تنش‌های محیطی در علوم زراعی
Environmental Stresses in Crop Sciences
جلد یازدهم، شماره اول، بهار ۱۳۹۷
۱۴۹-۱۵۷
http://dx.doi.org/10.22077/escs.2017.183.1048

بررسی برخی صفات مورفولوژیک، بیوشیمیایی و فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان در شلغم‌های بومی ایران در شرایط تنش شوری ناشی از کلرید سدیم

محمد امیریان مجرد[۱]، محمدرضا حسندخت[۲]، وحید عبدوسی[۳*]، سیدعلی طباطبائی[۴]، کامبیز لاریجانی[۵]

۱. دانشجوی دکترا سبزی‌کاری، گروه علوم باغبانی، واحد علوم و تحقیقات، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران.
۲. استاد، پردیس کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه تهران.
۳. استادیار، گروه علوم باغبانی، واحد علوم و تحقیقات، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران.
۴. استادیار، بخش تحقیقات اصلاح و تهیه نهال و بذر، مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی استان یزد، ایران.
۵. استادیار، گروه شیمی، واحد علوم و تحقیقات، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران.

تاریخ دریافت: ۹۵/۰۵/۱۱؛ تاریخ پذیرش: ۹۵/۱۱/۱۷

چکیده

شوری یکی از مهم‌ترین تنش‌های محیطی است که از راه‌های مختلف بر عملکرد و بهره‌وری سیستم‌های گیاهی در سطوح مختلف رشدی اثر می‌گذارد. شلغم با نام علمی (*Brassica rapa* L. subsp. *rapifera*) به‌عنوان منبع غذایی سلامتی بخش قوی، حاوی انواع آنتی‌اکسیدان‌ها بوده و ایران یکی از مراکز اصلی تنوع آن است. توده‌های بومی دارای مجموعه‌ای از صفات مورفولوژیک، فیزیولوژیک و فنولوژیک هستند که موجب افزایش بازده استفاده از آب موجود در خاک در محیط‌های شور و خشک می‌شوند. مطالعه حاضر با هدف بررسی واکنش توده‌های بومی شلغم ایران به تنش شوری ناشی از کلرید سدیم ازنظر صفات مورفولوژیکی، بیوشیمیایی و فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان، برای درک بهتر سازوکارهای مقاومت به شوری و دستیابی به منابع ژنتیکی مطلوب انجام گرفت. توده‌های شلغم شامل اردکان، شیراز و کرمانشاه، در چهار سطح شوری صفر، ۶۰، ۱۲۰ و ۱۸۰ میلی مولار کلرید سدیم به‌صورت آزمایش فاکتوریل بر پایه طرح کاملاً تصادفی در محیط کنترل‌شده، با سه تکرار موردبررسی قرار گرفتند. نتایج این مطالعه نشان داد که صفات مورفولوژیک، شامل زیست‌توده اندام هوایی و ریشه تحت تأثیر تنش شوری قرار گرفتند، ولی تنش‌های شدید شوری (۱۲۰ و ۱۸۰ میلی‌مولار)، تأثیر معنی‌داری بر صفات فوق نداشتند. در این بررسی، با افزایش شوری میزان پرولین و مالون دی آلدئید در تمام توده‌ها افزایش و مقدار فنول کل کاهش یافت. توده حساس کرمانشاه دارای بیشترین مقدار پرولین و مالون دی آلدئید بود. فعالیت آنزیم‌های سوپر اکسید دیسموتاز و کاتالاز، تحت تأثیر تنش شوری، افزایش یافتند و این افزایش در توده حساس به شوری کرمانشاه بیشتر از سایر توده‌های شلغم بود. بین میزان فعالیت آنزیم‌های سوپر اکسید دیسموتاز و کاتالاز با مالون دی آلدئید برگ رابطه منفی (۰/۸۸-، ۰/۹۱**-) وجود داشت. احتمالاً در توده کرمانشاه تولید بیشتر آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان سبب مقاومت و اجتناب از تنش شوری در این توده شده است.**

واژه‌های کلیدی: **شوری، پرولین، مورفولوژی، فیزیولوژی، *Brassica rapa***

مقدمه

شلغم با نام علمی (*Brassica rapa* L. subsp. *rapifera*) به‌عنوان منبع غذایی سلامتی بخش قوی، حاوی انواع آنتی-اکسیدان‌ها مانند ویتامین‌ها و گلوکوزینولات‌ها است (Noreen et al., 2010). شلغم به‌صورت تازه و خشک‌شده به‌عنوان تغذیه انسان استفاده می‌شود، بذر و ریشه و برگ آن مصرف دارویی داشته و گونه‌هایی ازآن‌جهت علوفه و خوراک دام مورداستفاده قرار می‌گیرند (Zargari, 1997). این گیاه در دامنه وسیعی از شرایط آب و هوایی نیمه‌گرمسیری، معتدل و سرد کشت می‌شود (Dixon, 2007). کاشت و پرورش شلغم بیشتر در مناطق حاشیه مدیترانه، جنوب غربی

* نگارنده پاسخگو: وحید عبدسی. پست الکترونیک: abdossi@srbiau.ac.ir

و مرکز آسیا ازجمله ایران است (Rubatzky and Yamaguchi, 1997). توده‌های بومی طی سالیان متمادی به‌خوبی به شرایط سخت محیطی سازگار شده و دارای مجموعه‌ای از صفات مورفولوژیک، فیزیولوژیک و فنولوژیک می‌باشند که درنتیجه آن از سازوکارهایی برخوردارند که موجب افزایش بازده استفاده از آب موجود در خاک در محیط‌های شور و خشک می‌گردد (Ashraf, 1999).

شوری یکی از مهم‌ترین تنش‌های محیطی است که از راه‌های مختلف بر عملکرد و بهره‌وری سیستم‌های گیاهی در سطوح مختلف رشدی اثر می‌گذارد. پاسخ گیاهان به شوری شامل فرآیندهای متعددی است که باید در جهت کاهش تنش اکسیداتیو و عدم تعادل یون‌ها باشد، علاوه بر این، گیاهان زراعی باید قادر به تولید زیست‌توده رضایت‌بخش در یک محیط شور (ثبات عملکرد) باشند. در بین تنش‌های محیطی، شوری و خشکی بیشترین اثر را بر گیاهان زراعی دارند و می‌توان گفت علت اصلی آن کیفیت نامناسب آب مورداستفاده در کشاورزی است (Corwin et al., 2007; Flowers, 2004). تجمع پرولین در شرایط تنش شوری، بیش از سایر اسیدهای آمینه صورت می‌گیرد که می‌تواند در تنظیم اسمزی و احتمالاً حفظ فعالیت آنزیمی گیاه نقش داشته باشد (Gad, 2005). این ماده فسفولیپیدهای غشاء سلول را در مقابل تخریب، حفظ و به‌عنوان خنثی‌کننده رادیکال هیدروکسیل عمل می‌نماید (Samaras et al., 1995). گیاهان مقاوم به تنش، از توانایی بیشتر سنتز پرولین و متعاقب آن از پایداری بیشتر غشاء برخوردار هستند که نتیجه آن، هدررفت کمتر آب از طریق غشاهای سلولی است (Valentovic et al., 2006).

سازوکارهایی که تنش اکسیداتیو را کاهش می‌دهند، نقش مهمی در بهبود تحمل به شوری ایفا می‌کنند (Sairam et al., 2002). به هنگام تنش اکسیداتیو به دلایل مختلف گونه‌های فعال اکسیژن تشکیل می‌شوند. کلروپلاست‌ها، میتوکندری‌ها، پراکسیزوم‌ها و غشاهای سلولی جایگاه اصلی تولید رادیکال‌های آزاد محسوب می‌شوند. گونه‌های فعال اکسیژن شامل رادیکال‌های آزاد (سوپر اکسید و هیدروکسیل) و اشکال غیر رادیکالی (پراکسید هیدروژن و اکسیژن یکتایی) می‌باشند (Gill and Tuteja., 2010)، که در صورت ضعف مکانیسم‌های حفاظتی منجر به تخریب سلولی به‌وسیله اکسیداسیون لیپیدها، پروتئین‌ها و اسیدهای نوکلئیک خواهند شد (Beltagi, 2008). گونه‌های فعال اکسیژن در همه گیاهان در مقادیر مختلف طی متابولیسم طبیعی تولید می‌شوند ولی افزایش و تجمع بیش‌ازحد آن‌ها در شرایط نامطلوب ایجاد می‌شود. گونه‌های فعال اکسیژن فرآیندهایی مانند رشد و نمو، چرخه سلولی، مرگ سلولی برنامه‌ریزی‌شده، پاسخ به تنش‌های غیرزیستی و دفاع در برابر پاتوژن‌ها را کنترل می‌کنند (Gill and Tuteja., 2010). برای غلبه بر آثار اکسیداتیو القاشده از شوری، گیاهان دارای سیستم دفاعی کارآمدی هستند که می‌توانند رادیکال‌های آزاد را از بین برده و یا خنثی کنند. این سیستم دفاعی شامل آنزیم‌های سوپر اکسید دیسموتاز، کاتالاز و آسکوربیک پراکسیداز است (Mudgal et al., 2010). بررسی تغییرات فیزیولوژیک و بیوشیمیایی ایجادشده در محیط تنش برای فهم بیشتر سازوکارهای مقاومت به شوری در گیاه و دستیابی به منابع ژنتیکی آن برای برنامه‌های اصلاحی، ضروری است (Pardo et al., 2000; Dadashi et al., 2007). با توجه به اطلاعات محدود موجود درزمینه واکنش فیزیولوژیک و بیوشیمیایی ارقام شلغم نسبت به شوری، به‌ویژه در توده‌های بومی، به‌منظور بررسی پاسخ مورفولوژیکی، بیوشیمیایی و آنزیمی توده‌های بومی شلغم نسبت به تنش شوری، این تحقیق به اجرا گذاشته شد.

مواد و روش‌ها

این آزمایش با سه توده شلغم شامل اردکان (متحمل به شوری)، شیراز (نیمه متحمل به شوری) و کرمانشاه (حساس به شوری) که در آزمایش جداگانه‌ای انتخاب شدند، در محیط کنترل‌شده با دمای روز و شب، به ترتیب ۲۶ و ۱۲ درجه سانتی‌گراد و دوره روشنایی و تاریکی به ترتیب ۱۴ و ۱۰ ساعت، در چهار تیمار شوری آب آبیاری شامل صفر (شاهد)، ۶۰، ۱۲۰ و ۱۸۰ میلی مولار به‌صورت آزمایش فاکتوریل در قالب طرح پایه کاملاً تصادفی با سه تکرار در مرکز تحقیقات کشاورزی یزد در سال ۱۳۹۲ اجرا شد. بذور قبل از کاشت با هیپوکلرید سدیم پنج درصد به مدت دو دقیقه ضدعفونی شدند و پس از شستشو با آب مقطر در گلدان‌های پلاستیکی به قطر ۳۰ سانتی‌متر و ارتفاع ۵۰ سانتی‌متر، حاوی ماسه شسته و پرلیت کشت گردیدند. آبیاری به‌طور یکنواخت (به‌صورت وزنی و با توجه به ظرفیت اشباع خاک) به مدت ۱۴ روز و به فاصله دو روز در میان انجام شد. تیمارهای شوری نیز برای جلوگیری از شوک اسمزی به‌تدریج از ۳۰ میلی مولار

کلرور سدیم از مرحله چهار برگی شروع شد و غلظت‌های بیشتر به‌تدریج در طی ۱۶ روز به گلدان‌ها اضافه گردید.

هشت هفته پس از اعمال تیمار شوری، ابتدا نمونه‌برداری برای صفات بیوشیمیایی از جوان‌ترین برگ بالغ انجام شد و نمونه‌ها پس از توزین، در بسته‌های مشخص در دمای ۸۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری شده و به‌تدریج در سنجش‌ها مورداستفاده قرار گرفتند. سپس بوته‌ها از خاک بیرون آورده شده، اندام هوایی از ریشه جدا و جهت تعیین زیست‌توده، در آون ۷۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۴۸ ساعت (با رسیدن به وزن ثابت) خشک و توزین گردیدند. برای اندازه‌گیری پرولین برگ از روش بیتس و همکاران (Bates et al., 1973) و فنول کل با استفاده از معرف فولین[1] به روش جاکنن (Julkunen-Tiitto, 1985) و برای سنجش مالون دی آلدئید از روش اوکاوا و همکاران (Ohkawa et al., 1979) استفاده شد. فعالیت آنزیم‌های کاتالاز و سوپر اکسید دیسموتاز نیز به ترتیب به روش (Aebi, 1984) و مینامی و یوشیکاوا (Minami and Yoshikawa, 1979) اندازه‌گیری گردیدند. برای تجزیه آماری داده‌ها از نرم‌افزار SAS و به‌منظور مقایسه میانگین‌ها از آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح احتمال پنج درصد استفاده شد.

نتایج و بحث

وزن خشک اندام هوایی و ریشه

اختلاف بین توده‌ها و تیمارهای مختلف شوری ازنظر وزن تر و خشک شاخساره معنی‌دار بود، ولی اثر متقابل شوری و توده بر این صفات معنی‌دار نبود (جدول ۱). توده اردکان بیشترین وزن خشک شاخساره را دارا بود و توده‌های کرمانشاه و شیراز نسبت به این توده به ترتیب ۲۵/۴۴ و ۲۸/۲۵ درصد کاهش نشان دادند (جدول ۲). به‌طور میانگین، وزن خشک شاخساره در شوری‌های ۶۰، ۱۲۰ و ۱۸۰ میلی مولار به ترتیب به مقادیر ۹/۸٪، ۲۹/۷٪ و ۳۴/۳٪ نسبت به وزن خشک شاخساره در شوری شاهد کمتر بود. این مقادیر برای وزن خشک ریشه به ترتیب معادل ۵۵/۲٪، ۷۸/۷٪ و ۸۷/۴٪ بود (جدول ۳). به نظر می‌رسد که تنش شوری از طریق محدودیت در جذب عناصر غذایی با کمبود آب قابل‌استفاده گیاه و سمیت عناصر غذایی، باعث کاهش قدرت رشد سلولی شده و کاهش سطح برگ و فتوسنتز را به همراه داشته است، این موارد باعث کاهش کربوهیدرات تولیدی و درنتیجه کاهش رشد اجزاء مختلف گیاه شده که درنهایت سبب کاهش بیوماس گیاه می‌گردند (Azari et al., 2012; Farooq and Azam, 2006). تأثیری که تیمارهای مختلف شوری بر ویژگی‌های رشدی و وزن خشک شلغم داشته است را می‌توان به اثرات گسترده تنش شوری بر فعالیت‌های سلول گیاهی ازجمله فتوسنتز، فعالیت آنزیم‌های مختلف، متابولیسم سلول و غیره نسبت داد (Arshad, 2001). اشرف و مکنیلی (Ashraf and McNeilly, 1990)، نیز با آزمایش بر روی خردل نشان دادند هنگامی‌که از تیمار محلول نمکی ۵۰ میلی مولار کلرید سدیم استفاده شد، وزن ساقه گیاه به کمتر از ۵۰ درصد نسبت به شاهد بدون شوری کاهش یافت. همچنین مونیر (Munir, 2013)، دهداری و فرهادی (Dehdari et al., 2011) نیز به ترتیب با بررسی اثرات شوری بر تربچه و شلغم بیان داشتند که وزن تر و خشک ساقه، در اثر افزایش سطوح شوری کاهش می‌یابد.

تغییرات بیوشیمیایی و فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان

میزان پرولین برگ

طبق نتایج تجزیه واریانس، اثر توده و اثر متقابل توده و شوری بر میزان پرولین برگ معنی‌دار شد اما اثر شوری معنی-دار نبود (جدول ۱). بیشترین و کمترین مقدار پرولین، با مقادیر ۱/۶ و ۱/۱۹ میکرو مول در گرم وزن تر، به ترتیب به توده‌های کرمانشاه و اردکان تعلق داشت (جدول ۲). با افزایش تنش شوری، مقدار پرولین در توده حساس کرمانشاه افزایش یافت، به‌طوری‌که بیشترین و کمترین مقدار پرولین، به توده کرمانشاه به ترتیب در سطوح ۱۸۰ میلی‌مولار و شاهد اختصاص داشت (جدول ۴). تنوع موجود حاکی از آن است که میزان پرولین در توده حساس کرمانشاه افزایش می‌یابد اما در توده متحمل اردکان از روند خاصی تبعیت نمی‌کند (جدول ۴). با توجه به این‌که اثر اصلی تنش شوری بر این صفت معنی‌دار نبود، می‌توان نتیجه گرفت که تجمع پرولین در گیاه براثر تنش شوری، یک واکنش محسوب شده و دراین‌ارتباط، توده تأثیر به‌مراتب بیشتری نسبت به محیط بر آن دارد. درنتیجه میزان پرولین نمی‌تواند به‌عنوان معیاری برای تحمل به تنش شوری موردتوجه قرار گیرد. تجمع اسمولیت‌هایی نظیر پرولین و کربوهیدرات‌های محلول یکی از راه‌کارهای

[1] Folin-Ciocalteu

افزایش تحمل شوری در گیاهان خانواده کلم‌ها *(Brassicaceae)* است و این انباشت پرولین در شرایط تنش، ممکن است به علت فعال‌سازی آنزیم‌های بیوسنتزی پرولین، کاهش تخریب آن در اثر اکسیداسیون و تبدیل آن به گلوتامات و کاهش استفاده از پرولین در سنتز پروتئین‌ها باشد (Ashraf and McNeilly, 2004). نورین و همکاران (Noreen et al., 2010) با بررسی پنج رقم شلغم تحت تنش شوری افزایش پرولین را در ارقام متحمل شلغم گزارش کردند، ولی رامیه و همکاران (Rameeh et al., 2004) و آذری و همکاران (Azari et al., 2012) به ترتیب با بررسی اثر تنش شوری بر دو گونه کلزا و شلغم روغنی بیان داشتند که مقدار پرولین برگ تحت تأثیر شوری قرار نمی‌گیرد.

جدول ۱. نتایج تجزیه واریانس تأثیر ژنوتیپ و شوری بر خصوصیات مورفولوژیکی و بیوشیمیایی شلغم

Table 1. Analysis of variance results of the effect of genotype and stress levels on morphological and biochemical characteristic of turnip

S.O.V	منابع تغییر	درجه آزادی df	وزن خشک اندام هوایی Shoot dry weight	وزن خشک ریشه Root dry weight	پرولین Proline	فنول کل Phenol	مالون دی آلدئید MDA	کاتالاز Catalase	سوپراکسید دیسموتاز SOD
Population	توده	2	49.8 **	26.2 ns	0.43 **	0.007 **	667.71 **	5.85 **	7.35 **
Salinity	شوری	3	48.67 **	2188.8 **	0.21 ns	0.03 **	178.1 **	0.92 **	0.81 **
Salinity * Population	شوری × توده	6	3.46 ns	15.92 ns	0.14 *	0.004 **	8.7 ns	0.18 **	0.16 **
Error	خطا	12	5.3	175.1	0.04	0.002	5.96	0.03	0.03

ns، *و **- به ترتیب عدم معنی‌داری و معنی‌داری در سطح احتمال خطای ۵ و ۱ درصد

Ns, * and ** indicating non-significant and significant at 5 and 1% levels of probability, respectively

فنول کل

طبق نتایج جدول تجزیه واریانس اثر توده و شوری و اثر متقابل آن‌ها بر فنول کل معنی‌دار شد. تنش شوری باعث کاهش میزان فنول کل گردید (جدول ۳). توده‌های اردکان و شیراز در سطوح ۱۲۰ و ۱۸۰ میلی‌مولار، تفاوت معنی‌داری نداشتند (جدول ۴). بیشترین مقدار فنول کل به توده متحمل اردکان در سطح شوری شاهد اختصاص داشت و در مقابل کمترین میزان فنول کل مربوط به توده شیراز در سطح شوری ۱۸۰ میلی‌مولار بود (جدول ۴). احتمالاً عامل اساسی در از بین بردن ترکیبات فنولی در طی تنش شوری آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانت بخصوص پلی فنول اکسیداز است که توانایی زیادی در از بین بردن ترکیبات گونه‌های اکسیژن فعال و ترکیبات فنولی را دارد (Weisany et al., 2012). نورین و همکاران (Noreen et al., 2010) نیز با بررسی پنج توده شلغم تحت تنش شوری و همچنین سینگ و همکاران (Singh et al., 2007) با بررسی واریته‌های مختلف خانواده کلم‌ها در شرایط بدون شوری مقدارهای بسیار پایین ترکیبات فنولیک را گزارش کردند.

مالون دی آلدئید برگ

طبق نتایج تجزیه واریانس، اثر توده و شوری بر مالون دی آلدئید برگ معنی‌دار بود، ولی اثر متقابل آن‌ها معنی‌دار نگردید (جدول ۱). 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. 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 تولیدشده می‌توانند به واکنش‌های اکسیداسیون لیپیدها سرعت بخشند. مالون دی آلدئید به‌عنوان شاخص مناسبی برای پراکسیداسیون لیپید غشاء محسوب می‌شود (Ashraf, 2009). تحت تنش شوری

مقدار مالون دی آلدئید حاصل از تنش اکسیداتیو در توده‌ها افزایش یافت، به‌طوری‌که با افزایش غلظت نمک محتوای مالون دی آلدئید افزایش معنی‌داری یافت (جدول ۳). همچنین توده کرمانشاه و توده شیراز به ترتیب دارای بیشترین و کمترین مقدار مالون دی آلدئید بودند (جدول ۲). بر اساس تحقیقات انجام‌شده توسط شائو و همکاران (Shao et al., 2005)، بین میزان فعالیت آنزیم‌های سوپر اکسید دیسموتاز و کاتالاز با مالون دی آلدئید برگ رابطه منفی وجود داشت. در این تحقیق نیز بیشترین رابطه منفی بین میزان مالون دی آلدئید با فعالیت آنزیم کاتالاز (۰/۹۱**-) بود، این مطلب نشان می‌دهد که فعالیت بیشتر این آنزیم باعث زدایش گونه‌های فعال اکسیژن با کارایی بالا می‌شود.

جدول ۲. اثر توده بر میانگین صفات موردمطالعه در گیاه بومی شلغم

Table 2. Effect of population on the mean of studied traits of native plant of turnip

Populations	توده	وزن خشک اندام هوایی (گرم) Shoot dry weight (g)	وزن خشک ریشه (گرم) Root dry weight (g)	پرولین (میکرو مول در گرم) Proline (µmol/g)	فنول کل (میلی گرم در گرم) Phenol (mg/g)	مالون دی آلدئید (میکرو مول در گرم) MDA (µmol/g)	کاتالاز (واحد در میلی گرم پروتئین) Catalase (Units/mg)	سوپراکسید دیسموتاز (واحد در میلی گرم پروتئین) SOD (Units/mg)
Kermanshah	کرمانشاه	13.6 b	19.09 a	1.6 a	0.125 a	41.95 a	3.79 a	4.29 a
Ardakan	اردکان	17.06 a	17.8 a	1.19 b	0.112 b	40.49 a	2.89 b	3.36 b
Shiraz	شیراز	12.24 b	18 a	1.57 a	0.067 c	25.44 b	2.08 c	2.37 c

ستون‌های دارای حروف مشترک، تفاوت معنی‌داری در سطح ۵ درصد ندارند.

Similar letters in each column indicate no significant difference ($p \leq 0.05$)

جدول ۳. اثر تنش شوری بر میانگین صفات مورد ارزیابی در گیاه بومی شلغم

Table 3. Effect of salinity stress on the mean of evaluated traits of native plant of turnip

سطوح شوری Salinity level	وزن خشک اندام هوایی (گرم) Shoot dry weight (g)	وزن خشک ریشه (گرم) Root dry weight (g)	پرولین (میکرو مول در گرم) Proline (µmol/g)	فنول کل (میلی گرم در گرم) Phenol (mg/g)	مالون دی آلدئید (میکرو مول در گرم) MDA (µmol/g)	کاتالاز (واحد در میلی گرم پروتئین) Catalase (Units/mg)	سوپراکسید دیسموتاز (واحد در میلی گرم پروتئین) SOD (Units/mg)
0	17.52 a	50.38 a	1.04 c	0.2 a	30.6 c	2.37 c	2.81 c
60	15.8 a	22.55 b	1.37 b	0.1 b	33.32 c	2.92 b	3.39 b
120	12.32 b	14.75 b	1.67 a	0.05 c	36.69 b	3.12 ab	3.53 ab
180	11.51 b	6.35 c	1.71 a	0.04 c	43.23 a	3.26 a	3.63 a

ستون‌های دارای حروف مشترک، تفاوت معنی‌داری در سطح ۵ درصد ندارند.

Similar letters in each column indicate no significant difference ($p \leq 0.05$).

آنزیم کاتالاز

توده، تنش شوری و اثر متقابل توده و شوری، تأثیر معنی‌داری بر فعالیت آنزیم کاتالاز داشتند (جدول ۱). بیشترین و کمترین مقدار آنزیم کاتالاز، به ترتیب به توده حساس کرمانشاه (۴/۰۹ واحد آنزیمی در یک میلی‌گرم پروتئین در تیمار ۱۲۰ میلی‌مولار) و توده نیمه متحمل شیراز (۱/۶۶ واحد آنزیمی در یک میلی‌گرم پروتئین در تیمار شاهد) تعلق داشت (جدول ۴). اجتناب از تولید گونه‌های اکسیژن رادیکال آزاد در طول تنش یک راهبرد مهم در توانمندی گیاه برای فائق آمدن از عهده کمبود آب است (Carvalho, 2008). کاتالاز برای حذف H_2O_2 و تبدیل آن به آب و اکسیژن در طی تنفس نوری در پراکسی زوم عمل می‌کند. در شرایط تنش، افزایش

فعالیت آنزیم کاتالاز برای مقاومت به تنش شوری دارای اهمیت زیادی است (Parida and Das, 2005) در این آزمایش نیز با افزایش تنش شوری میزان فعالیت آنزیم کاتالاز افزایش معنی‌داری نشان داد، به‌طوری‌که در توده حساس کرمانشاه بیشتر از توده‌های اردکان و شیراز بود (جدول ۴). در بسیاری از مطالعات نشان داده شده است که ارتباط خیلی نزدیکی بین فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی و مقاومت به تنش شوری وجود دارد و مقاومت گیاهان در اثر افزایش مواد آنتی‌اکسیدانی بهبود یافته است (Eyidogan & Tofan, 2007; Costa et al., 2005; Farooq et al., 2009)، ولی نورین و همکاران (Noreen et al., 2010) با بررسی پنج واریته شلغم تحت تنش شوری، کاهش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان را اعلام داشتند. در این تحقیق، همبستگی مثبت و معنی‌دار (۰/۹**) بین میزان فعالیت آنزیم کاتالاز و سوپر اکسید دیسموتاز بیانگر وجود رابطه نزدیک بین این دو آنزیم در زدودن رادیکال‌های آزاد است.

جدول ۴. اثرات متقابل توده و تنش شوری بر صفات مورد ارزیابی در شلغم

Table 4. Interaction effects of salinity stress and population on evaluated traits of turnip

Populations	توده	سطوح تنش Stress Levels	پرولین Proline	فنول Phenol	کاتالاز Catalase	سوپراکسید دیسموتاز Super oxide dismutase
Kermanshah	کرمانشاه	0	0.92 g	0.19 b	3.42 c	3.8 cd
		60	1.38 cg	0.12 cd	3.7 bc	4.31 ab
		120	2 ab	0.09 ef	4.09 a	4.48 a
		180	2.1 a	0.08 fg	3.94 ab	4.56 a
Ardakan	اردکان	0	1.03 fg	0.28 a	4.13 e	2.07 g
		60	1.17 dg	0.1 de	2.77 d	2.61 f
		120	1.47 cf	0.02 h	3.06 d	2.53 f
		180	1.07 eg	0.03 h	3.7 bc	2.28 fg
Shiraz	شیراز	0	1.17 dg	0.12 c	1.66 f	2.51 f
		60	1.57 be	0.07 g	2.3 d	3.25 e
		120	1.66 ad	0.03 h	2.2 e	3.59 de
		180	1.86 ac	0.02 h	2.15 e	4.05 bc

میانگین‌هایی که دارای حروف مشترک در هر ستون و ردیف می‌باشند، تفاوت معنی‌داری در سطح ۵ درصد ندارند.

Similar letters in each column and row indicate no significant difference ($p \leq 0.05$)

آنزیم سوپر اکسید دیسموتاز

بر اساس نتایج تجزیه واریانس (جدول ۱) اثر توده، شوری و اثر متقابل آن‌ها بر میزان فعالیت آنزیم سوپر اکسید دیسموتاز معنی‌دار بود. طبق نتایج اثرات متقابل توده و شوری، بالاترین مقدار آنزیم سوپر اکسید دیسموتاز، به توده کرمانشاه در شرایط شوری ۱۸۰ میلی‌مولار اختصاص داشت که تفاوت آن با سایر توده‌ها در سطوح مختلف شوری، معنی‌دار بود و کمترین میزان آنزیم سوپر اکسید دیسموتاز نیز به توده اردکان در شرایط بدون تنش اختصاص داشت (جدول ۴). به‌طورکلی در این آزمایش با افزایش تنش شوری، فعالیت این آنزیم افزایش یافت. تنش شوری با افزایش و تسریع تولید رادیکال‌های آزاد اکسیژن و غیرفعال کردن آنزیم‌های مؤثر در زدایش پراکسید هیدروژن سبب به وجود آمدن تنش اکسیداتیو می‌گردد و گیاه با تولید آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان با این تنش ثانویه مقابله می‌کند (Esfandiari et al., 2007). ازجمله این آنزیم‌ها سوپر اکسید دیسموتاز است که به‌عنوان اولین سد دفاعی در مقابل رادیکال سوپر اکسید است؛ بنابراین، مکانیسم‌هایی که در گیاه باعث کاهش تنش اکسیداتیو می‌شوند، می‌توانند نقش مهمی در سازگاری گیاه به محیط‌های دارای تنش ایفا نمایند (Sairam et al., 2002). در این تحقیق تغییرات میزان این آنزیم نشان داد که بیشترین فعالیت آن در توده حساس کرمانشاه بود. جلالی امام و همکاران (Jalali-e-Emam et al., 2011) و اشرف و علی (Ashraf and ali, 2008) با بررسی رقم‌های متحمل و

حساس به شوری کلزا نشان دادند که فعالیت این آنزیم با افزایش شوری افزایش‌یافته و میزان فعالیت آن در رقم متحمل به‌طور قابل‌توجهی بیشتر شده است.

نتیجه‌گیری

شلغم معمولاً در اراضی حاشیه‌ای و گرم و نیمه‌خشک و مناطقی که آب‌وخاک شور دارند، کشت می‌شود. تنش‌های اکسیداتیو ناشی از وقوع مداوم شوری در فصل رشد، می‌تواند علت کاهش رشد و عملکرد این گیاه در کشور باشد، لذا شناخت صفات و درک مکانیسم‌هایی در گیاه که موجب بهبود تحمل گیاه به شوری می‌شوند، امیدبخش به نظر می‌رسد. نتایج این تحقیق بیان‌کننده آن است که صفات مورفولوژیکی مانند بیوماس اندام هوایی و ریشه عمدتاً تحت تأثیر تنش‌های شدید شوری قرار می‌گیرند. در بین توده‌ها، توده اردکان دارای بیشترین بیوماس اندام هوایی بود، شاید گیاه جهت مقابله با شوری یون‌های سدیم و کلر را به اندام هوایی منتقل نموده و در واکوئل سلول‌های برگ ذخیره می‌کند (Tunchturk et al., 2011). همچنین در این بررسی با افزایش شوری، میزان پرولین، مالون دی آلدئید و آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان در تمام توده‌ها افزایش یافت، ولی این افزایش برای پرولین از روند خاصی تبعیت نمی‌کرد. توده حساس کرمانشاه از بیشترین مقدار پرولین و آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان در شرایط شدید تنش شوری برخوردار بود که بیانگر توانایی این توده برای تجمع پرولین و سایر اسمولیت‌ها و همچنین تولید آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان برای جلوگیری از تنش اکسیداتیو است. طبق نتایج به‌دست‌آمده می‌توان از آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان و مالون دی آلدئید جهت شناسایی توده‌های متحمل و حساس به شوری شلغم استفاده نمود.

منابع

Azari, A., Modares S.A., Ghanati, F., Naji, A., Alizadeh, B., 2012. Effect of salt stress on morphological and physiological traits of two species of rapeseed (*Brassica napus* and *B. rapa*). Iranian Journal of Crop Sciences. 14(2), 121-135. [In Persian with English Summary].

Bates, L.S., Walderen, R.D., Taere, I.D., 1973. Rapid determination of free proline for water stress studies. Plant and Soil. 39(1), 205-207.

Beltagi M.S., 2008. Exogenous ascorbic acid (vitamin C) induced anabolic changes for salt tolerance in chick pea (*Cicer arietinum* L.). African Journal of Plant Science. 2(10), 118-123.

Corwin, D.L., Rhoades, J.D., Šimůnek, J., 2007. Leaching requirement for soil salinity control: Steady-state versus transient models. Agricultural Water Management. 90(3), 165-180.

Costa, P.H., Neto, A.D., Bezerra, M. A., Prisco, J.T., Gomes-Filho, E., 2005. Antioxidant-enzymatic system of two sorghum genotypes differing in salt tolerance. Brazilian Journal of Plant Physiology. 17(4), 353-362.

Dadashi, M.R., Majidi, H.E., Soltani, A., Nourinia, A., 2007. Evaluation of different genotypes of barley to salinity stress. Iranian

Aebi, H., 1984. Catalase in vitro. Methods in Enzymology. 105, 121-126.

Arshad, M., Rashid, A., 2001. Nitrogen uptake and dry matter production by tomato plants under salt stress. Pakistan Journal of Biological Sciences. 4, 397-399.

Ashraf, M., 1999. Interactive effect of salt (NaCl) and nitrogen form on growth, water relations and photosynthetic capacity of sunflower (*Helianthus annum* L.). Annals of Applied Biology, 135(2), 509-513.

Ashraf, M., 2009. Biotechnological approach of improving plant salt tolerance using antioxidants as markers. Biotechnology Advances, 27(1), 84–93.

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(1), 266-273.

Ashraf, M., McNeilly, T., 1990. Responses of four Brassica species to sodium chloride. Environmental and Experimental Botany. 30(4), 475-487.

Ashraf, M., McNeilly, T., 2004. Salinity tolerance in Brassica oilseeds. Critical Reviews in Plant Sciences, 23(2), 157-174.

Journal of Crop Sciences. 46(2), 189-192. [In Persian with English Summary].

De Carvalho, M.H.C., 2008. Drought stress and reactive oxygen species. Plant Signaling Behavior. 3(3), 156-165.

Dehdari, A., Farhadi, L., 2011. Effect of salt stress on agronomical characteristics and physiological of turnip *(Brassica rapa L.*). Seventh Horticultural Sciences Congress, Iran Isfahan, p.301. [In Persian with English Summary].

Dixon, G.R., 2007. Vegetable Brassicas and Related Crucifers. CABI Publishing, Oxfordshire, UK. pp.326.

Esfandiari, E., Shekari, F., 2007. The effect of salt stress on antioxidant enzymes activity and lipid peroxidation on the wheat seedling. Notulae Botanicae Horti Agrobotanici Cluj-Napoca, 35(1), 48-56.

Eyidogan, F., Tofan, M., 2007. Effect of salinity on antioxidant responses of chickpea seedlings. Acta Physiologiae Plantarum. 29, 485-493.

Fageria, N.K., Baligar, V.C., Clark, R.B., 2006. Physiology of Crop Production. Food Products Press. pp. 363.

Farooq, S., Azam, F., 2006. The use of cell membrane stability (CMS) technique to screen for salt tolerant wheat varieties. Journal of Plant Physiology. 163(6), 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. 299, 185-212.

Flowers, T., 2004. Improving crop salt tolerance. Journal of Experimental Botany. 55, 307-319.

Gad, N., 2005. Interactive effect of salinity and cobalt on tomato plants II-Some physiological parameters as affected by Cobalt and Salinity. Research Journal of Agriculture and Biological Sciences, 1(3), 270-276.

Gill, S., Tuteja, N., 2010. Reactive oxygen species and antioxidant machinery in abiotic stress tolerance in crop plants. Plant Physiology and Biochemistry, 48,909-930.

Jalali-e-Emam, S.M.S., Alizadeh, B., Zaefizadeh, M., Zakarya, R.A., Khayatnezhad, M., 2011. Superoxide dismutase (SOD) activity in NaCl stress in salt-sensitive and salt-tolerance genotypes of colza (*Brassica napus* L.). Middle East Journal of Scientific Research, 7(1), 7-11.

Julkunen-Tiitto, R., 1985. Phenolic constituents in the leaves of northern willows: methods for the analysis of certain phenolics. Journal of Agricultural and Food Chemistry. 33(2), 213-217.

Lu, C., Zhang, J., 1998. Effects of water stress on photosynthesis, chlorophyll fluorescence and photoinhibition in wheat plants. Functional Plant Biology. 25(8), 883-892.

Minami, M., Yoshikawa, H., 1979. A simplified assay method of superoxide dismutase activity for clinical use. Clinica Chimica Acta, 92, 337–342.

Mudgal, V., Madaan, N., Mudgal, A., 2010. Biochemical mechanisms of salt tolerance in plants, a review. International Journal of Botany. 6(2), 136-143.

Munir, S., Siddiqi, E.H., Bhatti, K.H., Nawaz, K., Hussain, K., Rashid, R., Hussain, I., 2013. Assessment of inter-cultivar variations for salinity tolerance in winter radish (*Raphanus sativus* L.). World Applied Sciences Journal. 21(3), 384-388.

Noreen, Z., Ashraf, M., Akram, N., 2010. Salt□Induced Regulation of Some Key Antioxidant Enzymes and Physio□Biochemical Phenomena in Five Diverse Cultivars of Turnip (*Brassica rapa* L.) Journal of Agronomy and Crop Science. 196(4), 273-285.

Ohkawa, H., Ohishi, N., Yagi, K., 1979. Assay for lipid peroxidaes in animal tissues by thiobarbituric acid reaction. Analytical Biochemistry. 95(2), 351-358.

Pardo, A., Amato, M., Chiarandà, F. Q., 2000. Relationships between soil structure, root distribution and water uptake of chickpea (*Cicer arietinum* L.). European Journal of Agronomy.13(1), 39-45.

Parida, A.K., Das, A.B., 2005. Salt tolerance and salinity effects on plants, a review. Ecotoxicology and Environmental Safety. 60, 324-349.

Rameeh, V., Rezai, A., Saeidi, G., 2004. Study of salinity tolerance in rapeseed. Communications in Soil Science and Plant Analysis. 35(19-20), 2849-2866.

Rubatzky, V. E., Yamaguchi, M., 1997. Cole Crops, Other Brassica, and Crucifer

Vegetables. World Vegetables. Springer Press. pp. 371-417

Sariam, R. K., Rao, K.V., Srivastava, G.C., 2002. Differential response of wheat genotypes to long term salinity stress in relation to oxidative stress, antioxidant activity and osmolyte concentration. Plant Science. 163, 1037¬1046.

Samaras, Y., Bressan, R.A., Csonka, L.N., Garcia-Rios, M.G., Paino, D.U.M., Rhodes, D., 1995. Proline accumulation during drought and salinity. Oxford Bios Scientific, 161-187.

Saxena, N.P., 2003. Management of agriculture drought "Agronomic and Genetic options". India Science Publishers, pp.209.

Singh, J., Upadhyay, A.K., Prasad, K., Bahadur, A., Rai, M., 2007. Variability of carotenes, vitamin C, E and phenolics in Brassica vegetables. Journal of Food Composition and Analysis. 20(2), 106-112.

Shao, H.B., Liang, Z.S. Shao, M.A., 2005. Changes of anti-oxidative enzymes and MDA content under soil water deficits among 10 wheat (*Triticum aestivum* L.) genotypes at maturation stage. Colloids and Surfaces Biointerfaces., 45: 7-13.

Tunchturk, M., Tunchturk, R., Yildirim, B. and Chiftchi, V. 2011. Changes of micronutrients, dry weight and plant development in canola (*Brassica napus* L.) cultivars under salt stress. African Journal of Biotechnology. 10(19) 3726-3730.

Valentovic, P., Luxova, M., Kolarovic, L., Gasparicova, O., 2006. Effect of osmotic stress on compatible solutes content, membrane stability and water relations in two maize cultivars. Plant, Soil and Environment. (52), 186-191.

Weisany, W., Sohrabi, Y., Heidari, G., Siosemardeh, Adel. Ghassemi, G.K., 2012. Changes in antioxidant enzymes activity and plant performance by salinity stress and zinc application in soybean (*Glycine max* L.). Plant Omics Journal. 5(2), 60-67.

Zargari A., 1997. Medicinal Plants. Tehran University Publication, p103. [In Persian].