

بررسی اثر عصاره جلبک تک سلولی *Dunaliella* بر رشد و پاسخ به استرس شوری در گیاه برنج

معصومه شریفی^۱، منصور شریعتی^{۱*} و سیدعلی حسینی تفرشی^۲

^۱ دانشکده علوم و فناوری‌های زیستی، گروه زیست‌شناسی گیاهی و جانوری، دانشگاه اصفهان، اصفهان، ایران

^۲ دانشکده شیمی، گروه بیوتکنولوژی، دانشگاه کاشان، کاشان، اصفهان، ایران

(تاریخ دریافت: ۱۴۰۴/۰۲/۲۴، تاریخ پذیرش نهایی: ۱۴۰۴/۰۴/۱۷)

چکیده

شوری یک تهدید بزرگ برای تولید محصولات زراعی و امنیت غذایی جهانی است. جلبک‌ها و عصاره‌های آن‌ها حاوی ترکیبات فعال زیستی هستند که می‌توانند تحمل گیاهان را به تنش‌های غیرزنده از جمله تنش شوری افزایش دهند. در مطالعه حاضر اثر عصاره ریزجلبک‌های *دانالیلا سالینا* و *دانالیلا بارداولیل* در بهبود تحمل گیاهان برنج طی تنش شوری مورد ارزیابی قرار گرفت. این تحقیق طی دو مرحله آزمایش انجام شد. در آزمایش اول آستانه مقاومت به تنش شوری در گیاهان برنج (*Oryza sativa*) تعیین شد که بدین منظور پنج غلظت نمک (صفر، ۵۰، ۱۰۰، ۱۵۰ و ۲۰۰ میلی‌مولار نمک) مورد ارزیابی قرار گرفت و پس از بررسی شاخص‌های رشدی، غلظت ۱۵۰ میلی‌مولار انتخاب گردید. در آزمایش دوم غلظت‌های ۰/۱، ۱ و ۲ درصد از عصاره جلبک‌های *دانالیلا سالینا* (*Dunaliella salina*) و *دانالیلا بارداولیل* (*Dunaliella bardawil*) به صورت جداگانه تهیه و در چهار مرتبه و به فاصله زمانی ۲ روز یکبار به برگ گیاهچه‌ها اسپری گردید. سپس گیاهان به مدت ۱۴ روز تحت تنش شوری ۱۵۰ میلی‌مولار نمک قرار گرفتند. در پایان آزمایش نمونه‌برداری از گیاهان انجام شد و شاخص‌های فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی مورد سنجش قرار گرفت. نتایج نشان داد که پس از اعمال تنش شوری، گیاهانی که عصاره دو گونه جلبک را دریافت کردند، رشد قابل توجهی در زیست‌توده ساقه و ریشه و میزان سبزی‌نگی برگ‌ها نسبت به گیاهان شاهد که فاقد تیمار جلبک بودند را نشان دادند. همچنین افزایش رنگیزه‌های فتوسنتزی و میزان کاروتنوئیدها، میزان محتوای آب نسبی، پرولین، گلاسین-بتائین و کربوهیدرات‌های محلول شد. از طرفی به علت تنش اکسیداتیو و پراکسیدشدن لیپیدهای غشاء در شرایط تنش شوری و در حضور عصاره جلبک مقادیر مالون دی‌آلدئید افزایش یافت که به دنبال این افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی از جمله کاتالاز نیز افزایش پیدا کرد. عصاره ریزجلبک‌ها باعث حفظ محتویات درون سلولی با کاهش نشت الکتروولت از غشا در شرایط تنش شوری شدند. از نتایج حاصل مشخص شد که عصاره ریزجلبک‌ها احتمالاً به علت دارا بودن مواد مغذی و محرک رشد عملکرد گیاهان را تحریک نموده و رشد و تحمل گیاهان را در شرایط تنش‌های محیطی افزایش داده است. بدین منظور به نظر می‌رسد یک راه جایگزین در کشاورزی ارگانیک استفاده از عصاره ریزجلبک‌ها به خصوص در غلظت‌های بالاتر تحت عنوان کودهای زیستی به جای کودهای شیمیایی باشد.

واژه‌های کلیدی: *دانالیلا سالینا*، *دانالیلا بارداولیل*، تنش شوری، برنج

مقدمه

رایج از محرک‌های زیستی نیز استفاده قرار می‌گیرند. محرک‌های زیستی به هر ماده با منشأ زیستی یا میکروارگانیسم‌هایی اطلاق می‌شود که به گیاه داده شده تا بتوان با اثر مستقیم بر فیزیولوژی و متابولیسم گیاه (Soppelsa et al., 2019)، عملکرد محصول، راندمان استفاده از مواد مغذی گیاهی، کیفیت محصول و مقاومت به تنش‌های غیرزیستی را افزایش دهد (Drobek et al., 2019). گیاهان معمولاً این کار را از طریق افزایش کارایی متابولیسم گیاه، افزایش مقاومت گیاه به تنش‌های غیرزیستی، افزایش کارایی مصرف آب و جذب بیشتر عناصر غذایی انجام می‌دهند.

عصاره جلبک‌ها یکی از این محرک‌های زیستی است که برای افزایش رشد و نمو و ارتقای کیفیت محصول و کاهش تنش‌های محیطی، مورد استفاده قرار می‌گیرد (Drobek et al., 2019). مطالعات نشان داده است که عصاره‌های جلبکی عمدتاً دارای ترکیبات تحریک‌کننده زیستی متنوعی مانند انواع کربوهیدرات‌ها، اسیدهای آمینه، مقادیر کمی از هورمون‌های گیاهی، محافظت‌کننده‌های اسمزی و عصاره‌های پروتئینی هستند که به طور طبیعی در ترکیبات کودهای مورد استفاده وجود ندارند (Ali et al., 2021).

گیاه برنج با نام علمی *Oryza sativa*، یک گونه یک ساله، متعلق به جنس *Oryza* و از خانواده گندمیان (Gramineae) است. حدود ۲۳ گونه وجود دارد که از این میان تنها دو گونه به نام‌های برنج آسیایی (*Oryza sativa*) و برنج آفریقایی (*Oryza glaberrima*) دارای ارزش تجاری برای کشت هستند. گونه *Oryza sativa* رایج‌ترین گونه‌ای است که امروزه در سراسر جهان رشد می‌کند در حالیکه *Oryza glaberrima* فقط در آفریقای جنوبی رشد می‌کند (Wu et al., 2019). برنج که حدود ۲۰ درصد کالری روزانه جهانی را تأمین می‌کند گیاهی حساس به شوری است و این تنش می‌تواند بهره‌وری برنج را در سطح جهانی محدود کند. با توجه به اینکه برنج یک محصول حساس به نمک است و درک واکنش‌های تنش شوری و مکانیسم‌های تحمل برای توسعه محصولات برنج مقاوم به نمک برای حفظ بهره‌وری محصول در آینده مهم

تنش‌های غیرزنده از جمله تنش شوری یکی از عوامل مهم در کاهش قابل‌ملاحظه در عملکرد گیاهان زراعی در کل دنیا به حساب می‌آید، اما آنچه بیشتر اهمیت دارد دائمی و همیشگی بودن اثرات محیطی تنش شوری نسبت به سایر تنش‌های غیرزنده است. تنش شوری هم به صورت کوتاه‌مدت و هم بلندمدت می‌تواند بر رشد گیاهان تأثیر منفی داشته باشد (Summart et al., 2010). گزارش‌ها حاکی از آن است که بالغ بر ۸۸ میلیون هکتار از کره زمین تحت تأثیر تنش شوری قرار داشته و این امر یکی از عوامل محیطی است که فرایندهایی چون جوانه‌زنی و تداوم رشد گیاهان را به صورت منفی متأثر می‌کند (Momeni, 2010). در اثر تنش شوری به دلیل بروز یک سری از واکنش‌ها و پاسخ‌های فیزیولوژیکی شامل تغییراتی در وضعیت آبی گیاه، عملکرد فتوسنتز و تخصیص و مصرف کربن، رشد و نمو گیاهان دچار افت شده و باعث کاهش میزان عملکرد محصول می‌شود (Rauf et al., 2007). گزارش شده است که گیاهانی که در خاک‌های با شوری بالا زندگی می‌کنند به دلیل اثرات اسمزی علاوه بر تنش شوری گرفتار سایر تنش‌های غیرزنده مانند تنش آبی، سمیت یونی، اختلالات تغذیه‌ای و تنش اکسیداتیو (Fahad et al., 2017) می‌شوند.

تأثیر تنش شوری و متعاقب آن سایر تنش‌های غیرزنده باعث ایجاد اختلال در فرایندهایی مانند تغییر فرآیندهای اصلی متابولیسم گیاه مانند فتوسنتز، سنتز پروتئین و تولید انرژی و لیپید (Fahad et al., 2017)، به هم ریختگی غشاء، کاهش تقسیم و گسترش سلولی و کاهش رشد و عملکرد گیاه می‌شود (Summart et al., 2010).

گیاهان به منظور مقابله با تنش شوری از سازوکارهای فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی مختلفی شامل، هومئوستازی یون و تحمل نمک، انتقال و جذب یون، بیوسنتز مواد محافظت‌کننده اسمزی و املاح سازگار، فعال‌سازی آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی و سنتز ترکیبات آنتی‌اکسیدانی، سنتز پلی‌آمین‌ها استفاده می‌کنند (Chen et al., 2018).

امروزه برای مقابله با تنش‌های گیاهی علاوه بر روش‌های

جلبکی به گیاهچه‌های برنج انجام شد و مرحله آخر انجام آزمایش‌های فیزیولوژیکی بود.

کشت جلبک *Dunaliella*: به منظور کشت دو گونه جلبک *دانالیا سالینا* (*D. salina*) و *دانالیا باردویل* (*D. bardawil*) از محیط کشت جانسون (Johnson et al., 1968) تغییر یافته (Shariati and Lilley, 1994) با غلظت‌های زیر برحسب میلی‌مولار (۵) $MgSO_4$ ، (۵) KNO_3 ، (۰/۲) KH_2PO_4 ، (۰/۲) $CaCl_2$ ، (۲۵) $NaHCO_3$ و برحسب میکرومولار (۷) $MnCl_2$ ، (۱۰+۴) $FeCl_3+Na_2-EDTA$ ، (۱) $CuCl_2$ ، (۱) $ZnCl_2$ ، (۱) $CoCl_2$ ، (۱) $(NH_6) MO_7O_{24} \cdot 4H_2O$ همراه غلظت ۱/۵ مولار $NaCl$ تحت شرایط استریل استفاده شد. ظرف محیط کشت حاوی جلبک به مدت چهار هفته در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد با شدت نور سفید ۴۰ میکرومول فوتون بر مترمربع بر ثانیه (QSPAR Quantum sensor, Hansatech, UK) و دوره تناوب نوری ۱۲ ساعت نور و ۱۲ ساعت تاریکی قرار داده شد.

عصاره‌گیری: به منظور ته‌نشین‌سازی اولیه جلبک، از سود ۴٪ در ۸ لیتر جلبک استفاده شد. محیط بالای رسوب غلیظ جلبک به آرامی تخلیه گردید. حدود ۵۰ میلی‌لیتر سوسپانسیون تغلیظ شده جلبکی به یک لوله فالكون انتقال داده شده و در ۵۰۰۰ دور در دقیقه برای مدت ۵ دقیقه سانتریفیوژ (-5810R Eppendorf-Germany) شد. پس از تخلیه مایع رویی، به رسوب حاصل مقدار ۵۰ میلی‌لیتر آب مقطر اضافه گردید و سه مرتبه به آرامی با آب مقطر شستشو داده شده و مانند قبل سانتریفیوژ شد. در ادامه رسوب حاصل توسط آن مدل (UNB500-Memert-Germany) با دمای ۶۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۴۸ ساعت خشک شد. جلبک خشک شده به کمک یک هاون چینی، به خوبی ساییده شد. سپس یک گرم از پودر خشک جلبکی به ۵۰ میلی‌لیتر آب مقطر در داخل یک فالكون اضافه شد. محتویات داخل فالكون به کمک ورتکس مدل (SA8-Stuart-UK) به مدت ۱۰ دقیقه به خوبی مخلوط و به مدت ۴۸ ساعت نگهداری شد. سپس نمونه‌ها توسط دستگاه هموژنایزر مدل (Silent Crusherm-Heidolph-Germany) به

است، استفاده از رویکردهای مناسب برای القای سازگاری گیاهانی مانند برنج به شوری برای استفاده از آب‌های شور بسیار ضروری به نظر می‌رسد.

Dunaliella یک جلبک سبز تک سلولی فاقد دیواره سلولی است که به ویژه در محیط‌های بیش از حد شور، مانند دریاچه‌های نمک و حوضچه‌های تبخیر نمک یافت می‌شود (He et al., 2020). با توجه به تک سلولی بودن از این جلبک به عنوان مدل سیستم در مطالعات فیزیولوژی گیاهی و بیوتکنولوژی (Hosseini Tafreshi and Shariati, 2009) و همچنین بررسی تولید چربی استفاده می‌شود (Zare Chavoshi and Shariati, 2019). این جلبک در شوری بالا و منفی‌تر شدن پتانسیل اسمزی محیط با تولید گلیسرول پتانسیل درونی خود را تنظیم نموده و برخی گونه‌های آن می‌توانند در شرایط شوری بالا، نور زیاد و کمبود مواد غذایی مقادیر زیادی بتا کاروتن را جهت مقابله با شرایط نامساعد در خود تولید کند (El Arroussi et al., 2016).

با توجه به برخی از گزارش‌ها مبنی بر این‌که عصاره ریزجلبک‌ها می‌تواند باعث بهبود رشد و تولید در گیاهانی مانند برنج در شرایط بدون تنش و همچنین تحت تنش گردد و از طرفی چون جلبک *دانالیا*، گونه مقاوم به شوری بوده و در اثر رشد در محیط حاوی نمک مکانیسم‌های مقابله با شوری را دارا می‌باشد و با توجه به اینکه برنج گیاهی حساس به شوری است و اطلاعات کافی درباره اثر عصاره ریزجلبک‌های مقاوم به شوری مانند *Dunaliella salina* و *Dunaliella bardawil* بر گیاه برنج در شرایط تنش نمک وجود ندارد، هدف این پژوهش بررسی تأثیر عصاره دو سویه از این ریزجلبک بر رشد و تحمل شوری در گیاه برنج است.

مواد و روش‌ها

آزمایش‌های مربوط به پژوهش حاضر طی سه مرحله انجام گرفت. مرحله اول شامل کشت، برداشت و عصاره‌گیری از جلبک‌های *دانالیا*، سپس در مرحله بعدی بذره‌های برنج داخل گلدان‌ها کشت شد و اعمال تنش شوری و اسپری عصاره‌های

برای انجام آزمایش‌های اعمال تنش شوری گیاهان با محیط جانشون حاوی غلظت‌های صفر، ۵۰، ۱۰۰، ۱۵۰ و ۲۰۰ مولار نمک آبیاری و نهایتاً غلظت مناسب جهت اعمال تنش شوری انتخاب گردید.

اعمال تنش شوری: برای اعمال تنش شوری به محض جوانه‌زنی بذرها و شروع اولین آبیاری با محلول جانشون، محلول عصاره‌های جلبکی به برگ گیاهچه‌ها اسپری شد. اسپری کردن عصاره‌ها در چهار مرتبه و با فاصله زمانی دو روز یکبار در روزهای پنجم، هشتم، یازدهم و چهاردهم بعد از کاشت بذرها انجام گرفت و در این مدت گلدان‌ها نیز هر چهار روز یکبار با محلول جانشون آبیاری شدند. بعد از اتمام چهار مرتبه از اسپری کردن عصاره‌های جلبکی، اعمال تنش شوری به گلدان‌ها دوبار با فاصله انجام شد. جهت تنش شوری در مرحله اول، تنش شوری به صورت آبیاری با محلول جانشون حاوی نمک انجام شد. در مرتبه بعدی به گلدان‌ها فقط محلول جانشون داده شد و در مرتبه آخر مجدداً آبیاری با محلول جانشون حاوی نمک انجام گرفت. برای اندازه‌گیری شاخص‌ها، ۲۵ روز بعد از کاشت بذرها و اعمال تیمارها، از گیاهان نمونه‌گیری به عمل آمد.

طرح آزمایش: آزمایش‌ها به صورت فاکتوریل دو عاملی، فاکتور اول اسپری محلول عصاره‌های جلبکی (در دو سطح کنترل (فاقد جلبک) و تیمار (دارای جلبک) در نظر گرفته شد و فاکتور دوم تیمار شوری (در دو سطح شاهد و ۱۵۰ میلی‌مولار نمک (NaCl) با سه تکرار در گلدان‌ها در نظر گرفته شد که نحوه نام‌گذاری گلدان‌ها بر اساس تیمارهای داده‌شده به صورت زیر نمایش داده شد. Con (آبیاری با محیط‌کشت بدون نمک)، CON (اسپری با آب‌مقطر بدون عصاره جلبک)، S (تنش ۱۵۰ میلی‌مولار نمک)، DS (اسپری با عصاره *دانالیلا سالیئا*، DB (اسپری با عصاره *دانالیلا باردویل*)، R₁ R₂ R₃ (تکرار آزمایش).

نمونه‌برداری: پس از پایان تیماردهی، ۱۴ گلدان انتخاب و هر گیاه به ریشه و بخش هوایی تقسیم گردید. وزن تر ریشه، ساقه و برگ هر گیاه در همه تکرارها با ترازو مدل (TE124S-

مدت ۴ دقیقه و با سرعت ۱۵۰۰۰ دور در دقیقه به صورت مخلوط یکنواختی تبدیل گردید. در ادامه فالكون حاوی نمونه به مدت ۱۵ دقیقه ورتکس شد و بعد از آن، به مدت یک ساعت داخل دستگاه حمام التراسونیک مدل (Euronada-Vincenza-Italy) قرار داده شد. سپس عصاره حاصل به وسیله سانتریفیوژ مدل (5810R-Eppendorf-Germany) به مدت ۵ دقیقه و با سرعت ۵۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفیوژ گردید. حجم مایع رویی با آب‌مقطر به ۵۰ میلی‌لیتر رسانده شد و سپس از آن غلظت‌های مورد نیاز تهیه و به صورت: DS_{0.1}، DS₁، DS₂، (غلظت ۰/۱، ۱ و ۲ درصد جلبک *D. salina*) و DB₁، DB_{0.1}، DB₂، (غلظت ۰/۱، ۱ و ۲ درصد جلبک *D. bardawil*) و شاهد (آب‌مقطر) نامگذاری شد.

کشت گیاه برنج: به منظور تهیه گیاه برنج، بذرهای هاشمی *Oryza sativa* از مؤسسه تحقیقات برنج کشور استان گیلان، شهرستان رشت تهیه شد. کاشت بذر به صورت گلدانی انجام گرفت. بدین منظور پرلیت و پیت‌ماس‌ها، با نسبت یک به یک با هم مخلوط و توسط اتوکلاو استریل و سپس به گلدان‌ها انتقال داده شدند. بذرهای گیاه برنج به مدت ۴۸ ساعت، در آب‌مقطر خیس‌انده شدند. سپس با محلول هیپوکلریت سدیم با ۵ درصد کلر فعال به مدت ۱۰ دقیقه ضدعفونی و به مدت ۴۰ دقیقه در آب حاوی پودر قارچ‌کش قرار گرفتند و سه مرتبه با آب‌مقطر شستشو داده شدند. بستر گلدان‌ها ابتدا به وسیله آب‌مقطر خیس‌انده شدند. بذرهای ضدعفونی شده مستقیماً درون گلدان‌های حاوی پرلیت و پیت‌ماس کاشته شدند و سطح خارجی تمام گلدان‌ها سلفون به منظور حفظ رطوبت گلدان‌ها پوشانده شد. گلدان‌ها در اتاق رشد با دوره تناوب نوری ۱۲ ساعت نور و ۱۲ ساعت تاریکی و نور ۴۰ میکروفوتون بر مترمربع بر ثانیه و دمای ۲۷ درجه سانتی‌گراد قرار داده شدند. پنج روز بعد از کاشت بذرها، و جوانه‌زنی آبیاری گلدان‌ها به وسیله محلول غذایی جانشون (Johnson *et al.*, 1968) فاقد نمک با pH=۵/۸ انجام شد. آبیاری گلدان‌ها با ظرفیت زراعی ۱۰۰ میلی‌لیتر برای هر گلدان و به فاصله چهار روز یکبار انجام گرفت. برای انتخاب غلظت مناسب شوری

$$\text{Chl a } (\mu\text{g/mg}) = 12.21(A663) - 2.81 (A646)$$

$$\text{Chl b } (\mu\text{g/mg}) = 20.13(A646) - 5.03(A663)$$

$$\text{Total chl } (\mu\text{g/mg}) = \text{Chla} + \text{Chlb}$$

$$\text{Car } (\mu\text{g/mg}) = (1000 \times A470 - 3.27 \text{ Chla} - 104 \times \text{Chlb}) / 198$$

غلظت مالون دی‌آلدئید (MDA): برای اندازه‌گیری میزان

پراکسیدشدن لیپیدها، غلظت مالون دی‌آلدئید (MDA) بر طبق روش Heath و packer (۱۹۶۸) با استفاده از جذب در طول موج ۵۳۲ نانومتر و طول موج ۶۰۰ نانومتر توسط دستگاه اسپکتروفتومتر برحسب نانومول بر گرم وزن تر طبق رابطه زیر محاسبه گردید.

$$\text{MDA} = [1000(A532 - A600)/155] \times V/W$$

در این رابطه: V (حجم کل عصاره)، W (وزن تر نمونه بر حسب گرم)، A (مقدار جذب نوری هر نمونه)

غلظت پرولین: میزان غلظت پرولین بر طبق روش Bates

و همکاران (۱۹۷۳) با جذب در طول موج ۵۲۰ نانومتر توسط دستگاه اسپکتروفتومتر اندازه‌گیری و از تولوئن به عنوان بلانک استفاده شد. مقادیر پرولین با استفاده از منحنی استاندارد پرولین و رابطه زیر محاسبه گردید:

$$X = \left[A \times \frac{B}{C} \right] (D/5)$$

D (مقدار برگ وزن‌شده بر حسب گرم)، X (مقدار پرولین برگ بر حسب میکرومول در گرم بافت تازه)، A (مقدار پرولین به دست آمده از منحنی استاندارد بر حسب میکروگرم در میلی‌لیتر)، B (مقدار تولوئن استفاده‌شده بر حسب میلی‌لیتر)، C (جرم مولکولی پرولین برابر ۱۱۵/۱۳ میکروگرم در میکرومول).
غلظت گلاسیسین‌بتائین: مقادیر گلاسیسین‌بتائین بر طبق روش Grive و Grattan (۱۹۹۸) و با استفاده از منحنی استاندارد اندازه‌گیری شد. میزان کربوهیدرات‌های محلول در این آزمایش از روش Dubois (فنل - اسید سولفوریک) و همکاران (۱۹۵۶) استفاده شد.

استخراج عصاره آنزیمی: برای استخراج عصاره آنزیمی از

بافت گیاهی برای تعیین غلظت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان میزان ۱۰۰ میلی‌گرم از بافت گیاهی وزن و در هاونی که بر روی یخ قرار داشت، سائیده شد. ۱/۵ میلی‌لیتر از بافر فسفات حاوی پلی‌ونیل‌پیرولیدین (PVP) به آن اضافه کرده و بافت را با این بافر به نحوی سائیده تا به صورت محلول همگنی تبدیل گردد.

(Sartorius-Germany) با دقت ۰/۰۰۰۱ گرم تعیین شد.

برای تعیین وزن خشک، نمونه‌ها به مدت ۴۸ ساعت در آون با دمای ۶۰ درجه سانتی‌گراد قرار گرفتند و وزن خشک بخش هوایی و ریشه برای هر تیمار پس از این زمان اندازه‌گیری و ثبت گردید.

طول ساقه، برگ و ریشه و ضخامت برگ توسط کولیس با دقت ۰/۰۳ میلی‌متر اندازه‌گیری شد. تعداد ۲۸ گلدان باقی مانده نیز هر کدام به دو بخش هوایی و ریشه تقسیم و تمامی برگ‌ها و ریشه‌ها در هر تیمار و برای هر تکرار در معرض نیتروژن مایع قرار گرفتند و جهت انجام آزمایش‌های فیزیولوژیکی در فریزر ۷۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند.

اندازه‌گیری میزان پایداری غشا: میزان پایداری غشا، با

اندازه‌گیری نشت الکترولیت سلول‌های برگ از طریق سنجش هدایت الکتریکی غشا (EC)، توسط هدایت‌سنج مدل (-Istek Korea-C65) اندازه‌گیری و از رابطه زیر استفاده شد (Dionisio-sese and Tobita, 1998). در این رابطه EL (نشت الکترولیت)، Ci (هدایت اولیه الکتریکی آب حاوی برگ)، Cmax (هدایت الکتریکی نهایی آب حاوی برگ) است.

$$EL(\%) = \left(\frac{C_i}{C_{max}} \right) \times 100$$

محتوای نسبی آب: جهت تعیین محتوای آب نسبی برگ از روش Ritchie و همکاران (۱۹۹۰) با استفاده از رابطه زیر استفاده شد. در این رابطه: FW (وزن تر برگ بلافاصله بعد از نمونه‌برداری)، DW (وزن خشک برگ بعد از قرارگرفتن در آون)، TW (وزن اشباع برگ بعد از قرارگرفتن در آب مقطر)

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

میزان سبزی‌نگی گیاه (SPAD): اندازه‌گیری سبزی‌نگی نسبی گیاهان، به وسیله دستگاه کلروفیل‌سنج مدل (SPAD- 502) برای هر گیاه در هر تکرار به تعداد هشت بار اندازه‌گیری شد.

میزان رنگیزه‌های گیاهی: اندازه‌گیری مقادیر سلولی

رنگیزه‌های فتوسنتزی کلروفیل کل و کاروتنوئید، بر حسب میکروگرم بر میلی‌لیتر طبق رابطه‌های زیر و با جذب نور در طول موج‌های ۶۶۳، ۶۴۶ و ۴۷۰ نانومتر توسط دستگاه اسپکتروفتومتر محاسبه شدند (Wellburn, 1994).

ارتفاع ریشه گیاهان برنج در غلظت‌های صفر، ۵۰، ۱۰۰، ۱۵۰ و ۲۰۰ میلی‌مولار نمک، پس از ۲۰ روز به منظور انتخاب غلظت مناسبی از نمک جهت اعمال تنش شوری در گیاهان برنج بررسی شد.

با بررسی نتایج آزمایشات مقدماتی (نشان داده نشده است) جهت تعیین غلظت مناسب شوری مشخص گردید که غلظت ۲۰۰ میلی‌مولار نمک در اکثر شاخص‌های مورد اندازه‌گیری باعث تأثیر شدید بر شاخص‌های مورد اندازه‌گیری شد و می‌توانست پس از اعمال تنش شوری در گیاهان برنج منجر به مرگ گیاه شود و در غلظت ۱۰۰ میلی‌مولار نمک در شاخص‌های مورد اندازه‌گیری تأثیر چندانی مشاهده نشد و گیاه می‌توانست در غلظت ۱۵۰ میلی‌مولار نمک مدت زیادتری در شرایط استرس زنده بماند، لذا برای بررسی تأثیر عصاره‌های جلبک *دانالیلا سالیئا* و *دانالیلا باردوویل* بر میزان مقاومت گیاه برنج به تنش شوری، غلظت ۱۵۰ میلی‌مولار نمک به عنوان غلظتی مناسب برای این تحقیق انتخاب گردید.

همانطور که در شکل ۱-۱-A ملاحظه می‌شود تحت تنش شوری وزن تر ریشه گیاهان برنج نسبت به وضعیت بدون تنش کاهش معنی‌داری پیدا کرده است. افزودن عصاره جلبک در کلیه تیمارها تغییرات معنی‌داری نسبت به گیاه شاهد در وضعیت بدون تنش ایجاد نکرده است. بکارگیری عصاره جلبک *دانالیلا سالیئا* در تیمارهای $DS_{(0.1)}$ ، DS_1 و DS_2 و عصاره جلبک *دانالیلا باردوویل* در تیمار $DB_{(0.1)}$ به دنبال تنش شوری سبب افزایش معنی‌داری در وزن تر ریشه گیاهان نسبت به گیاه تحت تنش شوری تنها شده است. بین غلظت‌های مختلف از عصاره دو گونه جلبک تفاوت معناداری در میزان وزن تر ریشه دیده نشد. تأثیر تنش شوری و تنش شوری به علاوه جلبک بر مشابه اثرات آن بر وزن تر ریشه است (شکل ۱-۱-B). بعد از اعمال تنش شوری عصاره جلبک در تیمارهای DS_1 و به خصوص در $DB_{(0.1)}$ افزایش معنی‌داری در وزن تر ساقه را نسبت به گیاه شاهد نشان می‌دهد. از طرفی تنش شوری در تیمارهای $DS_{(0.1)}$ ، DS_2 ، DB_1 و DB_2 سبب کاهش

این محلول به مدت ۲۰ دقیقه با دور ۱۳۰۰۰ rpm در دمای ۴C سانتریفیوژ شد. از فاز رویی به مقدار ۱۰۰ میکرولیتر در اپندورف‌های قرار گرفته‌شده بر روی یخ اضافه و بلافاصله به فریزر ۷۰C- منتقل گردید.

اندازه‌گیری فعالیت آنزیم کاتالاز (CAT): فعالیت آنزیم کاتالاز (CAT) به روش Aebi (۱۹۸۴) اندازه‌گیری و در طول موج ۲۴۰ نانومتر بعد از یک دقیقه در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد و با استفاده از رابطه زیر تعیین گردید:

$$EA = \frac{(\Delta OD \times 1000 \times B)}{(EC \times A \times C)}$$

EA (فعالیت آنزیم بر حسب $\mu\text{mol} \cdot \text{min}^{-1} \cdot \text{mg}^{-1} \text{FW}$) است، ΔOD (میزان اختلاف جذب خوانده‌شده هر نمونه)، A (میزان نمونه ریخته‌شده در کووت (۱۰۰ میکرولیتر)، B (مقدار بافر فسفات اضافه‌شده به نمونه‌ها (۱/۵ میلی‌لیتر)، C (مقدار برگ وزن شده بر حسب گرم (۰/۱ گرم)، EC (ضریب فعالیت آنزیم کاتالاز که برابر ۰/۰۳ است).

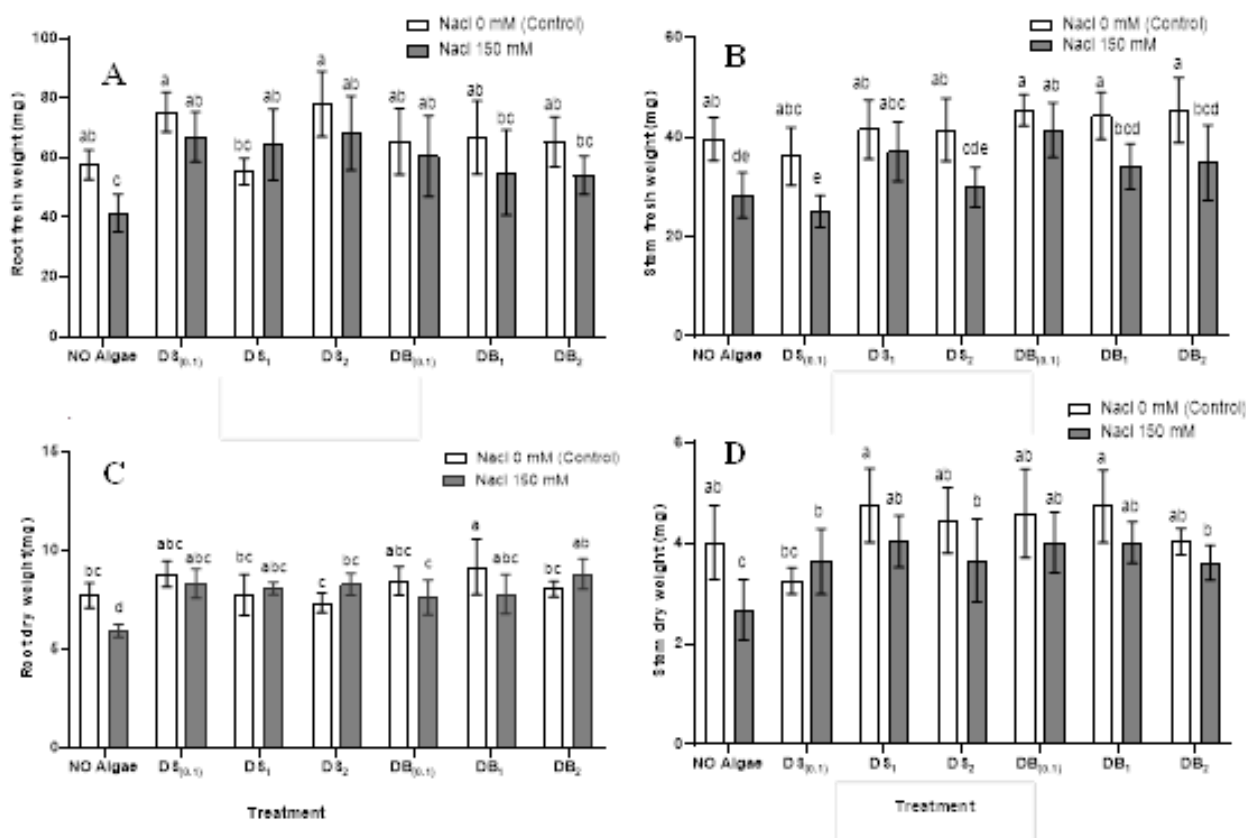
اندازه‌گیری فعالیت آسکوربات پراکسیداز (APX): برای سنجش فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز (APX) از روش Nakano و Asada (۱۹۸۱) بر اساس میزان کاهش جذب نمونه‌ها در طول موج ۲۹۰ نانومتر هر ۵ ثانیه به مدت یک دقیقه به کمک گزینه سینیتیک دستگاه اسپکتروفوتومتر، ثبت شد و جذب در زمان‌های صفر و ۶۰ ثانیه یادداشت شد.

برای محاسبه فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز، از رابطه قبلی با $EC = 0.028$ استفاده شد.

تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار SPSS انجام شد. به منظور پی‌بردن تفاوت میانگین‌ها در بین تیمارهای مختلف از روش TWO WAY ANOVA و آزمون Duncan در سطح $P < 0.05$ استفاده شد. نمودارها با استفاده از نرم‌افزار Graphpad prism8 رسم شدند.

نتایج

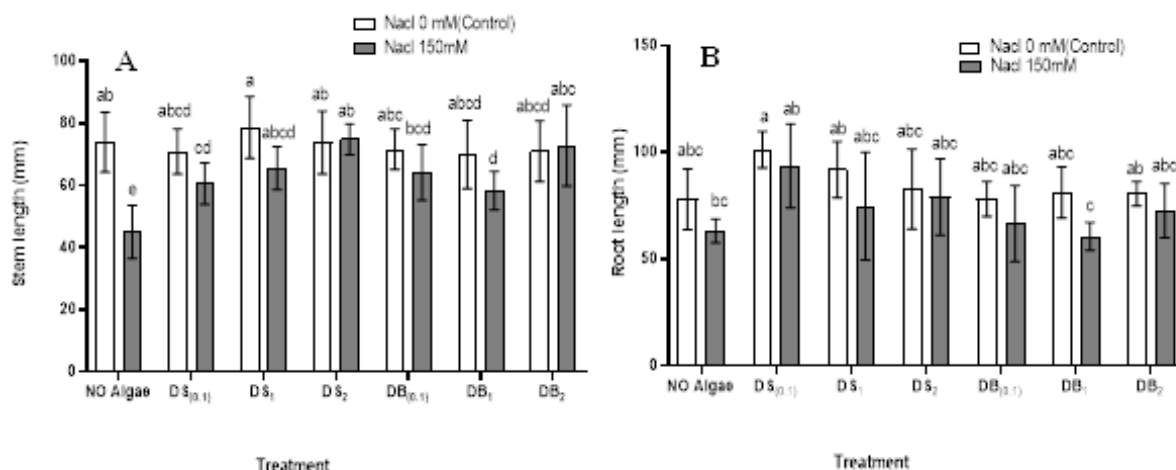
برای تعیین آستانه مقاومت به تنش شوری در گیاه برنج، نتایج بررسی برخی شاخص‌های رشدی از قبیل وزن تر ریشه و ساقه، وزن خشک ریشه و ساقه، ارتفاع بخش‌های هوایی و



شکل ۱- بررسی اثر عصاره‌های جلبک *دانالیلا سالینا* و *دانالیلا بارداولیل* بر میزان (A) وزن تر ریشه، (B) وزن تر ساقه، (C) وزن خشک ریشه، (D) وزن خشک ساقه گیاهان برنج پس از تنش شوری ۱۵۰ میلی‌مولار نمک در غلظت‌های ۰/۱، ۱ و ۲ درصد عصاره جلبک در انواع تیمارهای $DS_{(0.1)}$ (۰/۱ درصد جلبک *D. salina*)، DS_1 (یک درصد جلبک *D. salina*)، DS_2 (دو درصد جلبک *D. salina*)، $DB_{(0.1)}$ (۰/۱ درصد جلبک *D. bardawil*)، DB_1 (یک درصد جلبک *D. bardawil*) و DB_2 (دو درصد جلبک *D. bardawil*) در مقایسه با شاهد (NO Algae). داده‌ها به صورت میانگین پنج تکرار \pm انحراف معیار است. حروف مشترک بیانگر عدم اختلاف معنی‌دار در سطح ۰/۰۵٪ استفاده از آزمون دانکن ($P < 0.05$) می‌باشد.

در شکل ۲-۱ مقایسه روند تغییرات طول ساقه گیاهان برنج که تحت تأثیر غلظت‌های متفاوت دو گونه از جلبک *دانالیلا* قرار گرفته‌اند نشان می‌دهد که طول ساقه گیاهانی که تحت تنش شوری قرار گرفته‌اند نسبت به گیاهان شاهد (قبل از اعمال تنش شوری) کاهش یافته است. افزودن عصاره جلبک در کلیه تیمارها در وضعیت بدون تنش تغییرات معنی‌داری در طول ساقه گیاهان نسبت به گیاه شاهد ایجاد نکرد. پس از اعمال تنش شوری افزودن عصاره جلبک در تمامی تیمارها سبب افزایش معنی‌دار طول ساقه نسبت به گیاه شاهد در شرایط تنش شده است. بطوریکه در تیمار DS_2 با ۶۶ درصد

در وزن تر ساقه نسبت به وضعیت شاهد خودشان شده است. مقایسه روند تغییرات وزن خشک ریشه در گیاهان برنج که تحت تأثیر غلظت‌های متفاوت از عصاره جلبک‌های *دانالیلا سالینا* و *دانالیلا بارداولیل* قرار گرفته‌اند (شکل ۱-۱) تقریباً روندی مشابه روند وزن تر ساقه را نشان می‌دهد و پس از اعمال تنش شوری افزودن عصاره جلبک توانسته وزن خشک ریشه کلیه گیاهان را نسبت به گیاه شاهد در شرایط تنش شوری افزایش داد. مقایسه روند تغییرات وزن خشک ساقه (شکل ۱-۲) در گیاه برنج نیز تقریباً مشابه روند تغییرات وزن تر است.

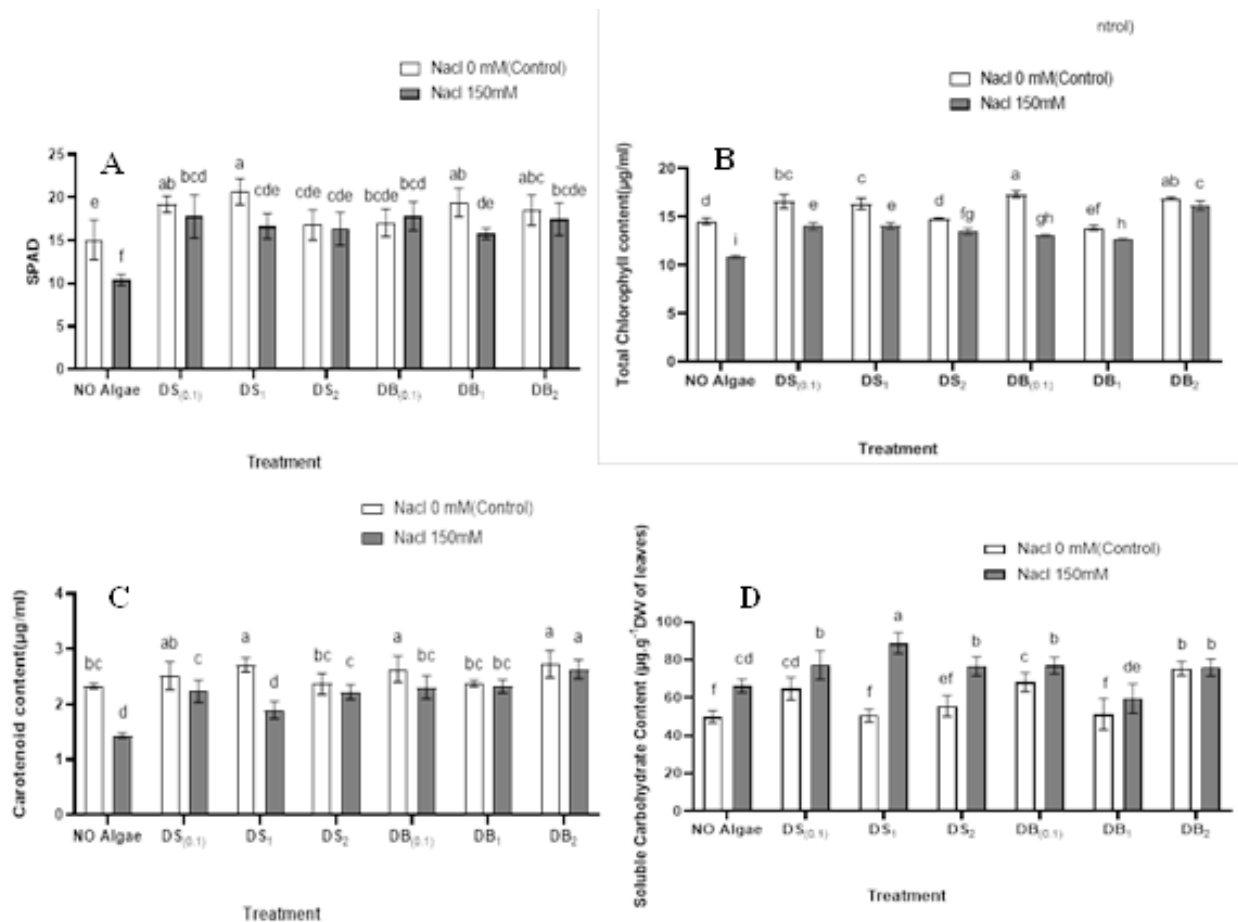


شکل ۲- بررسی اثر عصاره‌های جلبک *دانالیلا سالیئا* و *دانالیلا بارداولیل* بر (A) طول ساقه، (B) طول ریشه گیاهان برنج پس از تنش شوری ۱۵۰ میلی‌مولار نمک در غلظت‌های ۰/۱، ۱ و ۲ درصد عصاره جلبک در انواع تیمارهای (DS(0.1) (۰/۱ درصد جلبک *D. salina*), DS₁ (یک درصد جلبک *D. salina*), DS₂ (دو درصد جلبک *D. salina*), DB(0.1) (۰/۱ درصد جلبک *D. bardawil*), DB₁ (یک درصد جلبک *D. bardawil*) و DB₂ (دو درصد جلبک *D. bardawil*) در مقایسه با شاهد (NO Algae). داده‌ها به صورت میانگین پنج تکرار ± انحراف معیار است. حروف مشترک بیانگر عدم اختلاف معنی‌دار در سطح ۰/۵٪ با استفاده از آزمون دانکن (P < ۰/۰۵) می‌باشد.

نسبت به تیمار شوری بدون عصاره جلبکی به میزان زیادی افزایش یافته است. شاخص سبزیگی و کلروفیل کل در غلظت‌های مختلف از دو گونه جلبک *دانالیلا* تفاوت زیادی را نشان نمی‌دهد. همین روند نیز در میزان سنتز کارتنوئید (شکل ۳-۳C) در هر دو گونه مشاهده گردد. مقایسه روند تغییرات میزان کربوهیدرات‌های محلول در گیاهان برنج (شکل ۳-۳D) حاکی از افزایش میزان کربوهیدرات‌های محلول، تحت تنش شوری است. بعد از افزودن عصاره جلبک *دانالیلا سالیئا* در تیمار DS(0.1) و به خصوص عصاره جلبک *دانالیلا بارداولیل* در تیمارهای DB(0.1) و DB₂ افزایش معنی‌داری در میزان کربوهیدرات‌های محلول در شرایط بدون تنش نسبت به گیاه شاهد (بدون تیمار جلبک) مشاهده می‌گردد. بطوریکه بیش‌ترین میزان کربوهیدرات محلول با حدود ۵۰ درصد افزایش در تیمار DB₂ مشاهده می‌شود. پس از اعمال تنش شوری افزودن عصاره جلبک میزان کربوهیدرات‌های محلول را در تمامی تیمارها به جز تیمار DB₁ نسبت به گیاه شاهد افزایش داده است. تحت تنش شوری در تیمارهای DS(0.1)، DS₁، DS₂، DB(0.1) و DB₁ افزایش معنی‌داری در میزان

بیشترین میزان افزایش و در تیمار DB₁ با ۲۹ درصد کم‌ترین میزان افزایش در طول ساقه در شرایط تنش نسبت به گیاه شاهد مشاهده می‌گردد. عصاره جلبک به دنبال تنش شوری در تمامی تیمارها تغییراتی را نسبت به شرایط بدون تنش هر تیمار ایجاد نکرده است. درصدهای مختلف از عصاره‌های دو گونه جلبک در میزان طول ساقه گیاهان برنج تفاوت معناداری را نشان ندادند. تأثیر غلظت‌های متفاوت از عصاره دو گونه جلبک *دانالیلا* بر طول ریشه گیاهان برنج (شکل ۲-۲B) تقریباً مشابه تأثیرات بروری طول ساقه است و عصاره جلبک‌های *دانالیلا سالیئا* و *دانالیلا بارداولیل* تأثیری بر طول ریشه گیاهان برنج در دو وضعیت تنش و بدون تنش نداشته‌اند.

مقایسه روند تغییرات میزان شاخص سبزیگی نسبی (شکل ۳-۳A) و کلروفیل کل (شکل ۳-۳B) برگ گیاهان برنج که تحت تأثیر غلظت‌های متفاوت از دو گونه جلبک *دانالیلا* نشان می‌دهد در اثر تنش شوری شاخص سبزیگی و کلروفیل کل نسبت به وضعیت شاهد (بدون اعمال شوری) کاهش یافته است. افزودن عصاره جلبکی در تمامی تیمارهای شوری میزان شاخص سبزیگی و کلروفیل کل علی‌رغم کاهش اندک، ولی

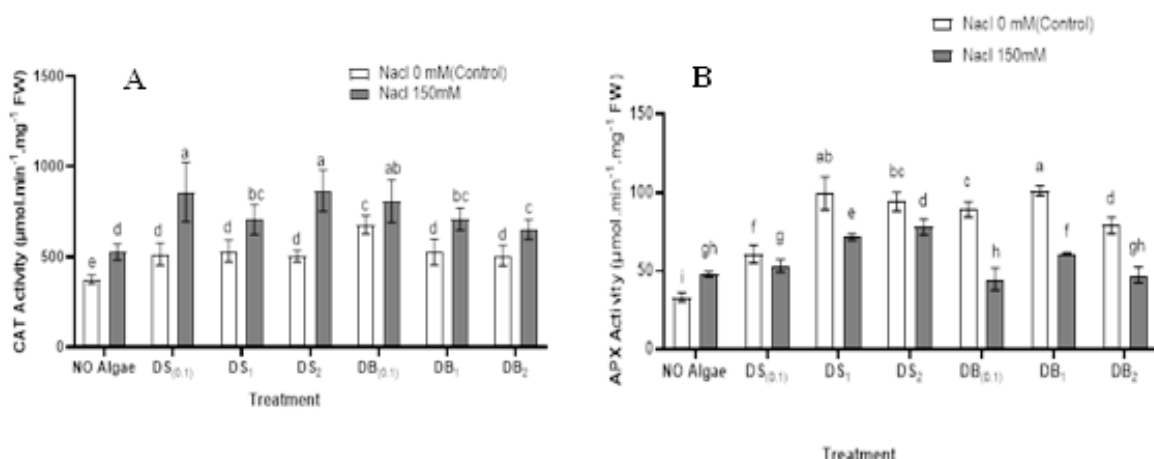


شکل ۳- بررسی اثر عصاره‌های جلبک *دنانلیلا سالینا* و *دنانلیلا بارداولیل* بر میزان (A) شاخص سبزیگی، (B) کلروفیل کل، (C) کاروتنوئید، (D) کربوهیدرات محلول گیاهان برنج پس از تنش شوری ۱۵۰ میلی‌مولار نمک در غلظت‌های ۰/۱، ۱ و ۲ درصد عصاره جلبک در انواع تیمارهای (DS_(0.1)) (۰/۱ درصد جلبک *D. salina*)، DS₁ (یک درصد جلبک *D. salina*)، DS₂ (دو درصد جلبک *D. salina*)، DB_(0.1) (۰/۱ درصد جلبک *D. bardawil*)، DB₁ (یک درصد جلبک *D. bardawil*) و DB₂ (دو درصد جلبک *D. bardawil*) در مقایسه با شاهد (NO Algae). داده‌ها به صورت میانگین پنج تکرار ± انحراف معیار است. حروف مشترک بیانگر عدم اختلاف معنی‌دار در سطح ۰/۰۵٪ با استفاده از آزمون دانکن (P < ۰/۰۵) می‌باشد.

وضعیت بدون تنش و تنش شوری در میزان فعالیت آنزیم کاتالاز نسبت به گیاه شاهد (بدون تیمار جلبک) ایجاد شده است. تیمار DB_(0.1) در وضعیت بدون تنش با افزایش ۸۰ درصدی بیشترین میزان فعالیت آنزیم را نسبت به گیاه شاهد نشان می‌دهد. عصاره جلبک *دنانلیلا سالینا* تحت تنش شوری در غلظت‌های ۰/۱ و ۲ درصد در تیمارهای DS_(0.1) و DS₂ تأثیر بیشتری در میزان فعالیت آنزیم کاتالاز داشته است. به دنبال تنش شوری، بکارگیری عصاره جلبک در تمامی تیمارها سبب افزایش در فعالیت این آنزیم نسبت به وضعیت کنترل هر

کربوهیدرات‌های محلول نسبت به وضعیت بدون تنش آن‌ها مشاهده شد. عصاره جلبک *دنانلیلا سالینا* تأثیر بیشتری در مقایسه با جلبک *دنانلیلا بارداولیل* بر میزان کربوهیدرات‌های محلول در گیاهان داشته است.

مقایسه روند تغییرات فعالیت آنزیم کاتالاز (CAT) در گیاهان برنج (شکل ۴- A) است نشان می‌دهد که قبل از افزودن عصاره جلبک تحت تنش شوری میزان فعالیت آنزیم کاتالاز نسبت به وضعیت بدون تنش افزایش پیدا کرده است. بعد از افزودن عصاره جلبک در کلیه تیمارها افزایش معنی‌داری در



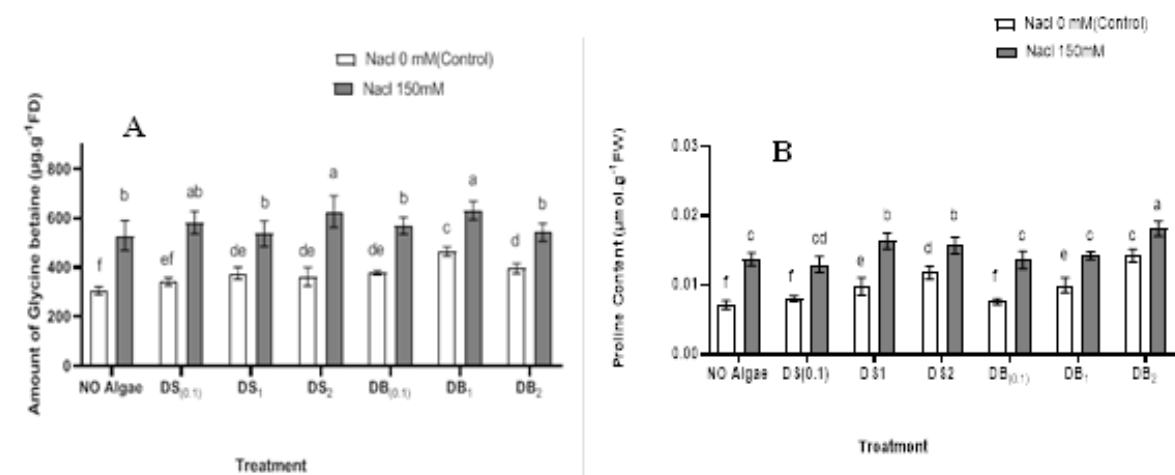
شکل ۴- بررسی اثر عصاره‌های جلبک *دانالیا سالیئا* و *دانالیا باردوویل* بر میزان فعالیت (A) آنزیم کاتالاز، (B) آسکوربات پراکسیداز (APX) گیاهان برنج پس از تنش شوری ۱۵۰ میلی‌مولار نمک در غلظت‌های ۰/۱، ۱ و ۲ درصد عصاره جلبک در انواع تیمارهای DS_(0.1) (۰/۱ درصد جلبک *D. salina*)، DS₁ (یک درصد جلبک *D. salina*)، DS₂ (دو درصد جلبک *D. salina*)، DB_(0.1) (۰/۱ درصد جلبک *D. bardawil*)، DB₁ (یک درصد جلبک *D. bardawil*) و DB₂ (دو درصد جلبک *D. bardawil*) در مقایسه با شاهد (NO Algae). داده‌ها به صورت میانگین پنج تکرار ± انحراف معیار است. حروف مشترک بیانگر عدم اختلاف معنی‌دار در سطح ۰.۵٪ با استفاده از آزمون دانکن (P < ۰/۰۵) می‌باشد.

تیمار شده است. عصاره جلبک به دنبال تنش شوری در تمامی تیمارها کاهش معنی‌داری در میزان فعالیت آنزیم نسبت به وضعیت بدون تنش آن‌ها نشان داده است.

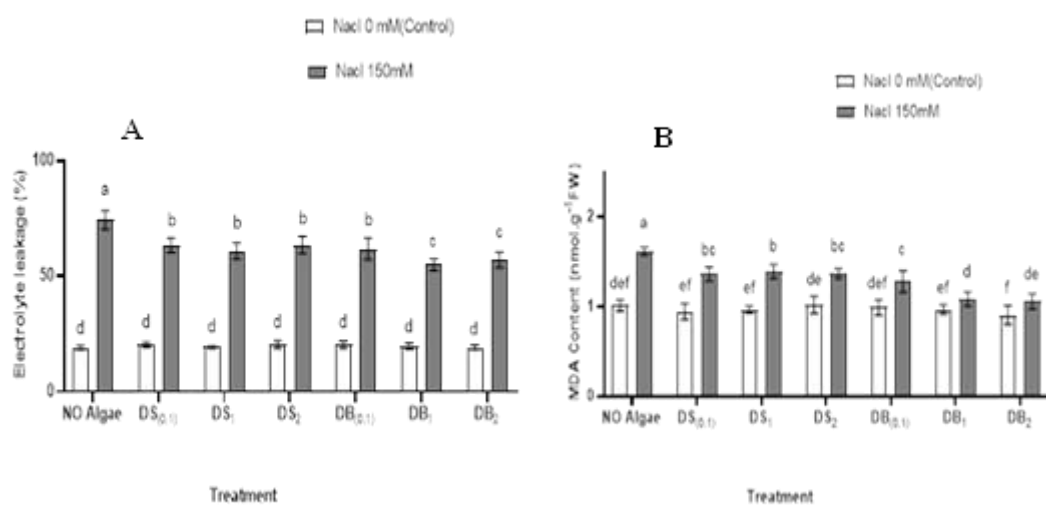
بررسی نتایج حاصل از مقایسه روند تغییرات میزان محتوای گلیسین‌بتائین در گیاهان برنج (شکل ۵-A) نشان می‌دهد تنش شوری میزان محتوای گلیسین‌بتائین نسبت به شرایط بدون تنش افزایش پیدا کرده است. به دنبال افزودن عصاره جلبک در وضعیت بدون تنش شوری میزان محتوای گلیسین‌بتائین در کلیه تیمارها به جز تیمار DS_(0.1) افزایش معنی‌داری را نسبت به گیاه شاهد (بدون تیمار جلبک) نشان می‌دهد. نتایج نشان می‌دهد بیشترین میزان گلیسین‌بتائین در شرایط عصاره تنها و همچنین عصاره جلبکی به همراه تنش شوری مربوط به گیاهان تحت تیمار عصاره جلبک *دانالیا باردوویل* با غلظت ۱ درصد (DB₁) است.

نتایج حاکی از عدم اختلاف معنادار میان غلظت‌های دیگر از عصاره دو گونه جلبک *دانالیا* است. مقایسه روند تغییرات مقادیر پرولین مطابق با شکل ۵-B در گیاهان برنج نشان

بررسی نتایج حاصل از مقایسه روند تغییرات فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز (APX) در گیاهان برنج که تحت تأثیر غلظت‌های متفاوت عصاره دو گونه جلبک *دانالیا* قرار گرفته‌اند (شکل ۴-B) نشان می‌دهد تنش شوری میزان فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز نسبت به وضعیت بدون تنش افزایش یافته است. همچنین افزودن عصاره جلبک در حالت بدون تنش شوری، میزان فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز در کلیه تیمارها افزایش معنی‌داری را نسبت به گیاه شاهد نشان می‌دهد. پس از اعمال تنش شوری افزودن عصاره جلبک *دانالیا سالیئا* در تیمارهای DS₁ و DS₂ و عصاره جلبک *دانالیا باردوویل* در تیمار DB₁ سبب افزایش معنی‌داری در میزان فعالیت آنزیم (APX) نسبت به گیاه شاهد شده است. غلظت ۲ درصد از عصاره جلبک *دانالیا سالیئا* در تیمار DS₂ با افزایش ۶۲ درصدی بیشترین فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز را نسبت به گیاه شاهد نشان می‌دهد و غلظت‌های دیگر از هر دو عصاره جلبکی تفاوت معناداری را نشان نمی‌دهند. بکارگیری



شکل ۵- بررسی اثر عصاره‌های جلبک *دانالیلا سالینا* و *دانالیلا بارداولیل* بر میزان محتوای (A) گلیسین بتاین، (B) پرولین گیاهان برنج پس از تنش شوری ۱۵۰ میلی‌مولار نمک در غلظت‌های ۰/۱، ۱ و ۲ درصد عصاره جلبک در انواع تیمارهای (DS_(0.1)) ۰/۱ درصد جلبک *D. salina* (یک درصد جلبک *D. salina*) DS₁، (یک درصد جلبک *D. salina*) DS₂، (دو درصد جلبک *D. salina*) DS₂، (دو درصد جلبک *D. salina*) DB_(0.1)، (یک درصد جلبک *D. bardawil*) DB₁، (یک درصد جلبک *D. bardawil*) DB₂ و (دو درصد جلبک *D. bardawil*) DB₂ در مقایسه با شاهد (NO Algae). داده‌ها به صورت میانگین پنج تکرار \pm انحراف معیار است. حروف مشترک بیانگر عدم اختلاف معنی‌دار در سطح ۰/۰۵٪ با استفاده از آزمون دانکن ($P < 0/05$) می‌باشد.



شکل ۶- بررسی اثر عصاره‌های جلبک *دانالیلا سالینا* و *دانالیلا بارداولیل* بر میزان (A) نشت الکترولیت، (B) مالون دی‌آلدید گیاهان برنج پس از تنش شوری ۱۵۰ میلی‌مولار نمک در غلظت‌های ۰/۱، ۱ و ۲ درصد عصاره جلبک در انواع تیمارهای (DS_(0.1)) ۰/۱ درصد جلبک *D. salina* (یک درصد جلبک *D. salina*) DS₁، (یک درصد جلبک *D. salina*) DS₂، (دو درصد جلبک *D. salina*) DS₂، (دو درصد جلبک *D. salina*) DB_(0.1)، (یک درصد جلبک *D. bardawil*) DB₁، (یک درصد جلبک *D. bardawil*) DB₂ و (دو درصد جلبک *D. bardawil*) DB₂ در مقایسه با شاهد (NO Algae). داده‌ها به صورت میانگین پنج تکرار \pm انحراف معیار است. حروف مشترک بیانگر عدم اختلاف معنی‌دار در سطح ۰/۰۵٪ با استفاده از آزمون دانکن ($P < 0/05$) می‌باشد.

جلبک *دانالیلا سالینا* در تیمارهای DS₁ و DS₂ و عصاره جلبک *دانالیلا بارداولیل* در تیمارهای DB₁ و DB₂ افزایش معنی‌داری

می‌دهد تحت تنش شوری میزان پرولین در گیاهان برنج نسبت به وضعیت بدون تنش افزایش یافته است. افزودن عصاره

در میزان پرولین در وضعیت بدون تنش نسبت به گیاه شاهد (بدون تیمار جلبک) نشان می‌دهد. از طرفی بکارگیری عصاره جلبک در تیمارهای DS₁، DS₂ و DB₂ پس از اعمال تنش شوری سبب افزایش معنی‌داری در میزان پرولین نسبت به گیاه شاهد شده است. جلبک *دانالیلا بارداولیل* تأثیر بیشتری در مقایسه با جلبک *دانالیلا سالیئا* به دنبال تنش شوری بر میزان پرولین داشته است. در تمامی تیمارها، افزودن عصاره جلبک به دنبال تنش شوری افزایش معنی‌داری را نسبت به وضعیت قبل از تنش آن‌ها نشان می‌دهد.

بررسی نتایج حاصل از مقایسه درصد تغییرات نشت الکترولیت به عنوان نشانگر آسیب غشاء حاصل از تنش شوری در گیاهان برنج (شکل ۶-۱) حاکی از آن است که در شرایط تنش شوری بدون عصاره جلبکی، میزان نشت الکترولیت از غشاء نسبت به شرایط بدون تنش افزایش قابل توجهی داشته است. در شرایط افزودن عصاره جلبکی در وضعیت بدون تنش در تمامی تیمارها تغییرات معنی‌داری نسبت به گیاه شاهد مشاهده نشد. پس از اعمال تنش شوری، افزودن عصاره جلبک در تمامی تیمارها کاهش معنی‌داری را در میزان نشت الکترولیت از غشاء در مقایسه با شرایط بدون تنش گیاهان و نسبت به گیاه شاهد در وضعیت تنش نشان می‌دهد. در غلظت‌های مختلف از هر دو گونه جلبک *دانالیلا* تفاوت معناداری در میزان نشت الکترولیت در گیاهان برنج مشاهده نشد. مشابه روند تغییرات میزان نشت الکترولیت در میزان تغییرات مقادیر مالون دی‌آلدهید (MDA) در گیاهان برنج در شرایط تنش شوری تنها و تنش شوری به همراه استفاده از عصاره جلبکی مشاهده شد (شکل ۶-۲).

بحث

شوری خاک و منابع آب شیرین توسط فرآیندهای طبیعی و یا فعالیت‌های انسانی به معظلی بزرگ در دهه‌های اخیر تبدیل شده است. علاوه بر این، شوری اکوسیستم‌های کشاورزی را به خطر انداخته، باعث ایجاد تنش در اکثر گیاهان شده و به طور مستقیم بر کیفیت و کمیت تولید غذا تأثیر می‌گذارد. تنش

شوری در اکوسیستم‌های زراعی باعث اختلالات فیزیولوژیکی می‌شود و با تولید رادیکال‌های آزاد می‌تواند به پروتئین‌ها، لیپیدهای غشاء و کربوهیدرات‌ها آسیب برساند (Ondrasek *et al.*, 2022). از طرفی وجود پروتئین‌ها، انواع آمینواسیدها، کربوهیدرات‌ها، گلیسرول، چربی، کاروتنوئید، کلروفیل، اسید آسکوربیک و عناصری نظیر فسفر، نیتروژن، کلسیم، درون عصاره خشک جلبک *دانالیلا* گزارش شده است (Tertychnaya *et al.*, 2020) که استفاده از آنها بر روی گیاهان می‌تواند از طریق افزایش عملکرد محصول، بهبود ساختار ریشه، توسعه گلدهی و تشکیل برگ و میوه به گیاهان کمک می‌کند (Said *et al.*, 2010). گزارش‌ها نشان می‌دهد فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی با افزایش غلظت عصاره جلبک تا ۵۰ درصد افزایش می‌یابد (Latique *et al.*, 2017).

هنگامی که غلظت سدیم محیط افزایش می‌یابد جذب سدیم از ریشه زیاد می‌شود در حالیکه جذب پتاسیم، منیزیم و فسفر کاهش می‌یابد و تعادل یونی درون سلولی مختل می‌شود. تنش شوری باعث می‌شود برگ گیاه در ابتدا با تغییر حجم و تعداد روزنه‌ها برای حفظ آب کافی برای بازیابی فعالیت فتوسنتزی عمل کند (Nabti *et al.*, 2010). نتایج این تحقیق نشان داد که وزن تر و خشک ساقه و ریشه گیاه برنج با افزایش میزان غلظت نمک محیط کاهش پیدا می‌کند که با اضافه شدن عصاره جلبک به این گیاه این کاهش وزن به حداقل می‌رسد. این اثر مثبت ممکن است به دلیل وجود برخی پروتئین‌ها و درشت مغذی‌هایی مانند نیتروژن، پتاسیم و فسفر موجود در عصاره جلبک که نقش مؤثری در تقسیم سلولی و بزرگ شدن سلول دارد باشد (Latique *et al.*, 2017). در پژوهش حاضر اندازه طول ساقه و ریشه گیاهان برنج که تحت تنش شوری قرار گرفته‌اند، بعد از افزودن عصاره دو گونه جلبک *دانالیلا* افزایش یافت. از عوامل کاهش رشد گیاه تحت تنش شوری می‌توان به محدودیت رشد سلولی به دلیل پتانسیل کم آب محیط خارجی، تداخل یون‌های شور با تغذیه گیاه و یا سمیت یون‌های انباشته شده که منجر به مرگ سلول می‌شود اشاره کرد (Mutale-joan *et al.*, 2021). هر چند جلبک *Dunaliella* به

احتمالاً عصاره جلبک از طریق پایدارکردن سلول با تولید کربوهیدرات بیشتر توانسته اثر شوری را کم کند.

آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی نقش مهمی در دفاع گیاهان در برابر عوامل بیماری‌زا ایفا می‌کنند. یکی از اولین پاسخ‌های دفاعی گیاهان تولید گونه‌های فعال اکسیژن (ROS) است. گیاهان به منظور جلوگیری از اثرات زیان‌بار ROS آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی کاتالاز، آسکوربات پراکسیداز را تولید می‌نمایند (Blokhina et al., 2003). ارتباطی قوی بین تحمل به تنش اکسیداتیو که به دلیل تنش شوری ایجاد می‌شود و افزایش غلظت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی در گیاهان فتوسنتزکننده وجود دارد (Kachout et al., 2013). آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی کاتالاز و آسکوربات پراکسیداز، در جمع‌آوری رادیکال‌های هیدروژن پراکسید در سلول‌ها نقش دارند و افزایش در فعالیت این آنزیم‌ها در طی تنش، نشان‌دهنده توانایی سلول در تجزیه هیدروژن پراکسید است (Clarke et al., 2002). نتایج پژوهش حاضر نشان می‌دهد میزان آنزیم کاتالاز در شرایط تنش شوری و با اضافه‌شدن عصاره جلبکی به نمونه‌های تیمار شده افزایش یافته ولی میزان آنزیم آسکوربات پراکسیداز تفاوت چندانی نداشته است. وجود اسید آسکوربیک در عصاره خشک جلبک *دانیلیا* گزارش شده است (Tertychnaya et al., 2020). اسید آسکوربیک در تنظیم حالت ردوکس حامل‌های الکترون فتوسنتزی و به عنوان کوفاکتور برای ویولاگزانتین د اپوکسیداز، آنزیمی که در محافظت نوری با واسطه چرخه زانتوفیل برای مقابله با رادیکال‌های آزاد نقش دارد، عمل می‌کند (Smirnoff and Wheeler, 2000). به نظر می‌رسد وجود اسید آسکوربیک، احتمالاً نیاز به فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز برای خنثی‌سازی H_2O_2 حاصل از فعالیت کاتالاز را کاهش داده و از طرفی عصاره جلبکی علاوه بر افزایش فعالیت کاتالاز با افزایش اسمولیت‌ها و احتمالاً با سنتز آنتی‌اکسیدان‌های غیرآنزیمی برای مقابله با شوری عمل کرده باشد.

تجمع اسمولیت‌های سازگار از مهم‌ترین سازوکارهای تحمل تنش شوری در گیاهان است. اسمولیت‌های سازگار نظیر آمین‌های چهار ظرفیتی گلاسیسین‌بتائین مستقر در سیتوپلاسم

برخی فیتوهورمون‌ها پاسخ می‌دهد (Taheri and Shariati, 2016) ولی وجود فیتوهورمون‌ها در آن به اثبات نرسیده است و به نظر می‌رسد احتمالاً وجود پروتئین‌ها و انواع اسیدآمین‌ها در عصاره‌های جلبکی، رشد گیاه را تحت تأثیر قرار داده و باعث می‌شود طول ساقه گیاه افزایش یابد. در این شرایط ریشه گیاه قادر به غلبه بر تنش وارده بوده و به روند رشد خود ادامه می‌دهد (Shehata et al., 2018).

یکی از محدودیت‌های اصلی فتوسنتز محتوای رنگدانه‌ها است که با افزایش غلظت شوری کاهش می‌یابد و با تیمار گیاه با عصاره جلبک‌ها به طور قابل توجهی محتوای رنگدانه‌ها افزایش یافته و در نتیجه آن فتوسنتز نیز افزایش می‌یابد (Mutale-joan et al., 2021). نتایج پژوهش ما نشان داد که با اضافه‌شدن عصاره دو گونه جلبک *دانیلیا* به محیط‌کشت دارای تنش شوری میزان کاروتنوئید و کلروفیل و همچنین شاخص سبزی‌نگی نسبی نسبت به نمونه شاهد در گیاه برنج افزایش یافته است. بنابراین به نظر می‌رسد احتمالاً گیاه با کمک عصاره جلبک به واسطه داشتن عناصر درشت مغذی و کربوهیدرات توانسته بر شوری غلبه کرده و سنتز کلروفیل مورد نیاز فتوسنتز را تأمین نماید (Shehata et al., 2018).

کربوهیدرات‌ها نخستین موادی هستند که از طریق فتوسنتز در گیاهان ساخته می‌شوند (Hasegawa et al., 2000) و به طور طبیعی در گیاهان یافت می‌شوند و میزان آن‌ها در تنش‌های وارد به گیاهان به طور چشمگیری افزایش می‌یابد (Hare et al., 1998). کربوهیدرات‌ها نقش مهمی در تنظیم پتانسیل اسمزی و پایدارکردن غشاء سلول دارند و باعث حفظ هومئوستازی سلولی در برخورد با شرایط تنش شوری می‌شوند (Berger et al., 2007) و میزان آن جهت منفی‌تر کردن پتانسیل اسمزی درون سلولی و به منظور مقابله با تنش شوری و تنش اسمزی ناشی از آن به طور قابل توجهی افزایش می‌یابد (Chen et al., 2006). نتایج پژوهش ما نیز نشان داد که تنش شوری باعث افزایش میزان کربوهیدرات شده و اضافه‌شدن عصاره دو گونه جلبک *دانیلیا* باعث افزایش بیشتر در میزان کربوهیدرات سلول‌ها جهت مقابله با شوری شده است. به نظر می‌رسد

شاخص زیستی برای پراکسیداسیون لیپیدها در اسیدهای چرب و میزان سطح استرس اکسیداتیو در یک گیاه یا موجود زنده در نظر گرفته می‌شود (Esterbauer and Cheeseman, 1990). مالون دی‌آلدئید با اتصال محکم به مولکول‌های دیگر، عملکرد آنها و نهایتاً عملکرد سلول را تحت تأثیر قرار می‌دهد و منجر به تخریب غشاء سلولی و تجزیه چربی‌های غشاء سلولی می‌شود (Mittler et al., 2002). نتایج پژوهش ما نشان می‌دهد میزان مالون دی‌آلدئید در شرایط تنش و استفاده از توسط عصاره دو گونه جلبک *دنانلیلا* بسیار افزایش یافته است. با این تفاوت که در حالت تنش به همراه اسپری کردن عصاره دو جلبک میزان افزایش کمتر است که حاکی از اثر عصاره جلبکی در برابر تخریب غشاء سلولی باشد. به نظر می‌رسد عصاره جلبکی اثر تخریبی تنش شوری را کاهش داده در نتیجه میزان افزایش مالون دی‌آلدئید اندکی کاهش یافته است.

نتیجه‌گیری

نتایج این پژوهش نشان داد که اسپری برگ گیاهان برنج می‌تواند میزان تنش شوری را برای این گیاه کاهش دهد و باعث افزایش میزان وزن خشک و تر و طول گیاه، محتوای آب نسبی و رنگیزه‌های فتوسنتزی گردد که حاکی از اثرات مثبت عصاره خشک جلبکی به واسطه وجود برخی پروتئین‌ها، انواع آمینواسیدها، کربوهیدرات، چربی‌ها، رنگیزه‌های فتوسنتزی و عناصر درشت و ریزمغذی باشد. از طرفی عصاره جلبکی توانست پاسخ آنتی‌اکسیدانی به شرایط استرس ناشی از شوری را با افزایش فعالیت کاتالاز و همچنین با تجمع کربوهیدرات کل و اسمولیت‌های سازگار نظیر پرولین و گلیسین‌بتائین بهبود بخشد. بر اساس مشاهدات صورت‌گرفته از این نظر تفاوت معناداری بین دو گونه مختلف *دنانلیلا* وجود نداشت، اما هرچقدر غلظت بالاتری از عصاره جلبک‌ها استفاده شد تأثیرات بیشتری در کاهش اثر شوری نشان داده شد. همچنین سهم سایر پاسخ‌ها نظیر سنتز اسمولیت‌های سازگار بسیار بیشتر از سهم پاسخ‌های آنتی‌اکسیدانی آنزیمی اندازه‌گیری شده در این تحقیق است. با توجه نتایج حاصل، عصاره جلبکی دو

سلول واسیدهای آمینه پرولین منجر به تعدیل پتانسیل اسمزی و کمک به نگهداری فشار تورژسانس و حجم سلول و افزایش قابلیت همئوستازی سلول‌ها در مقابل تنش شوری شود (Serraj et al., 2002). در پژوهش حاضر میزان پرولین و گلیسین‌بتائین در شرایط تنش شوری و همچنین اسپری کردن گیاه با عصاره دو گونه جلبک افزایش یافت. با توجه به نقش بسیار مؤثر پرولین به نظر می‌رسد پرولین توانسته است باعث نگهداری آب در سلول‌ها و تجمع یون‌ها گردد که این فرآیند منجر به افزایش مقاومت گیاه برنج در برابر تنش شوری شود (Hayat et al., 2012). غلظت گلیسین‌بتائین در گیاهان تحت تنش شوری، روندی مشابه پرولین در سلول‌ها دارد (Chen et al., 2018) و احتمالاً افزایش گلیسین‌بتائین در سیتوپلاسم سلول‌ها می‌تواند به دلیل کارایی کربوکسیلاسیون در جذب دی‌اکسید کربن باشد (Hameed et al., 2021).

در شرایط تنش، غشاء سلولی اولین اندامکی است که آسیب می‌بیند. در اثر آسیب به غشاء سلولی محتویات سلولی به بیرون تراوش می‌کند که میزان این خسارت توسط میزان نشت الکترولیت تعیین می‌شود. وقتی سلول گیاهی در شرایط تنش قرار می‌گیرد غشاء از بین می‌رود و همه محتویات سلول به خارج از سلول تراوش می‌کند. هر چقدر مایع خارج شده از سلول غلیظتر باشد نشان‌دهنده تخریب بیشتر سلول‌ها است و در نتیجه گیاه دارای مقاومت کمتری است (Bohm et al., 2006). مشاهده شده است که تنش شوری باعث تولید گونه‌های فعال اکسیژن و بروز تنش اکسیداتیو در گیاه شده که می‌تواند باعث تخریب غشاء سلولی و در نتیجه منجر به نشت الکترولیت‌ها به خارج از سلول شوند (Farhoudi and Lee, 2013). نتایج ما نشان داد که استرس شوری باعث افزایش نشت الکترولیتی ناشی از آسیب به غشاء سلول‌های گیاه برنج شده است و اسپری کردن با عصاره هر دو گونه جلبک *دنانلیلا* اثر تخریبی ناشی از استرس شوری را تا حدی کاهش داده و نشت الکترولیتی کمتری را باعث شده است. مالون دی‌آلدئید ترکیبی فعال و واکنش‌پذیر است (Hnilickova et al., 2021) و افزایش آن به عنوان یک

گونه مختلف *دنانلیلا* می‌تواند تا حدودی به عنوان یک کود سبز در کاهش اثرات شوری در گیاه برنج مؤثر باشد.

منابع

- Aebi, H. (1984). Catalase in vitro. *Methods in Enzymology*, 105, 121-126. doi:10.1016/s0076-6879(84)05016-3
- Ali, O., Ramsubhag, A., & Jayaraman, J. (2021). Biostimulant properties of seaweed extracts in plants: Implications towards sustainable crop production. *Plants*, 10(3), 531. doi:10.3390/plants10030531
- Bates, L. S., Waldren, R. A., & Teare, I. D. (1973). Rapid determination of free proline for water-stress studies. *Plant and Soil*, 39, 205-207. doi: 10.1007/BF00018060
- Berger, S., Sinha, A. K., & Roitsch, T. (2007). Plant physiology meets phytopathology: plant primary metabolism and plant-pathogen interactions. *Journal of Experimental Botany*, 58(15-16), 4019-4026. doi:10.1093/jxb/erm298
- Blokhina, O., Virolainen, E., & Fagerstedt, K. V. (2003). Antioxidants, oxidative damage and oxygen deprivation stress: a review. *Annals of Botany*, 91(2), 179-194. doi:10.1093/aob/mcf118
- Bohm, P. A. F., Zanardo, F. M. L., Ferrarese, M. L. L., & Ferrarese-Filho, O. (2006). Peroxidase activity and lignification in soybean root growth-inhibition by juglone. *Biologia Plantarum*, 50, 315-317. doi:10.1007/s10535-006-0029-x
- Chen, L. Z., Li, D. H., Song, L. R., Hu, C. X., Wang, G. H., & Liu, Y. D. (2006). Effects of salt stress on carbohydrate metabolism in desert soil alga *Microcoleus vaginatus* Gom. *Journal of Integrative Plant Biology*, 48(8), 914-919. doi:10.1111/j.1744-7909.2006.00291.x
- Chen, M., Yang, Z., Liu, J., Zhu, T., Wei, X., Fan, H., & Wang, B. (2018). Adaptation mechanism of salt excluders under saline conditions and its applications. *International Journal of Molecular Sciences*, 19(11), 3668. doi: 10.3390/ijms19113668
- Clarke, S. F., Guy, P. L., Burritt, D. J., & Jameson, P. E. (2002). Changes in the activities of antioxidant enzymes in response to virus infection and hormone treatment. *Physiologia Plantarum*, 114(2), 157-164. doi:10.1034/j.1399-3054.2002.1140201.x
- Dionisio-Sese, M. L., & Tobita, S. (1998). Antioxidant responses of rice seedlings to salinity stress. *Plant Science*, 135(1), 1-9. doi:10.1016/S0168-9452(98)00025-9
- Drobek, M., Frac, M., & Cybulska, J. (2019). Plant biostimulants: Importance of the quality and yield of horticultural crops and the improvement of plant tolerance to abiotic stress-A review. *Agronomy*, 9(6), 335-362. doi:10.3390/agronomy9060335
- DuBois, M., Gilles, K. A., Hamilton, J. K., Rebers, P. T., & Smith, F. (1956). Colorimetric method for determination of sugars and related substances. *Analytical Chemistry*, 28(3), 350-356. doi:10.1021/ac60111a017
- El Arroussi, H., Elbaouchi, A., Benhima, R., Bendaou, N., Smouni, A., & Wahby, I. (2016). Halophilic microalgae *Dunaliella salina* extracts improve seed germination and seedling growth of *Triticum aestivum* L. under salt stress. *II World Congress on the Use of Biostimulants in Agriculture*, 1148(13-26). doi:10.17660/ActaHortic.2016.1148.2
- Esterbauer, H., & Cheeseman, Kh. (1990). Determination of aldehydic lipid peroxidation products: Malonaldehyde and 4-hydroxynonenal. In: *Methods in Enzymology* (eds. Abelson, J., Simon, M., Verdine, G., and Pyle, A.) Pp. 407-421. MA: Academic Press, Cambridge, Elsevier.
- Fahad, S., Bajwa, A. A., Nazir, U., Anjum, S. A., Farooq, A., Zohaib, A., & Huang, J. (2017). Crop production under drought and heat stress: Plant responses and management options. *Frontiers in Plant Science*, 8, 1147. doi:10.3389/fpls.2017.01147
- Farhoudi, R. & Lee, D. (2013). Allelopathic effects of barley extract (*Hordeum vulgare*) on sucrose synthase activity, lipid peroxidation and antioxidant enzymatic activities of *Hordeum spontaneum* and *Avena ludoviciana*. *Proceedings of the National Academy of Science*, 80, 213-220.
- Grattan, S. R., & Grieve, C. M. (1998). Salinity-mineral nutrient relations in horticultural crops. *Scientia Horticulturae*, 78(1-4), 127-157. doi:10.1016/S0304-4238(98)00192-7
- Hameed, A., Ahmed, M. Z., Hussain, T., Aziz, I., Niaz Ahmad, N., Gul, B., & Nielsen, B. L. (2021) Effects of salinity stress on chloroplast structure and function, *Cells*, 10(8). doi:10.3390/cells10082023
- Hare, P. D., Cress, W. A., & Van Staden, J. (1998). Dissecting the roles of osmolyte accumulation during stress. *Plant, Cell and Environment*, 21(6), 535-553. doi:10.1046/j.1365-3040.1998.00309.x
- Hasegawa, P. M., Bressan, R. A., Zhu, J. K., & Bohnert, H. J. (2000). Plant cellular and molecular responses to high salinity. *Annual Review of Plant Biology*, 51(1), 463-499. doi:10.1146/annurev.arplant.51.1.463
- Hayat, S., Hayat, Q., Alyemeni, M. N., Wani, A. S., Pichtel, J., & Ahmad, A. (2012). Role of proline under changing environments: A review. *Plant Signaling and Behavior*, 7(11), 1456-1466. doi: 10.4161/psb.21949
- He, Q., Lin, Y., Tan, H., Zhou, Y., Wen, Y., Gan, J., & Zhang, Q. (2020). Transcriptomic profiles of *Dunaliella salina* in response to hypersaline stress. *BMC Genomics*, 21, 115. doi: 10.1186/s12864-020-6507-2

- Heath, R. L., & Packer, L. (1968). Photoperoxidation in isolated chloroplasts: I. Kinetics and stoichiometry of fatty acid peroxidation. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 125(1), 189-198. doi:10.1016/0003-9861(68)90654-1
- Hnilickova, H., Kraus, K., Vachova, P., & Hnilicka, F. (2021). Salinity stress affects photosynthesis, malondialdehyde formation, and proline content in *Portulaca oleracea* L. *Plants*, 10(5), 845. doi:10.3390/plants10050845
- Hosseini Tafreshi, A. & Shariati, M. (2009). *Dunaliella* biotechnology: Methods and applications. *Journal of Applied Microbiology*, 107(1), 14-35. doi: 10.1111/j.1365-2672.2009.04153.x
- Johnson, M. K., Johnson, E. J., Mc Elroy, R. D., Speer, H. L., & Bruff, B. S. (1968). Effect of salt on the halophilic alga *Dunaliella viridis*. *Journal of Bacteriology*, 95, 1461-1468. doi: 10.1128/jb.95.4.1461-1468.1968
- Kachout, S. S., Hamza, K. J., Bouraoui, N. K., Leclerc, J. C., & Ouerghi, Z. (2013). Salt-induced changes in antioxidative enzyme activities in shoot tissues of two *Atriplex* varieties. *Notulae Botanicae Horti Agrobotanici Cluj-Napoca*, 41(1), 115-121. doi:10.15835/nbha4118258
- Latique, S., Mohamed Aymen, E., Halima, C., Cherif, H., & Mimoun, E. K. (2017). Alleviation of salt stress in durum wheat (*Triticum durum* L.) seedlings through the application of liquid seaweed extracts of *Fucus spiralis*. *Communications in Soil Science and Plant Analysis*, 48(21), 2582-2593. doi:10.1080/00103624.2017.1416136
- Mittler, R. (2002). Oxidative stress, antioxidants and stress tolerance. *Trends in Plant Science*, 7(9), 405-410. doi:10.1016/s1360-1385(02)02312-9
- Momeni, A. (2010). Geoghepical distribution and salinity level of Iranian soils. *Iranian Journal of Soil Research*, 24(3), 1-5. doi:10.3390/plants10050845
- Mutale-joan, C., Rachidi, F., Mohamed, H. A., Mernissi, N. E., Aasfar, A., Barakate, M., & Arroussi, H. E. (2021). Microalgae-cyanobacteria-based biostimulant effect on salinity tolerance mechanisms, nutrient uptake, and tomato plant growth under salt stress. *Journal of Applied Phycology*, 33, 3779-3795. doi:10.1007/s10811-021-02559-0
- Nabti, E., Sahnoune, M., Ghoul, M., Fischer, D., Hofmann, A., Rothballer, M., & Hartmann, A. (2010). Restoration of growth of durum wheat (*Triticum durum* var. waha) under saline conditions due to inoculation with the rhizosphere bacterium *Azospirillum brasilense* NH and extracts of the marine alga *Ulva lactuca*. *Journal of Plant Growth Regulation*, 29, 6-22. doi:10.1007/s00344-009-9107-6
- Nakano, Y., & Asada, K. (1981). Hydrogen peroxide is scavenged by ascorbate-specific peroxidase in spinach chloroplasts. *Plant and Cell Physiology*, 22(5), 867-880. doi:10.1093/oxfordjournals.pcp.a076232
- Ondrasek, G., Rathod, S., Manohara, K. K., Gireesh, C., Anantha, M. S., Sakhare, A. S., & Horvatinec, J. (2022). Salt stress in plants and mitigation approaches. *Plants*, 11(6), 717. doi:10.3390/plants11060717
- Rauf, M., Munir, M., ul Hassan, M., Ahmad, M., & Afzal, M. (2007). Performance of wheat genotypes under osmotic stress at germination and early seedling growth stage. *African Journal of Biotechnology*, 6(8), 971-975.
- Ritchie, S. W., Nguyen, H. T., & Holaday, A. S. (1990). Leaf water content and gas-exchange parameters of two wheat genotypes differing in drought resistance. *Crop Science*, 30(1), 105-111. doi:10.2135/cropsci1990.0011183X003000010025x
- Said-Al Ahl, H. A. H., & Mahmoud, A. A. (2010). Effect of zinc and/or iron foliar application on growth and essential oil of sweet basil (*Ocimum basilicum* L.) under salt stress. *Ozean Journal of Applied Sciences*, 3(1), 97-111.
- Serraj, R. A. C. H. I. D., & Sinclair, T. R. (2002). Osmolyte accumulation: Can it really help increase crop yield under drought conditions? *Plant, Cell and Environment*, 25(2), 333-341. doi:10.1046/j.1365-3040.2002.00754.x
- Shariati, M., & Lilley, R. M. (1994). Loss of intracellular glycerol from *Dunaliella* by electroporation at constant osmotic pressure: Subsequent restoration of glycerol content and associated volume changes. *Plant, Cell and Environment*, 17(12), 1295-1304. doi:10.1111/j.1365-3040.1994.tb00531.x
- Shehata, S. A., El-Sayed, A. B., Taha, S. S., Hamouda, H. A., Abdelgawad, K. F., & Youssef, D. M. (2018). Algae extract overcoming the adverse effects of saline stress in hydroponic grown tomato plants. *Journal of Food, Agriculture and Environment*, 16(2), 92-99. doi:10.1234/4.2018.5503
- Smirnoff, N., & Wheeler, G. L. (2000). Ascorbic acid in plants: Biosynthesis and function. *Critical Reviews in Biochemistry and Molecular Biology*, 34(4), 291-314. doi:10.1080/10409230008984166
- Soppelsa, S., Kelderer, M., Casera, C., Bassi, M., Robatscher, P., Matteazzi, A., & Andreotti, C. (2019). Foliar applications of biostimulants promote growth, yield and fruit quality of strawberry plants grown under nutrient limitation. *Agronomy*, 9(9), 483-490. doi:10.3390/agronomy9090483
- Summart, J., Thanonkeo, P., Panichajakul, S., Prathepa, P., & McManus, M. T. (2010). Effect of salt stress on growth, inorganic ion and proline accumulation in Thai aromatic rice, Khao Dawk Mali 105, callus culture. *African Journal of Biotechnology*, 9(2), 145-152.
- Taheri, R., & Shariati, M. (2016). Effect of phytohormones (2, 4-D and BAP) and temperature on biomass production in green alga *Chlorella vulgaris*. *Acta Physiologiae Plantarum*. 10th International Conference Plant Functioning under Environmental Stress. 120-124. doi:10.1007/s11738-015-2019-0
- Tertychnaya, T. N., Manzhosov, V. I., Andrianov, E. A., & Yakovleva, S. F. (2020). New aspects of application of microalgae *Dunaliella salina* in the formula of enriched bread. 6th International Conference on Agriproducts

- processing and Farming, IOP Conf. Series: Earth and Environmental Science, IOP Publishing. doi:10.1088/1755-1315/422/1/012021
- Wellburn, A. R. (1994). The spectral determination of chlorophylls a and b, as well as total carotenoids, using various solvents with spectrophotometers of different resolution. *Journal of Plant Physiology*, 144(3), 307-313. doi:10.1016/S0176-1617(11)81192-2
- Wu, C., Tang, S., Li, G., Wang, S., Fahad, S., & Ding, Y. (2019). Roles of phytohormone changes in the grain yield of rice plants exposed to heat: A review. *PeerJ*, 7, e7792. doi:10.7717/peerj.7792
- Zare Chavoshi, Z., & Shariati, M. (2019). Lipid production in *Dunaliella bardawil* under autotrophic, heterotrophic and mixotrophic conditions. *Brazilian Journal of Oceanography*, 67, e19249. doi:10.1590/S1679-87592019024906709

Effect of *Dunaliella* algal extracts on growth and salt stress response in rice plants

Masomeh Sharifi¹, Mansour Shariati^{*1}, Seyed Ali Hosseini Tafreshi²

¹ Department of Plant and Animal Biology, Faculty of Science and Technology, University of Isfahan, Iran

² Department of Biotechnology, Faculty of Chemistry, University of Kashan, Iran

(Received: 2025/05/14, Accepted: 2025/07/08)

Abstract

Salinity is a major threat to crop production and global food security. Algae and their extracts containing bioactive compounds can increase plants' tolerance to abiotic stress, including salt stress. This research was conducted in two stages of experiments. In the first stage, five different salt concentrations (0, 50, 100, 150, and 200 mM NaCl) were applied to rice plants. According to the growth indicators evaluations, 150 mM NaCl concentration was selected. In the second stage, concentrations of 0.1, 1, and 2% of *Dunaliella bardawil* algae and *Dunaliella salina* algae extracts were prepared separately. The plant leaves were sprayed four times, once a day. Then the plants were subjected to 150 mM salt stress for 14 days. Then, the leaf sampling was done, and some physiological and biochemical indicators were measured. The results indicated that after applying the salt stress, the plants treated with the algal extracts showed significant growth in the stem and root biomass and the relative chlorophyll content (SPAD) of the leaves compared to the control, which were not treated with algal extracts. The use of microalgae extracts following salinity stress caused an increase in photosynthetic pigments, carotenoids, and relative water content, and also increased the accumulation of compatible osmolytes such as proline, glycine-betaine, and soluble carbohydrates. The amount of malondialdehyde, as a membrane lipid peroxidation indicator, increased in plants under salt stress. Algal extracts decreased the malondialdehyde elevation and increased the activity of two antioxidant enzymes, catalase and ascorbate peroxidase. Microalgae extracts preserve intracellular contents by reducing electrolyte leakage from the membrane under salt stress conditions, which indicates the active role of *Dunaliella salina* and *Dunaliella bardawil* extracts in re-establishing ion homeostasis. In general, it was found that the extract of microalgae, probably due to the presence of nutrients and growth stimulants, improved the plant growth, performance, and tolerance under salt stress conditions. It seems that an alternative way in organic agriculture is to use the microalgae extract, especially in higher concentrations, as biofertilizers instead of chemical fertilizers.

Keywords: *Dunaliella salina*, *Dunaliella bardawil*, Salt tension, Rice

Corresponding author, Email: mansour@sci.ui.ac.ir