

اثر تنش شوری بر رشد، تنظیم‌کننده‌های اسمزی و فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانسی گیاه شورپسند خرفه ساحلی

الهام عنافجه^۱، محمدرضا صالحی سلمی^{۱*}، محمدحسین دانشور^۱ و علی‌اکبر مرآتان^۲

^۱ گروه علوم باغبانی دانشگاه کشاورزی و منابع طبیعی رامین خوزستان، ^۲ دانشکده علوم زیستی دانشگاه تحصیلات تکمیلی

علوم پایه زنجان، زنجان، ایران

(تاریخ دریافت: ۱۳۹۴/۱۲/۲۰، تاریخ پذیرش نهایی: ۱۳۹۵/۰۳/۰۵)

چکیده:

در این پژوهش اثر غلظت‌های بهینه و بیش از حد بهینه کلرید سدیم (۰، ۲۵۰، ۵۰۰ و ۷۵۰ میلی‌مولار) بر رشد، میزان کلروفیل، کربوهیدرات‌های محلول، پرولین، غلظت یون‌ها و فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانسی خرفه ساحلی بررسی شد. در تیمار شوری ۲۵۰ میلی‌مولار کلرید سدیم افزایش معنی‌داری در رشد ساقه (۲۸/۱ سانتی‌متر) و ریشه (۱۹/۷ سانتی‌متر) و میزان آب برگ (۹۳ درصد) نسبت به شاهد مشاهده شد. هم‌چنین در این شرایط کمترین آسیب یاخته‌ای (۳۰/۲ درصد نشت یونی) و بیشترین تعادل اسمزی در اثر میزان بالایی کربوهیدرات محلول (۲۸/۱ میلی‌گرم بر گرم در لیتر) و یون سدیم (۲۶/۸ میلی‌مولار بر گرم وزن خشک) و کمترین تولید پرولین (۳۲۶ میکروگرم بر گرم وزن تر) وجود داشت. در شرایط رشد مطلوب، فعالیت متوسط آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانسی (سوپراکسیددیسموتاز و آسکوربات پراکسیداز) نیز یافت شد. در مقابل، در رشد زیر (آب مقطر) و بیش از (۷۵۰ میلی‌مولار کلرید سدیم) حد بهینه به‌طور قابل توجهی رشد، میزان آب برگ و نشت الکترونی، با توجه به تجمع یون‌های سمی، افزایش یافت. تجمع زیاد پرولین و افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانسی به‌منظور تعادل اسمزی و زنده‌مانی در شرایط زیر و بیش از حد بهینه کلرید سدیم، سبب کاهش رشد گردید.

واژه‌های کلیدی: سوپراکسید دسیموتاز، کلرید سدیم، گیاه پوششی، نشت یونی

مقدمه:

(Menzel and Leith, 1999). گونه خرفه ساحلی (*Sesuvium portulacastrum*) از خانواده علف‌فرشیان (Aizoaceae)، پتانسیل بالایی برای پوشش خاک و فضای سبز دارد. این گونه دارای شاخساره به رنگ صورتی مایل به بنفش و گاهی اوقات گل‌های سفیدرنگی می‌باشد (Shigeoka et al., 2002). معرفی موفق این گونه بستگی به توانایی آن در تحمل اکوسیستم‌های با محدودیت شوری دارد. این گونه قادر به رشد در خاک‌های بسیار شور و فقیر از مواد غذایی می‌باشد. در گزارشی نشان

تنش‌های غیرزنده (خشکی، شوری، سرما و گرما) دلایل اصلی از بین رفتن گیاهان پوششی و فرسایش خاک هستند (Boyer, 1982; Hare et al., 1999). گیاهان بومی خاک‌های شنی را می‌توان در خاک‌های شور و خشک به‌کار برد. در میان گیاهان مقاوم به شوری، گونه‌های سریع‌الرشدی در جنس‌های گوشتی مانند *Batis*، *Sesuvium* و *Mesembryanthemum* وجود دارد که می‌تواند در زمان کوتاهی خاک‌های بایر را پوشش دهد

* نویسنده مسئول، نشانی پست الکترونیکی: salehi@ramin.ac.ir

گونه به عنوان یک شورپسند زیستی ارزشمند انجام شد.

مواد و روش‌ها:

این پژوهش در پاییز سال ۱۳۹۳ در گلخانه گروه باغبانی دانشگاه کشاورزی و منابع طبیعی رامین خوزستان تحت شرایط دمایی 25 ± 5 درجه سانتی‌گراد و رطوبت نسبی ۶۰ تا ۷۰ درصد انجام گردید. گیاهان یک‌ساله خرفه ساحلی از نهالستانی در شهر اهواز تهیه گردید. برای کاشت گیاهان از گلدان‌های پلاستیکی زهکش‌دار به قطر ۲۰ سانتی‌متر و طول ۲۵ سانتی استفاده گردید. گلدان‌ها پس از ریختن ۵ سانتی‌متر سنگریزه، با خاک (جدول ۱) پر گردیدند. به‌منظور استقرار و سازگاری، گیاهان به مدت ۳۰ روز در شرایط یکسان و آبیاری به میزان ظرفیت زراعی هر ۴ روزیکبار انجام گردید. سپس اعمال تنش شوری به همراه آب آبیاری به مدت ۳۰ روز انجام شد و چهار سطح شوری وجود داشت که عبارت بودند از: آب مقطر (شاهد)، ۲۵۰، ۵۰۰ و ۷۵۰ میلی‌مولار کلرید سدیم. لازم به یادآوری است که برای جلوگیری از وارد شدن تنش ناگهانی به گیاه اعمال تنش در ۵ مرحله صورت گرفت.

در پایان آزمایش ویژگی‌های وزن‌تر ریشه و شاخساره، طول ریشه و شاخساره، میزان آب برگ، میزان پرولین (Bates *et al.*, 1973)، فعالیت آنزیم‌های سوپراکسیددیسموتاز (Becana *et al.*, 1998) و آسکوربات پراکسیداز (Nakano and Asada, 1981)، میزان کلروفیل (Lichtenthaler and Wellburn, 1985)، نشت یونی (Dionisio-Sese and Tobita, 1998)، کربوهیدرات‌های محلول (Watanabe *et al.*, 2000)، میزان سدیم، پتاسیم و کلسیم (Humphries, 1956) بررسی شد.

آزمایش در قالب طرح کاملاً تصادفی با ۵ تکرار (گلدان) انجام شد. تجزیه داده‌ها با نرم‌افزار آماری SAS و مقایسه میانگین‌ها با استفاده از آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح احتمال ۰.۰۵ انجام شد. نمودارها توسط نرم‌افزار Excel 2013 رسم گردید.

نتایج و بحث:

نتایج حاصل از تجزیه واریانس داده‌های مربوط به ویژگی‌های

داده شده که بیشترین میزان رشد این گونه در محدوده ۱۰۰ تا ۴۰۰ میلی‌مولار کلرید سدیم بود و این گونه را در دسته گیاهان شورپسند قرار دادند (Messedi *et al.*, 2003). با بررسی پراکنش یون‌های سدیم و کلرید در بین اندامک‌های سلول پیشنهاد شد که گونه *S. portulacastrum* از طریق تجمع یون سدیم در واکوئل‌های برگی سبب تنظیم اسمزی می‌گردد (Moseki and Buru, 2010). گیاهان خانواده علف‌فرشیان به هنگام قرارگیری در تنش اسمزی، قادر به تجمع میزان زیادی پرولین و اسیدهای آمینه می‌باشند (Heun *et al.*, 1998; Delauney and Verma, 1993; Deuschle *et al.*, 2001;). اسیدآمینه در این گونه‌ها از گلوتامیت یا اورنیتین ساخته می‌شود. باوجودی که مسیر گلوتامیت در تجمع پرولین در هنگام تنش شوری شناخته شده است ولی اهمیت نقش اورنیتین در تجمع پرولین هنوز مورد بحث می‌باشد (Delauney *et al.*, 1993). ساخت مواد محلول آلی یک فرآیند انرژی‌خواه برای سلول است و اگر تجمع مواد محلول آلی تنها وسیله تنظیم اسمزی واکوئل و سیتوپلاسم می‌بود، اکثر تولیدات فتوسنتزی گیاه می‌باید صرف تنظیم اسمزی می‌گردید (Megdiche *et al.*, 2007). ولی در این زمینه توافق نظر وجود دارد که اکثر گیاهان عالی املاح سدیم و پتاسیم را برای تنظیم اسمزی در واکوئل تجمع می‌دهند (Martinez *et al.*, 2005)، اگر چه بعضی علف‌های چمنی ممکن است از مواد محلول آلی در واکوئل نیز استفاده کنند (Flowers and Colmer, 2008).

با توجه به مشکل شوری در مناطق خشک و نیمه‌خشک از جمله ایران، کاشت گیاهان شورپسند در این نواحی از راه‌حل‌های نویدبخش برای مقابله با شوری و فرسایش خاک به شمار می‌آید. به‌رغم این‌که خرفه ساحلی، به عنوان یکی از مهم‌ترین گیاهان پوششی جدید مطرح می‌باشد که از دیرباز نیز جایگاه ویژه‌ای در فضای سبز ایران داشته است، هم‌چنین نیاز آبی اندکی داشته و در برابر تنش شوری نیز مقاوم می‌باشد، ولی تاکنون تحقیق مستندی در مورد جنبه‌های مورفوفیزیولوژی این گیاه انجام نشده است. بنابراین این پژوهش به منظور بررسی تأثیر سطوح شوری بر برخی ویژگی‌های مورفوفیزیولوژیک این

جدول ۱- برخی از ویژگی‌های خاک مورد استفاده.

| رس (%) | شن (%) | سیلت (%) | بافت خاک | ظرفیت زراعی (%) | آب سهل‌الوصول | وزن مخصوص ظاهری |
|--------|--------|----------|----------|-----------------|---------------|-----------------|
| ۱۰/۲۹ | ۸۰/۵۵ | ۹/۱۶ | شنی لومی | ۱۷ | ۰/۱۴۶ | ۱/۶۵ |

جدول ۲- میانگین مربعات ویژگی‌های مورد ارزیابی در ۴ سطح شوری.

| منابع | درجه آزادی | طول ساقه | طول ریشه | وزن شاخساره | وزن ریشه | میزان آب برگ | پرولین |
|------------------|------------|----------|----------|-------------|----------|--------------|-----------|
| تیمار | ۳ | ۲۰/۳۸** | ۳۵/۸۷* | ۱۱/۹۰* | ۱/۹۵** | ۹۱/۲۰** | ۴۱۲۹/۴۶** |
| خطا | ۱۶ | ۴/۸۵ | ۶/۹۹ | ۱/۳۰ | ۰/۱۷ | ۱۲/۷۷ | ۶۳۱/۴۲ |
| ضریب تغییرات (%) | | ۸/۴ | ۹/۱ | ۵/۸۷ | ۶/۴۷ | ۳/۸۹ | ۵/۷۶ |

* و ** به ترتیب معنی‌داری در سطح ۵ و ۱ درصد

ادامه جدول ۲

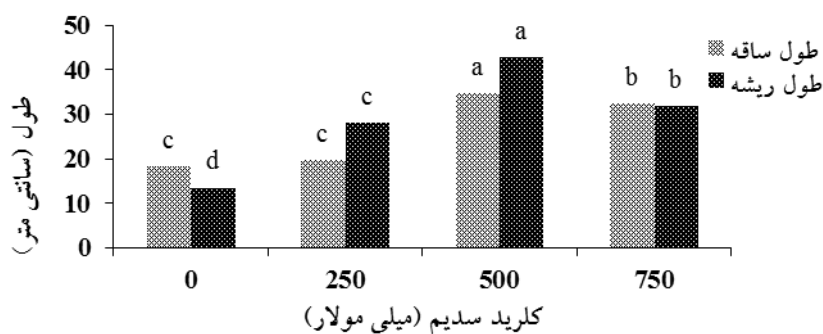
| منابع | درجه آزادی | آسکوربیک | سوپراکسید | نشست | کربوهیدرات‌های محلول | پتاسیم | سدیم | کلسیم |
|------------------|------------|-----------|-----------|---------|----------------------|--------|---------|--------|
| تیمار | ۳ | ۰/۰۰۱۸۶** | ۷/۰۷** | ۵۴/۹۵** | ۴۵/۱۹** | ۳۸/۶۵* | ۳۷/۶۹** | ۳۸/۶۵* |
| خطا | ۱۶ | ۰/۰۰۰۲۲ | ۰/۵۰ | ۶/۴۲ | ۳/۶۷ | ۸/۲۸ | ۴/۴۰ | ۸/۲۸ |
| ضریب تغییرات (%) | | ۴/۱۳ | ۷/۳ | ۴/۴۲ | ۷/۱۲ | ۵/۳۴ | ۶/۱۹ | ۵/۳۴ |

* و ** به ترتیب معنی‌داری در سطح ۵ و ۱ درصد

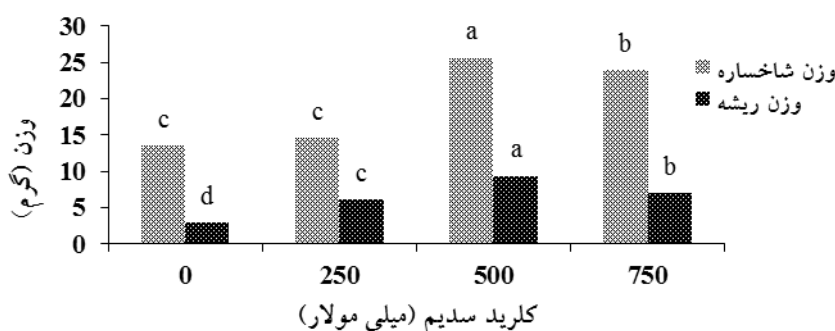
طول شاخساره داشت، به‌گونه‌ای که بیشترین طول ریشه مربوط به تیمار آبیاری با کلرید سدیم ۵۰۰ میلی مولار و کمترین طول ریشه مربوط به آبیاری با آب مقطر بود (شکل ۱). نتایج نشان داد که افزایش غلظت کلرید سدیم بر وزن‌تر شاخساره و ریشه اثر گذاشت. به‌گونه‌ای که در هر دو ویژگی اندازه‌گیری شده با افزایش غلظت تا ۵۰۰ میلی مولار وزن‌تر شاخساره و ریشه افزایش یافت ولی در غلظت ۷۵۰ میلی مولار وزن‌تر شاخساره و ریشه کاهش یافت. با این وجود کمترین وزن‌تر شاخساره و ریشه در تیمار شاهد (آبیاری با آب مقطر) مشاهده شد (شکل ۲). بررسی میزان آب برگ خرفه ساحلی در آبیاری با غلظت-های متفاوت کلرید سدیم نشان داد که این میزان در تیمار آبیاری با کلرید سدیم ۲۵۰ میلی مولار نسبت به شاهد به‌طور معنی‌داری زیاده‌تر بود. در غلظت‌های بالاتر میزان آب برگ کاهش یافت و به‌طور معنی‌داری کمتر از تیمار شاهد (آبیاری با آب مقطر) بود (شکل ۳).

موفولوژیکی، فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی گیاه خرفه ساحلی نشان داد که سطوح مختلف شوری بر طول ساقه، وزن ریشه، میزان آب برگ، پرولین، فعالیت آنزیم‌های آسکوربیک پراکسیداز و سوپراکسیددیسموتاز، نشست یونی، کربوهیدرات‌های محلول و سدیم در سطح احتمال ۱ درصد و بر ویژگی‌های طول ریشه، وزن شاخساره، میزان کلروفیل، میزان پتاسیم و کلسیم در سطح احتمال ۵ درصد معنی‌دار بود (جدول ۲).

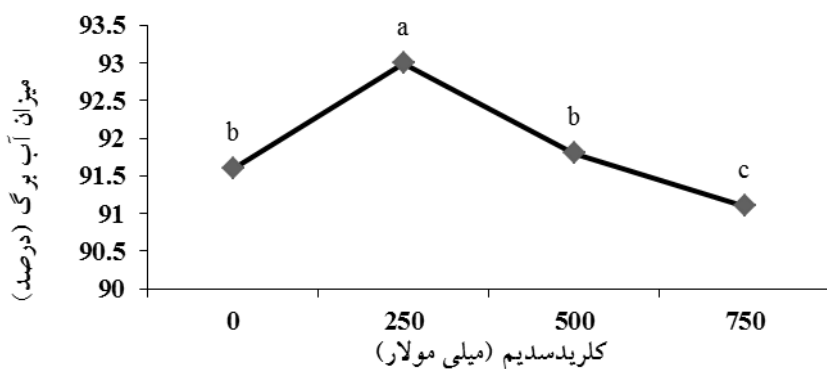
نتایج به‌دست‌آمده نشان داد که با افزایش میزان کلرید سدیم در آب آبیاری تا میزان ۵۰۰ میلی مولار، طول ساقه افزایش یافت و در تنش بیش از این میزان طول ساقه کاهش پیدا کرد. هم‌چنین کوتاه‌ترین طول ساقه مربوط به آبیاری با آب مقطر (بدون کلرید سدیم) بود ولی از نظر آماری اختلاف معنی‌داری با تیمار آبیاری با کلرید سدیم ۲۵۰ میلی مولار نداشت (شکل ۱). هم‌چنین بررسی طول ریشه نیز نتایج مشابهی با



شکل ۱- اثر آبیاری با غلظت‌های مختلف کلرید سدیم بر طول ساقه و ریشه. ستون‌های با رنگ مشابه، که دارای حروف مشترک هستند، در سطح ۵٪ آزمون چنددامنه‌ای دانکن تفاوت معنی‌داری ندارند.



شکل ۲- اثر آبیاری با غلظت‌های مختلف کلرید سدیم بر وزن شاخساره و ریشه. ستون‌های با رنگ مشابه، که دارای حروف مشترک هستند، در سطح ۵٪ آزمون چنددامنه‌ای دانکن تفاوت معنی‌داری ندارند.



شکل ۳- اثر آبیاری با غلظت‌های مختلف کلرید سدیم بر میزان آب برگ. نقاط دارای حرف مشترک، در سطح ۵٪ آزمون چنددامنه‌ای دانکن تفاوت معنی‌داری ندارند.

رشد رویشی ایده‌آلی در خاک‌های شور دارد (Lokhande et al., 2010). مسدی و همکاران (Messedi et al., 2004) نشان دادند که جنس *Sesuvium* قادر به رشد در شوری محدوده ۶۰۰ تا ۱۰۰۰ میلی‌مولار می‌باشد و بیان کردند که این جنس از تجمع سدیم در شاخساره جلوگیری می‌کند. در پژوهش‌های

غلظت زیاد عناصر سدیم و کلر سبب تنش‌های اسمزی و یونی می‌شوند (Tester and Davenport, 2003) و بنابراین در جذب عناصر غذایی در تمامی اندام‌های گیاهی اختلال به وجود می‌آورند. در پژوهشی بیان شده است که جنس *Sesuvium* در مقایسه با تمامی گیاهان در سطح سلولی رفتار متفاوت داشته و

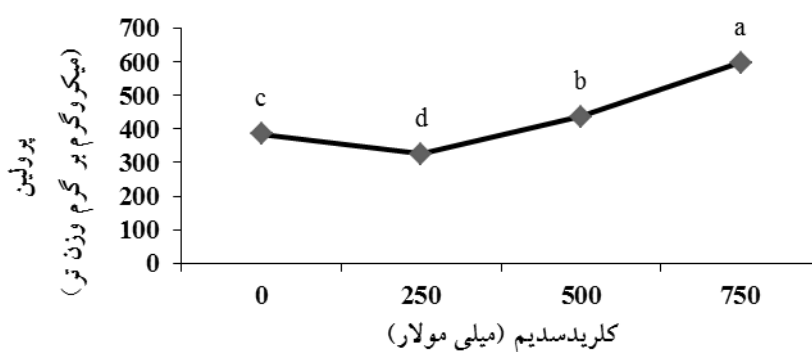
به‌گونه‌ای که بیشترین میزان پرولین مربوط به تیمار آبیاری با کلرید سدیم ۷۵۰ میلی‌مولار بود (شکل ۴). از دلایل عمده افزایش پرولین در سیتوپلاسم، تنظیم فشار اسمزی سلول می‌باشد، که به‌وسیله تنظیم اسمزی در واکنش و تعادل اسمزی بین سیتوپلاسم و اجزای مختلف سلول باشد (Ashraf, 1994). با توجه به نتایج در تیمار شاهد (آبیاری با آب مقطر) به دلیل عدم وجود سدیم، گیاه با تولید پرولین این تعادل اسمزی را فراهم ساخت و هنگام افزایش کلرید سدیم تا ۲۵۰ میلی‌مولار، شرایط بهینه برای خرفه ساحلی، میزان پرولین کاسته شد. با افزایش شوری، میزان پرولین زیاد می‌شود، که شاید به سبب افزایش میزان اسیدآسیزیک است. این هورمون انباشتگی اسیدهای آمینه، به‌ویژه پرولین را افزایش می‌دهد و سازش با شوری را بهبود می‌بخشد که ممکن است یکی از دلایل افزایش پرولین در گیاهان شورپسند باشد (Flowers and Colmer, 2008). نتایج به‌دست‌آمده از این پژوهش با پژوهش (Vinayak et al., 2011) همسویی داشت. در گیاه آرابیدوسیس تحت تنش شوری، غلظت پرولین در حدود ۴۰ میکروگرم بر گرم وزن خشک بود (Liu and Zhu, 1997)، درحالی‌که در گیاه تربچه در شرایط شوری میزان تجمع پرولین تا میزان ۲۴۶ میکروگرم بر گرم وزن خشک افزایش نشان داد (Hervieu et al., 1994). بنابراین تغییرات و تجمع پرولین در گیاه بسته به نوع گیاه و مکانیزم مقاومت آن دارد، به نظر می‌رسد که یکی از راهکارهای خرفه ساحلی برای تحمل به تنش شوری زیاد تجمع پرولین می‌باشد.

شوری یکی از بزرگ‌ترین عوامل محدودکننده محیطی در گیاهان است و در نتیجه این تنش در گیاهان رادیکال‌های آزاد اکسیژن زیاد می‌شود. یکی از راه‌های تحمل گیاهان به تنش شوری افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی می‌باشد (Noctor et al., 1998). نتایج نشان داد که با تنش شوری فعالیت آنزیم‌های پراکسیداز و سوپراکسید دیسموتاز افزایش یافت (شکل ۵ و ۶). مشابه این نتیجه نیز در گیاهان *Bruguiera gymnorhiza* و *B. parviflora* مشاهده شد که در تنش شوری، فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز زیاد شد (Parida et al., 2004). پراکسید هیدروژن تولید شده توسط

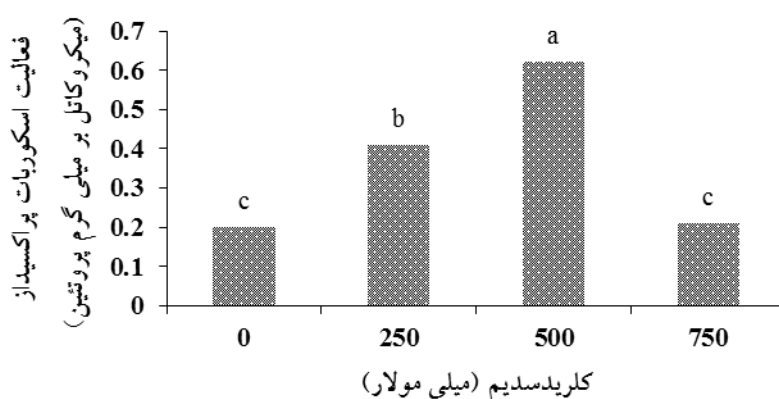
دیگر نیز چنین نتایجی بیان شد که هنگامی‌که گیاهان شور دوست در معرض شوری متوسط ۵۰ تا ۲۵۰ میلی‌مولار کلرید سدیم قرار گرفتند، تحریک به رشد شدند (Flowers et al., 1986; Khan et al., 2000; Siler et al., 2007; Moseki and Buru 2010). علاوه بر این بهترین نسبت وزن‌تر به خشک در سطح شوری ۲۵۰ میلی‌مولار اتفاق افتاد که نشان‌گر حفظ تعادل اسمزی به‌وسیله تنظیم جذب یون سدیم و جمع‌آوری آن در واکنش است. یکی از ویژگی‌های مهم گیاهان شور دوست افزایش نسبت آبی در غلظت‌های متوسط شوری است، که سبب گوشتی شدن برگ می‌شود (Flowers et al., 1986). با این‌وجود علت کاهش رشد در غلظت بالاتر از حد بهینه کلرید سدیم به‌طور روشن مشخص نیست (Flowers and Colmer 2008)، اگرچه چندین احتمال مانند کاهش تثبیت کربن (Lovell and Ball 2002)، کاهش تورژسانس (Balonkin et al., 2005) و در پی آن افزایش غلظت یون‌ها در آپوپلاست (James et al., 2006) و یا تغییر در دیواره سلولی (Touchette 2006) وجود دارد.

در پژوهش‌های پیشین بیان شده است که تجمع و توقف سدیم در واکنش در شرایط شوری متوسط و یا تنش خشکی رابطه مستقیمی با تعادل اسمزی و میزان گوشتی شدن گیاه دارد (Messedi et al., 2004; Slama et al., 2008; Moseki and Buru 2010). نتایج نشان داد افزایش بیش‌ازحد شوری سبب کاهش رشد نسبت به تیمار شاهد گردید که به علت اختلال در سوخت‌وساز گیاه می‌باشد (Messedi et al., 2004). علاوه بر این تغییرات فراساختاری در سطح هسته و سیتوپلاسم در شاخساره و ریشه سبب کاهش رشد می‌گردد (Bennici and Corrado 2009). هم‌چنین میزان سدیم در سطوح بالای شوری نشان می‌دهد که کاهش در رشد گیاه بیشتر در اثر سمیت این یون است تا اختلال در سوخت‌وساز گیاه، که این نتیجه با نتایج پژوهش‌های دیگر (Vicente et al., 2004; Bracci et al., 2008) همسویی داشت.

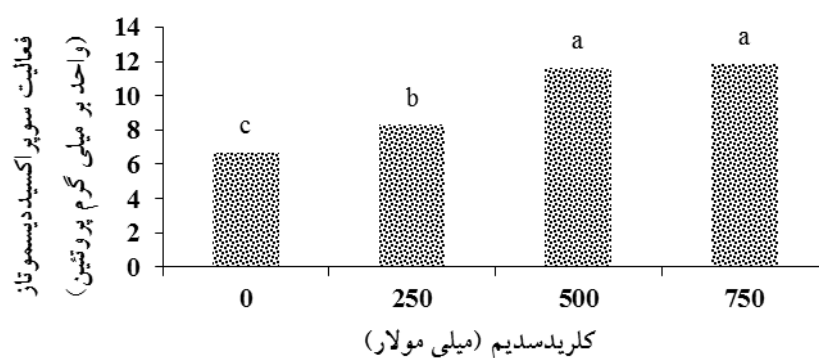
بررسی میزان پرولین برگ نشان می‌دهد که مقدار آن با افزایش غلظت کلرید سدیم تا ۲۵۰ میلی‌مولار کاسته شد، ولی با افزایش غلظت کلرید سدیم میزان آن افزایش یافت،



شکل ۴- اثر آبیاری با غلظت‌های مختلف کلرید سدیم بر میزان پروکلین برگ. نقاط دارای حرف متفاوت، در سطح ۵٪ آزمون چنددامنه‌ای دانکن تفاوت معنی‌داری دارند.



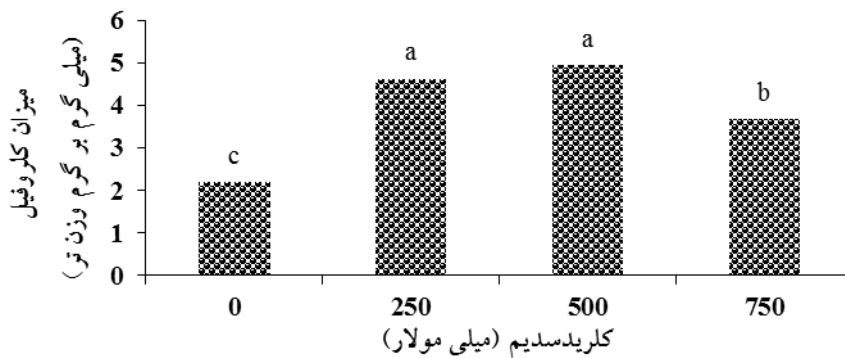
شکل ۵- اثر آبیاری با غلظت‌های مختلف کلرید سدیم بر فعالیت آنزیم اسکوربات پراکسیداز. ستون‌های با حرف مشترک، در سطح ۵٪ آزمون چنددامنه‌ای دانکن تفاوت معنی‌داری ندارند.



شکل ۶- اثر آبیاری با غلظت‌های مختلف کلرید سدیم بر فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز. ستون‌های با حرف مشترک، در سطح ۵٪ آزمون چنددامنه‌ای دانکن تفاوت معنی‌داری ندارند.

این بررسی در غلظت بالای کلرید سدیم فعالیت آنزیم پراکسیداز کاهش یافت که بیانگر مکانیزم‌های متفاوت برای بیان این دو آنزیم است (Shigeoka *et al.*, 2002). در بسیاری از گیاهان مانند ازن (Das *et al.*, 1990) و اسفناج

سوپراکسید دیسموتاز در تنش شوری بایستی توسط آنزیم پراکسیداز تجزیه شود. افزایش در فعالیت آنزیم پراکسیداز تحت تنش شوری ۵۰۰ میلی‌مولار، بیانگر کارایی بالای شاخساره در سم‌زدایی رادیکال‌های آزاد است. باین‌وجود در



شکل ۷- اثر آبیاری با غلظت‌های مختلف کلرید سدیم بر میزان کلروفیل. ستون‌های با حرف مشترک، در سطح ۵٪ آزمون چنددامنه‌ای دانکن تفاوت معنی‌داری ندارند.

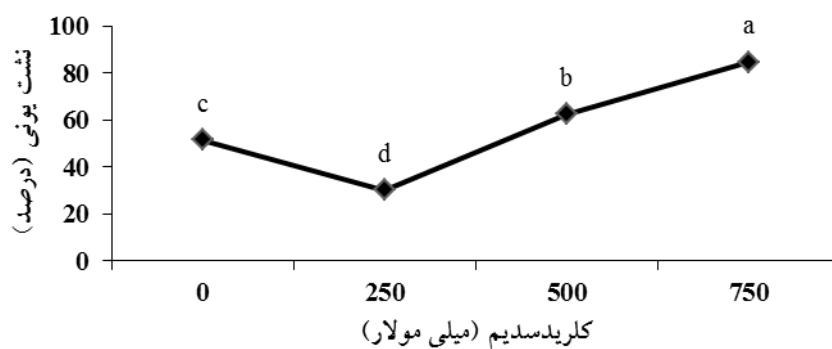
شوری بدیهی فرض شده است (Kasukabe *et al.*, 2004). نتایج بررسی نشت یونی در گیاه خرفه ساحلی تحت تنش شوری نشان می‌دهد که کمترین میزان نشت یونی مربوط به تیمار آبیاری با کلرید سدیم ۲۵۰ میلی‌مولار و بیشترین نشت یونی مربوط به تیمار آبیاری با آب دارای کلرید سدیم ۷۵۰ میلی‌مولار بود (شکل ۸). بهبود در رشد تا سطح شوری ۲۵۰ میلی‌مولار در اثر نشت یونی اندک می‌باشد که نشان‌دهنده خسارت کم اکسیداتیوی (در اثر پراکسید هیدروژن) به غشاء می‌باشد. اگرچه در گیاهان شورپسند نیز غلظت‌های بالای نمک، سبب بالا رفتن میزان پراکسید هیدروژن و بنابراین تنش اکسیداتیوی در بافت گیاه می‌گردد (Khan and Panda 2007). بنابراین میزان بالای نشت یونی در شاهد و غلظت‌های بالای نمک نشان‌دهنده تنش اکسیداتیو است. در پژوهش حاضر افزایش در نشت یونی در تیمار شاهد و غلظت‌های زیاد کلرید سدیم، نشان‌دهنده تنش اکسیداتیو است و غلظت ۲۵۰ میلی‌مولار کلرید سدیم برای گیاه ایده‌آل است.

نتایج نشان داد که با افزایش غلظت کلرید سدیم در آب آبیاری، میزان کربوهیدرات‌های محلول افزایش یافت، بیشترین میزان کربوهیدرات‌ها در تیمار آبیاری با کلرید سدیم ۷۵۰ میلی‌مولار و کمترین کربوهیدرات در تیمار شاهد (آبیاری با آب مقطر) مشاهده شد (شکل ۹). بررسی‌های زیادی در ارتباط با رابطه کربوهیدرات‌ها و تحمل به شوری در گیاهان انجام شده است. تجمع کربوهیدرات‌ها نقش ویژه‌ای در تعادل اسمزی و جمع‌آوری رادیکال‌های آزاد دارد (Parida *et al.*, 2004). با

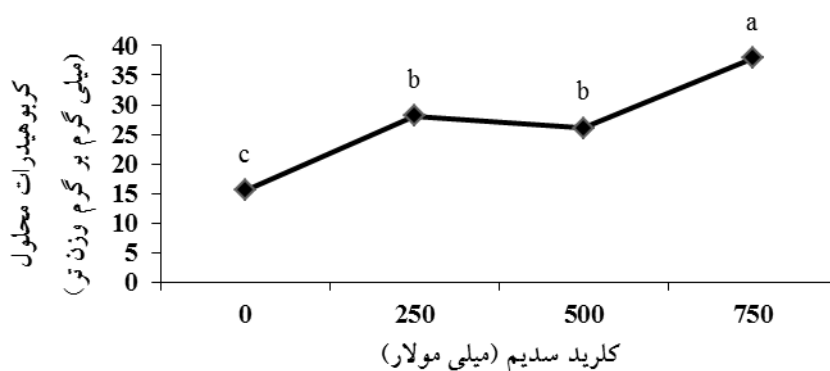
(Ozturk and Demir, 2003) گزارش شده است در تنش‌های زیاد فعالیت آنزیم پراکسیداز کاهش یافته و تجمع فنول در برگ‌های آنان رخ داده است. عقیده بر این است که در تنش شوری کمپلکس بین کلر و مس تشکیل شده و این کمپلکس سبب کاهش فعالیت آنزیم پراکسیداز می‌شود (Zawistowski *et al.*, 1991).

با توجه به نتایج به‌دست‌آمده میزان کلروفیل کل تا سطح شوری ۵۰۰ میلی‌مولار افزایش یافت (شکل ۷) که این نتایج با بررسی (Venkatesalu and Chellappan, 1993) همسویی داشت، ایشان بیان کردند گیاهان خرفه ساحلی تحت تنش طولانی مدت شوری نسبت به تیمار شاهد میزان کلروفیل کل بالاتری داشتند. البته بایستی توجه داشت که مدت، شدت و زمان تنش شوری در میزان فتوسنتز و کلروفیل کل اثر دارد و تمامی این عوامل در ارتباط با مسائل ژنتیکی گیاه می‌باشند که می‌توانند در نتیجه به‌دست‌آمده تأثیرگذارند (Zeng *et al.*, 2006).

هم‌چنین نتایج نشان داد که در تنش شوری شدید (۷۵۰ میلی‌مولار) میزان کلروفیل کل کاسته شد. پژوهشگران (Storey *et al.*, 1993) بیان کرده‌اند که تنش شوری بیش‌ازحد باعث افزایش فعالیت آنزیم کلروفیل‌لاز می‌گردد. هم‌چنین نشان دادند که تنش شوری باعث تغییراتی در تشکیلات فتوسنتزی و نفوذپذیری غشاء کلروپلاست می‌گردد. پیشنهاد شده است که در شرایط شوری به رنگدانه‌های فتوسیستم II آسیب ساختاری وارد می‌آید. ازهم‌پاشی گیرنده‌های نوری فتوسیستم II و ازهم‌گسیختگی مرکز واکنش آن برای برگ‌های تحت تنش



شکل ۸- اثر آبیاری با غلظت‌های مختلف کلرید سدیم بر میزان نشت یونی. نقاط دارای حرف مشترک، در سطح ۵٪ آزمون چنددامنه‌ای دانکن تفاوت معنی‌داری ندارند.

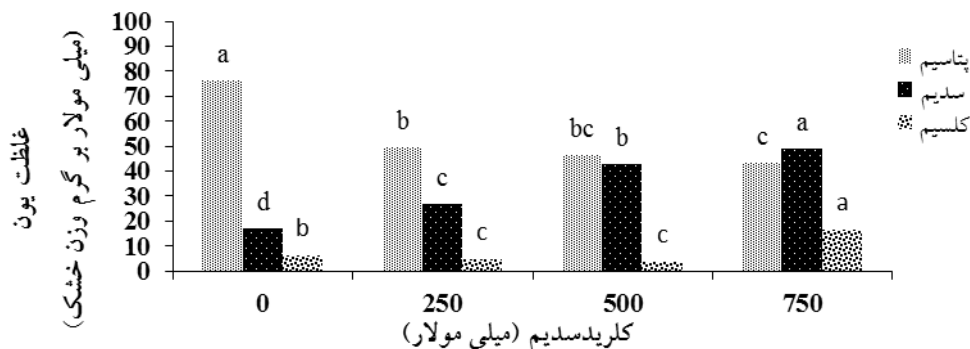


شکل ۹- اثر آبیاری با غلظت‌های مختلف کلرید سدیم بر کربوهیدرات‌های محلول برگ. نقاط دارای حرف مشترک، در سطح ۵٪ آزمون چنددامنه‌ای دانکن تفاوت معنی‌داری ندارند.

کربوهیدرات‌های محلول مانند گلوکز، فروکتوز، ساکارز اتفاق می‌افتد (Parida and Das, 2005). علاوه بر این برخی محققان (Megdiche et al., 2007) اظهار کردند که در گیاهان *Cakile maritime* تحت شوری بالا (۴۰۰ میلی مولار کلرید سدیم) میزان بسیار بالایی کربوهیدرات‌های محلول و پروتئین‌ها تجمع یافت. که نقش این مواد به حفظ و تعادل فشار اسمزی، ذخیره کربن و مهار رادیکال‌ها برمی‌گردد (Megdiche et al., 2007). مشاهده شده است در تنش شوری میزان قندهای احیاء و غیر احیاء افزایش یافت (Dubey and Singh, 1999).

نتایج نشان داد که با افزایش کلرید سدیم در آب آبیاری روند تغییرات یون‌های پتاسیم، کلسیم و سدیم برگ متفاوت بود. به گونه‌ای که با افزایش غلظت کلرید سدیم، میزان یون سدیم افزایش یافت، که به علت در دسترس بودن سدیم در اطراف ریشه و جذب آن می‌باشد. با افزایش شوری، غلظت

افزایش شوری، تبادل دی‌اکسید کربن با محیط کاهش می‌یابد ولی فتوسنتز نسبت به مصرف آسمیلات‌ها کمتر تحت تأثیر قرار می‌گیرد و بنابراین قندها تجمع پیدا می‌کنند (Munns, 2002). هم‌چنین در تنش شوری به دلیل تخریب کربوهیدرات‌های نامحلول به محلول، سنتز قندهای محلول از مسیرهای غیر فتوسنتزی نیز افزایش می‌یابد (Hissao, 1973). پژوهشگران (Kerepesi, and Galiba, 2000) بیان کردند، افزایش کربوهیدرات‌های محلول یکی از بهترین محافظان گیاه در شرایط تنش است. (Keles and Oncel, 2004) در آزمایشی بر ارقام گندم مشخص شد که در تنش شوری کربوهیدرات‌های محلول مانند گلوکز، فروکتوز، ساکارز و فروکتان افزایش یافت. هم‌چنین بیان کردند که ارقام مقاوم دارای فروکتان بیشتری بودند (Keles and Oncel, 2004). در پژوهشی مشخص گردید که تحت تنش شوری تجمع



شکل ۱۰- اثر آبیاری با غلظت‌های مختلف کلرید سدیم بر میزان پتاسیم، سدیم و کلسیم. ستون‌های با رنگ مشابه، که دارای حروف مشترک هستند، در سطح ۵٪ آزمون چنددامنه‌ای دانکن تفاوت معنی‌داری ندارند.

یکی از مهم‌ترین اثرات شوری در محیط عبارت از افزایش غلظت سدیم در داخل گیاه است. سدیم در محیط خارج از ریشه و همچنین در داخل گیاه بیشترین تغییرات را در تغذیه معدنی گیاه به وجود می‌آورد (Greenway and Munns, 1980). در شرایط شور جذب پتاسیم توسط سلول‌های ریشه به علت رقابت با سدیم کاهش می‌یابد. البته نه تنها کل مقدار پتاسیم بلکه نسبت آن با یون‌های سدیم، کلسیم و منیزیم می‌تواند تحت تأثیر شوری قرار گرفته و باعث کاهش محصول شود (Martinez et al., 2005). به هم خوردن نسبت‌های یونی در گیاه تحت شرایط شوری، حاصل تداخل جذب سدیم با پتاسیم است. تشابه بین شعاع یون‌های هیدراته سدیم و پتاسیم، عمل تمایز بین دو یون مذکور را برای پروتئین‌های ناقل مشکل می‌سازد. در هالوفیت‌ها به نظر می‌رسد که ارتباط مثبتی بین جذب یون سدیم و تحمل نمک وجود داشته باشد ولی در غیر هالوفیت‌ها، برخی گونه‌ها با پایین آوردن غلظت یون سدیم در برگ‌ها و به‌ویژه در سیتوپلاسم و برقراری توازن به وسیله غلظت‌های بالاتر یون پتاسیم در سیتوپلاسم، یون سدیم را مورد تمایز قرار می‌دهند که نتیجه این اعمال افزایش تحمل به نمک خواهد بود (Parida and Das, 2005).

نتیجه‌گیری کلی:

با توجه به نتایج به‌دست‌آمده، غلظت متوسط کلرید سدیم (۲۵۰ تا ۵۰۰ میلی‌مولار) شرایط مناسبی برای رشد خرفه

یون پتاسیم کاهش یافت به‌گونه‌ای که کمترین غلظت در تیمار آبیاری با کلرید سدیم ۷۵۰ میلی‌مولار بود. به نظر می‌رسد که با افزایش میزان سدیم رقابت در جذب پتاسیم ایجاد می‌شود و بنابراین میزان این یون کم می‌شود. در ارتباط با یون کلسیم نتایج نشان داد که با افزایش شوری ابتدا میزان کلسیم کاسته شود ولی در شوری شدید (۷۵۰ میلی‌مولار) میزان کلسیم افزایش داشت (شکل ۱۰). اثر کلسیم روی مقاومت به اثرات اصلاحی آن روی قابلیت انتقال هیدرولیکی نسبت داده می‌شود. یکی از ویژگی‌های گیاهان شورپسند تجمع سدیم و کاهش میزان پتاسیم می‌باشد. هم‌چنین سدیم با پتاسیم در محل اتصال آنزیم‌ها می‌تواند رقابت داشته باشد. در پژوهش حاضر سدیم در واکنش تجمع پیدا می‌کند و در نتیجه سبب کاهش سطوح یون‌های ضروری مانند پتاسیم می‌شود. گزارش شده است، در گیاهان شورپسند سدیم می‌تواند به‌عنوان تنظیم‌کننده اسمزی بکار رود (Martinez et al., 2005).

در پژوهشی (Wang et al., 2001) بیان کردند که در برگ خرفه ساحلی میزان یون سدیم بیشتر از یون پتاسیم می‌باشد و این نتیجه در پژوهش‌های دیگر روی گیاهان گوشتی مانند *Atriplex micrantha* و *Suaeda salsa*، *Suaeda aegyptiaca* نیز مشاهده شد و اظهار داشتند که یون سدیم جزء عناصر ضروری برای رشد و نمو گیاهان شورپسند اجباری می‌باشد (Askari et al., 2006; Balnokin et al., 2005; Wang et al., 2001).

همچنین نتایج نشان داد که تجمع زیاد پرولین و افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانتی به منظور تعادل اسمزی و زنده‌مانی در شرایط زیر و بیش از حد بهینه کلرید سدیم، سبب کاهش رشد گردید. در پایان می‌توان خرفه ساحلی را به عنوان گیاه مناسب برای مناطق که مشکل شوری دارند، پیشنهاد کرد، با این وجود پژوهش‌های مزرعه‌ی نیز در این زمینه لازم می‌باشد.

ساحلی است و در شرایط بیش از حد بهینه (۷۵۰ میلی مولار) کلرید سدیم سبب کاهش رشد شاخساره گردید. علاوه بر این نتایج پژوهش نشان داد که شاخص‌های رویشی می‌تواند گزینه مناسبی برای بررسی گونه‌های *Sesuvium* است. هم‌چنین مشخص شد که خرفه ساحلی مکانیسم‌های گوناگونی برای تحمل به تنش شوری دارد، که از آن جمله می‌تواند به افزایش میزان پرولین و کربوهیدرات، به‌کارگیری سدیم در تعادل اسمزی و افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانتی اشاره کرد.

منابع:

- Ashraf, M. (1994) Breeding for salinity tolerance in plants. *Critical Reviews in Plant Sciences* 13:17-42.
- Askari, H., Edqvist, J., Hajheidari, M., Kafi, M. and Salekdeh, G. H. (2006) Effects of salinity levels on proteome of *Suaeda aegyptiaca* leaves. *Proteomics* 6: 2542-2554.
- Balnokin, Y.V., Myasoedov, N.A., Shamsutdinov, Z.S. and Shamsutdinov, N.Z. (2005) Significance of Na⁺ and K⁺ for sustained hydration of organ tissues in ecologically distinct halophytes of the family Chenopodiaceae. *Russian Journal of Plant Physiology* 52: 882-890.
- Balonkin, Y. V., Kotov, A. A., Myasoedov, N. A., Khailova, G. F., Kurkova, E. B., Lunkov, R. V. and Kotova, L. M. (2005) Involvement of longdistance Na⁺ transport in maintaining water potential gradient in the medium-root-leaf system of a halophyte *Suaeda altissima*. *Russian Journal of Plant Physiology* 52: 489-496.
- 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.
- Becana, M., Moran, J. F. and Iturbe-Ormaetxe, I. (1998) Iron-dependent oxygen free radical generation in plants subjected to environmental stress: toxicity and antioxidant protection. *Plant Soil* 201: 137-147.
- Bennici, A. and Corrado, T. (2009) Ultrastructural effects of salinity in *Nicotiana bigelovii* var. *bigelovii* callus cells and *Allium cepa* roots. *Caryolog* 62:124-133.
- Boyer, J. S. (1982) Plant productivity and environment. *Science* 218 (4571): 443-448.
- Bracci, T., Minnocci, A. and Sebastiani, L. (2008) *In vitro* olive (*Olea europaea* L.) Cv. Frantoio and Moraiolo microshoot tolerance to NaCl. *Plant Biosystems* 142:563-571.
- Das, M., Misra, M. and Misra, A. M. (1990) Sodium chloride salt stress induced metabolic changes in callus cultures of pearl millet (*Pennisetum americanum* L. Leeke): Free solute accumulation. *Journal of Plant physiology* 137: 244-246.
- Delauney, A., Hu, C., Kishor, K. and Verma, D. (1993) Cloning of ornithine-aminotransferase cDNA by *trans*-complementation in *Escherchia coli* and regulation of proline biosynthesis. *The Journal of Biological Chemistry* 268: 18673-18678.
- Delauney, A. J. and Verma, D. P. S. (1993) Proline biosynthesis and osmoregulation in plants. *Plant Journal* 4: 215-223.
- Deuschle, K., Funk, D., Hellmann, H., Daschner, K., Binder, S. and Frommer, W.B. (2001) A nuclear gene encoding mitochondrial Δ -pyrroline-5-carboxylate dehydrogenase and its potential role in protection from praline toxicity. *Plant Journal* 27: 345-356.
- Dionisio-Sese, M.L. and Tobita, S. (1998) Antioxidant responses of rice seedlings to salinity stress. *Plant Science* 135:1-9.
- Dubey, R.S. and Singh, A.K. (1999) Salinity Induces Accumulation of Soluble Sugars and Alters the Activity of Sugar Metabolising Enzymes in Rice Plants. *Biologia Plantarum* 42: 233-239.
- Flowers, T.J. and Colmer, T.D. (2008) Salinity tolerance in halophytes. *New Phytologist* 179: 945-963.
- Flowers, T.J., Hajibagheri, M.A. and Clipson, N.J.W. (1986) Halophytes. *Quarterly Review of Biology* 61: 313-337.
- Greenway, H. and Munns, R. (1980) Mechanisms of salt tolerance in nonhalophytes. *Annual Review of Plant Physiology* 31: 141-190.
- Hare, P.D., Cress, W.A. and Van Staden, J. (1999) Proline synthesis and degradation: a model system for elucidating stress-related signal transduction. *Journal of Experimental Botany* 50: 413-434.
- Hervieu, F., Le Dily, F., Billard, J.P. and Huault, C. (1994) Effects of water stress on proline content and ornithine aminotransferase activity of radish cotyledons. *Phytochemical* 37: 1227-1231.

- Heun, A. M., Gorham, J., Lunge, U. and Jones, R. G. (1981) Changes of water relation characteristics and levels of organic cytoplasmic solute during salinity induced transition of *Mesembryanthemum crystallinum* from, C₃ photosynthesis to crassulacean acid metabolism. *Oecologia* 50: 66-72.
- Hissao, T. (1973) Plant responses to water stress. *Annual Review of Plant Physiology* 24: 519-570.
- Humphries, E. C. (1956) Mineral components and ash analysis. In: *Modern methods of plant analysis*. (Eds. Peach, K. and Tracey, N. V.) Pp 468-502.
- James, J. J., Alder, N. N., Muhling, K. H., Lauchli, A. E., Shackel, K. A., Donovan, L. A. and Richards, J.H. (2006) High apoplastic solute concentrations in leaves alter water relations of the halophytic shrub, *Sarcobatus vermiculatus*. *Journal of Experimental Botany* 57: 139-147.
- Kasukabe, Y., Marshall, N. and Fanton, B. (2004) Salt stress causes depletion in CO₂ assimilation in okra. *Plant Cell Physiology* 45: 1016-1019.
- Keles, Y. and Oncel, I. (2004) Growth and solute composition on two wheat species experiencing combined influence of stress conditions. *Russian Journal of Plant physiology* 51: 203-208.
- Kerepesi, I. and Galiba, G. (2000) Osmotic and salt stress induced alteration in soluble carbohydrate content in wheat seedlings. *Crop Science* 40: 482-487.
- Khan, M. A., Ungar, I. A. and Showalter, A. M. (2000) The effect of salinity on the growth, water status, and ion content of a leaf succulent perennial halophyte, *Suaeda fruticosa* (L.) Forssk. *Journal of Arid Environments* 45: 73-84.
- Khan, M.H., Panda, S.K. (2007) Alterations in root lipid peroxidation and antioxidative responses in two rice cultivars under NaCl-salinity stress. *Acta Physiologiae Plantarum* 30: 81-89
- Lichtenthaler, H.K. and Wellburn, A.R. (1985) Determination of Total Carotenoids and Chlorophylls A and B of Leaf in Different Solvents. *Biochemical Society Transactions*. 11: 591-592.
- Liu, J. and Zhu, J.K. (1997) Proline accumulation and salt-stress-induced gene expression in a salt-hypersensitive mutant of *Arabidopsis*. *Plant Physiology* 114: 591-596.
- Lokhande, V.H., Nikam, T.D. and Suprasanna, P. (2010) Biochemical, physiological and growth changes in response to salinity in callus cultures of *Sesuvium portulacastrum* L. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture* 102: 17-25.
- Lovelock, C.E. and Ball, M.C. (2002) Influence of salinity on photosynthesis of halophytes. In: Lauchli, A. and Luttge, U. (Eds.). *Salinity: environment plant molecules*. Kluwer, Dordrecht. pp 315-339.
- Martinez, J. P., Kinet, J. M., Bajji, M. and Lutts, S. (2005) NaCl alleviates polyethylene glycol-induced water stress in the halophyte species *Atriplex halimus* L. *Journal of Experimental Botany* 419: 2421-2431.
- Megdiche, W., Ksouri, R., Debez, A., Falleh, H., Grignon, C. and Abdelly, C. (2007) Salinity effects on polyphenol content and antioxidant activities in leaves of the halophyte *Cakile maritime*. *Plant Physiology and Biochemistry* 45 (3,4) 244-249.
- Menzel, U. and Leith, H. (1999) Annex 4: Halophyte Database Version 2. In: Lieth, H., Moshenko, M., Lohmann, M., Koyro, H.W. and Hamdy, A. (Eds.). *Halophyte uses in different climates*. Backhuys Publishers, Leiden, pp. 159-258.
- Messedi, D., Labidi, N., Grignon, C. and Abdelly, C. (2004) Limits imposed by salt to the growth of the halophyte *Sesuvium portulacastrum*. *Journal of Plant Nutrition and Soil Science* 167: 720-725.
- Messedi, D., Sleimi, N. and Abdelly, C. (2003) Some physiological and biochemical aspects of salt tolerance in *Sesuvium portulacastrum*. In: *Cash Crop Halophytes* (Ed. Lieth, H.) Pp. 71-78. *Recent Studies Ten Years after El-Ain Meeting*. Kluwer Academic Publishers, Dordrecht,
- Moseki, B. and Buru, J. C. (2010) Ionic and water relations of *Sesuvium portulacastrum* (L). *Scientific Research and Essay* 5: 35-40.
- Munns, R. (2002) Comparative physiology of salt and water stress. *Plant, Cell Environment* 25: 239-250.
- Nakano, Y. and Asada, K. (1981) Hydrogen peroxide is scavenged by ascorbate-specific peroxidase in spinach chloroplasts. *Plant and Cell Physiology* 22: 867-880.
- Noctor, G., Arisi, A.C.M., Jouanin, L., Kunert, K.J., Rennenberg, H. and Foyer, C.H. (1998) Glutathione: biosynthesis, metabolism and relationship to stress tolerance explored in transformed plants. *Journal of Experimental Botany* 49 (321): 623-647.
- Ozturk, L., and Demir, Y. (2003) Effects of putrescine and ethephon on some oxidative stress enzyme activities and proline content in salt stressed spinach leaves. *Plant Growth and Regulations* 40: 89-95.
- Parida, A.K. and Das, A.B. (2005). Salt tolerance and salinity effects on plants. *Ecotoxicology and Environmental Safety* 60: 324-349.
- Parida, A.K., Das, A.B. and Mohanty, P. (2004) Defense potentials to NaCl in a mangrove, *Bruguiera parviflora*: differential changes of isoforms of some antioxidative enzymes. *Journal of Plant Physiology* 161: 531-542.
- Pasternak, D. and Nerd, A. (1995) Research and utilization of halophytes. In: *Halophyte and Biosaline Agriculture*. (Ed. Choukr-Allah, R.) Pp 325-348. Marcell Decker, New York.

- Shigeoka, S., Ishikawa, T., Tamoi, M., Miyagawa, Y., Takeda, T., Yabuta, Y. and Yoshimura, K. (2002) Regulation and function of ascorbate peroxidase isoenzymes. *Journal of Experimental Botany* 53:1305–1319.
- Siler, B., Mistic, D., Filipovic, B., Popovic, Z., Cvetic, T. and Mijovic, A. (2007) Effects of salinity on in vitro growth and photosynthesis of common centaury (*Centaureum erythraea* Rafn.). *Archives of Biological Science Belgrade* 59:129–134.
- Slama, I., Ghnaya, T., Savoure, A. and Abdelly, C. (2008) Combined effects of long-term salinity and soil drying on growth, water relations, nutrient status and proline accumulation of *Sesuvium portulacastrum*. *Comptes Rendus Biologies* 331(6): 442-451.
- Storey, R., Gorham, J., Pitman, M. C., Hanson, M. G. and Gage, D. (1993) Response of *Melanthera biflora* to salinity and water stress. *Journal of Experimental Botany* 44: 1551-1561.
- Tester, M. and Davenport, R. (2003) Na⁺ tolerance and Na⁺ transport in higher plants. *Annals of Botany* 91: 503-527.
- Touchette, B.W. (2006) Salt tolerance in a *Juncus roemerianus* brackish marsh: spatial variations in plant water relations. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology* 337:1–12.
- Venkatesalu, V. and Chellappan, K. P. (1993) Photosynthetic characteristic of *Sesuvium portulacastrum* L. under salt stress. *Photosynthetica* 28: 313-316.
- Vijayan, K., Chakraborti, S. P. and Ghosh, P. D. (2003) *In vitro* screening of mulberry (*Morus spp.*) for salinity tolerance. *Plant Cell Reports* 22: 350–357.
- Wang, B. S., Luttge, U. and Ratajczak, R. (2001) Effects of salt treatment and osmotic stress on V-ATPase and V-PPase in leaves of the halophyte *Suaeda salsa*. *Journal of Experimental Botany* 52 : 2355-2365.
- Watanabe, S., Kojima, K., Ide, Y. and Sasaki, S. (2000) Effects of saline and osmotic stress on proline and sugar accumulation in *Populus euphratica* *in vitro*. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture* 63: 199-206.
- Zawistowski, J., Biliaderis, C. G. and Michael, N. A. (1991) Polyphenol oxidase. In: *Oxidative enzymes in foods*. (Eds. Robinson, D. S. and Eskin, N. A. M.) Pp. 217-273. Elsevier Applied Science Ltd, London.
- Zeng, H. C., Deng, L. H. and Zhang, C. F. (2006) Cloning of salt tolerance-related cDNAs from the mangrove plant, *Sesuvium portulacastrum* L. *Journal of Integrative Plant Biology* 48: 952-957.