶۴۲**	۰/۰۰۳*	۱۶/۲۶۹**	۲/۲۰۸**
اشتباه آزمایشی	۸	۰/۰۹۱۳	۶۵/۳۸۵	۰/۱۱۱	۰/۰۰۰۸	۰/۰۰۸۲	۰/۰۰۰۴۸	۰/۰۰۱۹
ضریب تغییرات (%)	۱۱/۱۳	۶/۸۹۵	۱۱/۱۳	۱۳/۴۲	۸/۷۱۶	۰/۵۸۵	۳/۴۰۸	

ns: * و **: به ترتیب نشان دهنده‌ی عدم معنی‌دار بودن، معنی‌دار بودن در سطح احتمال ۵ و ۱ درصد، TChl: کلروفیل کل برگ، Car: کاروتنوئید برگ، SS: قند محلول اندام هوایی، P: پرولین برگ، Pro: پروتئین برگ، Na_S: سدیم اندام هوایی، Na_R: سدیم ریشه.

ادامه جدول ۲-

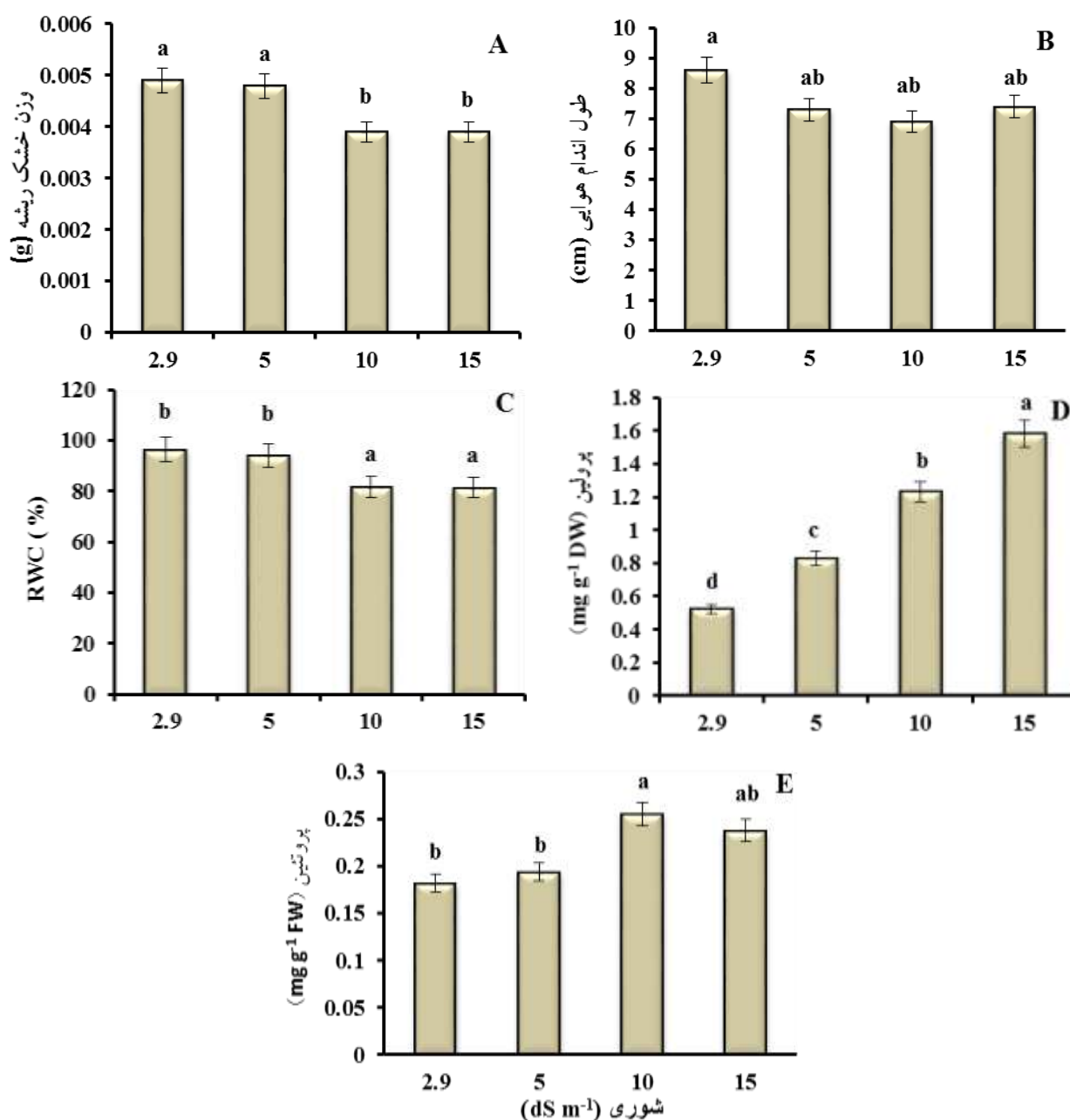
منابع تغییرات	df	K _S	K _R	K/Na _S	K/Na _R	Ca _S	Ca _R	Mg _S	Mg _R
شوری	۳	۵/۷۵۹**	۳/۳۷۵**	۴/۴۳۹**	۱۵/۹۹**	۰/۲۱۶**	۰/۴۳۷**	۰/۰۷۳۸**	۰/۰۳۸۴**
اشتباه آزمایشی	۸	۰/۰۱۶	۰	۰/۰۰۴۵	۰/۰۱۰۱	۰/۰۰۸۴	۰/۰۰۰۵	۰/۰۰۰۰۹	۰/۰۰۰۰۳۳
ضریب تغییرات (%)	۳/۸۶۵	۰	۴/۷۲۸	۴/۵۱۹	۹/۰۲	۱/۴۷۴	۲/۲۷۹	۱/۸۲۳	

ns: * و **: به ترتیب نشان دهنده‌ی عدم معنی‌دار بودن، معنی‌دار بودن در سطح احتمال ۵ و ۱ درصد، K_S: پتاسیم اندام هوایی، K_R: پتاسیم ریشه، K/Na_S: نسبت پتاسیم به سدیم اندام هوایی، K/Na_R: نسبت پتاسیم به سدیم ریشه، Ca_S: کلسیم اندام هوایی، Ca_R: کلسیم ریشه، Mg_S: منیزیم اندام هوایی، Mg_R: منیزیم ریشه.

ریشه در گندم نشان داد که با افزایش شوری وزن خشک ریشه کاهش یافت (برزویی و همکاران، ۱۳۸۹). مطالعات انجام شده بر روی گیاه *Catharanthus roseus* تحت شرایط تنش شوری نشان داد که پارامترهای رشدی گیاه نسبت به تیمار شاهد کاهش داشته است (Abdul Jaleel et al., 2008).

در این پژوهش مشاهده شد که با افزایش شوری محتوای نسبی آب کاهش یافت و کمترین محتوای نسبی آب در سطح شوری ۱۰ dS/m مشاهده گردید (شکل ۲C). از مهم‌ترین مولفه‌هایی که نمایانگر وضعیت آبی گیاه است می‌توان به محتوای نسبی آب و پتانسیل آب گیاه اشاره کرد. پاسخ اولیه در

رشد می‌کند. مطالعات انجام شده بر روی دو گونه *Physalis* در شرایط تنش شوری نشان داد که ظهور گیاهچه و رشد دانه‌رست بیش از جوانه‌زنی بذر تحت تأثیر قرار گرفته و اعمال تنش شوری به طور معنی‌داری وزن تر و خشک گیاه را در هر دو گونه کاهش داده است (Yildirim et al., 2011). مطالعه تأثیر تنش شوری بر روی گونه‌های گیاهی *Hyoscyamus muticus* و *Datura stramonium* از خانواده سیب زمینی نشان داد که اعمال تنش منجر به کاهش رشد و کاهش وزن تر و خشک شد (Ahmed et al., 1989). هم چنین بررسی نتایج حاصل از تأثیر تیمارهای شوری بر وزن خشک



شکل ۲- اثر سطوح مختلف شوری بر وزن خشک ریشه (A) طول اندام هوایی (B) و محتوای نسبی آب برگ (C)، پروتئین (D) و پروتئین (E) اندام هوایی گیاه *H. reticulatus* در مرحله رویشی. حروف یکسان بیانگر عدم اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال ۱ و ۵ درصد با استفاده از آزمون دانکن می‌باشد.

گوجه فرنگی و نخود مورد مطالعه قرار گرفته است و یافته‌ها نشان از کاهش شدید عملکرد محصول در غلظت‌های بالاتر نمک دارد (Ozturk et al., 2004). کاهش شدید محتوای نسبی آب تحت تنش‌های شدید رخ می‌دهد و مرگ سلولی را سبب می‌شود. پژوهش حاضر نشان داد با افزایش شوری درصد

گیاهان تحت تنش شوری، کاهش پتانسیل آب است که منجر به کاهش راندمان مصرف آب می‌شود. کنترل محتوای آب در بافت‌های گیاه در شرایط شوری قسمتی از فرآیند مقاومت به شمار می‌آید (Chaum and Kirdmanee, 2009). اثر تنش شوری بر محتوای آب بسیاری از گیاهان مانند یونجه، پنبه،

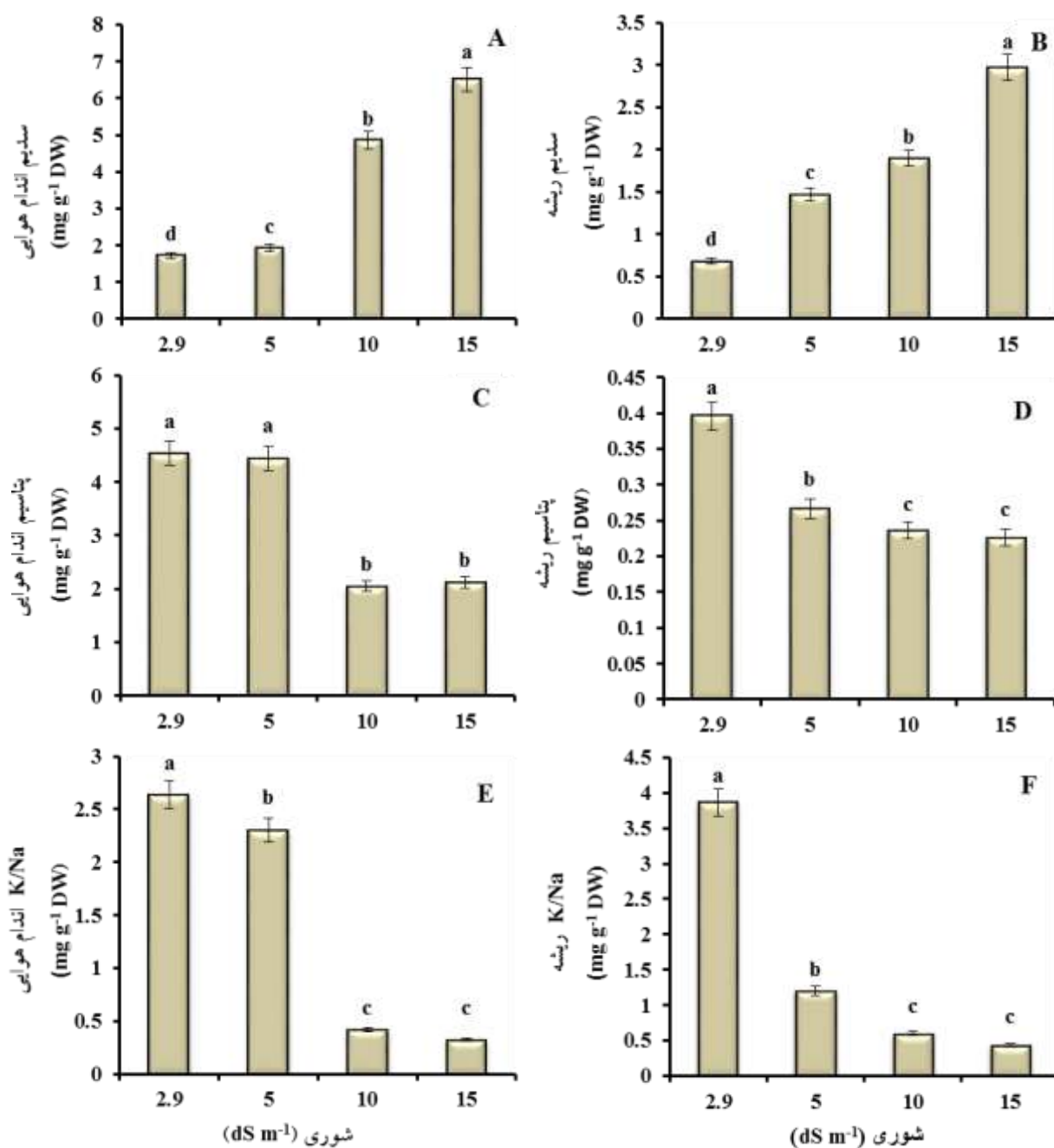
افزایش می‌دهد تا جذب آب از محلول شور ادامه یابد و بدین ترتیب با حفظ آماس، گیاه قادر به ادامه فعالیت‌های فیزیولوژیکی خود باشد (Zhu, 2001). سطح پرولین در گیاهان سیب زمینی تحت تیمار شوری ۱۰۰ و ۲۰۰ میلی‌مولار کلرید سدیم به ترتیب ۳/۵ و ۱۱ برابر نسبت به شاهد افزایش یافت (Fidalgo et al., 2004). مطالعه تأثیر تنش شوری بر گیاهان *Datura stramonium* و *Hyoscyamus muticus* از خانواده سیب زمینی نیز نشان داد که اعمال تنش منجر به افزایش میزان پرولین و آمینواسیدهای آزاد گردید (Ahmed et al., 1989, Abdel Rahman et al., 2013). هم چنین افزایش شوری در گیاه گوجه فرنگی نیز منجر به افزایش پرولین شد (Yancey, 2001). مطالعات انجام شده بر روی انباشت پرولین در ژنوتیپ‌های مختلف گیاه پنبه تحت شوری نیز نشان داد که در رقم‌های مقاوم، این ترکیب به عنوان یک سازوکار سازشی در تنظیم و حفظ نیروی اسمزی عمل می‌نماید (Janagoudar et al., 1983). پروتئین‌ها نیز در شرایط شور انباشته می‌شوند و به عنوان ذخیره نیتروژن و به صورت ترکیبات اسموتیک عمل می‌کنند (Said-Al Ahl and Omer, 2011). مقدار پروتئین در مطالعه حاضر در شرایط شوری افزایش معنی‌داری را نشان داد (جدول ۲، شکل ۲). افزایش پروتئین‌ها طی تنش شوری در بسیاری از گونه‌های گیاهی مشاهده شده است. برای مثال افزایش پروتئین در گیاه باقلا تحت تنش شوری گزارش شد (Abdul Qados, 2011).

سنجش عناصر: نتایج تجزیه واریانس میزان عناصر معدنی نشان داد مقدار سدیم، پتاسیم، نسبت پتاسیم به سدیم اندام هوایی و ریشه به طور معنی‌داری (در سطح ۱ درصد) تحت تأثیر تنش شوری قرار گرفت (جدول ۲). با افزایش سطح شوری میزان سدیم افزایش یافت به طوری که بیشترین میزان سدیم هم در ریشه و هم در اندام هوایی در سطح ۱۵ dS/m مشاهده شد (۲/۹۷۳ mg/gDW و ۶/۵۱ mg/gDW، به ترتیب) مشاهده شد (شکل‌های ۳A-B). در مقابل، با افزایش شوری میزان پتاسیم و نسبت K/Na هم در ریشه و هم در اندام هوایی کاهش یافت (شکل‌های ۳C-F).

محتوای نسبی آب برگ نسبت به تیمار شاهد کاهش معنی‌داری یافت. این کاهش در ابتدا به علت بسته شدن روزنه‌ها و سپس کاهش فتوسنتز است. گزارش‌ها نشان داده میزان محتوای نسبی آب در گیاه *Pisum sativum* تحت تنش شوری کاهش یافت (Fedina and Tsonev, 1997).

در این پژوهش مقدار رنگیزه‌های فتوسنتزی و قندهای محلول در بنگ‌دانه تحت تأثیر معنی‌دار شوری قرار نگرفت (جدول ۲). در حالت کلی مقدار رنگیزه‌های فتوسنتزی شامل کلروفیل‌ها و کاروتنوئیدها در شرایط تنش شوری کاهش می‌یابد (Parida and Das, 2005). مطالعه مقدار رنگیزه‌های فتوسنتزی در برگ‌های گیاه گوجه فرنگی تحت تیمار شوری نشان دهنده کاهش مقدار رنگیزه‌های کلروفیلی و کاروتن است (Khavarinejad and Mostofi, 1998). گیاه بنگ‌دانه گیاهی مقاوم بوده و بذره‌های مورد مطالعه از محیط جمع آوری شده اند. نتایج حاصل از این پژوهش حاکی از آن است که غلظت‌های شوری به کار برده شده تأثیر چندانی بر روی برخی از پارامترها مثل مقدار قندهای محلول، رنگیزه‌های فتوسنتزی و وزن تر و خشک اندام هوایی نداشته است. به نظر می‌رسد تنظیم اسمزی از طریق قندهای محلول، سازوکار مقاومت به شوری در گیاه بنگ‌دانه نبوده و تنظیم اسمزی بیشتر از طریق انباشتگی اسیدآمینو پرولین صورت می‌گیرد.

نتایج پژوهش حاضر نشان داد که میزان پرولین و پروتئین‌های کل محلول در برگ گیاه تحت تأثیر معنی‌دار (به ترتیب در سطح ۱ درصد و ۵ درصد) تنش شوری قرار گرفت (جدول ۲). کمترین میزان پرولین و پروتئین‌های کل محلول (۰/۵۲۴ mg/gDW و ۰/۱۸۲ mg/gFW) در تیمار شاهد مشاهده شد و با افزایش سطح شوری افزایش یافت. بیشترین مقدار پرولین در شوری ۱۵ dS/m و پروتئین‌های محلول در شوری ۱۰ dS/m دیده شد (۱/۵۸۳ mg/gDW و ۰/۲۵۸ mg/gFW) (شکل‌های ۲D-E). یکی از سازوکارهای عمده گیاه در مقابله با محیط‌های شور تنظیم اسمزی است که طی آن گیاه ترکیبات اسمزی مختلفی چون آمینو اسیدها (مانند پرولین) را در سیتوسل انباشت کرده و بدین ترتیب فشار اسمزی سلول را



شکل ۳- اثر سطوح مختلف شوری بر میزان سدیم اندام هوایی (A)، سدیم ریشه (B)، پتاسیم اندام هوایی (C)، پتاسیم ریشه (D)، نسبت پتاسیم به سدیم اندام هوایی (E) و نسبت پتاسیم به سدیم ریشه (F). حروف یکسان بیانگر عدم اختلاف معنی دار در سطح احتمال ۱ درصد با استفاده از آزمون دانکن می باشد.

دارند و لذا حفظ نسبت پتاسیم به سدیم در سیتوسل یک نیاز اساسی برای رشد گیاه در شرایط شوری زیاد است. شوری جذب عناصر غذایی را با اختلال مواجه می کند و رقابت یون سدیم با یون‌هایی مثل پتاسیم و کلسیم منجر به کمبود عناصر

تنش شوری جذب عناصر از ریشه و انتقال آن به گیاه را کاهش می‌دهد (Koksal *et al.*, 2014). در این پژوهش سدیم از جذب مناسب یون‌های دیگر جلوگیری کرده است. فعالیت های آنزیم‌های موجود در سیتوپلاسم حساسیت زیادی به نمک

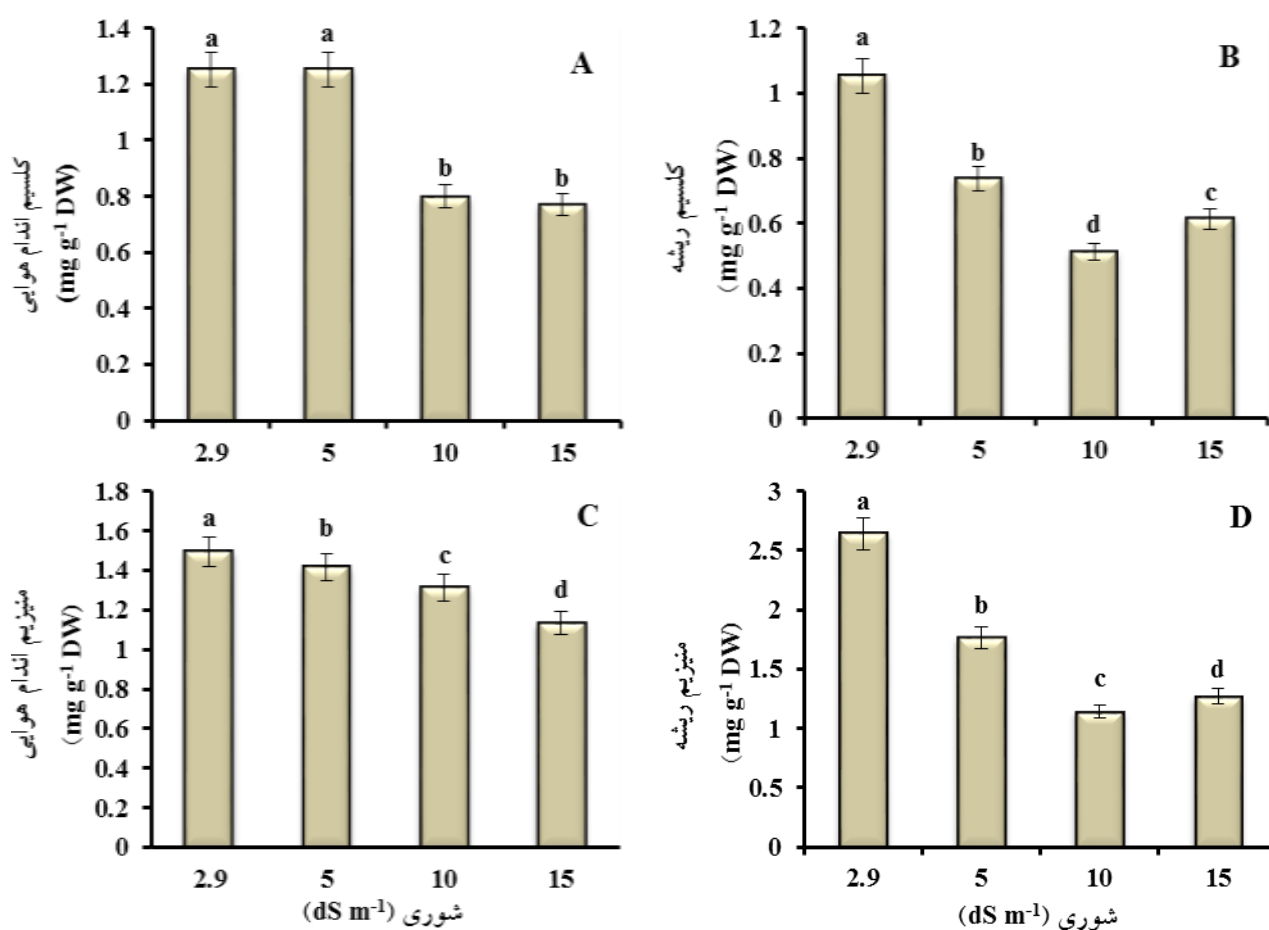
نشده و سدیم را که به میزان بیشتری در محیط موجود است جذب می‌کند. افزایش انتقال سدیم به اندام‌هوایی ممکن است به دلیل ضعف عملکرد سیستم محدود کننده انتقال سدیم به بخش‌های هوایی ریشه به دلیل کاهش پتانسیل اسمزی باشد (Ashraf, 1994). از آنجایی که افزایش غلظت سدیم در محیط اطراف ریشه موجب کاهش فعالیت، دسترسی به کلسیم و کمبود آن در غشاء سلولی ریشه می‌شود لذا افزایش انتقال سدیم به اندام‌هوایی را در پی خواهد داشت (Zheng and Shannon, 2000).

میزان آلکالوئیدها: نتایج حاصل از بررسی مقدار آلکالوئیدهای ریشه و اندام‌های هوایی نشان داد که با اعمال تنش شوری مقدار هیوسیامین در ریشه و اندام‌های هوایی افزایش یافت ($0.101 \mu\text{g/g DW}$ و $0.612 \mu\text{g/g DW}$)، به ترتیب در شوری 10 dS/m . هم چنین اسکوپولامین در ریشه افزایش یافت ($0.215 \mu\text{g/g DW}$) و در اندام‌های هوایی کاهش یافت (جدول ۳).

یکی از استراتژی‌های گیاهان در هنگام مواجهه با شرایط تنشی افزایش ساخت ترکیبات دفاعی مثل ترکیبات متابولیت ثانویه بوده و قرار گرفتن در شرایط تنشی متابولیسم این ترکیبات را القاء می‌کند (Elhaak *et al.*, 2014). تحقیقات مختلف نشان داده است که ساخت ترکیبات متابولیت ثانویه توسط فاکتورهای محیطی نظیر خشکی، شدت نور و تنش شوری تنظیم می‌شود (Vasconsuelo and Boland, 2007, Jaleel *et al.*, 2008, Muthulakshmi *et al.*, 2015). هم چنین افزایش اسیدهای آمینه، پروتئین‌ها و قندهای محلول در شرایط تنشی منجر به افزایش محتوای آلکالوئیدها در گیاهان می‌شود (Brodbeck and Strong, 1987). نتایج حاصل از پژوهش حاضر نیز موید این موضوع است. در مطالعه حاضر، مقدار هر دو آلکالوئید هیوسیامین و اسکوپولامین در ریشه در تیمار شوری نسبت به تیمار شاهد افزایش یافت. دایره محیطیه در ریشه محل ساخت آلکالوئیدها بوده و آنزیم‌های مسیر بیوستنز آنها در این محل قرار دارند (Oksman Caldentey and Hiltunen, 1996). مقدار زیادی از این ترکیبات پس از ساخت

غذایی می‌شود (Said-Al Ahl and Omer, 2011). مطالعات انجام شده در بسیاری از گیاهان شامل برنج، سیب زمینی، فلفل و گوجه فرنگی حاکی از افزایش مقدار یون سدیم و کاهش مقادیر عناصر مغذی مثل پتاسیم تحت شرایط تنش شوری بوده که کاهش سرعت فتوسنتز و رشد قسمت‌های هوایی گیاه را در پی داشته است (Demiral and Turkan, 2005., Zhani *et al.*, 2012., Gao *et al.*, 2015., Gowayed *et al.*, 2017). تحقیقات نشان داده است که حفظ نسبت بالای پتاسیم به سدیم ممکن است در گیاه گوجه فرنگی میزان مقاومت به شوری را افزایش دهد (Perez-Alfocea *et al.*, 1996). بر طبق نتایج به دست آمده در پژوهش حاضر به نظر می‌رسد که در گیاه بنگ‌دانه این سازوکار مقاومتی عملکردی ندارد.

نتایج تجزیه واریانس نشان داد که محتوای کلسیم و منیزیم هم در ریشه و هم در اندام‌های هوایی به طور معنی‌داری (در سطح ۱ درصد) تحت تأثیر معنی‌دار تنش شوری قرار گرفت (جدول ۲، شکل‌های A-D). بیشترین محتوای کلسیم و منیزیم در اندام‌های هوایی (1.242 mg/gDW و 1.496 mg/gDW)، به ترتیب) و در ریشه (1.053 mg/gDW و 2.764 mg/gDW)، به ترتیب) در تیمار شاهد مشاهده گردید. کاهش جذب و انتقال کلسیم به اندام‌های هوایی تحت شرایط شوری در گیاهان گزارش شده است (Gao *et al.*, 2015, Tattini and Traversi, 2009, Zhang and Shi, 2013, Liu *et al.*, 2014). به عنوان یک مولکول پیام رسان اساسی در بافت‌های گیاهی شناخته می‌شود و نقش‌های تنظیم‌کنندگی کلیدی در پاسخ به محرک‌های محیطی ایفا می‌کند. تحقیقات نشان می‌دهد که کلسیم نقش مهمی در سازگاری به تنش دارد. این یون موجب کاهش اثر سمیت سدیم شده و در انتقال پیام تنش شوری نقش مهمی دارد (Xu *et al.*, 2005). به هم خوردن تعادل یونی در گیاه زمانی اتفاق می‌افتد که غلظت بالای سدیم ناشی از محیط ریشه، دسترسی به عناصری مثل پتاسیم، منیزیم و کلسیم را کاهش می‌دهد (Hagparast Tanha, 1991). کاهش مقدار کلسیم می‌تواند به خاطر اختلال در خاصیت انتخابی غشاء ریشه باشد که تفاوتی بین سدیم و کلسیم قائل



شکل ۴- اثر سطوح مختلف شوری بر میزان کلسیم اندام هوایی (A)، کلسیم ریشه (B)، منیزیم اندام هوایی (C) و منیزیم ریشه (D). حروف یکسان بیانگر عدم اختلاف معنی دار در سطح احتمال ۱ درصد با استفاده از آزمون دانکن می باشد.

در شرایط شوری افزایش یافت (Abdul Jaleel *et al.*, 2008; Amirjani, 2013). مقدار هیوسیمین در اندام‌های هوایی در مطالعه حاضر در شرایط شوری افزایش یافته اما مقدار اسکوپولامین کاهش نشان داده است. به نظر می‌رسد شوری انتقال آکالوئید اسکوپولامین به اندام‌های هوایی را محدود کرده است.

نتیجه‌گیری کلی

اعمال تنش شوری بر روی گیاه بنگ‌دانه، منجر به افزایش آکالوئیدهای هیوسیمین و اسکوپولامین گردید و با توجه به دارویی بودن این ترکیبات، نتایج حاصله می‌تواند در صنایع دارویی کاربردی باشد. همچنین نتایج حاصل از بررسی پارامترهای رشدی، فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی گیاه بنگ‌دانه

به اندام‌های هوایی منتقل شده و در بافت‌های هوایی در اندامک واکوئول انباشت می‌شوند (Gritothe and Drager, 2002). محل بیوسنتز آکالوئیدها در گیاه بنگ‌دانه ریشه است و تماس با محیط شور منجر به افزایش ساخت این ترکیبات گردیده است. مقادیر آکالوئیدهای گونه‌های *Hyoscyamus muticus* و *Datura stramonium* تحت تنش شوری افزایش یافت (Ali *et al.*, 2011). هم چنین محتوای آکالوئیدهای ریشه گونه *Hyoscyamus niger* تحت شرایط تنش کم آبی نسبت به شاهد افزایش یافت (قربانپور و همکاران، ۱۳۹۰). هم چنین اعمال تنش شوری در دو گونه از جنس *Datura* شامل *D. stramonium* و *D. metel* منجر به افزایش محتوای آکالوئیدها گردید (Abdel Rahman *et al.*, 2013). مقدار آکالوئیدهای گیاه *Catharanthus roseus* به طور معنی‌داری

طی تنش شوری نشان داد این گیاه قادر است تا سطح شوری ۱۵ dS/m را تحمل کند. پیشنهاد می‌شود در مطالعات بعدی غلظت‌های بالاتری از شوری مورد استفاده قرار گیرد.

تشکر و قدردانی
نگارندگان از بخش فیتوشیمی پژوهشکده گیاهان دارویی جهاد دانشگاهی کمال تشکر را دارند.

منابع

- برزویی، الف، کافی، م، خزائی، ح. و موسوی شلمانی، م. (۱۳۸۹) تأثیر شوری آب آبیاری بر صفات ریشه دو رقم حساس و مقاوم به شوری گندم و ارتباط آن با عملکرد دانه در شرایط گلخانه. علوم و فنون کشت‌های گلخانه‌ای ۸: ۱۰۶-۹۵.
- بنی اردلان، س. (۱۳۹۲) بررسی غلظت عناصر سنگین در خاک‌های اطراف معدن زرشوران شهرستان تکاب. پایان نامه کارشناسی ارشد، دانشگاه زنجان، زنجان، ایران.
- بهمن زادگان جهرمی، ع، سفیدکن، ف، سنبل، ع. و جایمند، ک. (۱۳۸۷) استخراج و اندازه‌گیری تروپان آلکالوئیدهای L-هیوسیامین و (-)-اسکوپولامین (هیوسین) از اندام‌های مختلف *Hyoscyamus reticulatus* L. و *Hyoscyamus pusillus* L. پژوهش و سازندگی در منابع طبیعی ۷۹: ۱۵۳-۱۴۵.
- حیدری، ط، اسرار، ز. و نصیبی، ف. (۱۳۹۳) اثر مقادیر مختلف نیکل بر برخی پارامترهای فیزیولوژیکی و سنتز ترکیب‌های ثانویه در گیاه بنگ دانه (*Hyoscyamus niger* L.). ماهنامه علمی-پژوهشی تحقیقات گیاهان دارویی و معطر ایران ۳۰: ۴۱۳-۴۰۲.
- دهقان، ا، عبادی، م. ت، نقدی بادی، ح. ع، شهریار، ف. ا، عزیزی، م. و اصغری، غ. ر. (۱۳۸۸) مروری بر تکنیک‌های نوین در تولید آلکالوئیدهای تروپانی. فصلنامه گیاهان دارویی ۳۳: ۱۶۴-۱۴۹.
- قربانپور، م، مجنون حسینی، ن، رضازاده، ش. ع، امید، م، خوازازی، ک. و. حاتمی، م. (۱۳۹۰) بررسی تغییرات محتوی و عملکرد تروپان آلکالوئیدهای هیوسیامین و اسکوپولامین ریشه و شاخساره گیاه بذربنج (*Hyoscyamus niger*) تحت تأثیر باکتری‌های ریزوسفر یسودومونادس و تنش کم آبی. فصلنامه گیاهان دارویی ۴۰: ۱۷۰-۱۶۰.
- Abdel Rahman, R., Gomma, S. E., Abdelsalam, N. R., El-Wakil, H. M. F., Khaled, A. S. And Hassan, H. M. (2013) Effect of sodium chloride on tropane alkaloids accumulation and proline content in *Datura metel* and *D. stramonium* callus cultures. International Journal of Advanced Biological and Biomedical Research 1:197-210.
- Abdul Jaleel, Ch., Sankar, B., Sridharan, R. and Panneer Selvam, R. (2008) Soil salinity alters growth, chlorophyll content and secondary metabolite accumulation in *Catharanthus roseus*. Turkish Journal of Biology 32:79-83.
- Abdul Qados, A. M. S. (2007) Effect of salt stress on plant growth and metabolism of bean plant *Vicia faba* (L.). Journal of the Saudi Society of Agricultural Sciences 10: 7-15.
- Adibfar, E., Dilmaghani, K. and Hekmat Shoar, H. (2011) Alkaloids contents of *Hyoscyamus niger* L. at different organs in different growth stages. Iranian Journal of Plant Physiology 1:187-192.
- Ahmed, A. M., Heikal, M. D. and Ali, R. M. (1989) Changes in amino acids and alkaloid contents in *Hyoscyamus muticus* and *Datura stramonium* in response to salinization. Phyton 29:137-147.
- Ali, S. Gh., Rab, A., Khan, N. U. and Nawab, K. (2011) Enhanced proline synthesis may determine resistance to salt stress in tomato cultivars. Pakistan Journal of Botany 43:2707-2710.
- Amirjani, M. R. (2013) Effect of drought stress on the alkaloid contents and growth parameters of *Catharanthus roseus*. ARPN Journal of Agricultural and Biological Sciences 8:745-750.
- Arnon, A. (1967) Method of extraction of chlorophyll in the plants. Agronomy Journal, 23: 112-121.
- Ashraf, M. (1994) Breeding for salinity tolerance in plant. Critical Reviews in Plant Sciences 13: 17-42.
- Bates, L. S., Waldren, R. P. and Teare, I. D. (1973) Rapid determination of free proline for water-stress studies. Plant Soil 39: 205-207.
- Bojović, B., Delić, G., Topuzović, M. and Stanković, M. (2010) Effects of NaCl on seed germination in some species from families Brassicaceae and Solanaceae. Kragujevac Journal of Science 32:83-87.
- 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.
- Brodbeck, B, and Strong, D. (1987) Amino acid nutrition of herbivorous insects and stress to host plants; In Barbosa, P., Shultz, J. C., Eds., Insect Outbreaks. Academic Press: San Diego, CA, pp: 347-364.

- Chaum, S. and Kirdmanee, C. (2009) Effect of salt stress on proline accumulation, photosynthetic ability and growth characters in two maize cultivars. *Pakistan Botanical Journal* 41: 87-98.
- Claussen, W. (2005) Proline as a measure of stress in tomato plants. *Plant Science* 168:241-248.
- Demir, I. and Mavi, K. (2008) Effect of salt and osmotic stresses on the germination of pepper seeds of different maturation stages. *Brazilian Archives of Biology and Technology* 5: 897-902.
- Demiral, T., and Türkan, I. (2005) Comparative lipid peroxidation, antioxidant defense systems and proline content in roots of two rice cultivars differing in salt tolerance. *Environmental and Experimental Botany* 53: 247-257.
- Elhaak, M. A., Abo-Kassem, E. M. and Saad-Allah, K. M. (2014) Effect of the combined treatment with sodium and calcium chlorides on the growth and medicinal compounds of *Cichorium intybus*. *International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences* 3:613-630.
- Fedina, I. S. and Tsonev, T. D. (1997) Effect of Pretreatment with Methyl Jasmonate on the response of *Pisum sativum* to salt stress. *Plant Physiology* 151:735-740.
- Fidalgo, F., Santos, A., Santos, I. and Salema, R. (2004) Effects of long-term salt stress on antioxidant defence systems, leaf water relations and chloroplast ultrastructure of potato plants. *Annals of Applied Biology* 145:185-192.
- Gao H. J., Yang, H. Y., Bail, J. P., Liang, X. Y., Lou, Y., Zhang, J. L., Wang, D., Zhang, J. L., Niu, Sh. Q. and Chen, Y. L. (2015) Ultrastructural and physiological responses of potato (*Solanum tuberosum* L.) plantlets to gradient saline stress. *Frontiers in Plant Science* 5: 1-14.
- Gowayed, S. M. H., Al-Zahrani, H. S. M. and Metwali, E. M. R. (2017) Improving the Salinity Tolerance in Potato (*Solanum tuberosum*) by Exogenous Application of Silicon Dioxide Nanoparticles. *International Journal of Agriculture & Biology* 19: 183-194.
- Gritothe, G. and Drager, B. (2002) Tropane alkaloids metabolic response to carbohydrate signal in root cultures of *Atropa belladonna*. *Plant Science* 163: 979 - 85.
- Gupta, B. and Huang, B. (2014) Mechanism of Salinity Tolerance in Plants: Physiological, Biochemical and Molecular Characterization. *International Journal of Genomics* 2014:1-18.
- Haghparsat Tanha, M. R. (1992) Plant Nutrition and Metabolism. Rasht Azad Islamic University, 527p.
- Hojjat Nooghi, F. and Mozaffari, V. (2012) Effects of calcium on eliminating the negative effects of salinity in pistachio (*Pistacia vera* L.) seedlings. *Australian Journal of Crop Science* 6:711-716.
- Jaleel, C. A., Gopi, R. and Panneerselvam, R. (2008) Growth and photosynthetic pigments responses of two varieties of *Catharanthus roseus* to triadimefon treatment. *Camptes Rendus Biologies* 331: 272 - 7.
- Jamil, M., Lee, D. B., Jung, K. Y., Ashraf, M. S., Lee, C. and Rha, E. S. (2006) Effect of salt (NaCl) stress on germination and early seedling growth of four vegetable species. *Journal of Central European Agriculture* 7:273-282.
- Janagoudar, B. S., Venkata Subbaiahk, K., Janardhan, K. V. and Panchal, Y. C. (1983) Effects of short term stress on free proline accumulation, relative water content and potassium contents in different plant part of three cotton genotypes. *Indian Journal of Plant Physiology* 26: 82- 87.
- Kamada, H., Okamura, N., Satake, M., Harada, H. and Shimomura, K. (1986) Alkaloid production by hairy root cultures in *Atropa belladonna*. *Plant Cell Reports* 5: 239-242.
- Kaouther, Z., Ben Fredj, M., Mani, F. and Hannachi, Ch. (2012) Impact of salt stress (NaCl) on growth, chlorophyll content and fluorescence of Tunisian cultivars of chili pepper (*Capsicum frutescens* L.). *Journal of Stress Physiology & Biochemistry* 8: 236-252.
- Khavarinejad, R. A. and Mostofi, Y. (1998) Effect of NaCl on Photosynthetic pigments, saccharids and chloroplast ultrastructure in leaves of tomato cultivars. *Photosynthetica* 35:151-154.
- Koksal, N., Kulahlioglu, I., Ertargin, E. and Alkan Torun, A. (2014) Relationship between salinity stress and ion uptake of hyacinth (*Hyacinthus orientalis*). *Turkish Journal of Agricultural and Natural Sciences* 1: 578-583.
- Liu, W., Yuan, X., Zhang, Y., Xuan, Y. and Yan, Y. (2014) Effects of salt stress and exogenous Ca²⁺ on Na⁺ compartmentalization, ion pump activities of tonoplast and plasma membrane in *Nitraria tangutorum* Bobr. leaves. *Acta Physiologiae Plantarum* 36: 2183-2193.
- Muthulakshmi, S. M., Gurulakshmi, S. G. and Rajathi, S. (2015) Effect of salt stress on physiological and biochemical characterization in *Solanum nigrum* L. *International Journal of Science and Research* 4: 567-571.
- Oksman Caldentey, K. M. and Hiltunen, R. (1996) Transgenic crops for improved pharmaceutical products. *Field Crops Research* 45: 57 - 69.
- Ozturk, A., Ukar, A., Ipek, A. and Gurbuz, B. (2004) Effects of salt stress and water deficit on plant growth and essential of Lemon balm (*Melissa officinalis* L.). *Pakistan Journal of Botany* 36: 787-792.
- Parida, A. K. and Das, A. B. (2005) Salt tolerance and salinity effects on plants: a review. *Ecotoxicology and Environmental Safety* 60:324-349.
- Perez-Alfocea, F., Balibrea, M., Cruz, A.S., and Estan, M. (1996) Agronomical and physiological characterization of salinity tolerance in a commercial tomato hybrid. *Plant and Soil* 180: 251-257.

- Roe, J. D. (1955) The determination of sugar in blood and spinal fluid with anthrone reagent. *Journal of Biological Chemistry* 212:335-343.
- Said-Al Ahl, H. A. H. and Omer, E. A. (2011) Medicinal and Aromatic plants production under salt stress: a review. *Kerla Polonica* 57:72-87.
- Tattini, M. and Traversi, M. L. (2009) On the mechanism of salt tolerance in olive (*Olea europaea* L.) under low or high Ca²⁺ supply. *Environmental and Experimental Botany* 65: 72–81.
- Vasconsuelo, A. and Boland, R. (2007) Molecular aspects of the early stages of elicitation of secondary metabolites in plants. *Plant Science* 172: 861-875.
- Wheatherley, P. E. (1973) Studies in the water relations of cotton plants. The field measurement of water deficit in leaves. *New Phytologist* 49:81–87.
- Xu, Q., Schmidt, B., Pradhan, S., and Lipson, M. (2005) Micrometre-scale silicon electro-optic modulator. *Nature* 435: 325-327.
- Yancey, P. H. (2001) Water stress, osmolytes and proteins. *American Zoologist*, 41: 699-709.
- Yildirim, E., Karlidag, H. and Dursun, A. (2011) Salt Tolerance of *Physalis* during Germination and Seedling. *Pakistan Journal of Botany* 43:2673-2676.
- Zhang, J. L. and Shi, H. (2013) Physiological and molecular mechanisms of plant salt tolerance. *Photosynthesis Research* 115: 1–22.
- Zeng, L. and Shannon, M. C. (2000) Salinity effects on seedling growth and yield components of rice. *Crop Science* 40: 996-1003.
- Zhu, J. K. (2001) Plant salt tolerance. *Trends in Plant Science* 6: 66-71.