تنش‌های محیطی در علوم زراعی
Environmental Stresses in Crop Sciences
جلد دوازدهم، شماره سوم، پائیز ۱۳۹۸
۹۰۷-۹۲۱
http://dx.doi.org/10.22077/escs.2019.1470.1324

مقاله پژوهشی

بررسی واکنش فیزیولوژیکی ارقام کلزا به تنش شوری در مرحله جوانه‌زنی و استقرار گیاه

هادی چم‌حیدر[1]، روزبه فرهودی[2*]
۱. گروه خاکشناسی، واحد شوشتر، دانشگاه آزاد اسلامی، شوشتر
۲. گروه زراعت و اصلاح نباتات، واحد شوشتر، دانشگاه آزاد اسلامی، شوشتر

تاریخ دریافت: ۹۷/۰۱/۲۰؛ تاریخ پذیرش: ۹۷/۰۴/۰۵

چکیده

شوری یکی از عوامل محدودکننده رشد و تولید عملکرد گیاهان است. این پژوهش به‌منظور تأثیر تنش شوری بر جوانه‌زنی، واکنش فیزیولوژیکی ارقام کلزا به تنش شوری در مرحله جوانه‌زنی و استقرار گیاه در دو آزمایش انجام شد. در دو آزمایش جداگانه، فاکتور اول چهار رقم کلزا شامل ارقام هایولا ۳۲۰، هایولا ۴۰۱، هایولا ۳۳۰ و ساری گل و فاکتور دوم شامل سطح شوری (محلول صفر، ۳۰، ۶۰ و ۹۰ میلی مولار نمک (کلرید سدیم) بود. تنش شوری سبب کاهش درصد جوانه‌زنی، طول ریشه‌چه، طول ساقه‌چه و فعالیت آنزیم آلفا آمیلاز گیاهچه‌های کلزا شد. در سطح شوری ۹۰ میلی مولار کلرید سدیم رقم هایولا ۳۳۰ بیشترین درصد جوانه‌زنی (۶۶ درصد)، فعالیت آنزیم آلفا آمیلاز (۶/۲ نانومول بر بذر بر دقیقه)، طول ریشه‌چه (۵۱ میلی‌متر) را به خود اختصاص داد. در شرایط تنش شوری ۹۰ میلی مولار نمک کلرید سدیم بیشترین وزن خشک اندام هوایی در ارقام هایولا ۳۳۰ به میزان ۱/۷۲ گرم مشاهده گردید. تنش شوری سبب افزایش غلظت سدیم، برگ کلزا شد اما غلظت پتاسیم کاهش یافت. ارقام هایولا ۳۳۰ و هایولا ۳۲۰ بیشترین نسبت پتاسیم به سدیم برگ را در مقایسه با سایر ارقام در شرایط تنش شوری داشتند. در شرایط تنش شوری میزان فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان کاتالاز و پراکسیداز در ارقام هایولا ۳۲۰ و هایولا ۳۳۰ به میزان معنی‌داری بیش از دو رقم دیگر بود. در شرایط تنش شوری ۹۰ میلی مولار کلرید سدیم میزان فعالیت آنزیم پراکسیداز ارقام هایولا ۳۳۰، هایولا ۳۲۰، هایولا ۴۰۱ و ساریگل در مقایسه با شرایط نرمال به ترتیب ۸۴، ۷۷، ۷۰ و ۲۷ درصد افزایش یافت. بررسی تغییرات غلظت کربوهیدرات‌های محلول برگ در ارقام هایولا ۳۲۰، هایولا ۳۳۰، هایولا ۴۰۱ و ساریگل در سطح شوری ۹۰ میلی مولار کلرید سدیم حاکی از افزایش غلظت کربوهیدرات‌های محلول برگ به میزان ۶۶، ۶۲، ۵۴ و ۴۲ درصد در این ارقام در مقایسه با شرایط نرمال بود. ارقام هایولا ۳۲۰ و هایولا ۳۳۰ با توجه به درصد جوانه‌زنی و وزن اندام هوایی بیشتر، شرایط تنش شوری را بهتر تحمل نمودند که این موضوع به دلیل نسبت پتاسیم به سدیم بیشتر، فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان بیشتر و غلظت پرولین و کربوهیدرات‌های محلول بیشتر در مقایسه با ساریگل و هایولا ۴۰۱ بود. نتایج نشان می‌دهد هایولا ۳۳۰ و هایولا ۳۲۰ دارای ظرفیت مناسب برای تولید ارقام متحمل به شوری می‌باشند.

واژه‌های کلیدی: **آلفا آمیلاز، متابولیت‌ها، ماده خشک، نسبت پتاسیم به سدیم**

مقدمه

با توجه به گسترش روزافزون جمعیت کشور، آمارها حاکی از افزایش میزان واردات روغن‌های گیاهی به ایران هستند. ازجمله گیاهان روغنی که برای کاهش واردات روغن می‌توان به آن اتکا نمود کلزا است که به دلیل سازگاری با شرایط اقلیمی کشور ایران و عملکرد مناسب روغن و دانه موردتوجه قرار گرفته است. در حال حاضر تنش شوری یکی از تنش‌های محیطی مهم در کشور ایران است که تولیدات کشاورزی را در کشور با محدودیت مواجه ساخته است (Kafi and Rostami, 2008). حدود ۳۴ میلیون هکتار از اراضی ایران در معرض تنش شوری است که استان‌های خوزستان و فارس با دارا بودن ۳۲ درصد و ۱۶ درصد این اراضی در رتبه اول و دوم قرار دارند (Ranjbar and Pirasteh Anosheh,

* نگارنده پاسخگو: روزبه فرهودی. پست الکترونیک: rfarhoudi@gmail.com

2015). شوری از بر جنبه‌های مختلف فیزیولوژیکی گیاهان زراعی تأثیرگذار است و باعث بروز تنش اسمزی، سمیت یونی و اختلال در تعادل یونی می‌شود (Munns, 2002). تنش شوری باعث بروز دامنه وسیعی از واکنش‌ها در گیاهان از بیان ژن و تغییر در فرآیندهای سلولی تا تغییر در سرعت رشد و عملکرد گیاه می‌شود (Schmitz et al., 2008). در این راستا بسیاری از فرآیندهای مهم فیزیولوژیکی و مورفولوژیکی مانند جوانه‌زنی، رشد گیاهچه، ارتفاع گیاه، محتوای نسبی آب برگ، محتوای نسبی کلروفیل، شاخص پایداری غشاء، فتوسنتز و عملکرد اقتصادی تحت تأثیر تنش شوری قرار گرفته و تغییر می‌یابد (Munns and Tester, 2008).

جوانه‌زنی و استقرار گیاهچه از مراحل حساس به تنش شوری در بسیاری از گیاهان زراعی (Khajeh-Hosseini et al., 2003; Bandeoglu et al., 2004) است. تحقیقات نشان داد گیاهان خانواده براسیکا در طیف وسیعی از گیاهان متحمل تا حساس به تنش شوری قرار می‌گیرند. برخی از محققین گزارش نموده‌اند تنش شوری در مرحله جوانه‌زنی موجب کاهش درصد جوانه‌زنی، سرعت جوانه‌زنی و رشد گیاهچه ارقام کلزا شد (Farhoudi, 2012; Ashraf and McNielly, 2004). در مطالعات دیگر گزارش شده است تنش شوری موجب کاهش درصد جوانه‌زنی، تأخیر در جوانه‌زنی و کاهش رشد گیاهچه ارقام کلزا شد (Abbas Zadeh and Rezaie, 2013). تنش شوری در مرحله جوانه‌زنی با تأثیر منفی بر جذب آب توسط بذر، تجمع یون‌های مضر نظیر سدیم (Munns and James, 2003) و اختلال در فرآیندهای آنزیمی و تعادل هورمون‌های گیاهی در خلال جوانه‌زنی (Nawaz et al., 2010) سبب کاهش جوانه‌زنی و آسیب‌پذیری گیاهچه می‌گردد. آنزیم آلفا آمیلاز از آنزیم‌های حیاتی در متابولیسم کربوهیدرات‌ها در فرایند جوانه‌زنی است که فعالیت آن تحت تأثیر عوامل محیطی ازجمله تنش شوری قرار می‌گیرد. بسیاری از محققین کاهش جوانه‌زنی گیاهان در شرایط تنش شوری را ناشی از کاهش فعالیت این آنزیم بیان نموده‌اند. فرهودی (Farhoudi, 2013) بیان نمود کاهش فعالیت آنزیم آلفا آمیلاز تحت تأثیر تنش شوری از دلایل اصلی کاهش جوانه‌زنی، تأخیر در جوانه‌زنی و رشد گیاهچه ارقام کلزا بود.

صدمه ناشی از عوامل تنش‌زای محیطی نظیر گرما، سرما، خشکی، شوری، محیط اسیدی و مسمومیت ناشی از جذب فلزات سنگین و حتی اثر عوامل زنده تنش‌زا در مراحل اول بروز تنش روی غشاهای سلولی قابل مشاهده است. سلامت غشاهای سلولی که عمدتاً از اسیدهای چرب به همراه ترکیبات پروتئینی و کربوهیدرات تشکیل‌شده‌اند، تحت تأثیر شرایط محیطی است و عواملی مانند تنش شوری با تولید رادیکال‌های آزاد اکسیژن نظیر پراکسید و آب‌اکسیژنه سبب تخریب غشاهای سلولی و اختلال در جوانه‌زنی و رشد گیاهچه‌های گیاهان زراعی ازجمله کلزا می‌شوند (Ashraf and McNielly, 2004). این در حالی است که گیاهان قادرند با کمک ترکیبات آنتی‌اکسیدان آنزیمی نظیر آنزیم‌های کاتالاز و گلاتاتیون رداکتاز و ترکیبات غیر آنزیمی نظیر کارتنویید، رادیکال‌های آزاد اکسیژن را حذف کنند. درواقع آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان با کمک به پاک‌سازی محیط سلول‌ها از گونه‌های فعال اکسیژن قادرند اثرات منفی تنش‌های محیطی را کاهش داده و به تحمل شرایط تنش کمک نمایند. محققین گزارش نمودند تنش شوری سبب افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان پراکسیداز و سوپراکسید دیسموتاز در برگ کلزا و کاهش اثرات نامطلوب تنش شوری شد (Ashraf and Ali, 2008).

نحوه جذب و توزیع یون‌ها در بافت‌های گیاهی در مطالعات مربوط به تنش شوری جایگاه ویژه‌ای دارد. تحقیقات نشان داد در شرایط تنش شوری بین تجمع یون سدیم در برگ گیاهچه کلزا و آسیب‌پذیری آن در مقابل تنش شوری همبستگی مثبت و معنی‌داری مشاهده شد (UL-Haq et al., 2002). شرایط تنش شوری عمدتاً با تجمع یون‌های مضر نظیر سدیم، کلر و سولفات در برگ‌های جوان که وظیفه فتوسنتز را بر عهده دارند، همراه است و این در حالی است که جذب یون‌های مفید نظیر پتاسیم و کلسیم در این شرایط کاهش می‌یابد (Ashraf and McNeilly, 2004; Poustini and Siosemardeh, 2004). بررسی غلظت یون‌های سدیم و پتاسیم ارقام کلزا نشان داد تجمع یون سدیم در ارقام حساس به شوری کلزا بیش از ارقام متحمل به تنش شوری است. همچنین نسبت پتاسیم به سدیم نیز در ارقام متحمل به تنش شوری بیش از ارقام حساس به تنش شوری است. این موضوع نشان داد تحمل تنش شوری در این ارقام با میزان ممانعت از ورود سدیم به بخش فتوسنتز کننده گیاه مرتبط است (Atlasi Pak, 2016).

در شرایط تنش‌های محیطی غیرزنده نظیر شوری و خشکی گیاهان نیاز به مکانیسم‌های ویژه‌ای برای تنظیم شرایط اسمزی داخلی و تغییر فشار در محیط ریشه و برگ

دارند، گیاهان تحت تنش از طریق تولید و تجمیع اسیدهای آمینه آزاد، قندهای محلول و پروتئین‌ها پتانسیل اسمزی خود را کاهش می‌دهند و بدین طریق تنظیم اسمزی حاصل می‌شود (Mahmood and Athar, 2003). تجمع مواد محلول فعال اسمزی مانند کربوهیدرات‌ها، پروتئین‌ها و اسیدهای آمینه آزاد طی تنش شوری، به‌عنوان مکانیسمی مؤثر در تحمل تنش شوری تائید شده است. سازگاری گونه‌های گیاهی به مقادیر بالای نمک خاک که منجر به منفی‌تر شدن پتانسیل اسمزی محلول خاک می‌شود با تولید و تجمع این ترکیبات در گیاهان همراه می‌گردد. به‌عنوان‌مثال تنش شوری موجب تجمع پرولین و کربوهیدرات‌های محلول در برگ ارقام کلزای بهاره شد (Zarnaghi and Torchi, 2015). در شرایط تنش شوری تجمع اسمولیت‌های سازگار نظیر پرولین و کربوهیدرات‌های محلول در گیاهچه‌های برنج موجب افزایش رطوبت نسبی برگ و کاهش اثرات منفی تنش شوری بر سلامت غشاهای سلولی گیاهچه برنج شد (Bhattacharjee and Mukherjee, 2002).

با توجه به اهمیت گیاه کلزا، شناخت واکنش ارقام این گیاه در مرحله جوانه‌زنی و ابتدای رشد نقش مهمی در انتخاب ارقام متحمل به شوری را به خود اختصاص می‌دهد. این پژوهش به‌منظور شناسایی سازوکارهای فیزیولوژیک تحمل به تنش شوری چهار رقم کلزا در مرحله رشد رویشی و جوانه‌زنی انجام شد.

مواد و روش‌ها

این آزمایش به‌منظور بررسی پاسخ ارقام کلزا به تنش شوری در مرحله جوانه‌زنی و رشد اولیه گیاهچه در آزمایشگاه تکنولوژی بذر دانشگاه آزاد اسلامی واحد شوشتر و آزمایشگاه مرکزی دانشگاه شهید چمران در سال ۱۳۹۶ انجام شد. آزمایش اول در پتری‌دیش به‌صورت آزمایش فاکتوریل (دو فاکتور) در قالب طرح کاملاً تصادفی در پنج تکرار اجرا شد. آزمایش دوم نیز در گلدان به‌صورت آزمایش فاکتوریل (دو فاکتور) در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی در چهار تکرار اجرا شد. تیمارهای آزمایشی شامل ارقام کلزا هایولا ۳۲۰، هایولا ۴۰۱، هایولا ۳۳۰ و ساری گل و سطوح شوری (محلول ۳۰، ۶۰ و ۹۰ میلی مولار نمک (کلرید سدیم) به همراه شاهد (آب مقطر) بودند.

آزمایش اول

جهت بررسی درصد جوانه‌زنی و رشد گیاهچه، بذور کلزا در محیط آزمایشگاه و در پتری‌دیش کشت شد و هر واحد آزمایشی از دو پتری‌دیش تشکیل شده بود. به این منظور بیست عدد بذر ضدعفونی شده از رقم موردنظر در پتری‌دیش روی یک‌لایه کاغذ صافی واتمن قرار گرفت و ۹ میلی‌لیتر آب مقطر یا آب‌شور (با توجه به تیمار آزمایش) به محیط پتری‌دیش اضافه شد. جهت ضدعفونی پتری‌دیش و سایر اقلام مصرفی نیز این وسایل به مدت یک ساعت در اتوکلاو در دمای ۱۰۰ درجه سانتی‌گراد ضدعفونی شدند. برای اعمال تنش شوری از نمک کلرید سدیم آزمایشگاهی ساخت شرکت مرک آلمان استفاده شد. زمان آزمایش ۱۰ روز بود و در این مدت بذرها در دستگاه جوانه‌زنی استاندارد قرار گرفتند. شمارش بذرهای جوانه‌زده و یادداشت‌برداری آزمایش هرروز رأس ساعت ۱۱ صبح انجام می‌شد. شرایط جوانه‌زنی بذرهای کلزا در دستگاه جوانه‌زنی عبارت بود از دمای متناوب ۲۲/۱۷ درجه سانتی‌گراد، رطوبت ۵۰ درصد و تناوب ۱۶/۸ ساعت روشنایی و تاریکی.

درصد جوانه‌زنی

یک بذر وقتی جوانه‌زده محسوب شد که طول ریشه‌چه آن به حدود دو تا سه میلی‌متر رسید. درصد جوانه‌زنی بر اساس رابطه زیر محاسبه گردید (Scott et al., 1984).

$$\text{درصدجوانه‌زنی} = \frac{\text{بذرهای‌جوانه‌زده}}{\text{تعداد کل‌بذور}} \times ۱۰۰ \qquad [۱]$$

فعالیت آنزیم آلفا آمیلاز

جهت بررسی فعالیت آنزیم آلفا آمیلاز پنج میلی‌لیتر محلول ۶۰ میلی مولار بافر فسفات به یک گرم بافت له‌شده بذر اضافه شد و سپس این مخلوط به مدت ۱۵ دقیقه سانتریفیوژ شد (با دور ۱۲۰۰۰ دور در دقیقه). در ادامه فعالیت آنزیم آلفا آمیلاز بررسی شد (Kato-Noguchi and Macias, 2008). به‌منظور اندازه‌گیری طول ساقه‌چه و طول ریشه‌چه ۵ گیاهچه انتخاب و به کمک خط کش طول ریشه‌چه و ساقه‌چه از محل اتصال به بذر بررسی شد.

آزمایش دوم

در این بخش آزمایش، محیط کشت گلدان‌هایی به طول و عرض ۴۰ و ۲۰ سانتی‌متر و عمق ۲۰ سانتی‌متر بود که توسط خاک مزرعه و کود دامی پوسیده به نسبت چهار به یک پر شده بود. در هر گلدان چهار ردیف بذر از رقم موردنظر کشت شد و هر کرت آزمایشی از دو گلدان تشکیل شده بود. پس از یک آبیاری اولیه با آب مقطر، از ابتدای آزمایش، تنش شوری موردنظر با غلظت‌های محلول ۳۰، ۶۰ و ۹۰ میلی مولار نمک (کلرید سدیم) به همراه شاهد (آب مقطر) اعمال شد. ۳۵ روز پس از آغاز شوری، برداشت گیاهچه جهت بررسی صفات فیزیولوژیک آغاز شد.

وزن گیاهچه

برای بررسی وزن گیاهچه، در پایان آزمایش ۱۰ گیاهچه از هر گلدان انتخاب و وزن گیاهچه بر اساس میانگین وزن خشک بررسی شد. به این منظور اندام هوایی گیاهچه‌های برداشت‌شده پس از قرار دادن در پاکت کاغذی به آون با دمای ۷۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۴۸ ساعت منتقل شدند.

اندازه‌گیری غلظت یون‌های سدیم و پتاسیم برگ

به‌منظور اندازه‌گیری غلظت یون‌های سدیم و پتاسیم از برگ دوم بالغ استفاده شد. ۰/۲ گرم ماده خشک برگ در کوره الکتریکی با دمای ۵۸۰ درجه سانتی‌گراد به مدت چهار ساعت در کروزه چینی حرارت داده شد. خاکستر به‌دست‌آمده با پنج میلی‌لیتر اسیدکلریدریک شستشو داده شد تا کاتیون‌ها آزاد شوند. عصاره با کاغذ صافی صاف شد. به‌منظور اندازه‌گیری یون‌های سدیم و پتاسیم در محلول حاصله از دستگاه فلایم فتومتر مدل Carl Ziess و منحنی استاندارد استفاده شد (Owen, 1992).

نشت‌پذیری غشا سلولی و فعالیت آنزیم‌های آنتی-اکسیدان

برای اندازه‌گیری نشت‌پذیری غشا سلولی از روش والدندویک و همکاران (Valentovic et al., 2006) استفاده شد.

جهت بررسی فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان ابتدا پروتئین گیاهچه استخراج شد (Agrawal et al., 2005) سپس فعالیت آنزیم‌های کاتالاز و پراکسیداز (Chance and Maehly, 1995) و آنزیم گلاتیتیون رداکتاز (Oracz et al., 2007) بررسی شد.

غلظت کربوهیدرات‌های محلول و پرولین برگ

به‌منظور بررسی غلظت کربوهیدرات‌های محلول برگ از روش دوبویس و همکاران (Dubois et al., 1956) و برای بررسی میزان پرولین از روش باتیس و همکاران (Bates et al., 1973) استفاده شد.

آنالیز آماری

محاسبات آماری داده‌های حاصل از آزمایش با استفاده از نرم‌افزار MSTAT-C و برای مقایسهٔ میانگین‌ها از آزمون چند دامنه‌ای دانکن (در سطح آماری یک درصد) استفاده شد.

نتایج و بحث

نتایج آزمایش نشان داد تمام صفات موردبررسی تحت تأثیر شوری، رقم کلزا و اثر متقابل شوری و رقم قرار گرفت (جدول ۱ و جدول ۲).

آزمایش اول

درصد جوانه‌زنی و فعالیت آنزیم آلفا آمیلاز

تنش شوری موجب کاهش معنی‌دار درصد جوانه‌زنی بذر کلزا شد و در این خصوص تفاوت معنی‌داری میان ارقام کلزا مشاهده شد (شکل ۱). درحالی‌که در شرایط نرمال تفاوت معنی‌داری میان جوانه‌زنی ارقام کلزا مشاهده نشد سطح شوری ۳۰ میلی مولار کلرید سدیم جوانه‌زنی رقم ساری‌گل را به حدود ۷۷ درصد کاهش داد. در سطح شوری ۶۰ میلی مولار کلرید سدیم ارقام هایولا ۳۳۰ و هایولا ۳۲۰ (به ترتیب ۷۶ و ۷۷ درصد) و در سطح شوری ۹۰ میلی مولار کلرید سدیم رقم هایولا ۳۳۰ بیشترین درصد جوانه‌زنی (۶۶ درصد) را به خود اختصاص داد درحالی‌که رقم ساری‌گل همواره از کمترین درصد جوانه‌زنی در این سطوح شوری برخوردار بود. در سطح شوری ۹۰ میلی مولار کلرید سدیم، درصد جوانه‌زنی ارقام هایولا ۳۳۰، هایولا۳۲۰، هایولا ۴۰۱ و ساریگل به ترتیب ۳۰، ۴۲، ۵۳ و ۶۷ درصد در مقایسه با شرایط نرمال کاهش یافت.

تنش شوری به‌ویژه در سطوح ۶۰ و ۹۰ میلی مولار کلرید سدیم موجب کاهش معنی‌دار فعالیت آنزیم آلفا آمیلاز بذر

کلیه ارقام کلزا شد که این کاهش فعالیت در ارقام هایولا ۴۰۱ و ساری‌گل مشهود و قابل‌توجه بود. در سطح شوری ۹۰ میلی مولار کلرید سدیم فعالیت آنزیم آلفا آمیلاز در ارقام هایولا ۳۳۰، هایولا ۳۲۰، هایولا ۴۰۱ و ساریگل به ترتیب ۳۹، ۴۳، ۶۷ و ۶۸ درصد در مقایسه با شرایط نرمال کاهش یافت (شکل ۲). در سطح شوری ۹۰ میلی مولار کلرید سدیم بیشترین و کمترین فعالیت آنزیم آلفا آمیلاز به میزان ۴۱۰/۱ و ۲/۵ نانومول بر بذر بر دقیقه در ارقام هایولا ۳۳۰ و ساریگل ثبت شد (شکل ۲). جوانه‌زنی بذر فرایندی مشتمل از زنجیره فعالیت‌های بیوشیمیایی و فیزیولوژیک است که شامل فعال شدن تعدادی از آنزیم‌ها و تغییر در سطح تنظیم‌کنندگان رشد گیاهی است و شرایط محیطی نظیر تنش شوری بر این فرآیندهای فیزیولوژیک و بیوشیمیایی تأثیر دارند. یکی از نتایج تنش شوری در مرحله جوانه‌زنی کاهش فعالیت آنزیم آلفا آمیلاز است و کاهش فعالیت این آنزیم تحت تأثیر تنش شوری یکی از دلایل اصلی کاهش جوانه‌زنی و رشد اولیه گیاهچه است. کاهش فعالیت آنزیم آلفا آمیلاز در شرایط تنش شوری می‌تواند ناشی از آسیب به ساختار پروتئینی آنزیم یا ناشی از اختلال در چرخه فعالیت تنظیم‌کنندگان رشد نظیر اسید جیبرلیک باشد (Oliveira-Neto et al., 1998) که با نتایج آزمایش حاضر هم‌خوانی دارد. آنزیم آلفا آمیلاز یک آنزیم حیاتی در متابولیسم کربوهیدرات‌های بذر و تولید قندهای ساده قابل‌استفاده جنین در خلال جوانه‌زنی است (Kato-Noguchi and Macias, 2008) که تحت تأثیر شرایط محیطی نظیر شوری قرار می‌گیرد. در پژوهش حاضر ارقام ساریگل و هایولا ۴۰۱ در شرایط تنش شوری ۹۰ میلی مولار نمک کلرید سدیم از کاهش بیش از ۶۰ درصدی فعالیت آنزیم آلفا آمیلاز برخوردار بودند که منجر به افت شدید جوانه‌زنی این دو رقم شد. تحقیقات نشان داد تنش شوری سبب کاهش فعالیت آنزیم آلفا آمیلاز بذر گوجه‌فرنگی (Nawaz et al., 2010) و کلزا (Farhoudi, 2013) شد که کاهش شدید جوانه‌زنی و رشد گیاهچه این گیاهان را در پی داشت و با نتایج آزمایش حاضر همخوانی دارد.

جدول ۱. تجزیه واریانس (میانگین مربعات) تأثیر تنش شوری و رقم بر جوانه‌زنی و رشد گیاهچه ارقام کلزا

Table 1. Analysis of variance of the effect of salt stress and canola cultivar on canola germination and seedling growth

Source of variation	منابع تغییرات	درجه آزادی df	درصد جوانه‌زنی Germination percentage	فعالیت آنزیم آلفا آمیلاز α-amylase activity	طول ساقه‌چه Shoot lenght	طول ریشه‌چه Root lenght
Salinity (S)	شوری	3	2610.1**	098**	4.02*	5.55*
Cultivar (C)	رقم	3	1523.2**	0.64**	2.25**	7.28**
S × C	شوری×رقم	9	1855.1 **	0.71**	2. 81**	6. 06**
Error	خطای آزمایش	64	5.9	0.11	0.95	0.22
C.V%	ضریب تغییرات (٪)		9.8	1.8	6.3	2.3

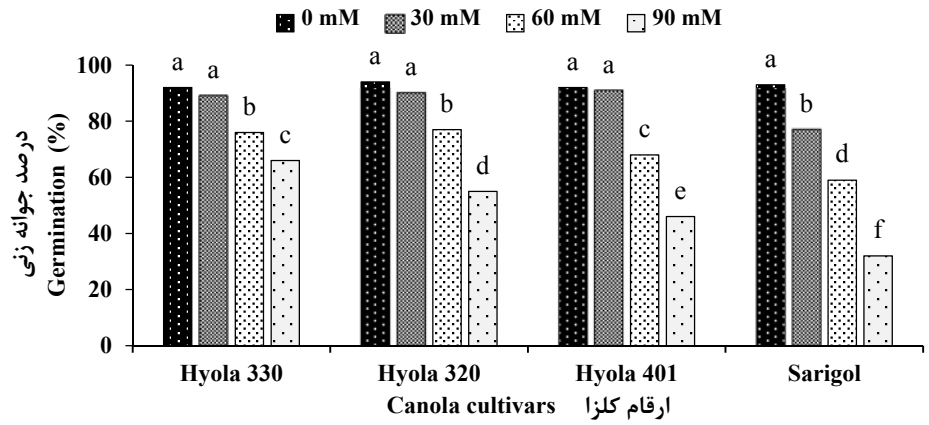
** و *: به ترتیب معنی‌دار در سطح احتمال یک و پنج درصد آماری

*, **Significant at the 0.05 and 0.01 probability levels, respectively.

طول ریشه‌چه و ساقه‌چه

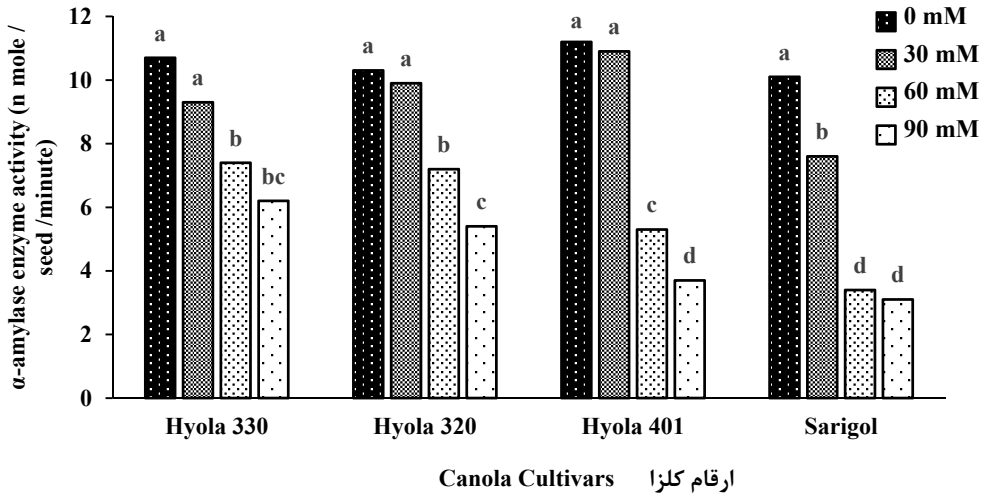
نتایج این آزمایش نشان داد مقادیر بالای نمک کلرید سدیم سبب کاهش معنی‌دار طول ریشه‌چه و ساقه‌چه ارقام موردمطالعه کلزا شد درحالی‌که در شرایط نرمال تفاوت معنی‌داری میان طول گیاهچه این ارقام مشاهده نشد (شکل ۳ و شکل ۴). در شرایط تنش شوری ۶۰ میلی مولار کلرید سدیم ارقام هایولا ۳۳۰ و هایولا ۳۲۰ و در شرایط تنش شوری ۹۰ میلی مولار کلرید سدیم رقم هایولا ۳۳۰ بیشترین طول ریشه‌چه را به خود اختصاص دادند. در شرایط تنش شوری ۹۰ میلی مولار کلرید سدیم طول ریشه‌چه ارقام هایولا ۳۳۰، هایولا ۳۲۰، هایولا ۴۰۱ و ساریگل در مقایسه با شرایط عدم تنش شوری به ترتیب ۲۷، ۳۸، ۴۰ و ۶۶ درصد کاهش یافت. رشد ساقه‌چه ارقام کلزای موردبررسی نیز تحت تأثیر تنش شوری ۶۰ و ۹۰ میلی مولار کلرید سدیم کاهش یافت بطوریکه در سطح شوری ۹۰ میلی مولار کلرید سدیم طول ساقه‌چه ارقام هایولا ۳۳۰، هایولا ۳۲۰، هایولا ۴۰۱ و ساریگل

به ترتیب ۳۲، ۳۶، ۴۸ و ۶۴ درصد کاهش یافت (شکل ۳ و شکل ۴). محققین کاهش رشد گیاهچه کلزا (Abbas Zadeh and Rezaie, 2013)، عدس (Bandeoglu et al., 2004) و سویا (Khajeh-Hosseini et al., 2003) تحت تأثیر تنش شوری را ناشی از کاهش آب قابل‌دسترس و تأثیر منفی یون‌ها بر رشد گیاهچه بیان نمودند. در پژوهش حاضر نیز کاهش قابل‌توجه رشد گیاهچه در شرایط تنش شوری قابل‌مشاهده است. در کنار کاهش فعالیت آنزیم آلفا آمیلاز که منجر به کاهش توانایی استفاده از ذخایر بذری در راستای جوانه‌زنی و رشد گیاهچه می‌شود (شکل ۲)، احتمالاً کاهش آب قابل‌دسترس بذر به دلیل تجمع یون‌ها و همچنین سمیت یون‌ها در ساختار گیاهچه می‌تواند از دلایل کاهش رشد ریشه‌چه و ساقه‌چه باشد. تنش شوری سبب کاهش معنی‌دار طول ساقه‌چه و ریشه‌چه ارقام کلزا شد. یکی از دلایل کاهش رشد گیاهچه کلزا، تأخیر در جوانه‌زنی کلزا نسبت به شرایط نرمال بود (Rahemi Karizaki, 2015).



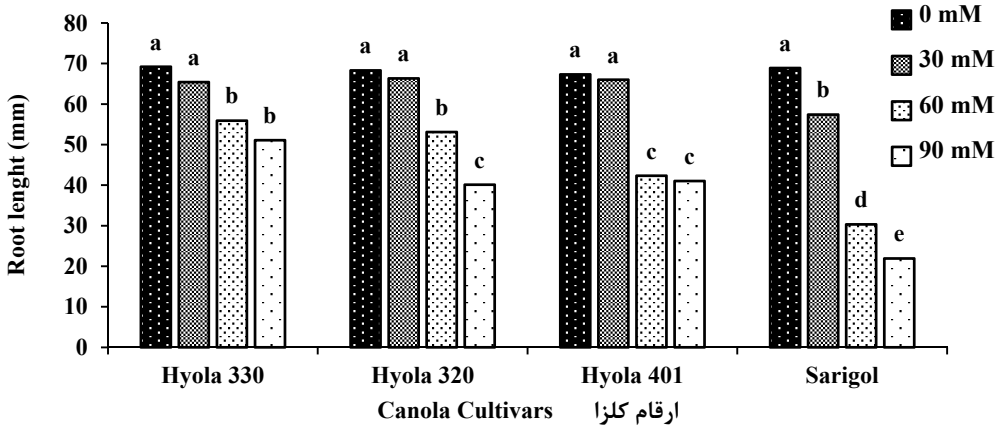
شکل ۱. اثر سطوح مختلف تنش شوری بر درصد جوانه‌زنی ارقام کلزا

Fig 1. Effect of different levels on germination percentage of canola cultivares



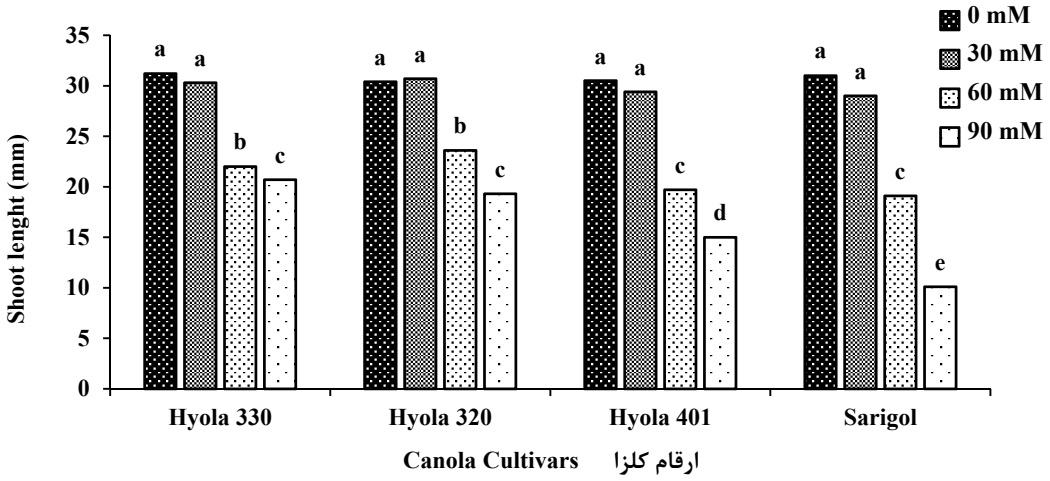
شکل ۲. اثر سطوح مختلف تنش شوری بر فعالیت آنزیم آلفاآمیلاز در ارقام مختلف کلزا

Fig 2. Effect of different levels on α-amylase enzyme activity of canola cultivares.



شکل ۳. اثر سطوح مختلف تنش شوری بر طول ریشه‌چه در ارقام مختلف کلزا

Fig 3. Effect of different levels of salinity stress on root length of canola cultivares



شکل ۴. اثر سطوح مختلف تنش شوری بر طول ساقه‌چه در ارقام مختلف کلزا

Fig 4. Effect of different levels of on shoot length of canola cultivares

آزمایش دوم

وزن خشک اندام هوایی

نتایج جدول ۳ نشان داد تنش شوری سبب کاهش معنی‌دار وزن خشک اندام ارقام کلزا شد و در این خصوص تفاوت قابل‌توجهی میان ارقام کلزا مشاهده شد. تنش شوری ۶۰ میلی مولار نمک کلرید سدیم وزن خشک تمام ارقام کلزا موردمطالعه را در مقایسه با شرایط نرمال و تنش شوری ۳۰ میلی مولار نمک کلرید سدیم کاهش داد و کمترین وزن خشک گیاهچه در رقم ساری‌گل مشاهده شد. در بالاترین سطح تنش شوری بیشترین و کمترین وزن خشک گیاهچه به میزان ۱/۷۲ و ۱/۲۷ میلی‌گرم در ارقام هایولا ۳۳۰ و ساریگل مشاهده شد. این سطح شوری سبب کاهش وزن خشک گیاهچه ارقام کلزا هایولا ۳۳۰، هایولا ۳۲۰، هایولا ۴۰۱ و ساریگل به میزان ۲۲، ۲۷، ۳۴ و ۴۱ درصد در مقایسه با شاهد شد. این نتایج بیانگر کاهش وزن خشک ارقام کلزا تحت تأثیر تنش شوری است زیرا در شرایط تنش شوری تجمع یون سدیم در برگ و تخریب غشاهای سلولی اندام فتوسنتز کننده موجب کاهش شدید تجمع ماده خشک در اندام هوایی کلزا شد (Ashraf and Ali, 2008) در پژوهش حاضر نیز ارقام ساریگل و هایولا ۴۰۱ که در شرایط تنش شوری کمترین وزن خشک اندام هوایی را به خود اختصاص دادند از بیشترین میزان تجمع یون سدیم، بیشترین میزان نشت پذیری غشا سلولی و کمترین غلظت یون پتاسیم برخوردار بودند که بیانگر حساسیت این دو رقم به تنش شوری است (جدول ۳). مانس (Munns, 2002) گزارش نمود بررسی وزن خشک گیاهان زراعی تحت تأثیر تنش شوری یک

معیار مناسب برای تمایز میان ارقام حساس به شوری و متحمل به شوری است که این نظر توسط سایر پژوهشگران نیز تأیید شده است (Ashraf and McNeilly, 2004؛ Bandeoglu et al., 2004) زیرا وزن خشک گیاه برآیند مکانیسم‌های تحمل تنش نظیر توزیع یون‌ها، سلامت غشاهای سلولی و پایداری شرایط فتوسنتزی گیاه است (Ashraf and McNeilly, 2004). نتایج جدول همبستگی (جدول ۴) نشان داد همبستگی مثبت و معنی‌داری میان وزن خشک گیاهچه با غلظت پتاسیم برگ، نسبت پتاسیم به سدیم و فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان وجود داشت درحالی‌که همبستگی منفی و معنی‌داری بین غلظت یون سدیم و نشت‌پذیری غشا سلولی با وزن خشک گیاهچه وجود داشت. این نتایج تأییدکننده تأثیر منفی تجمع یون سدیم و تخریب غشاهای سلولی بر رشد گیاهچه کلزا است درحالی‌که تجمع یون پتاسیم و افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان می‌تواند در تحمل شرایط تنش شوری به گیاهچه کمک نماید.

جدول ۲. تجزیه واریانس (میانگین مربعات) تأثیر تنش شوری و رقم بر خصوصیات گیاهچه ارقام کلزا

Table 2. Analysis of variance of the effect of salt stress and canola cultivar on canola seedling characteristics.

منابع تغییرات Source of variation		درجه آزادی Df	وزن خشک گیاهچه Seedling dry weight	غلظت سدیم برگ Leaf Na^+ concentration	نسبت پتاسیم به سدیم برگ K/Na ratio	غلظت پتاسیم برگ Leaf K^+ concentration	نشت‌پذیری غشاء سلولی Cell membrane leakage
Replication	تکرار	3	41.2**	6.4ns	0.02 ns	121.2**	17.8**
Salinity (S)	شوری	3	112.8**	114.1**	2.2**	733.1**	96.0**
Cultivar (C)	رقم	3	103.0**	312.0**	1.7**	405.7**	83.1*
S × C	شوری×رقم	9	124. 2**	208.0**	2.1 **	612.0*	93.1**
Error	خطای آزمایش	45	0.08	7.35	0.09	10.1	4.7
C.V (%)	ضریب تغییرات (٪)		*17.1*	*13.0*	*15.1*	*14.3*	*8.02*

Table 2. Continued **جدول ۲. ادامه**

منابع تغییرات Source of variation		درجه آزادی df	فعالیت آنزیم پراکسیداز POX activity	فعالیت آنزیم کاتالاز CAT activity	فعالیت آنزیم گلاتاتیون رداکتاز GR activity	غلظت کربوهیدرات‌های محلول برگ Soluble carbohydrates Concentration	غلظت پرولین برگ Proline Concentration
Replication	تکرار	3	56.2**	10.3**	45.0**	14.9*	0.00011**
Salinity (S)	شوری	3	183.4**	94.2**	51.4**	244.0**	0.012**
Cultivar (C)	رقم	3	210.1*	54.8**	61.3*	187.2**	0.014**
S × C	شوری×رقم	9	75.1**	12.7**	18.2**	53.7**	0.021**
Error	خطای آزمایش	45	0.76	0.25	0.098	14.2	0.00001
C.V (%)	ضریب تغییرات (٪)		*11.1*	*11.5*	*9.7*	*15.6*	*10.3*

ns، ** و *: به ترتیب غیر معنی‌دار، معنی‌دار در سطح احتمال یک و پنج درصد آماری

*, ** and ns: Significant at the 0.05 and 0.01 probability levels and non significant, respectively

غلظت یون‌های سدیم و پتاسیم برگ

نتایج جدول ۳ نشان داد غلظت سدیم برگ تحت تأثیر تنش شوری افزایش یافت. در شرایط نرمال تفاوت معنی‌داری بین سطوح یون سدیم برگ ارقام کلزا وجود نداشت. در سطح شوری ۳۰ میلی مولار نمک کلرید سدیم بیشترین غلظت یون سدیم در ارقام هایولا ۳۲۰ و ساری‌گل مشاهده شد (به ترتیب ۲/۲۱ و ۳۰/۱ میلی‌گرم بر گرم وزن خشک). در سطوح شوری ۶۰ و ۹۰ میلی مولار کلرید سدیم نیز بیشترین غلظت یون

سدیم در برگ ارقام هایولا ۴۰۱ و ساری‌گل مشاهده شد درحالی‌که کمترین غلظت این یون در سطح شوری ۹۰ میلی مولار کلرید سدیم در برگ رقم هایولا ۳۳۰ به میزان ۳۱/۲ میلی‌گرم بر گرم وزن خشک مشاهده گردید. بالاترین سطح تنش شوری غلظت یون سدیم برگ کلزا را در ارقام هایولا ۳۳۰، هایولا ۳۲۰، هایولا ۴۰۱ و ساریگل را به ترتیب ۶۸، ۷۲، ۷۶ و ۸۰ درصد در مقایسه با شرایط نرمال افزایش داد.

تنش شوری سبب کاهش معنی‌دار غلظت پتاسیم برگ ارقام کلزا شد. در سطح شوری ۶۰ میلی مولار نمک کلرید سدیم بیشترین غلظت یون پتاسیم در برگ ارقام هایولا ۳۳۰ و هایولا ۳۲۰ (به ترتیب ۲۳/۲ میلی‌گرم بر گرم وزن خشک و ۲۲/۴ میلی‌گرم بر گرم وزن خشک) مشاهده شد درحالی‌که غلظت این یون در رقم ساری‌گل به میزان ۱۲/۴ میلی‌گرم بر گرم وزن خشک مشاهده گردید. تفاوت غلظت یون پتاسیم در برگ ارقام کلزا در سطح شوری ۹۰ میلی مولار کلرید سدیم از روند مشابه سطح شوری ۶۰ میلی مولار نمک کلرید سدیم پیروی کرد (جدول ۳). تنش شوری غلظت پتاسیم ارقام هایولا ۳۳۰، هایولا ۳۲۰، هایولا ۴۰۱ و ساریگل را در مقایسه با شرایط نرمال به ترتیب ۴۰، ۴۲، ۶۰ و ۶۵ درصد کاهش داد. این نتایج نشان داد میزان افزایش غلظت یون سدیم و کاهش یون پتاسیم در شرایط شوری در ارقام هایولا ۴۰۱ و ساریگل بیشتر از دو رقم دیگر بود. نتایج این پژوهش نشان داد در سطح شوری ۶۰ میلی مولار نمک کلرید سدیم ارقام هایولا ۳۳۰ و هایولا ۳۲۰ بیشترین نسبت پتاسیم به سدیم برگ را داشتند و در سطح شوری ۹۰ میلی مولار نمک کلرید سدیم بیشترین میزان این صفت در رقم هایولا ۳۳۰ و پس‌ازآن در رقم هایولا ۳۲۰ مشاهده شد (جدول ۳).

جدول ۳. مقایسه میانگین اثر رقم و شوری بر خصوصیات ارقام کلزا

Table 3. Means comparison of the effect of cultivar and salinity on physiological characteristic of canola cultivars

cultivar	رقم	سطوح تنش شوری Salt Stress Levels	وزن گیاهچه Seedling Weight	غلظت سدیم برگ Leaf Na^+ concentration	غلظت پتاسیم برگ Leaf K^+ concentration	نسبت پتاسیم به سدیم برگ K/Na ratio
		(NaCl mM)	(g)	(mg/g/dw)	(mg/g/dw)	
Hyola 330	هایولا ۳۳۰	0	2.23 a	10.1 g	33.0 a	3.26 a
Hyola 320	هایولا ۳۲۰		2.17 a	8.3 g	28.7 a	3.45 a
Hyola 401	هایولا ۴۰۱		2.20 a	9.9 g	32.4 a	3.27 a
Sarigol	ساریگل		2.18 a	8.4 g	29.7 a	3.53 a
Hyola 330	هایولا ۳۳۰	30	2.12 a	14.2 f	30.4 a	2.14 b
Hyola 320	هایولا ۳۲۰		2.22 a	21.2 e	25.1 ab	1.18 c
Hyola 401	هایولا ۴۰۱		2.18 a	16.2 ef	21.4 b	1.32 c
Sarigol	ساریگل		1.86 ab	30.3 c	22.0 b	0.72 d
Hyola 330	هایولا ۳۳۰	60	1.79 b	26.1 d	23.2 b	0.88 d
Hyola 320	هایولا ۳۲۰		1.81 b	25.4 d	22.4 b	0.88 d
Hyola 401	هایولا ۴۰۱		1.75 b	37.0 b	17.1 c	0.45 f
Sarigol	ساریگل		1.51 cd	34.6 b	12.4 d	0.36 f
Hyola 330	هایولا ۳۳۰	90	1.72 b	31.2 c	20.5 bc	0.65 ef
Hyola 320	هایولا ۳۲۰		1.58 c	36.5 b	16.2 c	0.44 f
Hyola 401	هایولا ۴۰۱		1.44 d	43.7 a	13.0 d	0.29 g
Sarigol	ساریگل		1.27 e	41.4 a	9.9 e	0.23 g

Table 3. Continued **جدول ۳. ادامه**

cultivar	رقم	تنش شوری Salt Stress (NaCl mM)	نشت پذیری غشا سلولی Cell membrane leakage (%)	فعالیت آنزیم کاتالاز CAT activity (nmol H_2O_2 mg/Protein/ min)	فعالیت آنزیم پراکسیداز POX activity (U min/mg/ Protein)	فعالیت آنزیم گلاتاتیون رداکتاز GR activity (nmol NAPDH mg^{-1}protein min^{-1})	غلظت پرولین برگ Proline Concentratios (mg/g/fw)	کربوهیدرات‌های محلول برگ Soluble carbohydrates (mg /g/ fw)
Hyola 330	هایولا ۳۳۰	0	3e	1.1 c	2.2 f	1.25 e	0.009 e	11.8 d
Hyola 320	هایولا ۳۲۰		4e	1.2 c	2.5 f	1.21 e	0.012 e	12.7 d
Hyola 401	هایولا ۴۰۱		5e	1.4 c	2.7 f	1.27 e	0.008 e	12.0 d
Sarigol	ساریگل		3e	1.2 c	2.7 f	1.22 e	0.012 e	13.2 d
Hyola 330	هایولا ۳۳۰	30	4e	2.8 b	6.5 d	1.24 e	0.009 e	13.4 d
Hyola 320	هایولا ۳۲۰		4 e	2.8 b	6.9 d	1.17 e	0.010 e	13.0 d
Hyola 401	هایولا ۴۰۱		27c	1.3 c	6.2 d	1.31 e	0.011 e	11.2 d
Sarigol	ساریگل		25 c	1.4 c	3.2 e	1.14 e	0.012 e	14.7 d
Hyola 330	هایولا ۳۳۰	60	17d	4.7 a	10.3 b	3.98 b	0.049 a	28.0 b
Hyola 320	هایولا ۳۲۰		19 d	4.3 a	10.0 b	3.25 c	0.042 a	29.6 b
Hyola 401	هایولا ۴۰۱		35 b	2.7 b	8.4 c	3.10 c	0.026 c	18.9 c
Sarigol	ساریگل		39 b	2.6 b	5.9 d	3.04 c	0.018 d	17.0 c
Hyola 330	هایولا ۳۳۰	90	27c	4.5 a	14.2 a	5.12 a	0.052 a	35.4 a
Hyola 320	هایولا ۳۲۰		26 c	4.7 a	11.3 b	4.05 b	0.047 a	33.7 a
Hyola 401	هایولا ۴۰۱		54a	2.6 b	9.3 b	3.12 c	0.035 b	26.5 b
Sarigol	ساریگل		51a	2.7 b	3.7 e	2.34 d	0.024 c	23.2 bc

ns، ** و *: به ترتیب غیر معنی‌دار، معنی‌دار در سطح احتمال یک و پنج درصد آماری

*, ** and ns: Significant at the 0.05 and 0.01 probability levels and non significant, respectively

بررسی تغییرات غلظت یون سدیم و پتاسیم برگ کلزا در شرایط تنش شوری نشان داد تحت تأثیر تنش شوری تجمع یون سدیم در برگ کلزا روند افزایشی و تجمع یون پتاسیم روند کاهشی داشت که موجب اختلال در رشد گیاهچه کلزا شد (Kazemini and Pirasteh, 2016). در شرایط تنش شوری تجمع یون‌هایی نظیر کلر، سدیم و سولفات در بافت‌های گیاهی افزایش و غلظت یون‌های مفید نظیر کلسیم و پتاسیم کاهش می‌یابد. تجمع یون سدیم تحت تأثیر تنش شوری در گیاهچه گندم موجب کاهش رشد گندم شد (Poustini and Siosemardeh, 2004). مهم‌ترین عامل در بروز تنش شوری در گیاهان وجود مقادیر زیاد یون‌های تک‌ظرفیتی مضر مانند سدیم و کلر است (Munns, 2002) که در این شرایط یون‌های مضر جایگزین یون پتاسیم در جایگاه یونی مربوطه شده و سبب آسیب رساندن به ساختار بیوشیمیایی سلول می‌شود. از سوی دیگر کمبود پتاسیم در محیط سلولی سبب اختلال در جذب آب و کمبود یون پتاسیم می‌گردد که یک یون ضروری در فرآیند فتوسنتز و هدایت روزنه‌ای است (Ashraf, 2004). برخلاف یون سدیم، تجمع پتاسیم در بافت گیاهی در شرایط تنش شوری، موجب افزایش توانایی تحمل تنش شوری در گیاهان می‌گردد زیرا یون پتاسیم در شرایط تنش شوری موجب کاهش اثرات منفی یون‌های سدیم و کلر می‌شود (Munns, 2002). تحقیقات نشان داد که تجمع پتاسیم در برگ‌های گیاهان زراعی تحت تأثیر شوری موجب افزایش تحمل شوری شد زیرا یون پتاسیم قادر است اثرات منفی یون سدیم بر سلامت غشاهای سلولی را کاهش دهد (Cavalanti et al., 2013). بررسی نسبت پتاسیم به سدیم برگ یک صفت مناسب برای شناخت ارقام متحمل به شوری در گیاهان زراعی است (Poustini and Siosemardeh, 2004). بسیاری از پژوهشگران بررسی نسبت پتاسیم به سدیم برگ را به‌عنوان یک صفت مناسب

برای تعیین میزان تحمل گیاهان زراعی به تنش شوری گزارش نمودند زیرا افزایش نسبت پتاسیم به سدیم بیانگر کاهش جذب سدیم در شرایط تنش شوری یا جلوگیری از انتقال یون سدیم از ریشه به برگ‌ها است (Carden et al., 2003؛Cavalanti et al.,2007) که با نتایج آزمایش حاضر همخوانی دارد. این نتایج نشان می‌دهد ارقام هایولا ۳۳۰ و هایولا ۳۲۰ قادرند با جذب سدیم کمتر و حفظ سطح بیشتری از پتاسیم، شرایط تنش شوری را بهتر تحمل نمایند و در شرایط تنش شوری از وزن خشک گیاهچه بیشتری برخوردار بودند. بررسی نتایج جدول ۴ نشان داد همبستگی مثبت و معنی‌داری میان غلظت پتاسیم برگ و نسبت پتاسیم به سدیم با وزن خشک گیاهچه وجود داشت درحالی‌که همبستگی میان این دو صفت با غلظت سدیم برگ و نشت‌پذیری غشا سلولی منفی بود. این نتایج بیانگر آن است که در شرایط تنش شوری، مکانیسم جذب پتاسیم بیشتر می‌تواند تخریب غشاهای سلولی را کاهش داده و از تجمع یون سدیم در بافت‌های گیاهی بکاهد که با نتایج این پژوهش همخوانی دارد زیرا ارقام هایولا ۳۲۰ و هایولا ۳۳۰ در شرایط تنش شوری از غلظت بیشتر پتاسیم و غلظت کمتر یون سدیم و تخریب غشاهای سلولی برخوردار بودند.

جدول ۴. همبستگی میان صفات موردبررسی در آزمایش

Table 4. Correlation between parameters in experiment

		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
1	وزن خشک گیاهچه **Seedling dry Weight**	1									
2	غلظت سدیم برگ **Leaf Na^+ concentration**	- 0.85**	1								
3	غلظت پتاسیم برگ **Leaf K^+concentration**	0.93**	-0.61**	1							
4	نسبت پتاسیم به سدیم برگ **K/Na ratio**	0.88**	0.91**	-0.73**	1						
5	نشت پذیری غشا سلولی **Cell membrane leakage**	- 0.76**	-0.79**	0.92**	-0.88**	1					
6	فعالیت آنزیم پراکسیداز **POX activity**	0.68**	0.18ns	0.58*	-0.77**	-0.85**	1				
7	فعالیت آنزیم کاتالاز **CAT activity**	0.71**	0.05ns	0.73**	-0.84**	-0.74**	0.54**	1			
8	فعالیت گلاتاتیون رداکتاز **GR activity**	0.74**	0.49*	0.79**	-0.75**	-0.91**	0.68**	0.45*	1		
9	غلظت کربوهیدرات‌های محلول برگ **Soluble carbohydrates Concentration**	-0.53*	0.14ns	0.85*	0.42*	-0.61**	0.69**	0.59**	0.28*	1	
10	غلظت پرولین برگ **Proline Concentration**	0.12ns	0.07ns	0.71**	0.49*	-0.38**	0.12ns	-0.07ns	0.05ns	0.03ns	1

ns، ** و *: به ترتیب غیر معنی‌دار، معنی‌دار در سطح احتمال یک و پنج درصد آماری

*, ** and ns: Significant at the 0.05 and 0.01 probability levels and non significant, respectively

نشت غشاهای سلولی و فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان

تنش شوری سبب افزایش نشت پذیری غشا سلولی ارقام کلزا و تغییر در میزان فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان موردبررسی شد (جدول ۳). نتایج بیانگر آسیب جدی تنش شوری به غشاء سلولی ارقام هایولا ۴۰۱ و ساریگل در سطوح شوری ۶۰ و ۹۰ میلی مولار کلرید سدیم است زیرا میزان تخریب غشا سلولی و نشت‌پذیری این غشا در این ارقام و در این سطح شوری بیش از ۵۰ درصد بود. ارقام هایولا ۳۳۰ و هایولا ۳۲۰ نیز در سطوح شوری ۶۰ و ۹۰ میلی مولار کلرید سدیم پایدارترین غشا سلولی را داشتند. فرهودی (Farhoudi, 2013) بیان نمود تنش شوری سبب تخریب غشاهای سلولی، کاهش

فعالیت آنزیم آلفا آمیلاز و کاهش جوانه‌زنی بذر ارقام کلزا شد که با نتایج آزمایش حاضر هم‌خوانی دارد. درواقع می‌توان گفت تنش شوری سبب تخریب غشای سلولی و افزایش نشت‌پذیری متابولیت‌های سلولی در طی دوره رشد گیاهچه کلزا شد و میزان این تخریب غشا سلولی در ارقام حساس به شوری بیشتر بود که با نتایج تحقیقات کایا و همکاران (Kaya et al., 2006) همخوانی دارد.

در شرایط تنش شوری میزان فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان کاتالاز و پراکسیداز در ارقام هایولا ۳۲۰ و هایولا ۳۳۰ به میزان معنی‌داری بیش از دو رقم دیگر بود. در شرایط تنش شوری ۹۰ میلی مولار کلرید سدیم میزان فعالیت آنزیم پراکسیداز ارقام هایولا ۳۳۰، هایولا ۳۲۰، هایولا ۴۰۱ و ساریگل در مقایسه با شرایط نرمال به ترتیب ۸۴، ۷۷، ۷۰ و ۲۷ افزایش یافت (جدول ۳). بررسی تغییرات فعالیت آنزیم گلاتاتیون رداکتاز نیز نشان داد تنش شوری ۶۰ میلی مولار نمک کلرید سدیم سبب افزایش معنی‌دار فعالیت این آنزیم در مقایسه با سطح تنش شوری ۳۰ میلی مولار نمک کلرید سدیم شد. بررسی فعالیت آنزیم گلاتاتیون رداکتاز در سطح تنش شوری ۹۰ میلی مولار نمک کلرید سدیم بیانگر افزایش معنی‌دار فعالیت این آنزیم در ارقام هایولا ۳۳۰، هایولا ۳۲۰ و هایولا ۴۰۱ و ساریگل در مقایسه با شرایط نرمال به میزان ۷۵ درصد، ۷۰ درصد و ۵۹ درصد و ۴۷ درصد در مقایسه با شرایط عدم تنش شد. پژوهش حاضر نشان داد افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان در گیاهچه کلزا منجر به کاهش تخریب غشا سلولی ناشی از اثرات منفی رادیکال‌های آزاد اکسیژن می‌گردد زیرا ارقام هایولا ۳۳۰ و هایولا ۳۲۰ در سطوح شوری بالا از فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان بیشتری برخوردار بودند که منجر به افزایش پایداری غشا سلولی گیاهچه این ارقام در مقایسه با ارقام هایولا ۴۰۱ و ساری‌گل شد. آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان با پاک‌سازی سلول از انواع رادیکال‌های آزاد اکسیژن، موجب حفظ پایداری غشا سلولی و عملکرد مناسب آنزیم‌های گیاهی می‌شوند (Oracz et al., 2007). در شرایط تنش‌های محیطی نظیر شوری، تجمع رادیکال‌های آزاد اکسیژن در محیط سلول موجب بروز تنش اکسیداتیو می‌شود و فعالیت مناسب آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان در این شرایط به حفظ پایداری سلول و حذف رادیکال‌های آزاد اکسیژن در شرایط تنش کمک می‌کند. محققین همبستگی مثبت میان افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان و حذف رادیکال‌های آزاد اکسیژن و پایداری غشا سلولی تحت تأثیر تنش شوری در گیاهان مختلف ازجمله کلزا را گزارش نمودند (Ashraf and Ali, 2008). کاهش فعالیت آنزیم گوایکول پراکسیداز و گلاتاتیون رداکتاز در رقم ساری‌گل تحت تأثیر شوری ۹۰ میلی مولار کلرید سدیم در مقایسه با سطح شوری ۶۰ میلی مولار کلرید سدیم احتمالاً به دلیل ساختار پروتئینی این آنزیم تحت تأثیر شوری شدید است. اگرچه افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان تحت تأثیر تنش‌های محیطی گزارش‌شده است اما باید توجه نمود که ساختار آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان، پروتئینی است و ممکن است تحت تأثیر تجمع یون سدیم و تخریب غشاهای سلولی یا اثرات ثانویه ناشی از تجمع یون سدیم امکان تخریب ساختار پروتئینی آنزیم‌ها نیز وجود دارد (Munns, 2002). وجود همبستگی منفی میان میزان نشت‌پذیری غشاء سلولی و فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان (جدول ۴) بیانگر نقش مثبت این آنزیم‌ها در محافظت از ساختارهای سلولی و پاک‌سازی محیط سلول است زیرا تخریب غشاهای سلولی که عمدتاً از اسیدهای چرب به همراه ترکیبات پروتئینی و کربوهیدرات تشکیل‌شده‌اند در شرایط تنش‌های محیطی، فرآیندهای فیزیولوژیک گیاهی را تحت تأثیر قرار می‌دهند. می‌توان گفت ارقام هایولا ۳۳۰ و هایولا ۳۲۰ که از فعالیت بیشتر آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان برخوردار بودند در شرایط تنش شوری از پایداری غشا سلولی و وزن گیاهچه بیشتری نیز برخوردار بودند.

غلظت کربوهیدرات‌های محلول و پرولین برگ

بررسی تغییرات غلظت پرولین و کربوهیدرات‌های محلول برگ نشان داد تنش شوری سبب افزایش غلظت کربوهیدرات‌های محلول و پرولین برگ ارقام کلزا شد (جدول ۳). در شرایط تنش شوری ۶۰ میلی مولار نمک کلرید سدیم و ۹۰ میلی مولار نمک کلرید سدیم بیشترین میزان کربوهیدرات‌های محلول برگ در ارقام هایولا ۳۳۰ و هایولا ۳۲۰ مشاهده شد درحالی‌که کمترین غلظت کربوهیدرات‌های محلول برگ در ارقام ساری‌گل و هایولا ۴۰۱ مشاهده گردید. بررسی تغییرات غلظت کربوهیدرات‌های محلول برگ در ارقام هایولا ۳۲۰، هایولا ۳۳۰، هایولا ۴۰۱ و ساریگل در سطح شوری ۹۰ میلی مولار کلرید سدیم حاکی از افزایش غلظت کربوهیدرات‌های محلول برگ به میزان ۶۶، ۶۲، ۵۴ و ۴۲ درصد در این ارقام در مقایسه با شرایط نرمال بود. بررسی غلظت پرولین برگ ارقام کلزا نیز نشان داد در سطوح شوری

۶۰ و ۹۰ میلی مولار نمک کلرید سدیم همواره ارقام هایولا ۳۳۰ و هایولا ۳۲۰ از بیشترین غلظت پرولین برگ در مقایسه با سایر ارقام برخوردار بودند (جدول ۳). تحقیقات نشان داد افزایش سطح تنش شوری سبب افزایش غلظت پرولین و کربوهیدرات‌های محلول در ارقام کلزا شد (Atlasi Pak et al., 2017). پرولین یک آمینواسید بوده که در گیاهان عالی در واکنش به تنش‌های محیطی تولید آن افزایش‌یافته و تجمع می‌یابد. علاوه بر نقش آن در تنظیم اسمزی و در ثبات ساختار سلولی، به‌عنوان زداینده رادیکال‌های آزاد تحت تنش شوری نیز می‌تواند عمل کند. بررسی نتایج جدول همبستگی نشان داد علی‌رغم نقش کربوهیدرات‌های محلول برگ به‌عنوان اسمولیت و کمک به حفظ رطوبت گیاه در شرایط تنش شوری، همبستگی منفی و معنی‌داری بین غلظت کربوهیدرات‌های محلول و وزن خشک گیاهچه وجود داشت. احتمالاً به دلیل افزایش مصرف انرژی گیاه برای تولید کربوهیدرات‌های محلول برگ و تجمع این ترکیبات در ساختار سلولی به‌جای مصرف شدن در فرآیند رشد گیاهی، این همبستگی منفی مشاهده می‌شود. از سوی دیگر همبستگی مثبت بین غلظت کربوهیدرات‌های محلول برگ و پرولین با غلظت سدیم برگ نشان می‌دهد که این دو اسمولیت در واکنش به افزایش غلظت سدیم در محیط سلولی افزایش می‌یابند. این نتایج نشان داد که بین غلظت این دو اسمولیت و میزان نشت‌پذیری غشا سلولی در گیاهچه‌های کلزا همبستگی منفی و معنی‌داری وجود داشت که بیانگر نقش مثبت کربوهیدرات‌های محلول و پرولین در محافظت از غشاهای سلولی است. ازجمله عکس‌العمل‌های فیزیولوژیک به تنش شوری سنتز اسمولیت‌های سازگار نظیر کربوهیدرات‌های محلول برگ و پرولین است. این ترکیبات آلی در تنظیم اسمزی دخالت دارند و موجب حفاظت ساختمان اندامک‌های مختلف سلول از خسارت‌های اکسیداتیو می‌شود (Smirnoff, 1993).

نتیجه‌گیری

نتایج این پژوهش نشان داد تنش شوری موجب کاهش جوانه‌زنی، رشد گیاهچه و وزن گیاهچه ارقام کلزا موردمطالعه شد و در این میان ارقام هایولا ۳۲۰ و هایولا ۳۳۰ در شرایط تنش شوری از درصد جوانه‌زنی و وزن خشک گیاهچه بیشتری برخوردار بودند. تحمل نسبی شرایط تنش در این دو رقم تحت تأثیر فعالیت بیشتر آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان، تجمع کمتر یون سدیم، نسبت بیشتر پتاسیم به سدیم برگ و همچنین تجمع اسمولیت‌های سازگار در برگ نظیر کربوهیدرات‌های محلول و پرولین بود. از سوی دیگر ارقام ساریگل و هایولا ۴۰۱ که در شرایط تنش شوری از وزن خشک کمتری برخوردار بودند از غلظت سدیم برگ و فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان کمتری برخوردار بودند. همبستگی مثبت و معنی‌داری میان وزن خشک گیاهچه با تجمع یون پتاسیم و فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان مشاهده شد درحالی‌که تجمع یون سدیم و تخریب غشاهای سلولی همبستگی منفی با وزن خشک گیاهچه کلزا نشان داد. این نتایج نشان می‌دهد توجه به فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان و تجمع یون‌ها در بافت‌های فتوسنتزی در شناخت ارقام متحمل به شوری کلزا می‌تواند مفید باشد.

قدردانی

این پژوهش با حمایت مالی دانشگاه آزاد اسلامی واحد شوشتر در قالب طرح پژوهشی انجام شد که بدین‌وسیله از حوزه معاونت پژوهش و فناوری دانشگاه آزاد اسلامی واحد شوشتر قدردانی می‌گردد.

منابع

Abbas Zadeh, F., Rezaie, R., 2013. Effect of different levels of salinity on germination characteristics of various canola cultivars. Journal of Seed Research. 2, 23-34 [In Persian with English Summary].

Agrawal, S., Sairam, R.K., Srivasta, G.C., Tyagi, A., Meena, R.C., 2005. Role of ABA, salicylic acid, calcium and hydrogen peroxide on antioxidant enzymes induction in wheat seedling. Plant Science. 169, 559-570.

Ashraf, M., 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.

Ashraf, M., McNeilly, T., 2004. Salinity tolerance in Brassica oilseeds. Critical Review of Plant Science. 23, 157-174.

Atlasi Pak, V., 2016. Effect of salinity stress on growth and ion distribution in tolerant and sensitive cultivars of rapeseed. Journal of Production and Processing of Agricultural and Horticultural Products. 20, 71-82 [In Persian with English Summary].

Bandeoglu, E., Eyidogan, F., Yucel, M. Oktem, H.A., 2004. Antioxidant response of shoots and roots of lentil to NaCl salinity stress. Plant Growth Regulation. 42, 69-77.

Bates, L.S., Waldre, R.P., Teare, I.D., 1973. Rapid determination of free proline for water stress studies. Plant and Soil. 39, 205- 208.

Bhattacharjee, S., Mukherjee, A.K., 2002. Salt stress induced cytosolute accumulation, antioxidant response and membrane deterioration in three rice cultivars during germination. Seed Science and Technology. 30, 279-287.

Carden, D.E., Wakker, D.J., Flowers, T.J., Miller, A.J., 2003. Single cell measurement of the concentration of cytosolic Na+ and K+ to salt tolerance. Plant Physiology. 131, 676-685.

Cavalanti, F.R., Lima, J.P.M.S., Silva, S.L.F., Viegas, R.A. Silveira, J.A.G., 2007. Roots and leaves display contrasting oxidative response during salt stress and recovery in cowpea. Journal of Plant Physiology. 164, 591-600.

Chance, C.M., 1995. Assay of Catalase and Peroxidases, Methods in Enzymology. 11, 764-775.

Dubois, M., Gilles, K.A., Hamilton, J.K., Rebers, P.A., Smith, F., 1956. Colorimetric method for determination of sugars and related substances. Analytical Chemistry. 28, 350-356.

Farhoudi, R., 2013. Effect of salinity stress on α-amylase activity, cell membrane leakage and seedling growth of canola cultivars. Journal of Plant Process and Function. 1, 14-24. [In Persian with English summary].

Kafi, M., Rostami, M., 2008. Yield characteristic and oil content of three safflower (*Carthamus tinctorius*) cultivars under drought in reproductive stage and irrigation with saline water. Iranian Journal of Agricultural Research. 5, 121-131 [In Persian with English Summary].

Kato-Noguchi, H., Macias, F.A., 2008. Inhibition of germination and α-amylase induction by 6-methoxy-2-benzoxazolinone in twelve plant species. Biological Plantarum. 52, 351-354.

Kaya, M.D., Okcu, G., Atak, M., Cikihi, Y., Kolsarici, O., 2006. Seed treatments to overcome salt and drought stress during germination in sunflower (*Helianthus annuus* L.). European Journal of Agronomy. 24, 291–295.

Khajeh Hosseini, M., Powell, A.A., Bingham, I.J., 2003. The interaction between salinity stress and seed vigor during germination of Soyabean seeds. Seed Science and Technology, 31, 715-725.

Mahmood, S., Athar, H., 2003. Germination and growth of *Panicum turgidum* provenance under saline conditions. Pakistan Journal of Biological Sciences. 6, 164-166.

Munns, R., 2002. Comparative physiology of salt and water stress. Plant, Cell and Environment. 25, 239-250.

Munns, R., James, R. A., 2003. Screening methods for salinity tolerance: a case study with tetraploid wheat. Plant and Soil. 253, 201-218.

Munns, R., Tester, M., 2008. Mechanisms of salinity tolerance. Annual Review of Plant Biology. 59, 651-681.

Nawaz, K., Talat, A.I., Hussain, K., Majeed, A., 2010. Induction of salt tolerance in two cultivars of sorghum (*Sorghum bicolor* L.) by exogenous application of proline at seedling stage. World Applied Sciences Journal. 10, 93-99.

Oracz, K., El-Maarouf Bouteau, H., Farrant, J.M., Cooper, K., Belghazi, M., Job, C., Job, D., Corbineau, F., Bailly, C., 2007. ROS production and protein oxidation as a novel mechanism for seed dormancy alleviation. Plant Journal. 50, 452–465

Owen, C.P., 1992. Plant analysis reference producers for the southern region of the United States. The University of Georgia. PP: 33-45.

Poustini, K., Siosemardeh, A., 2004. Ion distribution in wheat cultivars in response to salinity stress. Field Crops Research. 85(2), 125-133.

Rahemi Karizaki, A., 2015. Evaluation of resistance to salinity levels of canola cultivars during germination and early seedling growth. Journal of Seed Research. 4, 1-9 [In Persian with English summary].

Rnjbar, G.H., Pirasteh Anosheh, H., 2015. A glance to the salinity research in Iran with emphasis on improvement of field crops production. Iranian Journal of Crop Science. 17,165-178 [In Persian with English summary].

Rao, A., Ahmad, S.D., Sabir, S.M., Awan, S.I., Shah, A.H., Abbas, S.R., Shafique, S., Khan, F., Chaudhary, A., 2013. Potential antioxidant activities improve salt tolerance in ten cultivars of wheat (*Triticum aestivum* L.). American Journal of Plant Science. 4, 69-76.

Schmitz, N., Robert, E.M.R., Verheyden, A., Kairo, J.G., Beeckman, H., Koedam, N., 2008. A patchy growth via successive and simultaneous cambia: Key to success of the most widespread mangrove species *Avicennia marina*. Annals of Botany. 101, 49–58.

Smirnoff, N., 1993. The role of active oxygen in the response of plants to water deficit and desiccation. New Phytologist. 1, 27-58.

Ul-Haq, T., Akhtar, J., Haq, M.A., Hussain, M., 2002. Effect of soil salinity on concentration of Na^+, K^+ and Cl^- in the leaf sap of four Brassica species. International Journal of Agriculture of Biology. 4, 385–388.

Valentovic, P., Luxova, M., Kolarovi, L., Gasparikora, O., 2006. Effect of osmotic stress on compatible solutes content, membrane stability and water relation in two maize. Plant Soil and Environment. 52, 186-191.

Zarnaghi, A., Torchi, M., 2015. Grouping rapeseed cultivars using morphological and physiological traits related to salinity. Environmental Stresses in Crop Sciences. 7, 233-244 [In Persian with English Summary].