

اثر تنش شوری بر برخی صفات بیوشیمیایی و مورفولوژیکی سه ژنوتیپ گندم نان

آمنه قاسمی مصرمی^۱، سعید نواب پور^{۲*}، احد یامچی^۳، سعداله هوشمند^۴

۱. دانشجوی دکتری ژنتیک مولکولی، دانشگاه زابل.

۲. دانشیار گروه اصلاح نباتات و بیوتکنولوژی دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان.

۳. استادیار گروه اصلاح نباتات و بیوتکنولوژی دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان.

۴. دانشیار گروه اصلاح نباتات دانشگاه شهرکرد.

تاریخ دریافت: ۹۳/۰۲/۲؛ تاریخ پذیرش: ۹۴/۰۳/۰۳

چکیده

شوری در حال تبدیل شدن به یک مشکل جدی در نقاط مختلف جهان است. شوره‌زارها سه برابر بزرگ‌تر از زمین مورد استفاده برای کشاورزی می‌باشد. از این رو به منظور بررسی اثر شوری بر برخی شاخص‌های مورفولوژیک و بیوشیمیایی در ژنوتیپ‌های گندم آزمایشی در شرایط کشت هیدروپونیک در قالب طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار انجام شد. تیمارهای آزمایشی شامل دو سطح شوری (شاهد و هدایت الکتریکی ۶ دسی زیمنس بر متر) و سه ژنوتیپ [دو لاین موتانت (T-67-60، T-65-7-1) و رقم طبسی] بودند. ابتدا بذور لاین‌های موتانت T-67-60 و T-65-7-1 و طبسی برای داشتن گیاهچه‌های عاری از هرگونه آلودگی ضد عفونی گردید. سپس بذور روی کاغذ صافی مرطوب درون پتری‌دیش در شرایط تاریک انکوباتور به مدت ۳ روز در دما 24 ± 1 سانتی‌گراد کشت شدند. پس از آن انتقال گیاهچه‌ها در محیط مایع یوشیدا به روش هیدروپونیک در شرایط تیمار شوری و شاهد قرار گرفتند. صفات مورد ارزیابی شامل وزن تر و خشک ساقه و ریشه و طول ساقه و ریشه به‌عنوان صفات مورفولوژیک و میزان اسید آسکوربیک، آنزیم لیپوکسیژناز (LOX)، کلروفیل و شاخص اکسیداسیون سلولی (TBARM) به‌عنوان خصوصیات بیوشیمیایی اندازه‌گیری شدند. نتایج نشان داد که تنش شوری بر رشد گیاه تأثیر منفی دارد. با اعمال شوری میزان TBARM، LOX، اسید آسکوربیک و کلروفیل در ژنوتیپ‌های مورد مطالعه اختلاف معنی‌داری نشان داد. بیشترین میزان تغییرات LOX و TBARM مربوط به رقم طبسی و کمترین مقدار مربوط به لاین T-67-60 بود. با توجه به همبستگی منفی بین میزان TBARM، LOX و کلروفیل با تحمل به شوری، چنین به نظر می‌رسد که لاین موتانت T-67-60 تحمل بیشتری در مقایسه با ژنوتیپ‌های دیگر داشت.

واژه‌های کلیدی: پرتو گاما، لاین‌های موتانت، گندم طبسی، هیدروپونیک.

مقدمه

تنش شوری عاملی است که به‌طور جدی تولید محصولات زراعی را در مناطق مختلف از جمله مناطق خشک و نیمه‌خشک محدود می‌کند (Hosseini et al., 2003; Mer et al., 2000). پاسخ گیاه به تنش شوری با توجه به مرحله رشد (Shams Aldin Said et al., 2008; Mass and Poss 1989) و رقم (Katsuhara et al., 2005; Mohamadi et al., 2009; Goudarzi and Pakniyat, 2008) متفاوت بوده و به میزان سمیت پتانسیل اسمزی نمک و مدت‌زمان تنش بستگی دارد (Munns and

James, 2003). تنش شوری مانند دیگر تنش‌های محیطی باعث تجمع یون سوپراکسید، پراکسید هیدروژن و رادیکال هیدروکسیل در سلول و آسیب رساندن به لیپیدهای غشا، پروتئین‌ها و اسیدهای نوکلئیک می‌شود (Sinha et al., 2006; Noctor et al., 1998). تولید رادیکال‌های آزاد اکسیژن در کلروپلاست به‌وسیله‌ی انتقال مستقیم انرژی از کلروفیل به مولکول اکسیژن، کاهش تک‌ظرفیتی مولکول اکسیژن و برانگیخته شدن آن و یا به‌وسیله‌ی کاهش

این تحقیق بذور سه ژنوتیپ گندم نان شامل رقم طبسی به‌عنوان والد و دو لاین موتانت پیشرفته این رقم با نام‌های T-65-7-1 و T-67-60 از موسسه تحقیقات اصلاح و تهیه نهال و بذور کرج و سازمان انرژی اتمی ایران (پژوهشکده تحقیقات کشاورزی، پزشکی و صنعتی) تهیه گردید. ابتدا بذور لاین‌های موتانت T-65-7-1 و T-67-60 و طبسی برای داشتن گیاهچه‌های عاری از هر گونه آلودگی ضدعفونی گردید. سپس بذور روی کاغذ صافی مرطوب درون پتری-دیش در شرایط تاریک انکوباتور به مدت ۳ روز در دمای 24 ± 1 سانتی‌گراد کشت شد. پس از آن انتقال گیاهچه‌ها در محیط مایع یوشیدا (Yoshida et al., 1976) به روش هیدروپونیک در قالب طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار تحت شرایط روشنایی (۶ ساعت نوری به شدت ۲۴۰۰ لوکس) و دما ۳۰ درجه سانتی‌گراد و اعمال تنش شوری $EC=6ds/m$ به همراه تیمار شاهد انجام گرفت. محیط‌های کشت هر هفته تعویض و pH محیط با استفاده از KOH و HCl بین ۵ تا ۵/۵ تنظیم شد. برای انجام آزمایش‌های بیوشیمیایی، نمونه‌برداری از گیاهان کشت‌شده در محیط هیدروپونیک در مرحله گیاهچه‌ای انجام گرفت. نمونه‌های برگ درون پاکت-های مخصوص قرار گرفت و به یک باکس حاوی ازت مایع منتقل شدند. برای نگهداری بلافاصله به فریزر منفی ۸۰ درجه سانتی‌گراد انتقال داده شد.

برای اندازه‌گیری فعالیت آنزیم آسکوربات پروکسیداز، ۲۵۰ میلی‌گرم بافت گیاه با استفاده از بافر استخراج حاوی ۱۰۰ میلی‌مول فسفات پتاسیم $pH=7$ و ۲/۲ میلی‌مول آسکوربات و یک میلی‌مول EDTA به‌طور یکنواخت مخلوط گردید. مخلوط همگن سانتریفوژ (۵ دقیقه با گرادیان ۱۰۰۰۰) و از محلول رویی برای سنجش میزان فعالیت آنزیم آسکوربات پروکسیداز استفاده شد. جهت اندازه‌گیری فعالیت آنزیمی، یک میلی‌لیتر محلول واکنش‌گر شامل ۱۰۰ میلی‌مول بافر فسفات پتاسیم در $pH=7$ ، ۲۲ میلی‌مول آسکوربات و ۰/۳ میلی‌مول H_2O_2 و عصاره استخراج‌شده آنزیمی در دستگاه اسپکتروفوتومتر (Uvikon – Kontron) قرار داده شد و کاهش میزان جذب در طول موج ۲۹۰ نانومتر به علت انجام فرآیند اکسیداسیونی اسید آسکوربیک توسط H_2O_2 ثبت گردید.

تک‌ظرفیتی مولکول اکسیژن و در فتوسیستم یک صورت می‌گیرد (Asada, 1999).

گیاهان سازوکارهای مختلفی برای کاهش اثر مخرب رادیکال‌های آزاد اکسیژن دارند از جمله این سازوکارها تولید ترکیبات آنزیمی و غیرآنزیمی است. ظرفیت کاهش اثر مخرب اکسیژن فعال بستگی به میزان تحمل گیاه به تنش دارد (Selote and Khanna-Chopra, 2004). همچنین افزایش سطح اسید آسکوربیک سلولی، به‌عنوان یک آنتی-اکسیدان می‌تواند سبب کاهش گونه‌های اکسیژن فعال حاصل از تنش شوری شود. اسید آسکوربیک، آنتی‌اکسیدانی کوچک و محلول در آب است که در سمیت‌زدایی گونه‌های فعال اکسیژن به‌ویژه پراکسید هیدروژن نقش دارد. علاوه بر این، به‌طور مستقیم در خنثی کردن رادیکال‌های سوپر-اکسید، اکسیژن منفرد یا سوپراکسید و به‌عنوان یک آنتی-اکسیدان ثانویه در بازتولید آلفاتوکوفرول و دیگر آنتی-اکسیدان‌های چربی‌دوست نقش ایفا می‌کند (Noctor et al., 1998). روند تغییرات سطح اکسیداسیون و میزان رادیکال‌های اکسیداتیو از وقایع مهم و مشترک تنش‌های محیطی محسوب می‌گردد.

انتخاب ژنوتیپ متحمل به تنش به دو روش مستقیم (اندازه‌گیری عملکرد) و غیرمستقیم (اندازه‌گیری صفات مورفولوژیک و فیزیولوژیک مرتبط با تحمل تنش) انجام می‌شود (Dadashi et al., 2007)؛ بنابراین شناخت سازوکارهای تحمل به شوری ضروری به نظر می‌رسد. تحمل تنش در یک ژنوتیپ گیاهی به برخی از ویژگی‌های فیزیولوژیک و مورفولوژیک آن بستگی دارد. تلاش برای یافتن معیارهایی که بتوان از آن‌ها به‌طور مؤثری در انتخاب ژنوتیپ‌های متحمل یا مقاوم بهره گرفت، ادامه دارد. استفاده از تنوع گیاهی برای گزینش صفات مطلوب در شرایط تنش، از راه‌های مؤثر در شناسایی این صفات است (Dadashi et al., 2007) با توجه به اهمیت موارد ذکرشده، این مطالعه با هدف بررسی اثر تنش شوری بر پارامترهای بیوشیمیایی و مورفولوژی سه ژنوتیپ گندم نان و تعیین اثر پرتو گاما بر موتانت‌های رقم طبسی در تحمل به تنش انجام گرفت.

مواد و روش‌ها

این آزمایش در مهر سال ۱۳۹۲ در آزمایشگاه اصلاح نباتات دانشگاه کشاورزی و منابع طبیعی گرگان انجام گرفت. در

از خشک شدن کامل نمونه‌ها، وزن خشک اندازه‌گیری شد. برای آنالیزهای آماری (شامل تجزیه واریانس، مقایسه میانگین‌ها) از نرم‌افزار SAS استفاده گردید.

نتایج و بحث

نتایج نشان داد که بین سطوح شوری و ژنوتیپ‌های مورد مطالعه در خصوص اغلب صفات تفاوت معنی‌داری وجود داشت. تجزیه واریانس صفات بیوشیمیایی و مورفولوژیکی در جدول ۱ نشان داده شده است. با توجه به نتایج به‌دست‌آمده، اثر شوری در تمام صفات مورد بررسی معنی‌دار گردید. ژنوتیپ و اثر متقابل شوری \times ژنوتیپ در اغلب صفات مورد مطالعه معنی‌دار بود. با افزایش شوری میزان شاخص‌های بیوشیمیایی و مورفولوژیکی در ارقام مختلف تفاوت چشمگیری داشت. معنی‌دار شدن اثر متقابل تیمارها در مورد اغلب صفات نشان‌دهنده عکس‌العمل متفاوت روند تغییر صفات در ژنوتیپ‌های مختلف تحت تأثیر سطوح شوری بود.

شوری خاک، توزیع و قابلیت تولید بسیاری از گیاهان زراعی مهم را دچار محدودیت می‌کند (Ashraf and Foolad, 2005). با اعمال تنش شوری میزان ماده خشک، وزن تر، طول ساقه و ریشه در هر سه ژنوتیپ مورد مطالعه کاهش یافت که بیشترین کاهش در رقم طبسی مشاهده شد (شکل‌های ۱ الی ۴). در شرایط تنش شوری کاهش ماده خشک به سبب کاهش سطح برگ گیاه، کاهش میزان فتوسنتز رخ می‌دهد. نتایج به‌دست‌آمده با نتایج برخی از محققین دیگر مطابقت دارد (Ashraf and Foolad, 2005; Lawler and Cornic, 2002; Munnes and James, 2003; Kingsbury and Epstein, 1984). عدم یکنواختی در کاهش ماده خشک بیانگر تفاوت در آستانه تحمل، میزان و مدت تنش در ژنوتیپ‌ها است.

شوری باعث ایجاد تنش اکسیداتیو در سلول‌ها و پدید آمدن اختلال در اعمال فیزیولوژیکی سلول می‌شود. این تنش ثانویه به علت ایجاد رادیکال‌های آزاد اکسیژنی است که در درون سلول تولید می‌شود (Sofa et al., 2004). رادیکال‌های آزاد موجود در سلول باعث صدمه به لیپیدها و اسیدهای چرب غشاء شده و رادیکال‌های لیپید و پراکسی و هیدرو پراکسی تولید می‌کنند، رادیکال‌های جدید تولید شده می‌توانند به واکنش‌های اکسیداسیون لیپیدها سرعت بخشند. مالون دی‌آلدئید به‌عنوان شاخص مناسبی برای

به‌منظور اندازه‌گیری^۱ TBARM، ۰/۵ گرم برگ تازه کوبیده و همگن گردید و یک میلی‌لیتر اسید تری‌کلرواستیک ۱۰٪ به آن افزوده شد. محلول حاصل با ۱۰ میلی‌لیتر استون شستشو و پس از ورتکس، سانتریفیوژ (۱۵ دقیقه، ۴۷۵۰ دور در دقیقه) شد. لکه ایجاد شده با ۵ میلی‌لیتر استون شستشو و چهار مرتبه دیگر سانتریفیوژ با همان سرعت تکرار شد. سپس سه میلی‌لیتر اسید فسفریک ۱٪ و یک میلی‌لیتر اسید تیوباربیوتیک ۰/۶٪ افزوده و به مدت ۳۰ دقیقه در انکوباتور ۱۰۰ درجه سانتی‌گراد قرار گرفت. پس‌از آن واکنش با سرد کردن سریع متوقف و سانتریفیوژ (۲۰ دقیقه، ۵۵۰۰ دور در دقیقه) انجام شد. در نهایت میزان جذب در طول موج‌های ۵۳۲ و ۵۹۰ نانومتر با دستگاه اسپکتروفتومتر (Uvikon – Kontron) خوانده شد.

جهت اندازه‌گیری میزان^۲ LOX، 2.5 گرم نمونه برگ در آب سرد خالص یکنواخت و سپس سانتریفیوژ (دور 12000g به مدت ۱۰ دقیقه) شد. محلول فوقانی حذف و بقیه با کمک ستون ژل PD 10 خالص گردید. به مقدار مساوی بافر فسفات پتاسیم (۵۰ Mm، pH=6) اضافه و محلول یکنواخت شده با بافر نمک سدیم و اسید لینولئیک (80 nmol) همگن و با کمک اسپکتروفتومتر در طول موج 234 nm قرائت شد.

اندازه‌گیری کلروفیل: ۰/۵ گرم نمونه خشک (به‌صورت یخ‌زده) کاملاً خرد و یکنواخت و با ۱۰ میلی‌لیتر استون ۸۰٪ مخلوط شد. پس از سانتریفیوژ میزان جذب (A) در طول موج‌های ۶۴۶/۶ و ۶۶۳/۶ نانومتر توسط اسپکتروفتومتر (Uvikon watford) ثبت و بر اساس فرمول‌های زیر محاسبه شد.

$$\text{Chla (mgml}^{-1}\text{)} = 12.25A_{663.6} - 2.55A_{646.6} \quad [1]$$

$$\text{Chla (mgml}^{-1}\text{)} = 20.31A_{646.6} - 4.91A_{663.6} \quad [2]$$

اندازه‌گیری صفات مورفولوژیکی: طول ریشه و ساقه با استفاده از خط کش میلی‌متری محاسبه و بر اساس واحد سانتی‌متر گزارش گردید. وزن تر و خشک با استفاده از ترازوی دقیق Sartorius (مدل BPSIID) با دقت 10^{-4} وزن گردید، سپس در فویل آلومینیومی پیچیده و به مدت ۴۸ ساعت در آون ۷۰ درجه سانتی‌گراد قرار داده شد. پس

¹. Thiobarbituric Acid Reactive Material

². Lipoxigenase

اکسید شدن پروتئین‌ها و لیپیدها شده و نهایتاً تخریب ساختار غشا را در پی دارد (Molassiotis et al., 2006).

پروکسیداسیون لیپید غشاء محسوب می‌شود (Sofo et al., 2004). تنش شوری با ایجاد تنش اکسیداتیو که منجر به افزایش تولید و تجمع رادیکال‌های فعال می‌شود موجب

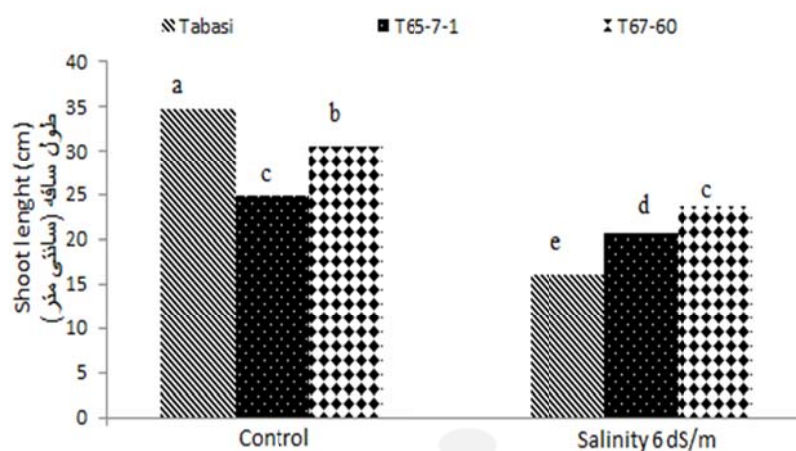
جدول ۱. تجزیه واریانس صفات مورفولوژیکی و بیوشیمیایی ژنوتیپ‌های مورد مطالعه تحت تنش شوری.

Table 1. Analysis of variance for morphological and biochemical traits in studied genotypes and salinity stress.

| منابع تغییر | درجه آزادی | طول ریشه | طول ساقه | وزن تر | وزن خشک | اسید آسکوربیک | LOX | TBARM | کلروفیل a | کلروفیل b |
|-------------|------------|-------------|--------------|-------------|------------|---------------------|---------------------|--------------------|---------------|---------------|
| S.O.V | df | Root length | Shoot length | Wwet weight | Dry weight | ascorbic acid | lipoxygenase enzyme | | Chlorophyll a | Chlorophyll b |
| (A) شوری | 1 | 501.1** | 711.6** | 0.23** | 0.013** | 2.81** | 1.95** | 2.87** | 37.65** | 10.30** |
| Salinity | | | | | | | | | | |
| (B) ژنوتیپ | 2 | 701.7** | 60.36** | 0.018** | 0.001** | 0.64 ^{ns} | 4.24** | 0.76 ^{ns} | 18.5** | 5.34** |
| Genotype | | | | | | | | | | |
| B × A | 2 | 182.8** | 163.7** | 0.021** | 0.0004** | 0.518 ^{ns} | 0.3** | 0.91 ^{ns} | 5.198** | 2.86** |
| خطا | 12 | 3.61 | 3.14 | 0.0033 | 0.00006 | 0.41 | 0.062 | 0.29 | 0.890 | 0.125 |
| Error | | | | | | | | | | |
| %CV | - | 10.80 | 8.19 | 7.39 | 3.14 | 5.27 | 8.35 | 4.32 | 8.13 | 2.75 |

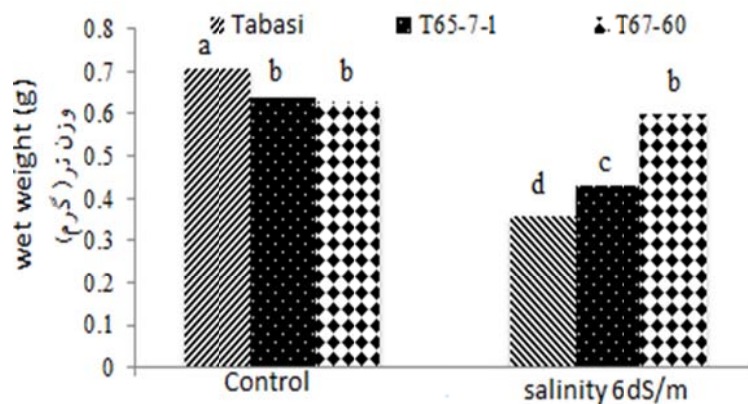
^{ns} و ^{**} نشانگر عدم معنی‌داری و معنی‌داری در سطح احتمال ۱٪.

^{ns} and ^{**} indicate a non significant and significant difference respectively (P<0.01).



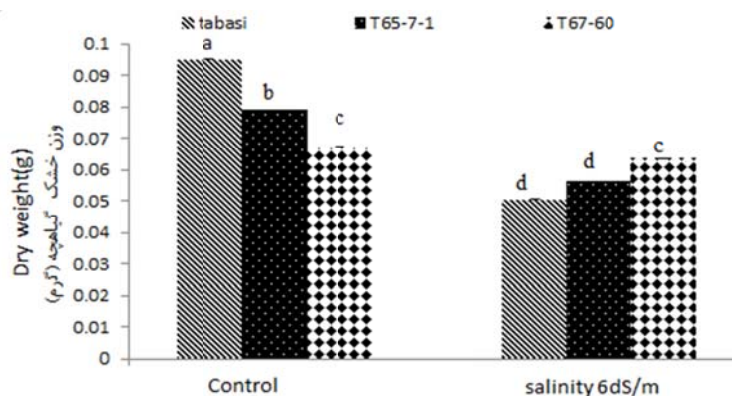
شکل ۱. اثر تنش شوری بر طول ساقه در ژنوتیپ‌های مورد مطالعه. حروف انگلیسی مشابه بیانگر عدم تفاوت معنی‌دار و حروف انگلیسی غیرمشابه بیانگر تفاوت معنی‌دار در سطح احتمال ۱٪.

Fig. 1. Effect of salt stress treatments on stem length. Different letters in the columns indicate a significant difference (P<0.01).



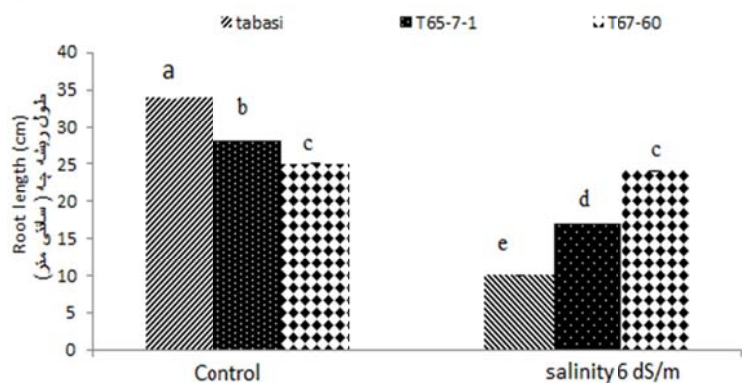
شکل ۲. اثر تنش شوری بر وزن تر در ژنوتیپ‌های مورد مطالعه حروف انگلیسی مشابه بیانگر عدم تفاوت معنی‌دار و حروف انگلیسی غیرمشابه بیانگر تفاوت معنی‌دار در سطح احتمال ۱٪.

Fig. 2. Effect of salt stress treatments on wet weight. Different letters indicate significant differences ($P < 0.01$).



شکل ۳. اثر تنش شوری بر وزن خشک در ژنوتیپ‌های مورد مطالعه حروف انگلیسی مشابه بیانگر عدم تفاوت معنی‌دار و حروف انگلیسی غیرمشابه بیانگر تفاوت معنی‌دار در سطح احتمال ۱٪.

Fig. 3. Effect of salt stress treatments on dry weight. Different letters indicate significant differences ($P < 0.01$).



شکل ۴. اثر تنش شوری بر طول ریشه در ژنوتیپ‌های مورد مطالعه حروف انگلیسی مشابه بیانگر عدم تفاوت معنی‌دار و حروف انگلیسی غیرمشابه بیانگر تفاوت معنی‌دار در سطح احتمال ۱٪.

Fig. 4. Effect of salt stress treatments on root length. Different letters indicate significant differences ($P < 0.01$).

اعمال تنش میزان مالون‌دی‌آلدئید افزایش می‌یابد، مطابقت داشت.

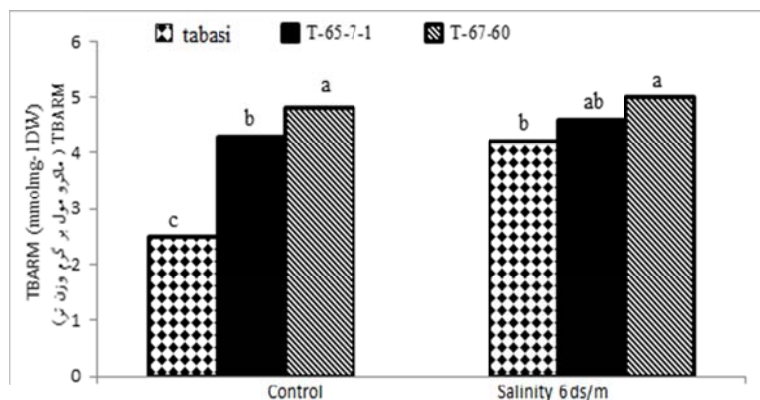
هنگامی که گیاه در شرایط شور رشد می‌کند، فعالیت فتوسنتزی آن کاهش و در نتیجه میزان رشد و سطح برگ و محتوای کلروفیل کاهش می‌یابد (Viera Santos, 2004). علیرغم این که گیاهان در میزان تحمل به شوری متفاوت می‌باشند، اما در نهایت شوری سبب کاهش رشد آن‌ها خواهد شد. این کاهش به‌طور عمده در ارتباط با افت ظرفیت فتوسنتزی بوده که خود می‌تواند علت کاهش در محتوای کلروفیل باشد (Viera Santos 2004). هر دو نوع کلروفیل a و b نسبت به تنش حساس می‌باشند (Farooq et al., 2009; Anjum et al., 2011). با توجه به نتایج به‌دست‌آمده در نمودارهای ۶ و ۷ با اعمال تنش شوری میزان کلروفیل (a, b) در ژنوتیپ‌ها روند کاهشی نشان داد. بیشترین تغییرات مربوط به رقم طبسی بود. در شوری مقدار اتیلن افزایش و در نتیجه به دلیل فعالیت آنزیم کلروفیلاز، کلروفیل گیاه کاهش می‌یابد (Prasad, 1996).

علاوه‌براین، تنش شوری باعث باز شدن حلقه‌های پورفیرینی شده و مواد سمی حاصل از این تجزیه به واکوئل منتقل و باعث از بین رفتن رنگ سبز برگ می‌شود (Parida et al., 2004). نتایج این تحقیق تفاوت کاهش کلروفیل در سه ژنوتیپ را نشان داد (شکل ۶ و ۷). بیشترین تغییرات مربوط به رقم طبسی بود که می‌توان به ژنتیک متفاوت این ژنوتیپ‌ها نسبت داد. احتمالاً لاین‌های موتانت به علت دارا بودن مکانیسم‌های دفاعی مقاوم‌تر در مقایسه با رقم طبسی در شرایط شوری قادر به حفظ ساختار کلروفیل خود بوده است.

یکی از سیستم‌های آنزیمی مهم در رابطه با تغییر چربی‌های غشاهای سلولی، سیستم آنزیمی لپوکسی‌ژناز (LOX) می‌باشد. این آنزیم واکنش ترکیب بین مولکول اکسیژن و اسیدهای چرب غیراشباع و تولید هیدروپروکسیدهای اسید چرب اشباع‌نشده را کنترل می‌کند. اکسیداسیون اسیدهای چرب ناشی از فعالیت این آنزیم موجب تولید رادیکال‌های آزاد اکسیژن می‌شود (Bandyopadhyay et al., 1999).

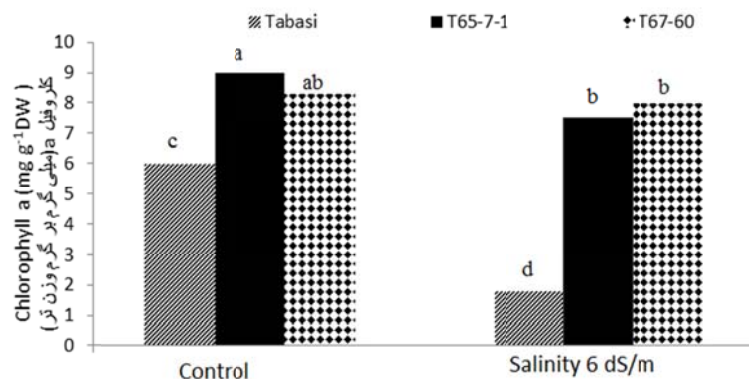
یکی از واکنش‌هایی که در حضور انواع اکسیژن فعال سرعت بیشتری پیدا می‌کند، پروکسیداسیون لیپیدهای غشایی است که باعث تولید آلدئیدهایی مثل مالون‌دی‌آلدئید و ترکیباتی مثل اتیلن می‌شوند (Qiujie et al., 1996). با توجه به سرعت تبدیل رادیکال‌های مزبور و پیچیدگی فعل‌وانفعالات بیوشیمیایی در این زمینه اندازه‌گیری میزان تغییرات اکسیداتیو بسیار مشکل و پرهزینه می‌باشد؛ بنابراین، سنجش TBARM که در آن مالون‌دی‌آلدئید (محصول نهایی و با ثبات نسبی پروکسیداسیون چربی‌ها و اکسیداسیون سلولی) اندازه‌گیری می‌شود، به‌عنوان شاخصی از میزان اکسیداتیو در سطح سلولی و مولکولی قابل ارزیابی می‌باشد. نتایج سنجش TBARM در شکل ۵ نشان داد که بین تیمار شاهد و همچنین بین تیمارهای شوری در ژنوتیپ‌های مختلف تفاوت معنی‌داری مشاهده شده است. با افزایش شوری مقادیر TBARM در ژنوتیپ‌های مختلف تفاوت چشمگیری داشت. بالا بودن شاخص TBARM مبین فراوانی رادیکال‌های فعال اکسیژن و شدت فرآیندهای اکسیداتیو است. اختلاف معنی‌داری بین ژنوتیپ‌ها در تحمل به شوری مشاهده گردید. نشان‌دهنده این است که تنش شوری به میزان قابل توجهی صفت اکسیداتیوی TBARM تحت تأثیر قرار داده است. به‌طور کلی، روند افزایشی TBARM با افزایش تنش شوری انطباق زیادی نشان داد. تحقیقات مختلف نشان داده است که یک ارتباط قوی بین تحمل به تنش‌های اکسیداتیو که به دلیل تنش‌های محیطی ایجاد می‌شود و افزایش در غلظت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان در گیاهان فتوسنتز کننده وجود دارد (Sairam and Srivastava., 2002). منوس و جیمس (Munnes and James, 2003) و فاروق و اعظم (Farooq and Azam, 2006) بیان کردند که تشخیص پایداری غشای سلولی روشی مناسب برای غربال کردن گیاهان تحت تنش شوری می‌باشد.

تحت تنش شوری مقدار مالون‌دی‌آلدئید حاصل از تنش اکسیداتیو در گیاهچه‌ها بالا رفت، به‌طوری که با افزایش غلظت نمک محتوای مالون دی‌آلدئید افزایش معنی‌داری یافت که با مطالعات امیرجانی (Amirjani, 2010) و نواب‌پور (Navabpour, 2007) که گزارش کردند با



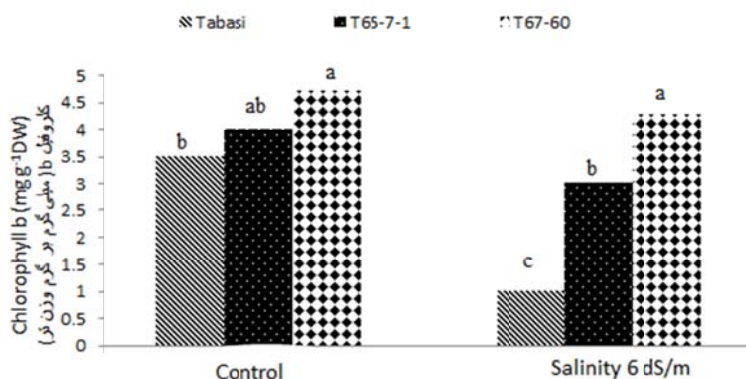
شکل ۵. اثر تنش شوری میزان TBARM در ژنوتیپ‌های مورد مطالعه حروف انگلیسی مشابه بیانگر عدم تفاوت معنی‌دار و حروف انگلیسی غیرمشابه بیانگر تفاوت معنی‌دار در سطح احتمال ۱٪.

Fig. 5. Effect of salt stress treatments on TBARM. Different letters indicate significant differences ($P < 0.01$).



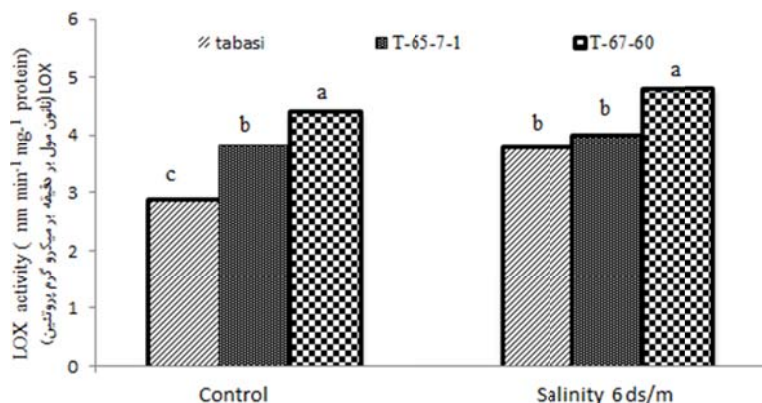
شکل ۶. تأثیر تنش شوری بر کلروفیل a در ژنوتیپ‌های مورد مطالعه حروف انگلیسی مشابه بیانگر عدم تفاوت معنی‌دار و حروف انگلیسی غیرمشابه بیانگر تفاوت معنی‌دار در سطح احتمال ۱٪.

Fig. 6. Effect of salt stress treatments on chlorophyll a. Different letters indicate significant differences ($P < 0.01$).



شکل ۷. تأثیر شوری بر کلروفیل b در ژنوتیپ‌های مورد مطالعه حروف انگلیسی مشابه بیانگر عدم تفاوت معنی‌دار و حروف انگلیسی غیرمشابه بیانگر تفاوت معنی‌دار در سطح احتمال ۱٪.

Fig. 7. Effect of salt stress treatments on chlorophyll b. Different letters indicate significant differences ($P < 0.01$).



شکل ۸. تأثیر شوری بر میزان LOX در ژنوتیپ‌های مورد مطالعه حروف انگلیسی مشابه بیانگر عدم تفاوت معنی‌دار و حروف انگلیسی غیرمشابه بیانگر تفاوت معنی‌دار در سطح احتمال ۰.۱٪.

Fig. 8. Effect of salt stress treatments on LOX Different letters indicate significant differences ($P < 0.01$)

ژنوتیپ با اعمال تنش شوری افزایش یافت که در دو لاین موتانت این افزایش معنی‌دار نبود ولی در رقم طبسی معنی‌دار بود (شکل ۹).

نتیجه‌گیری کلی

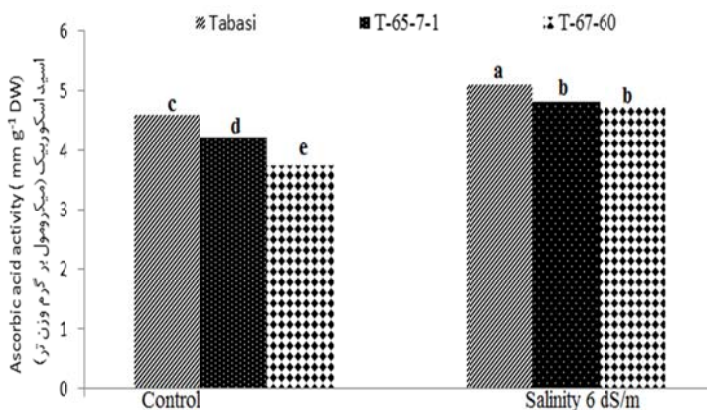
اختلاف بین لاین‌های جهش‌یافته، رقم مادری (طبسی) از نظر صفات مورد بررسی نشان دهنده تنوع بین آن‌ها می‌باشد. البته تنها تنوع و اختلاف نمی‌تواند مهم باشد. بلکه تنوعی ارزشمند است که مفید و مطلوب باشد. یعنی لاین‌های جهش‌یافته باید از نظر صفات مورد بررسی نسبت به رقم مادری برتر باشند. در این تحقیق نیز با مقایسه میانگین‌ها مشخص شد که لاین‌های جهش‌یافته از نظر صفات مورد بررسی مرفولوژیکی (وزن خشک، وزن تر، طول ریشه و طول ساقه) و بیوشیمیایی (کلروفیل، اسید آسکوربیک، TBARM و LOX) نسبت به والد خود برتر بودند. وجود لاین‌های برتر از نظر این صفات در شرایط شوری، حائز اهمیت است. چون ژنتیک این‌گونه صفات در نسل‌های پیشرفته جهش (M_3 یا M_4) تثبیت می‌شود. حال آنکه نسل بررسی شده حاضر، نسل ششم جهش‌یافته‌ها (M_6) بود. بر اساس این تحقیق مشخص گردید که جهش القایی اشعه گاما تأثیر مطلوبی در ایجاد لاین‌های موتانت با خصوصیات مطلوب داشت. لاین‌های موتانت از نظر شاخص اکسیداتیوی TBARM وضعیت بهتر و پایدارتری را در شرایط تنش شوری در مقایسه با ژنوتیپ مادری نشان داد. به نظر می‌رسد این ژنوتیپ‌ها می‌توانند کاندید مناسبی

با توجه به نتایج به دست آمده در این مطالعه، اثر شوری بر میزان تجمع LOX معنی‌دار است (شکل ۸) که نشان می‌دهد، اختلاف بین ژنوتیپ‌ها در شوری به میزان زیادی صفت اکسیداتیوی LOX را تحت تأثیر قرار داده است. بالا بودن شاخص LOX مبین فراوانی رادیکال‌های فعال اکسیژن و شدت فرآیندهای اکسیداتیو است. با افزایش تنش شوری میزان رادیکال‌های آزاد اکسیژن افزایش یافته که مشابه این نتایج در افزایش فعالیت آنزیم‌های ناشی از تنش‌های اکسیداتیوی در ارقام مختلف پنبه گزارش شده است (Rajguru and Stewart, 1999). به‌طور کلی، تنش موجب افزایش تولید رادیکال‌های آزاد اکسیژن مانند پراکسید هیدروژن در سلول‌های گیاهی می‌شود و به دنبال آن پراکسید هیدروژن به دست آمده موجب افزایش آنزیم لیپوکسی‌ژناز در سلول‌های گیاهی می‌شود (Sudhakar et al., 2001).

مواد آنتی‌اکسیدانی موجود در گیاهان سبب خنثی‌سازی رادیکال‌های آزاد می‌گردد که از مهم‌ترین آن‌ها می‌توان آسکوربیک اسید، توکوفرول و گلوکاتینون اشاره نمود (Zhang and Kirkham, 1996). آسکوربیک اسید به دلیل خواص آنتی‌اکسیدانی موجب پاک‌سازی یون‌های سوپراکسید شده و از ایجاد پراکسید هیدروژن درون سلولی جلوگیری به عمل می‌آورد و سبب کاهش خسارت به اسیدهای چرب و پروتئین‌ها می‌شود، در نتیجه اثر مخرب تنش کاهش می‌یابد (Tompson et al., 1987). با توجه به نتایج به دست آمده میزان اسید آسکوربیک در هر سه

شوری است. وجود اختلاف معنی‌داری برای شاخص‌های اکسیداتیوی (TBARM و LOX) بین ژنوتیپ‌های مورد مطالعه در شرایط بدون تنش مبین تأثیر پرتو تابی در ایجاد موتاسیون و ایجاد تنوع ژنتیکی از نظر این صفات می‌باشد.

از نظر تحمل به تنش اکسیداتیوی تلقی گردد. هرچند میزان LOX در این ژنوتیپ‌ها به‌طور نسبی در مقایسه با ژنوتیپ مادری بالاتر بود، اما همچنان از ثبات و پایداری مطلوبی در شرایط تنش شوری برخوردار بود که این موضوع نشان‌دهنده انعطاف‌پذیری این لاین نسبت به تیمار



شکل ۹- تأثیر شوری بر میزان فعالیت اسید آسکوربیک حروف انگلیسی مشابه بیانگر عدم تفاوت معنی‌دار و حروف انگلیسی غیرمشابه بیانگر تفاوت معنی‌دار در سطح احتمال ۱٪.

Fig. 9. Effect of salt stress treatments on activity of ascorbic acid. Different letters indicate significant differences ($P < 0.01$).

منابع

- Amirjani, M.R., 2010. Effect of NaCl on some physiological parameters of rice. *European Journal of Biological Sciences*. 3(1), 06-16.
- Asada, K., 1999. The water-cycle in chloroplasts: scavenging of active oxygens and dissipation of excess photons. *Annual review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology*. 50, 601-639.
- Ashraf, M., Foolad, M.R., 2005. Pre-sowing seed treatment-a shotgun approach to improve germination, plant growth, and crop yield under saline and non-saline conditions. *Journal of Advances in Agronomy*. 88, 223-271.
- Bandyopadhyay, U., Das, D., Banerjee R.K., 1999. Reactive oxygen species: Oxidative damage and pathogenesis. *Journal of Current Science*. 77, 658-666.
- Comba, M.E., Benavides, M.P., Tomaro, M.L., 1998. Effect of salt stress on antioxidant defence system in soybean root nodules. *Functional Plant Biology*. 25(6), 665-671.
- Dadashi, M.R., Majidi Heravan, I., Soltani, A., Noori nia, A., 2007. Evaluation of different genotypes of barley to salinity salt stress. *Journal of Agricultural Science Islamic Azad University*. 13(1), 181-190. [In Persian with English Summary].
- David, W., Bollivar, S., Beale, I., 1996. The chlorophyll Biosynthetic enzyme Mg-protoporphyrin IX monomethyl ester (Oxidative) cyclase. *Plant Physiology*. 112, 105-111.
- Devlin, M.R., Withman, F.H., 2002. *Plant Physiology*. CBS Publishers & Distributors. Chapter 12.

- Farooq, S., Azam, F., 2006. The use of cell membrane stability (CMS) technique to screen for salt tolerance wheat varieties. *Journal of Plant Physiol.* 163, 629- 637.
- Farooq, M., Wahid, A., Kobayashi, N., Fujita, D., Basra, S.M.A., 2009. Plant drought stress: effects, mechanisms and management. *Agronomy for Sustainable Development.* 29, 185-212.
- Foyer, C.H., Lelandais, M., Kunert, K.J., 1994. Photooxidative stress in plants. *Plant Physiology.* 92, 696-717.
- Hosseini, M.K., Powell, A.A., Bingham, I.J., 2003. The interaction between salinity stress and seed vigor during germination of soyabean seeds. *Seed Science Technology.* 31, 715-72.
- Haghnia, G.H., 2004. Plant Tolerance to Salinity. Mashhad University Publishers. 32p. [In Persian].
- Katsuhara, M., Otsuka, T., Ezaki, B., 2005. Salt stress-induced lipid peroxidation is reduced by glutathione S-transferase, but this reduction of lipid peroxides is not enough for a recovery of root growth in Arabidopsis. *Plant Sciences.* 169(2), 369-373.
- Kingsbury, R.W., Epstein, E., 1984. Selection of salt-resistant spring wheat. *Crop Science.* 24, 310- 314
- Lawlor, D.W., Cornic, G., 2002. Photosynthetic carbon assimilation and associated metabolism in relation to water deficits in higher plants. *Journal of Plant, Cell and Environment.* 25, 275- 294.
- Mass, E.V., Poss, J.A., 1989. Salt sensitivity of wheat at various growth stages. *Irrigation Sciences.* 10(1), 29-40.
- Mer, R.K., Prajith, P.K., Pandya, D.H., Pandey, A.N., 2000. Effect of salts on germination of seeds and growth of young plants of *Hordeum vulgare*, *Triticum aestivum*, *Cicer arietinum* and *Brassica juncea*. *Journal of Agronomy and Crop Science.* 185(4), 209-217.
- Miri, H.R., 2009. Plant Stress Physiology. Kermanshah Islamic Azad University Press. 472p. [In Persian].
- Munns, R., James, R.A., 2003. Screening method for salinity tolerance: a case study with tetraploid wheat. *Plant and Soil.* 253, 201-218.
- Mohammadi, S.A., Khoshkholgh Sama, N., Majidi Hrvan, A., Nori Nia, G.H., Saidi, A., 2009. Evaluate the response of of bread wheat cultivars to salt stress. *Knowledge of Agriculture.* 18 (1), 131-119. [In Persian with Wnglish summary].
- Molassiotis, A., Sotiropoulos, T., Tanou, G., Diamantidis, G., Therios, I., 2006. Boron-induced oxidative damage and antioxidant and nucleolytic responses in shoot tips culture of the apple rootstock EM 9 (*Malus domestica* Borkh.). *Environmental and Experimental Botany.* 56, 54-62.
- Noctor, C., Foyer, C.H., 1998. Ascorbate and glutathione: Keeping active oxygen under control. *Annual Review in Plant Physiology and Plant Molecular Biology.* 49, 249-279.
- Parida AK, Das, A.B, Mittra, B., Mohanty, P., 2004. Salt-stress induced alterations in protein profile and protease activity in the mangrove, *Bruguiera parviflora*. *Naturforsch.* 59, 408-414.
- Qiujie D., Bin, Y.S., Xiao, Z., Wang, Z., 1996. Flooding -induce membrane damage, lipid oxidation and activated oxygen generation in Corn leaves. *Plant and Soil.* 179, 261-268.
- Rajguru, S.N., Stewart, J.M.D., 1999. Vectoring of a bioactive peptide for cotton transformation. *Cotton Physiology Conference. National Cotton Council, Memphis, TN.* pp. 598.
- Selote, D.S., Khanna-Chopra, R., 2004. Drought-induced spikelet sterility is associated with an inefficient antioxidant defense in rice panicles. *Plant Physiology.* 121, 462-471.
- Shams Aldin Said, M., Frah Bakhsh, H., Maghsodi Mood, A., 2008. Ether salinity on germination, growth and some properties of the phases ideological HTTP Fall rape. *Science and Technology of Agriculture and Natural Resources.* 202, 14-191. [In Persian with English Summary]
- Sinha, S., Saxena, R., 2006. Effect of iron on lipid peroxidation, and enzymatic and non-enzymatic antioxidants and bacoside-A content in medicinal plant *Bacopa monnieri* L. *Chemosphere,* 62(8), 1340-1350.
- Sofa, A., Dichio, B., Xiloyannis, C., Masia, A., 2004. Effects of different irradiance levels on some antioxidant enzymes and on malondealdehyde content during rewatering

- in olive tree. *Plant Sciences*. 166(2), 293-302.
- Sudhakar, C., Lukshmi, A., Giridarakumar, C., 2001. Changes in antioxidant enzymes efficacy in two high yielding genotypes of mulberry under NaCl salinity. *Plant Sciences*. 161, 613-619.
- Tompson, J.E., Ledge, R.L., Barber, R.F., 1987. The role of free radicals in senescence and wounding. *New Phytologist*. 105, 317-344.
- Viera Santos, C., 2004. Regulation of chlorophyll biosynthesis and degradation by salt stress in sunflower leaves. *Scientia Horticulturae*. 103(1), 93-99.
- Yoshida, S., Forno, D.A., Cock, J.H., Gomez, K.A., 1976. *Laboratory Manual for Physiological Studies of Rice*. Los Bãos, Filipinas.
- Zhang, J., Kirkham, M.B., 1996. Lipid peroxidation in sorghum and sunflower seedlings as affected by ascorbic acid, benzoic acid, acid and propyl gallate. *Plant Physiology*. 149, 489-49.