

## تأثیر تنش شوری بر میزان فعالیت آنتی‌اکسیدان‌ها و رشد گیاهچه در ژنوتیپ‌های مختلف گلرنگ

احسان شهبازی<sup>۱</sup> و پوران‌دخت گلکار<sup>۲\*</sup>

<sup>۱</sup> گروه اصلاح نباتات و بیوتکنولوژی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شهرکرد

<sup>۲</sup> پژوهشکده زیست فناوری و مهندسی زیستی، دانشگاه صنعتی اصفهان

(تاریخ دریافت: ۹۳/۰۸/۲۴، تاریخ پذیرش نهایی: ۱۳۹۳/۱۲/۲۴)

### چکیده:

تنش شوری یکی از مهمترین تنش‌های غیر زنده در مناطق خشک و نیمه خشک می‌باشد. به منظور ارزیابی اثر تنش شوری بر فعالیت آنزیم‌های آسکوربات پراکسیداز، سوپر اکسیددیسموتاز و رشد گیاهچه در ژنوتیپ‌های مختلف گلرنگ، آزمایشی بصورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار در سال ۱۳۹۱ در گلخانه دانشگاه صنعتی اصفهان انجام شد. فاکتورهای آزمایشی شامل شش ژنوتیپ گلرنگ (اراک، اصفهان، خراسان، کوسه  $C_{III}$ ، AC-stirling و Saffire) و پنج سطح شوری شامل صفر (شاهد)، ۵۰، ۱۰۰، ۱۵۰ و ۲۰۰ میلی مولار نمک طعام بود. نتایج آزمایش نشان داد که با افزایش شدت تنش شوری میزان فعالیت هر دو آنزیم (آسکوربات پراکسیداز، سوپر اکسیددیسموتاز) افزایش پیدا کرد که این افزایش بسته به ژنوتیپ متفاوت بود. در سطح شوری ۲۰۰ میلی‌مولار، فعالیت این آنزیم‌ها (آسکوربات پراکسیداز و سوپر اکسیددیسموتاز) کاهش پیدا کرده است. در تیمار شاهد، ژنوتیپ اصفهان با میزان فعالیت‌های آنتی‌اکسیدانی آسکوربات پراکسیداز، ۹۱ جذب بر گرم ماده تر و سوپر اکسیددیسموتاز ۹۹/۱۶ جذب بر گرم ماده تر دارای بیشترین فعالیت و ژنوتیپ AC-Stirling با فعالیت ۵۸ جذب بر گرم ماده تر (آسکوربات پراکسیداز) و ۳۹ جذب بر گرم ماده تر (سوپر اکسیددیسموتاز) دارای کمترین فعالیت بوده است. همچنین، ژنوتیپ اصفهان از نظر صفات مربوط به رشد گیاهچه‌ای (طول ریشه‌چه، طول ساقه‌چه، وزن خشک و تر ریشه‌چه و ساقه‌چه) بالاترین و ژنوتیپ AC-Stirling دارای پایین‌ترین میزان بودند. به طور کلی، ژنوتیپ اصفهان می‌تواند به عنوان یک ژنوتیپ احتمالی سازگار به تنش شوری در برنامه‌های اصلاحی بکار گرفته شود.

کلمات کلیدی: آسکوربات پراکسیداز، آنزیم، سوپر اکسیددیسموتاز، وزن گیاهچه

### مقدمه:

طبیعت اصولاً چند تنش با هم رخ می‌دهند و تفکیک آنها از یکدیگر مشکل است (Zamani et al., 2010). حدود ۲۰٪ از اراضی زراعی و نزدیک ۵٪ از اراضی آبی جهان تحت تأثیر تنش شوری قرار دارند (Zhu, 2001). پیش بینی می‌شود تا سال ۲۰۵۰ بیش از ۵۰٪ از زمین‌های زراعی دنیا شور شوند (Mokhamed et al., 2006). بطور کلی شوری از سه طریق تنش اسمزی، سمیت عناصر و به هم زدن تعادل یونی موجب اختلال در فعالیت گیاه و در نتیجه کاهش رشد و عملکرد می‌شود (Arzani, 2008). همچنین تنش شوری منجر به تولید

گلرنگ (*Carthamus tinctorius* L.) گیاهی یک‌ساله و از خانواده مرکبان است. این گیاه بومی قسمت‌هایی از آسیا، خاورمیانه و آفریقا است که امروزه بیشتر برای استخراج روغن از دانه آن کشت می‌شود (آلباری و همکاران، ۱۳۷۹). تنش‌های محیطی در حقیقت از عوامل محدود کننده رشد می‌باشند که باعث کاهش عملکرد گیاهان می‌شوند. از میان تنش‌های غیر زنده، تنش خشکی و شوری در سطح جهان گسترده‌تر بوده و به همین جهت بیشتر مورد مطالعه قرار گرفته‌اند، اگر چه در

\* نویسنده مسؤول، نشانی پست الکترونیکی: golkar@cc.iut.ac.ir

در سمیت‌زدائی از آب اکسیژنه می‌باشد (Hafsi *et al.*, 2010). فعالیت این آنزیم اولین بار در کلروپلاست و در چرخه گلوکاتایون آسکوربات شناخته شد (Hafsi *et al.*, 2010; Seekin *et al.*, 2010). پژوهش‌های مختلف نشان داده است که ارتباطی قوی بین تحمل به تنش‌های اکسیداتیو و افزایش در غلظت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان در گیاهان فتوسنتزکننده وجود دارد (Alscher *et al.*, 1997). تولید گونه‌های اکسیژن فعال و افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان در اثر تیمار شوری در گیاهان مختلف گزارش شده است (Sairam *et al.*, 2002; Vaidyanathan *et al.*, 2003). Koca و همکاران (۲۰۰۷) افزایش فعالیت آنزیم‌های سوپر اکسیددیسموتاز، کاتالاز، گلوکاتایون‌ردوکتاز و مالون‌دی‌آلدئید را در اثر تیمار شوری در کنجد گزارش کردند. در یک بررسی توسط Huei و Chi Lin (۲۰۰۰) بر روی برنج مشاهده شد که میزان فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان سوپر اکسیددیسموتاز، گلوکاتایون ردوکتاز، کاتالاز و پراکسیداز تحت تنش شوری ۲۰۰ میلی‌مولار افزایش پیدا کرد. Sairam و همکاران (۲۰۰۲) با مطالعه تنش شوری بر تغییرات آنتی‌اکسیدان‌های برگ دو ژنوتیپ متحمل و نیمه متحمل گندم دریافتند که شوری در تمام سطوح باعث افزایش فعالیت آنزیم‌های سوپر اکسیددیسموتاز، گلوکاتایون ردوکتاز و کاتالاز شده است. همچنین آنها دریافتند که میزان افزایش فعالیت این آنزیم‌ها در ژنوتیپ متحمل نسبت به ژنوتیپ نیمه متحمل بیشتر بوده است. Shahbazi و همکاران (۲۰۱۱) فعالیت آنتی‌اکسیدان‌های گلوکاتایون ردوکتاز، آسکوربات پراکسیداز و سوپر اکسیددیسموتاز را در مرحله گیاهچه‌ای روی ژنوتیپ‌های مختلف کلزا تحت تنش شوری مورد مطالعه قرار دادند. آنها گزارش کردند که در تنش شوری ۲۰۰ میلی‌مولار نمک کلرید سدیم فعالیت آنتی‌اکسیدان‌های کاهش یافت. چندین مطالعه به منظور بررسی میزان تحمل به شوری در ژنوتیپ‌های مختلف گلرنگ در مرحله گیاهچه‌ای صورت گرفته است (Ghazizade *at al.*, 2012; Mostafavi, 2011)، نتایج این پژوهش‌ها نشان داد که شوری، اثرات نامطلوبی بر صفات گیاهچه‌ای دارد. Culha و Cakirlar

گونه‌های اکسیژن فعال (ROS) در گیاهان می‌شود (Mittler, 2002). Bolkhia و همکاران (۲۰۰۳) گزارش کردند که بیشترین خسارت ناشی از تنش‌های مختلف در ارتباط با خسارت اکسیداتیو در سطوح مختلف سلولی است. فعالیت گونه‌های اکسیژن فعال ممکن است سبب بروز صدماتی مانند اکسیدشدن لیپیدها (در نتیجه تغییر ساختار غشاء و در نهایت از دست رفتن یکپارچگی آن می‌شود)، تغییر ساختمان پروتئین‌ها و اکسید شدن گروه‌های سولفیدریل (SH<sup>-</sup>)، غیرفعال شدن آنزیم‌ها، فرآیندهای اکسیداتیو مثل پراکسیداسیون چربی‌ها، بی‌رنگ شدن کلروفیل، اکسیداسیون پروتئین و تخریب اسید نوکلئیک شود (Gambarova and Gins, 2008; Yan *et al.*, 2006).

گیاهان برای مقابله با تنش اکسیداتیو ایجاد شده دارای سیستم دفاعی با کارائی بالا هستند که می‌تواند رادیکال‌های آزاد را از بین برده و یا خنثی کنند. این سیستم دفاعی شامل مکانیسم‌های آنزیمی و غیرآنزیمی است. آنزیم‌های این سیستم دفاعی شامل سوپر اکسیددیسموتاز (SOD)، آسکوربات پراکسیداز (APX)، گلوکاتایون ردوکتاز (GR)، کاتالاز (CAT) و نظام غیر آنزیمی شامل متابولیت‌هایی مانند آسکوربیک اسید، گلوکاتایون، کاروتنوئید و آلفاتوکوفرول (ویتامین E) می‌باشد (Sairam *et al.*, 2002). سوپر اکسیددیسموتاز یکی از مهمترین سدهای دفاعی گیاه در برابر تنش اکسیداتیو می‌باشد و نقش اساسی در مقابله با گونه‌های فعال اکسیژن دارد (Yan *et al.*, 2006). سوپر اکسیددیسموتاز باعث تنظیم میزان سوپر اکسید پراکسید هیدروژن که دو فرآورده چرخه هاپر-ویبر می‌باشند، می‌شود. همچنین، آسیب‌های ناشی از رادیکال آزاد هیدروکسیل OH<sup>•</sup> که رادیکالی بسیار واکنش‌پذیر می‌باشد و موجب می‌شود تا صدمات اساسی به غشاء پروتئین‌ها و DNA کاهش یابد (Sudhakar *et al.*, 2001). فعالیت این آنزیم در میتوکندری همراه با گلوکاتایون پراکسیداز باعث پیشگیری از اکسایش و تخریب غشاء میتوکندری می‌شود (Alscher *et al.*, 1997).

آسکوربات پراکسیداز به لحاظ تمایل زیاد که نسبت به آب اکسیژنه دارد، پراکسید هیدروژنی را که مورد مصرف کاتالاز قرار نمی‌گیرد خنثی می‌کند، بنابراین یکی از آنتی‌اکسیدان‌های اصلی

زنی و استقرار گیاهچه‌ها در گلدانها که به مدت پانزده روز طول کشید، اعمال تیمارهای شوریه مدت ۲۰ روز اعمال گردید. در پایان روز بیستم، جهت اندازه‌گیری فعالیت آنزیم آنتی‌اکسیدان (آسکوربات پراکسیداز و سوپر اکسیددیسموتاز) از هر واحد آزمایشی ۵ گیاهچه (قسمت هوایی) برداشت شد. گیاهچه‌ها توسط ازت مایع پودر شده و میزان ۰/۵ گرم از آن به وسیله ۱/۵ میلی‌لیتر بافر فسفات سدیم ۵۰ میلی‌مولار با pH معادل ۷/۳ حاوی EDTA ۱ میلی‌مولار و PVP ۲٪ (پلی وینیل پیرولیدون) بر روی یخ به صورت همگن شد. سپس عصاره های حاصل در ۱۴۰۰۰ دور در دقیقه و دمای ۴ درجه سانتیگراد به مدت ۳۰ دقیقه سانتریفیوژ شد و محلول شفاف بدست آمده در ویال‌های استریل جمع‌آوری گردیده، به عنوان عصاره‌های آنزیمی جهت اندازه‌گیری فعالیت آنزیم‌های سوپر اکسیددیسموتاز و آسکوربات پراکسیداز استفاده شدند. به منظور حفظ فعالیت آنزیمی، تمامی مراحل استخراج و اندازه‌گیری میزان فعالیت آنزیم بر روی یخ انجام شد (Sairam and Srivastava 2001).

فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز بر اساس روش Nakano و Asada (۱۹۸۱) انجام گرفت. یک میلی‌لیتر بافر واکنش شامل ۵۰ میلی‌مولار بافر فسفات سدیم با pH معادل ۷، اسکوربیک اسید ۵۰ میلی‌مولار، EDTA ۰/۱ میلی‌مولار، آب اکسیژنه ۱/۲ میلی‌مولار و ۰/۱ میلی‌لیتر عصاره آنزیمی بود. کاهش جذب اسکوربات پراکسیداز در اثر فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر در طول موج ۲۹۰ نانومتر در مدت یک دقیقه اندازه‌گیری شد. جهت ارزیابی فعالیت آنزیم سوپر اکسیددیسموتاز از احیای نوری نیتروبلوتترازولیوم کلراید (NBT) به روش Beauchamp و Fridovich (۱۹۷۱) استفاده شد. سه میلی‌لیتر مخلوط واکنش شامل فسفات سدیم ۵۰ میلی‌مولار با pH معادل ۷/۸، متیونین ۱۰ میلی‌مولار، نیتروبلوتترازولیوم کلراید ۳۳ میکرومولار، EDTA ۰/۱ میلی‌مولار، ربوفلاوین ۰/۰۰۳۳ میلی‌مولار و ۳۰ میکرولیتر عصاره خام بود. پس از آنکه مخلوط به هم زده شد، سل‌های اسپکتروفتومتری به مدت ۱۰ دقیقه در زیر شش لامپ

(۲۰۱۱) تأثیر غلظتهای مختلف نمک کلرید سدیم (۰، ۷۵، ۱۵۰، ۲۲۵ و ۳۰۰ میلی‌مولار) را بر روی میزان جوانه زنی و صفات گیاهچه ای در سه ژنوتیپ گلرنگ بررسی کردند و گزارش کردند که افزایش سطح شوری باعث کاهش معیندار در طول ریشه‌چه و طول ساقه چه شد. Kaya و همکاران (۲۰۰۳) گزارش کردند که با افزایش تنش شوری در گلرنگ، طول ریشه‌چه و ساقه‌چه و وزن خشک ساقه‌چه و ریشه‌چه کاهش نشان داد. افزایش تنش شوری در مرحله گیاهچه ای میتواند منجر به بازدارندگی از فعالیت های متابولیکی، تخریب آنزیمی و عدم تعادل در رشد هورمونهای رشدی شود و علاوه بر تأثیر بر روی درصد جوانه‌زنی منجر به تأثیر منفی بر روی سرعت جوانه زنی و سرعت رشد گیاهچه شود (Huang et al., 2003). گیاهان زراعی تا یک حد آستانه میتوانند شوری را تحمل کنند و بعد از آن با افزایش شدت شوری، عملکرد دچار کاهش می‌شود. لذا با شناخت آستانه تحمل گیاهان میتوان بهترین انتخاب در رقم را با توجه به شرایط منطقه داشت. با توجه به اهمیت تحمل گیاه به شوری در مرحله گیاهچه‌ای، بررسی میزان فعالیت آنتی‌اکسیدانهای برگگی موجود در گلرنگ میتواند به عنوان معیاری جهت انتخاب ژنوتیپهای متحمل به تنش شوری در مرحله گیاهچه ای قلمداد گردد.

### مواد و روش‌ها:

برای بررسی میزان تحمل به شوری ژنوتیپ‌های گلرنگ در مرحله گیاهچه‌ای، آزمایشی بصورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار در سال ۱۳۹۱ در گلخانه دانشگاه صنعتی اصفهان اجرا گردید. در این آزمایش ۶ ژنوتیپ گلرنگ (اراک، اصفهان، خراسان، کوسه C<sub>111</sub>، AC-Stirling و Saffire) به عنوان فاکتور اول و پنج سطح شوری شامل صفر (شاهد)، ۵۰، ۱۰۰، ۱۵۰ و ۲۰۰ میلی‌مولار نمک طعام به عنوان فاکتور دوم در نظر گرفته شدند. ۱۰ بذر از هر ژنوتیپ در گلدان حاوی ماسه (شسته شده) کشت گردید و با محلول غذایی هوگلند به صورت یک روز در میان آبیاری شد. پس از جوانه-

فلورسنت ۱۵ وات به فاصله ۳۰ سانتی‌متر قرار داده شد. با خاموش کردن لامپ واکنش متوقف و جذب مخلوط واکنش در ۵۶۰ نانومتر خوانده شد. یک واحد فعالیت آنزیم سوپر اکسید دیسموتاز، مقدار آنزیمی در نظر گرفته می‌شود که می‌تواند ۵۰٪ مانع از احیای نوری نیتروبلوتترازولیوم کلراید گردد. صفات گیاهیچه ای شامل طول ریشه‌چه، طول ساقه‌چه، وزن خشک ریشه‌چه، وزن تر ریشه‌چه، وزن خشک ساقه‌چه و وزن تر ساقه‌چه بر روی ۵ نمونه باقیمانده در هر گلدان اندازه‌گیری شد. وزن خشک پس از قرار دادن نمونه‌ها در آون در دمای ۷۰ درجه سانتیگراد به مدت ۴۸ ساعت اندازه‌گیری شد واز میانگین نمونه‌ها در هر تکرار برای آزمایشات مقایسه میانگین استفاده شد. برای تجزیه واریانس و مقایسات میانگین (به روش  $LSD_{\alpha=0.05}$ ) از نرم افزار SAS استفاده شد.

### نتایج و بحث:

**فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان:** نتایج تجزیه واریانس نشان داد که سطوح شوری، ژنوتیپ‌های گلرنگ و برهمکنش شوری و ژنوتیپ تأثیر معنی‌داری بر میزان فعالیت آنزیم سوپر اکسیددیسموتاز داشت (جدول ۱). نتایج مقایسه میانگین فعالیت آنزیم سوپراکسیددیسموتاز تحت تیمارهای مختلف شوری در ژنوتیپ‌های مختلف گلرنگ در شکل ۱ نشان داده شده است. با افزایش سطح شوری به ۵۰ میلی‌مولار نمک طعام در محیط غذایی میزان فعالیت آنزیم سوپراکسیددیسموتاز در همه ژنوتیپ‌ها نسبت به شاهد افزایش یافت. بیشترین افزایش در ژنوتیپ اصفهان (۶۶/۴٪) و کمترین آن در ژنوتیپ خراسان (۲۳/۳۶٪) مشاهده گردید (شکل ۱). با افزایش سطح شوری از ۵۰ به ۱۰۰ میلی‌مولار نمک طعام میزان فعالیت آنزیم سوپر اکسیددیسموتاز در ژنوتیپ اصفهان افزایش یافت. ضمن اینکه این افزایش تا سطح ۱۵۰ میلی‌مولار نمک ادامه داشت و بیشترین فعالیت سوپر اکسیددیسموتاز در ژنوتیپ اصفهان برابر با ۹۹/۱۶ (جذب بر گرم ماده تر) در تیمار ۱۵۰ میلی‌مولار نمک بدست آمد. در حالی که، افزایش مقدار نمک از ۱۵۰ به ۲۰۰ میلی‌مولار باعث کاهش معنی‌دار فعالیت آنزیم سوپر

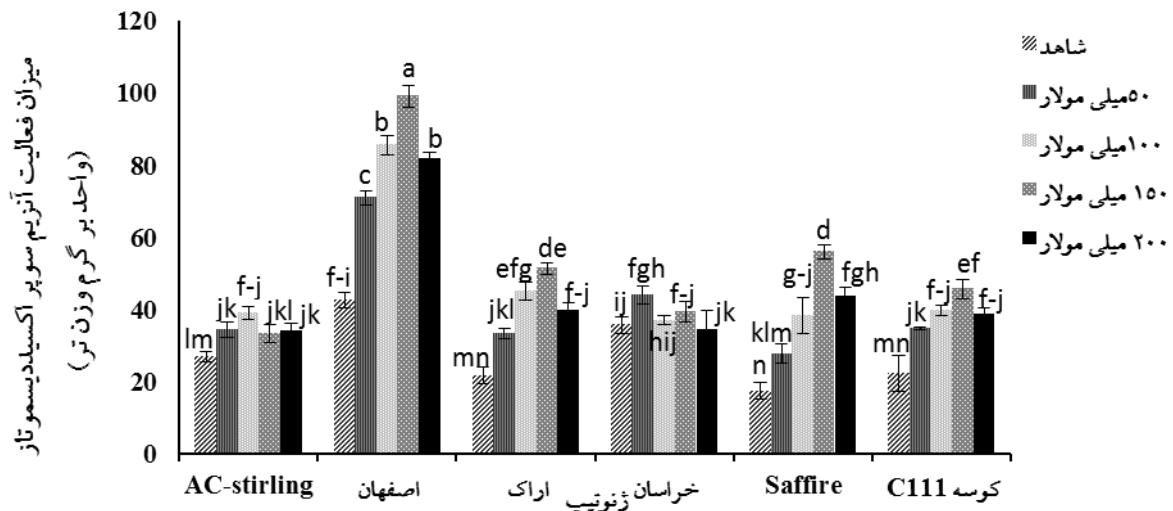
اکسیددیسموتاز گردید. در این ژنوتیپ میزان فعالیت آنزیم سوپر اکسیددیسموتاز در سطح شوری ۲۰۰ میلی‌مولار نسبت به شاهد افزایش معنی‌داری (۹۲/۱۸ درصد) نشان داد (شکل ۱). Dai و همکاران (۲۰۰۹) نیز گزارش کردند که میزان سوپر اکسیددیسموتاز در گیاهیچه کلزا تحت شرایط شوری افزایش یافته است. روند فعالیت آنزیم سوپر اکسیددیسموتاز برای ژنوتیپ‌های اراک، کوسه C<sub>III</sub> و Saffire تقریباً مشابه ژنوتیپ اصفهان بود، اما که میزان فعالیت این آنزیم در این ژنوتیپ‌ها نسبت به ژنوتیپ اصفهان کمتر بود. میزان فعالیت آنزیم سوپر اکسیددیسموتاز در ژنوتیپ AC-Stirling بطور متوسط کمتر از سایر ژنوتیپ‌ها بود. بیشترین فعالیت این آنزیم برای AC-Stirling در سطح ۱۰۰ میلی‌مولار نمک (۳۹ جذب بر گرم ماده تر) بود که با سطح ۵۰ میلی‌مولار نمک اختلاف معنی‌دار نداشت (شکل ۱). تغییرات در فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان بسته به شدت و مدت تنش، ژنوتیپ گیاه، غلظت نمک و شرایط محیطی متفاوت است (Koca et al., 2007). Vaidyanathan و همکاران (۲۰۰۳) افزایش میزان فعالیت سوپر اکسیددیسموتاز را با افزایش شدت شوری در مطالعه خود بر روی برنج گزارش کردند. Ali و Ashraf (۲۰۰۸) نیز با مطالعه تأثیر شوری بر روی ژنوتیپ‌های کلزا افزایش میزان فعالیت سوپر اکسیددیسموتاز را با افزایش شدت شوری گزارش کردند. سایر گزارشات نیز در هماهنگی با نتایج مطالعه حاضر حاکی از این است که فعالیت سوپر اکسیددیسموتاز تحت شرایط تنش شوری در ژنوتیپ‌های متحمل افزایش یافته است (Hoque et al., 2007; Rout and Shaw, 2001). در آفتابگردان، تأثیر تنش به واسطه فلز کادمیوم در برگها منجر به افزایش معنی‌دار در فعالیت سوپر اکسیددیسموتاز، گلوکاتایون ردوکتاز و کاتالاز گردید (Yannerelli et al., 2006).

مقایسه میانگین‌ها نشان داد که ژنوتیپ اصفهان با میزان ۹۱ (جذب بر گرم ماده تر) دارای بیشترین و ژنوتیپ AC-Stirling با ۵۸ (جذب بر گرم ماده تر) کمترین میزان فعالیت آسکوربات پراکسیداز را در تیمار شاهد داشتند (شکل ۲). سطح شوری ۵۰ میلی‌مولار نمک طعام موجب افزایش میزان فعالیت آنزیم

جدول ۱- نتایج تجزیه واریانس شش ژنوتیپ گلرنگ در پنج سطح شوری برای صفات مختلف

میانگین مربعات		وزن تر خشک		وزن تر ریشه‌چه		طول ساقه‌چه		درجه آزادی	منابع تغییر
سوپراکسید دسموتاز	آسکوروبات پراکسیداز	وزن تر ساقه‌چه	وزن تر خشک ساقه‌چه	وزن تر ریشه‌چه	وزن تر خشک ریشه‌چه	طول ساقه‌چه	طول ریشه‌چه		
۳۹۴۸/۷۶**	۱۲۱۰/۵**	۲۲/۶۰**	۰/۰۸۸**	۲/۲۲**	۰/۰۱۶**	۴۲۸۳**	۱۳۲۹۹**	۵	ژنوتیپ
۱۷۴۱/۱۷**	۱۸۸۴/۸۷**	۹۸/۴۹**	۰/۳۷۳**	۵/۲۸**	۰/۰۵۲**	۱۹۸۰۱**	۵۰۰۴۷**	۴	شوری
۱۹۷/۴۳**	۲۳۸/۸۶**	۴/۳ <sup>ns</sup>	۰/۰۱۴ <sup>ns</sup>	۰/۱۳ <sup>ns</sup>	۰/۰۰۱۳ <sup>ns</sup>	۴۰۵/۱۶ <sup>ns</sup>	۱۱۸۱ <sup>ns</sup>	۲۰	ژنوتیپ × شوری
۱۹/۶۲	۳۸/۰۳	۳/۲۸	۰/۰۱۱	۰/۱۴۱	۰/۰۰۱۴	۲۹۸	۱۲۴۷/۲۹	۶۰	اشتباه
۱۰/۲۶	۷/۲۱	۳۷/۱۶	۳۰/۴۶	۳۴/۹۹	۳۱/۹۶	۲۵/۴۹	۳۳/۹۶	-	CV (درصد)

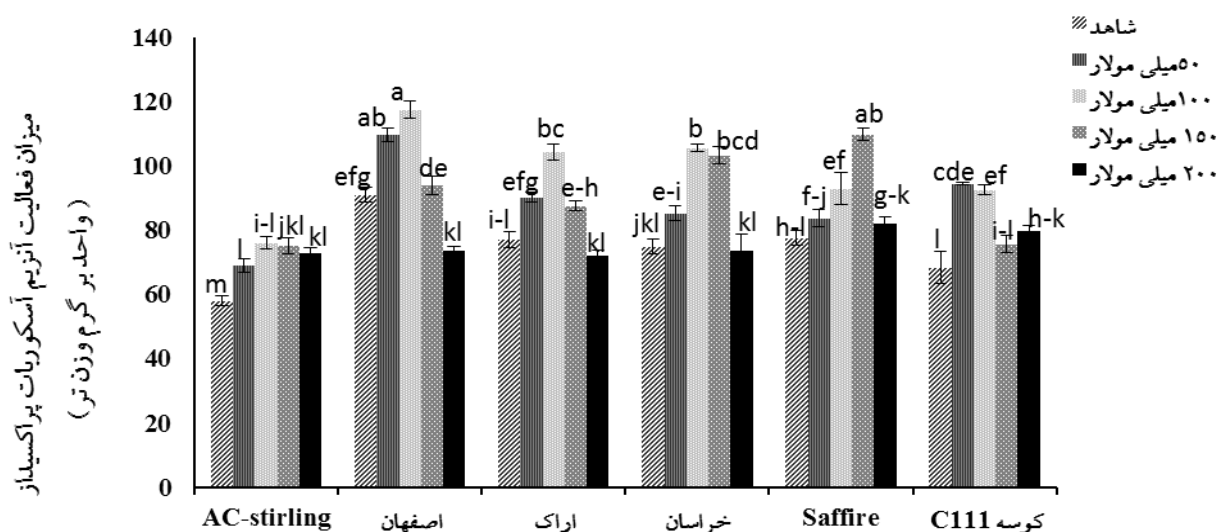
ns و \*\* به ترتیب غیر معنی‌دار و معنی‌دار در سطح خطا ۱٪.



شکل ۱ - مقایسه میانگین میزان فعالیت آنزیم سوپر اکسیددیسموتاز در غلظت‌های مختلف نمک NaCl در ژنوتیپ‌های گلرنگ. میانگین‌هایی که حداقل دارای یک حرف مشترک هستند بر اساس آزمون LSD<sub>α=0.05</sub> با هم اختلاف معنی‌داری ندارند.

افزودن ۱۵۰ میلی‌مولار نمک طعام به محیط غذایی باعث کاهش معنی‌دار میزان فعالیت آنزیم آسکوروبات پراکسیداز نسبت به سطح شوری ۱۰۰ میلی‌مولار در ژنوتیپ‌های اصفهان، اراک و کوسه C111 گردید (شکل ۲). در حالیکه افزودن ۱۵۰ میلی‌مولار نمک طعام موجب افزایش معنی‌دار میزان آنزیم آسکوروبات پراکسیداز در ژنوتیپ Saffire شد، بطوریکه در بین ژنوتیپ‌ها بیشترین فعالیت آنزیم آسکوروبات پراکسیداز در این سطح شوری به این رقم اختصاص داشت. افزودن ۲۰۰ میلی‌مولار نمک طعام به محیط غذایی باعث کاهش معنی‌دار میزان فعالیت آنزیم آسکوروبات پراکسیداز نسبت به سطح شوری

آسکوروبات پراکسیداز گردید، اما روند افزایش در ژنوتیپ‌های مورد مطالعه متفاوت بود، بطوریکه در این سطح شوری ژنوتیپ کوسه C111 با ۳۸ درصد دارای بیشترین و ژنوتیپ Saffire با ۷/۷ درصد دارای کمترین افزایش فعالیت این آنزیم در مقایسه با شاهد بودند. افزایش میزان شوری از ۵۰ میلی‌مولار به ۱۰۰ میلی‌مولار باعث افزایش معنی‌دار میزان فعالیت آنزیم آسکوروبات پراکسیداز در ژنوتیپ‌های اراک و خراسان گردید، ضمن این‌که بیشترین فعالیت این آنزیم مربوط به ژنوتیپ اصفهان در شرایط تنش ۱۰۰ میلی‌مولار نمک بود (شکل ۲).

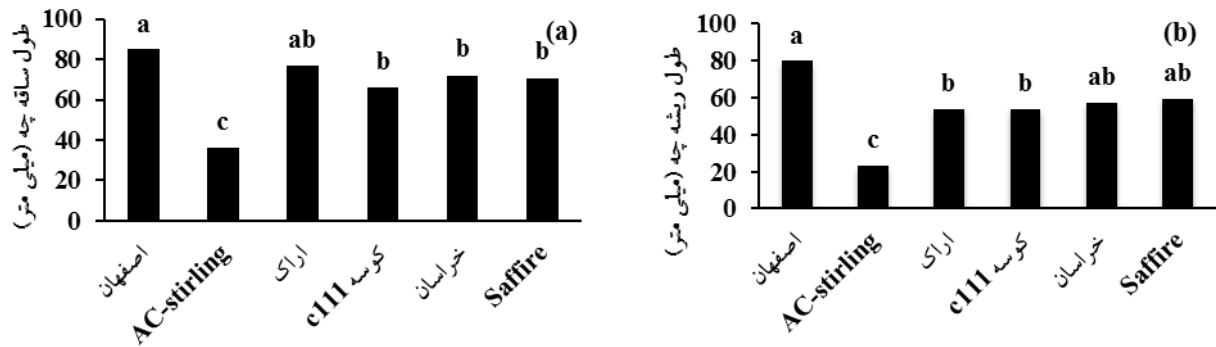


شکل ۲- مقایسه میانگین میزان فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز در غلظت‌های مختلف نمک NaCl در ژنوتیپ‌های گلرنگ. میانگین‌هایی که حداقل دارای یک حرف مشترک هستند بر اساس آزمون  $LSD_{\alpha=0.05}$  با هم اختلاف معنی‌داری ندارند.

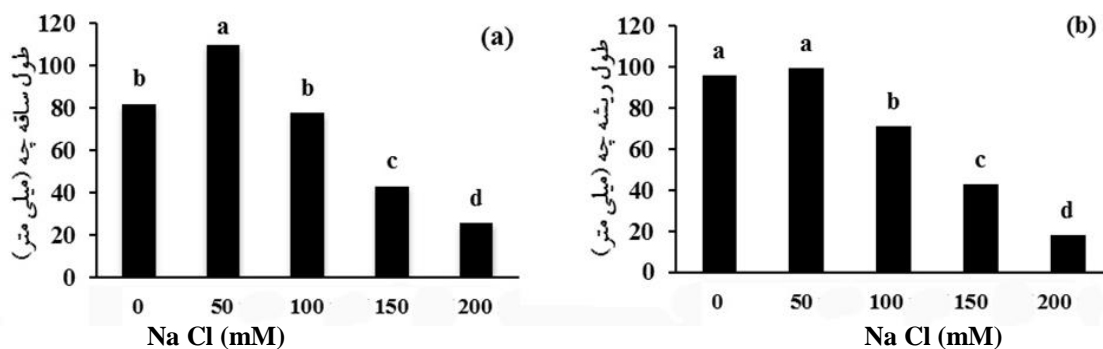
اکسیدان‌ها در حفظ تعادل گیاه در زمان مواجه با تنش‌های محیطی زنده و غیر زنده می‌توان استنباط نمود ژنوتیپ‌هایی که فعالیت آنتی‌اکسیدانی بیشتری داشتند (از جمله اصفهان)، از نظر فیزیولوژیکی توانایی بالاتری از نظر تحمل تنش‌های محیطی غیر زنده و حفظ توان فتوسنتزی داشتند (Esfandiari *et al.*, 2007).

**طول ریشه‌چه و ساقه‌چه:** نتایج تجزیه واریانس نشان داد که بین ژنوتیپ‌های مورد مطالعه و سطوح مختلف شوری تفاوت معنی‌داری از نظر طول ریشه‌چه و ساقه‌چه وجود داشت، در حالی‌که برهمکنش ژنوتیپ و شوری معنی‌دار نبود (جدول ۱). بالاترین مقدار طول ریشه‌چه و ساقه‌چه در ژنوتیپ اصفهان و کمترین آن در ژنوتیپ Ac-Stirling بدست آمد، که ژنوتیپ اصفهان از نظر طول ریشه‌چه با ژنوتیپ‌های خراسان و Saffire و از نظر طول ساقه‌چه با ژنوتیپ اراک اختلاف معنی‌داری نداشت (شکل ۳). مقایسه میانگین سطوح مختلف شوری برای طول ریشه‌چه و ساقه‌چه نشان داد که افزایش ۵۰ میلی مولار نمک باعث افزایش طول ساقه‌چه گردید، ولی از نظر طول ریشه‌چه با تیمار شاهد اختلاف معنی‌داری نداشت (شکل ۴). در مطالعه Mohammadizad و همکاران (۲۰۱۳) نیز طول ریشه‌چه در سطح خشکی ۳- بار نسبت به شاهد افزایش نشان

۱۵۰ میلی‌مولار در ژنوتیپ‌های اراک، Saffire، خراسان و اصفهان گردید. بطور متوسط میزان فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز در ژنوتیپ AC-Stirling نسبت به سایر ژنوتیپ‌ها کمتر بود. با توجه به اینکه در تیمار شوری میزان فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز نسبت به شاهد افزایش معنی‌داری داشت (شکل ۲)، به نظر می‌رسد که ژنوتیپ‌های گلرنگ در شرایط تنش شوری از مکانیسم دفاعی آنتی‌اکسیدانی به منظور مقابله با رادیکال‌های آزاد اکسیژن (ROS)، که ناشی از آزادسازی آنها در شرایط تنش سلولی هستند، نیز استفاده می‌کنند. بدین ترتیب بسته به آستانه تحمل متفاوت ژنوتیپ‌ها، واکنش متفاوت در رابطه با میزان فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز در سطوح مختلف شوری مشاهده شد. در بررسی تاثیر تنش شوری در مرحله گیاهچه‌ای در گیاه تنباکو، کاهش فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز در سطوح شوری ۱۰۰ و ۱۵۰ میلی‌مولار، در ژنوتیپ‌های SPT-406 و باسما-۳۱ مشاهده شد، که با نتایج این مطالعه مطابقت نشان داد (Hatamnia *et al.*, 2013). در مطالعه حاضر در سطح شوری ۲۰۰ میلی‌مولار نمک فعالیت آنتی‌اکسیدان آسکوربات پراکسیداز کاهش پیدا کرد که احتمالاً ناشی از آسیب‌پذیری اندام‌های درگیر در فعالیت آنتی‌اکسیدانی در اثر شوری بالا بوده باشد. با توجه به نقش اساسی آنتی



شکل ۳- مقایسه میانگین طول ساقه‌چه (a) و طول ریشه‌چه (b) در ژنوتیپ‌های مختلف گلرنگ. میانگین‌هایی که حداقل دارای یک حرف مشترک هستند بر اساس آزمون  $LSD_{\alpha=0.05}$  با هم اختلاف معنی‌داری ندارند.

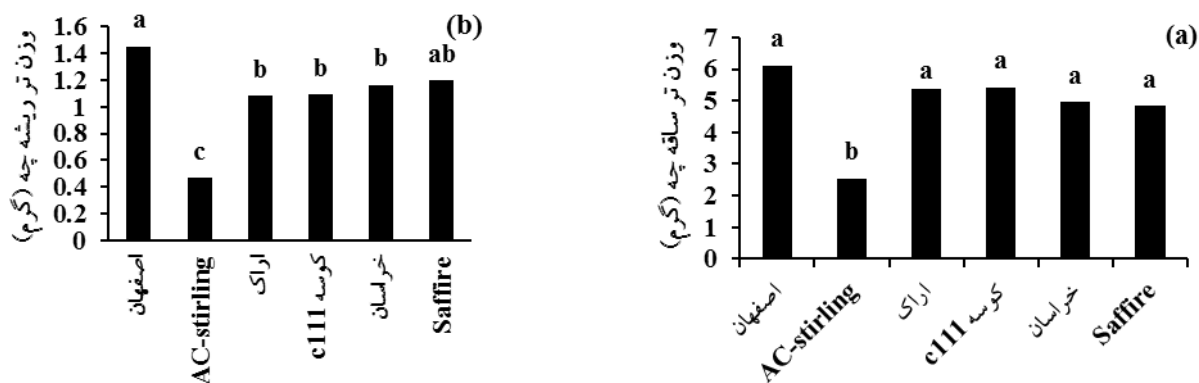


شکل ۴- مقایسه میانگین طول ساقه‌چه (a) و طول ریشه‌چه (b) در سطوح مختلف شوری. میانگین‌هایی که حداقل دارای یک حرف مشترک هستند بر اساس آزمون  $LSD_{\alpha=0.05}$  با هم اختلاف معنی‌داری ندارند.

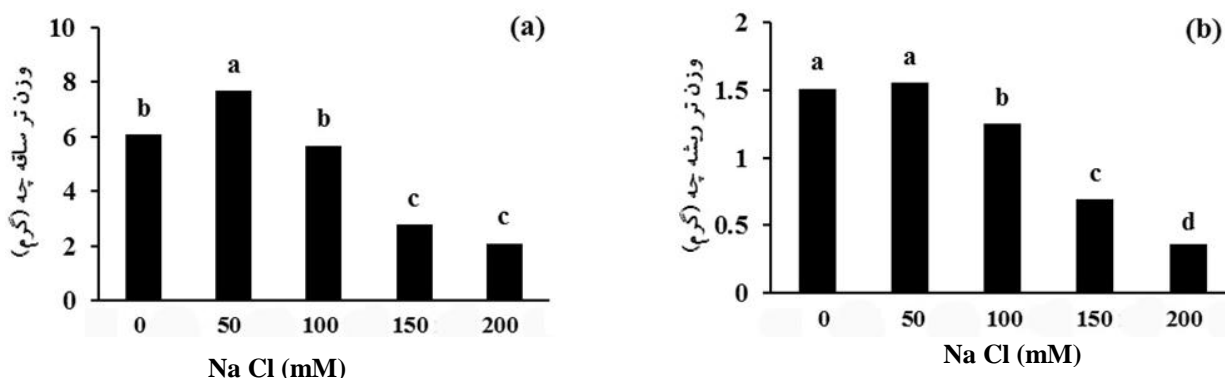
ژنوتیپ برای این صفات معنی‌دار نبود (جدول ۱). ژنوتیپ Ac-Stirling با میانگین ۲/۵۴ گرم وزن تر ساقه‌چه دارای کمترین وزن با اختلاف معنی‌دار نسبت به سایر ژنوتیپ‌ها بود، درحالی که بین سایر ژنوتیپ‌ها اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد (شکل ۵a). ژنوتیپ اصفهان دارای بیشترین وزن تر ریشه چه بود که با ژنوتیپ Saffire تفاوت معنی‌داری نداشت همچنین ژنوتیپ Ac-Stirling دارای کمترین وزن تر ریشه‌چه بود که با سایر ژنوتیپ‌ها اختلاف معنی‌داری نداشت (شکل ۵b). تیمار ۵۰ میلی‌مولار نمک باعث افزایش معنی‌دار وزن تر ساقه‌چه گردید، در حالی که سطح ۱۰۰ میلی‌مولار اختلاف معنی‌داری با شاهد نداشت ولی وزن تر ساقه‌چه با افزایش بیشتر نمک (۱۵۰ و ۲۰۰ میلی‌مولار) بطور معنی‌داری کاهش یافت (شکل ۶a). افزایش وزن خشک ساقه در غلظت ۵۰ میلی‌مولار، شاید به نوعی گویای عدم حساسیت این پارامتر به تنش شوری باشد (Mane et al., 2011). این افزایش می‌تواند ناشی

داد. افزایش بیش از ۵۰ میلی‌مولار نمک باعث کاهش معنی‌دار این دو صفت شد (شکل ۴). در مطالعه‌ای که اثر تنش شوری در مرحله گیاهچه‌ای گلرنگ مورد بررسی قرار گرفت، کاهش معنی‌دار طول ریشه‌چه با افزایش میزان شوری در این گیاه گزارش گردید (Kaya et al., 2003). طول ریشه از صفات مهم در تحمل به تنش شوری می‌باشد، زیرا برای جذب آب و مواد غذایی بصورت مستقیم با خاک در ارتباط است (Golzar, 2011). کاهش طول ریشه در شرایط شور ناشی از کاهش پتانسیل آب در محیط ریشه است که موجب کمبود آب، آثار سمیت یونی و کاهش جذب مواد غذایی توسط ریشه می‌شود (Kaya et al., 2003).

**وزن تر ریشه‌چه و ساقه‌چه:** نتایج تجزیه واریانس نشان داد که تأثیر سطوح مختلف شوری بر وزن تر ساقه‌چه و ریشه‌چه معنی‌دار بود (جدول ۱) همچنین بین ژنوتیپ‌های مختلف گلرنگ تفاوت معنی‌داری مشاهده شد ولی برهمکنش شوری و



شکل ۵- مقایسه میانگین وزن تر ساقه چه (a) و وزن تر ریشه چه (b) در ژنوتیپ‌های مختلف گلرنگ میانگین‌هایی که حداقل دارای یک حرف مشترک هستند بر اساس آزمون  $LSD_{\alpha=0.05}$  با هم اختلاف معنی‌داری ندارند.

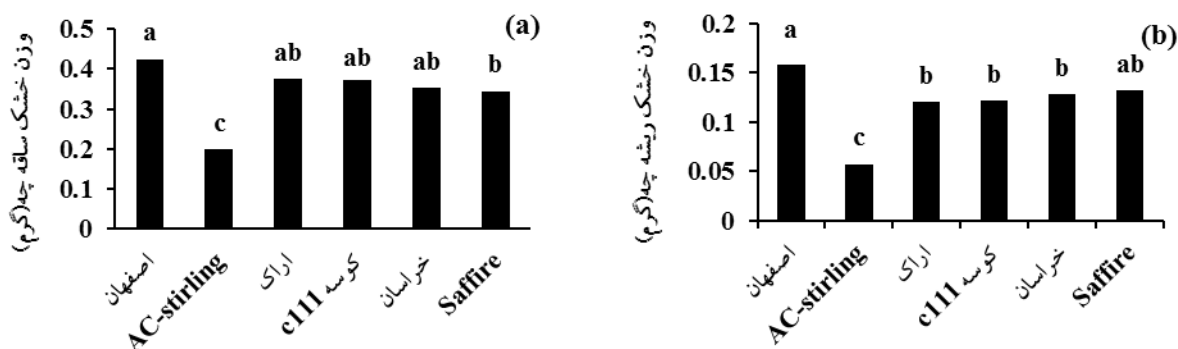


شکل ۶- مقایسه میانگین وزن تر ساقه چه (a) و وزن تر ریشه چه (b) در سطوح مختلف شوری. میانگین‌هایی که حداقل دارای یک حرف مشترک هستند بر اساس آزمون  $LSD_{\alpha=0.05}$  با هم اختلاف معنی‌داری ندارند.

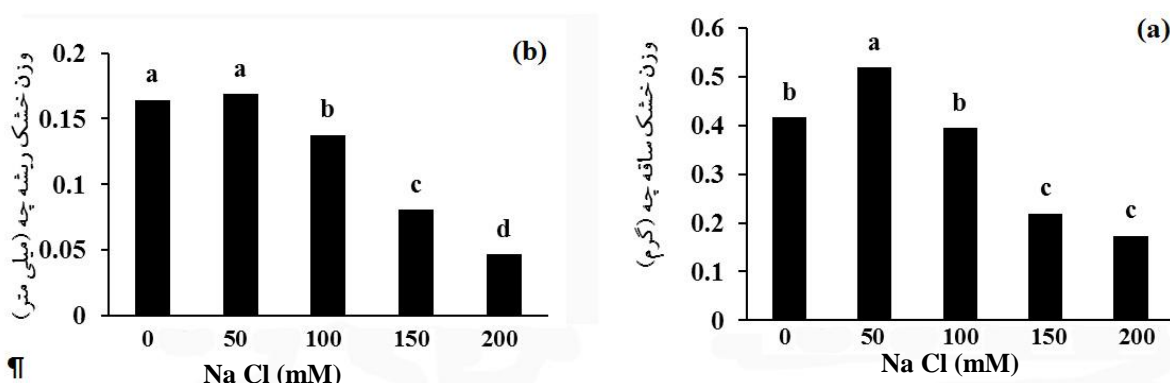
حاکی از تأثیر معنی‌دار سطوح شوری بر وزن خشک ریشه چه و ساقه چه بود. همچنین اختلاف معنی‌داری بین ژنوتیپ‌های گلرنگ از لحاظ وزن خشک ریشه چه و ساقه چه وجود داشت، در حالی که برهمکنش ژنوتیپ و شوری معنی‌دار نبود (جدول ۱). ژنوتیپ اصفهان با ۴۲۴ میلی‌گرم بیشترین وزن خشک ساقه چه را دارا بود که با ژنوتیپ‌های اراک، کوسه C<sub>111</sub> و خراسان تفاوت معنی‌داری نداشت و ژنوتیپ Ac-Stirling دارای کمترین وزن (۱۹۸ میلی‌گرم) بود که با سایر ژنوتیپ‌ها اختلاف معنی‌داری نشان داد (شکل ۷a). ژنوتیپ اصفهان دارای بیشترین وزن خشک ریشه چه (۱۵۷ میلی‌گرم) بود که با ژنوتیپ Saffire تفاوت معنی‌داری نداشت و ژنوتیپ Ac-Stirling دارای کمترین وزن ریشه چه (۵۷ میلی‌گرم) بود (شکل ۷b). شکل ۸a نشان می‌دهد که بیشترین مقدار وزن خشک ساقه چه در سطح شوری ۵۰ میلی‌مولار و کمترین آن در سطح

از تجمع یونهای غیر آلی و محلول‌های آلی به منظور سازگاری اسموتیکی در سطح ۵۰ میلی‌مولار باشد، اما در سطوح شوری بالاتر، فرآیند تجزیه منابع ذخیره‌ای و انتقال آنها به قسمت‌های در حال رشد گیاهچه منجر به کاهش وزن می‌شود (Mane et al., 2011). با توجه به شکل ۶b بین تیمار ۵۰ میلی‌مولار نمک و شاهد از نظر طول ریشه چه تفاوت معنی‌داری مشاهده نشد، ولی با افزایش بیشتر شوری طول ریشه چه کاهش معنی‌داری داشت. در مطالعه Almansouri و همکاران (۲۰۰۱) نیز اثر شوری و تنش اسمزی در گندم دوروم مورد بررسی قرار گرفت که با افزایش میزان شوری وزن تر ریشه چه کاهش پیدا کرد، و این کاهش می‌تواند ناشی از تنش اسمزی حاصل از نمک در ناحیه ریشه بوده که باعث جذب کمتر آب توسط ریشه شده است.

**وزن خشک ریشه چه و ساقه چه:** نتایج تجزیه واریانس



شکل ۷- مقایسه میانگین وزن خشک ساقه‌چه (a) و وزن خشک ریشه‌چه (b) در ژنوتیپ‌های مختلف گلرنگ. میانگین‌هایی که حداقل دارای یک حرف مشترک هستند بر اساس آزمون  $LSD_{\alpha=0.05}$  با هم اختلاف معنی‌داری ندارند.



شکل ۸- مقایسه میانگین وزن خشک ساقه‌چه (a) و وزن خشک ریشه‌چه (b) در سطوح مختلف شوری. میانگین‌هایی که حداقل دارای یک حرف مشترک هستند بر اساس آزمون  $LSD_{\alpha=0.05}$  با هم اختلاف معنی‌داری ندارند.

مناسبی از قدرت رویش گیاه بوده و می‌تواند در شناسایی پتانسیل تحمل به شوری ژنوتیپ‌ها موثر باشد. در مجموع، نتایج این تحقیق نشان داد که ژنوتیپ اصفهان در غلظت‌های مختلف شوری از نظر صفات گیاهچه‌ای جزء بهترین ژنوتیپ‌ها بود و ژنوتیپ AC-Stirling کمترین تحمل را داشت. همچنین مشاهده شد تحت تنش شوری میزان فعالیت آنزیم‌ها بخصوص سوپراکسیددسموتاز در ژنوتیپ اصفهان (متحمل) افزایش و در ژنوتیپ AC-Stirling (حساس) تغییر چندانی نداشت (شکل ۱ و ۲). بنابراین استفاده از ژنوتیپ اصفهان در برنامه‌های اصلاحی گلرنگ برای بهبود تحمل به تنش شوری توصیه می‌گردد.

شوری ۲۰۰ میلی مولار مشاهده شد. وزن خشک ریشه‌چه در سطوح شوری صفر (شاهد) و ۵۰ میلی مولار تفاوت آماری معنی‌داری نشان ندادند، در حالیکه افزایش بیشتر نمک (سطوح ۱۰۰، ۱۵۰ و ۲۰۰ میلی مولار نمک طعام) باعث کاهش معنی‌داری در وزن خشک ریشه‌چه گردید (شکل ۸ b). Munns و همکاران (۲۰۰۶) کاهش وزن خشک را ناشی از سمیت یونی و عدم تعادل غذایی عنوان کردند که باعث کاهش جذب مواد غذایی توسط ریشه از خاک می‌شود.

از آنجایی که گونه‌های خانواده آستراره از جمله گلرنگ در مراحل اولیه رشد به شوری حساس می‌باشند (Golzar, 2011)، بنابراین انتخاب رقم‌ها بر اساس صفات گیاهچه‌ای شاخص

#### منابع:

آیاری، ه.، شکاری، ف. و شکاری، ف. (۱۳۷۹) دانه‌های

روغنی، زراعت و فیزیولوژی. انتشارات عمیدی، تبریز.

Almansouri, M., Kinet, J. M. and Lutts, S. (2001) Effect of salt and osmotic stresses on germination in durum

- stress by increased activity of antioxidant enzymes. Iranian Journal of Plant Physiology 3: 801-808.
- Hoque, M., Okuma, E., Banu, M., Nakamura, Y., Shimoishi, Y. and Murata, Y. (2007) Exogenous proline mitigates the detrimental effects of salt stress more than exogenous betaine by increasing antioxidant enzyme activities. Journal of Plant Physiology 164: 553-561.
- Huang, Z., Zhang, X., Zheng, G. and Gutterman, Y. (2003) Influence of light, temperature, salinity and storage on seed germination of *Haloxylon ammodendro*. Journal of Arid Environment 55: 453-464.
- Kaya, M. D., Ipek, A. and O' zturk , A. (2003) Effects of different soil salinity levels on germination and seedling growth of safflower (*Carthamus tinctorius* L.). Turkish Journal of Agriculture & Forestry 27: 221-227.
- Koca, H., Bor, M., O' zdemir, F. and Türkan, I. (2007) The effect of salt stress on lipid peroxidation, antioxidative enzymes and proline content of sesame cultivars. Environmental and Experimental Botany 60: 344-351.
- Mane, A. V., Saratale, G. D., Karadge B. A. and Samant, J.S. (2011) Studies on the effects of salinity on growth, polyphenol content and photosynthetic response in *Vetiveria zizanioides* (L.) Nash Emirates Journal of Food and Agriculture 23: 59-70.
- Mittler, R. (2002). Oxidative stress, antioxidants and stress tolerance. Trends in Plant Science 7: 405-410.
- Mohammadzad, H.A., Khazaei I., Ghafari M., Fatehi M.F. and Barzegar R. (2013) Effect of Salt and Drought Stresses on Seed Germination and Early Seedling Growth of *Nepeta persica*. International Journal of Farming and Allied Sciences 2: 895-899.
- Mokhamed, A. M., Raldugina, G. N., Kholodova, V. P. and Koznetov, V. V. (2006) Osmolyte accumulation in different rape genotypes under sodium chloride salinity. Russian Journal of Plant Physiology 53: 649-655 .
- Mostafavi, K. (2011) An evaluation of safflower genotypes (*Carthamus tinctorius* L.), seed germination and seedling characters in salt stress conditions. African Journal of Agricultural Research 6: 1667-1672.
- Munns, R., James, R. A. and Lauchli, A. (2006) Approaches to increasing the salt tolerance of wheat and other cereals. Journal of Experimental Botany 57: 1025-1043.
- Nakano, Y. and Asada, K. (1981) Hydrogen peroxide is scavenged by ascorbat specific peroxidase in spinach chloroplasts. Plant & Cell Physiology 22: 867-880.
- Rout, N. P. and Shaw, B. P. (2001) Salt tolerance in aquatic macrophytes: Possible involvement of the antioxidative enzymes. Plant Science 160: 415-423.
- Sairam R. K., Rao, K. V. and Srivastava, G. C. (2002) Differential response of wheat genotypes to long wheat (*Triticum durum* Desf.). Plant and Soil 231: 243-254.
- Alscher, R., Donahue, J. and Cramer, C. (1997) Reactive oxygen species and antioxidants: relationship in green cells. Physiologia Plantarum 100: 224-233.
- Arzani, A. (2008) Improving salinity tolerance in crop plants: a biotechnological view. In Vitro Cellular & Developmental Biology - Plant 44: 373-383.
- Ashraf, M. and Ali, Q. (2008) Relative membrane permeability and activities of some antioxidant enzymes as the key determinants of salt tolerance in canola (*Brassica napus* L.). Environmental and Experimental Botany 63: 266-273.
- Beauchamp, C. and Fridovich, I. (1971) Superoxide dismutase: improved assays and an assay applicable to acrylamide gels. Analytical Biochemistry 44: 276-287.
- Bolkhia, O., Virolinen, E. and Fagerstedt, K. V. (2003) Antioxidants oxidative damage and oxygen deprivation stress. Annals of Botany 91: 179-194.
- Chi Lin, C. and Huei Kao, C. (2000) Efect of NaCl stress on H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> metabolism in rice leaves. Plant Growth Regulation 30: 151-155.
- Culha, S. and Cakirlar, H. (2011) Effect of salt stress induced by NaCl on safflower (*Carthamus tinctorius* L.) cultivars at early seedling stages. Hacettepe Journal of Biology and Chemistry, 39: 61-64.
- Dai, Q. L., Chen, C., Feng, B., Liu, T. T., Tian, X., Gong , Y. Y., Sun, Y. K., Wang, J. and Du, S. Z. (2009) Effects of different NaCl concentration on the antioxidant enzymes in oilseed rape (*Brassica napus* L.) seedlings. Plant Growth Regulation 59: 273-278.
- Esfandiari E, Shekari F, Farid Shekari, Esfandiari M. 2007. The effect of salt stress on antioxidant enzymes' activity and lipid peroxidation on the wheat seedling. Notulae Botanicae Horti Agrobotanici Cluj- Napoca 35: 48-56.
- Gambarova, N. G. and Gins, M. S. (2008) Characteristics of oxidative stress of plants with C<sub>3</sub> and C<sub>4</sub> photosynthesis during salinization. Russian Agricultural Sciences 34:77-80.
- Ghazizade, M., Golkar, P. and Salehinejad, F. (2012) Effect of Salinity Stress on Germination and Seedling characters in Safflower (*Carthamus tinctorius* L.) genotypes. Annals of Biological Research 3:114-118.
- Golkar, P. (2011) Inheritance of salt tolerance in safflower (*Carthamus Tinctorius* L.). Advances in Environmental Biology 5:3694-3699.
- Hafsi, C., Romero-Puertas, M., Gupta, D. K., Del Río, L. A., Sandalio, L. M. and Abdelly, C. (2010) Moderate salinity enhances the antioxidative response in the halophyte *Hordeum maritimum* L. under potassium deficiency. Environmental and Experimental Botany 69: 129-136.
- Hatamnia, A.A., Abbaspour, N., Darvishzadeh R., Rahmani, F., Heidari R. Tobacco responds to salt

- species in NaCl-stressed rice (*Oryza sativa* L.) – differential response in salt-tolerant and sensitive varieties. *Plant Science* 165: 1411-1418.
- Yan, P., Li, J. W. and Zeng, L. Y. (2006) Effect of salt and drought stress on antioxidant enzymes activities and SOD isoenzymes of liquorice (*Glycyrrhiza uralensis* Fisch). *Plant Growth Regulation* 49: 157-165.
- Yannerelli, G. G., Gallego, S. M. and Tamaro, M. L. (2006) Effect of UV-B radiation on the activity and isoforms of enzymes with peroxidase activity in sunflower cotyledons. *Environmental and Experimental Botany* 56:174-181.
- Zamani, S., Nezami, M. T., Habibi, D. and Khorshidi, M. B. (2010) Effect of quantitative and qualitative performance of four canola cultivars (*Brassica napus* L.) to salinity conditions. *Advances in Environmental Biology* 4: 422-427.
- Zhu, J. K. (2001) Over expression of a delta-pyrroline-5-carboxylate synthetase gene and analysis of tolerance to water and salt stress in transgenic rice. *Trends in Plant Science* 6: 66-72.
- term salinity stress in relation to oxidative stress, antioxidant activity and osmolyte concentration. *Plant Science* 163:1037-1046.
- Sairam, R.K. and Srivastava G.C. (2001) Water stress tolerance of wheat *Triticum aestivum* L.: Variation in hydrogen peroxide accumulation and antioxidant activity in tolerant and susceptible genotype. *Journal of Agronomy and Crop Science* ,186: 63-70.
- Seckin, B., Turkan, I., Sekmen, A .H. and Ozfidan, C. (2010) The role of antioxidant defense systems at differential salt tolerance of *Hordeum marinum* Huds. (sea barleygrass) and *Hordeum vulgare* L. (cultivated barley). *Environmental and Experimental Botany* 69: 76–85.
- Shahbazi, E., Arzani, A. and Saeidi, G. (2011) Effects of NaCl treatments on seed germination on seed and antioxidant activity of canola (*Brassica napus* L.) cultivars. *Bangladesh Journal of Botany* 41: 67-73.
- Sudhakar, C., Lakshmi, A. and Giridarakumar, S. (2001) Changes in the antioxidant enzymes efficacy in two high yielding genotypes of mulberry (*Morus alba* L.) under NaCl salinity. *Plant Science* 161: 613–619.
- Vaidyanathan, H., Sivakumar, P., Chakrabarty, R. and Thomas, G. (2003) Scavenging of reactive oxygen