تنشهای محیطی در علوم زراعی
Environmental Stresses in Crop Sciences

مجله تنش های محیطی در علوم زراعی
جلد سوم، شماره اول، نیمه اول ۸۹
۹۴-۸۳

بررسی سطوح مختلف شوری بر واکنش‌های فیزیولوژیکی و جذب عناصر سدیم و پتاسیم در گندم

مصطفی حیدری[1*]، فاطمه مصری[2]

۱. استادیار گروه زراعت و اصلاح نباتات- دانشگاه زابل؛ ۲. کارشناس پژوهشکده زیست فناوری- دانشگاه زابل

تاریخ دریافت: ۸۹/۷/۱۵؛ تاریخ پذیرش: ۸۹/۱۱/۱

چکیده

به منظور بررسی اثرات سطوح مختلف شوری بر میزان فعالیت سه آنزیم آنتی اکسیدان کاتالاز (CAT)، آسکوربات پراکسیداز (APX) و گایاکول پراکسیداز (GPX)، همچنین جذب عناصر سدیم و پتاسیم و نیز دو ترکیب آلی کربوهیدرات و پرولین در مرحله گیاهچه‌ای شش رقم گندم، آزمایشی بصورت فاکتوریل و در قالب طرح کاملا تصادفی با سه تکرار در سال ۱۳۸۶ در مرکز زیست پژوهشی دانشگاه زابل (بیوسنتر) انجام گرفت. تیمارهای آزمایش شامل چهار سطح شوری صفر، ۱۰۰، ۲۰۰، و ۳۰۰ میلی مولار نمک NaCl و شش رقم گندم بنام‌های الوند، فلات، گاسکوژن، لاین ۴، مهدوی و شیرازی بودند. نتایج نشان داد در طی اعمال تنش و با بالارفتن میزان شوری از شاهد به ۳۰۰ میلی مولار تنها بر میزان فعالیت آنزیم آنتی اکسیدان APX افزوده شد و از فعالیت دو آنزیم دیگر کاسته شد. در سطح شوری ۳۰۰ میلی‌مولار، بالاترین میزان فعالیت آنزیم APX مربوط به ارقام فلات و مهدوی بود. در این بین میزان دو ترکیب کربوهیدرات و پرولین در واکنش به تنش شوری در همه ارقام افزایش یافت. این افزایش در چهار رقم الوند، گاسکوژن، لاین ۴ و شیرازی که دارای فعالیت آنزیم APX کمتری بودند، بیشتر بود. در اثر شوری از جذب عنصر پتاسیم کاسته و بر جذب سدیم افزوده شد. در بین ارقام مورد بررسی، دو رقم مهدوی و فلات با داشتن بالاترین فعالیت آنزیم APX و میزان مناسبی کربوهیدرات و پرولین در بخش هوایی، بخصوص در سطح شوری ۳۰۰ میلی‌مولار دارای کاهش قابل ملاحظه‌ای در جذب سدیم و افزایش جذب پتاسیم نسبت به سایر ارقام بودند. بطور کلی با توجه به نتایج بدست آمده در این آزمایش می‌توان استنباط کرد که در مرحله گیاهچه‌ای فرآیند تنظیم اسمزی کارآتر از فعالیت آنزیم آنتی اکسیدان در مقاومت به شوری ارقام گندم موثر است.

واژه‌های کلیدی: **شوری، آنزیم‌های آنتی اکسیدان، عناصر سدیم و پتاسیم، تنظیم کننده‌های اسمزی، گندم**

مقدمه

تجمع املاح نمک در خاکهای مناطق خشک و نیمه‌خشک دنیا یکی از مسائل مهم کشاورزی است که بطور گسترده‌ای بر تولید گیاهان زراعی تاثیر می‌گذارد (Rhoader and Loveday, 1990). در بسیاری از این خاکها غلظت دو عنصر Na^+ و Cl^- در حد بسیار بالاتری نسبت به نیاز گیاهان بوده و این امر مشکلات فراوانی برای آنها ایجاد می‌کند. در این بین واکنش معمول گیاهان به شوری به صورت‌های تنش اسمزی، سمیت یونی و عدم تعادل عناصر غذایی می‌باشد (Munns, 2002).

گیاهان زراعی از لحاظ تحمل نسبت به املاح تجمع یافته در محیط ریشه (شوری) تا حد زیادی با هم متفاوت هستند و این تحمل به عواملی همچون میزان تجمع یونها در بافت، ممانعت از ورود برخی از یونها به درون گیاه و قابلیت تولید ترکیبات سازگارکننده (تنظیم کننده‌های اسمزی) بستگی دارد (Good and Zaplachiniski, 1994). مطالعات بیوشیمیایی نشان داده که در گیاهان تحت تنش شوری تعدادی از ترکیبات آلی (محلول‌های سازگار کننده) تجمع می‌یابند. این ترکیبات تداخلی در فرآیندهای شیمیایی گیاه وارد نمی‌کنند. از این ترکیبات می‌توان به انواعی از کربوهیدراتهای محلول (مانیتول، ساکارز، رافینوز و الیگوساکارید) و ترکیبات نیتروژنه (اسید آمینه، پرولین و گلیسین-بتائین) اشاره کرد. ترکیبات سازگار کننده نقش مهمی در بهبود تنظیم اسمزی در گیاهان تحت تنش دارند (Good and Zaplachiniski, 1994).

نگارنده پاسخگو: مصطفی حیدری. پست الکترونیکی: haydari2005@gmail.com

در بررسی های صورت گرفته، عمدتا مقاومت به شوری در گیاهان را مرتبط با قابلیت تنظیم اسمزی می‌دانند، اما تنش شوری و دیگر تنش‌های محیطی غیر زنده می‌توانند از طریق تولید گونه‌های مختلف احیاگرهای اکسیژن (ROS[1]) سبب تنش اکسیداتیو نیز شوند (Ashraf and Harris, 2004). از انواع ROS می‌توان به سوپر اکسید (O^-)، پراکسید هیدروژن (H_2O_2) و رادیکال‌های هیدروکسیل (OH°) اشاره کرد. این ترکیبات دارای قابلیت احیایی بالایی بوده و سبب خسارت به سلولها از طریق اکسیده کردن پروتئین‌ها، چربی‌ها و اسیدهای نوکلئیک می‌شوند (Appel and Harit, 2004).

جهت کاهش اثرات سوء تنش اکسیداتیو در طی بروز تنش شوری، گاها میزان فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدان در سلول بالا می‌رود. از این آنزیم‌ها می‌توان به کاتالاز (CAT)، اسکوربات پراکسیداز (APX) و گایاکول پراکسیداز (GPX) اشاره کرد. این آنزیم‌ها نقش بسیار مهمی در غیرفعال کردن رادیکالهای آزاد اکسیژن در سلول گیاهان دارند و میزان فعالیت آنها بسته به گونه گیاهی و شدت تنش در گیاهان تغییر می‌کند (Appel and Harit, 2004). در بسیاری از گیاهان زراعی همانند گندم (Sairam et al., 2002) و پنبه (Gooset et al., 1994) بالا رفتن میزان فعالیت این آنزیم‌ها در طی بروز تنش شوری گزارش شده است. بالا رفتن میزان فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان در گیاهان تحت تنش در کنار تنظیم اسمزی می‌تواند بر مقدار مقاومت در گیاهان بیافزاید. از اینرو هدف از این آزمایش بررسی ارتباط بین دو مکانیسم تنظیم اسمزی و فعالیت آنزیم‌های آنتی-اکسیدان در شش رقم گندم و تعیین نوع این ارتباط با میزان جذب عناصر سدیم و پتاسیم در مرحله گیاهچه‌ای بوده است.

مواد و روش‌ها

این آزمایش بصورت فاکتوریل و در قالب طرح کاملا تصادفی با سه تکرار در سال ۱۳۸۶ در مرکز زیست پژوهشی دانشگاه زابل (بیوسنتر) انجام گرفت. چهار سطح شوری صفر، ۱۰۰، ۲۰۰ و ۳۰۰ میلی‌مولار نمک NaCl بعنوان فاکتور اول و شش رقم گندم بنام‌های الوند، فلات، گاسکوژن، لاین ۴، مهدوی و شیرازی بعنوان فاکتور دوم در نظر گرفته شدند.

جهت انجام این آزمایش ابتدا بذرهای گندم از مرکز تحقیقات کشاورزی زابل تهیه و سپس درگلدان‌های کوچک پلاستیکی به قطر ۱۰ سانتی‌متر که حاوی ماسه بادی بودند کشت شدند. گلدان‌ها به اتاقک رشد با دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد و طول دوره نوری ۱۶ ساعت روشنایی و ۸ ساعت تاریکی منتقل شدند. پس از جوانه‌زنی و کامل شدن ظهور اولین برگ، اعمال تنش شوری در گیاهان آغاز و به منظور جلوگیری از وارد شدن یکباره شوک به گیاهچه‌ها، تیمارهای شوری با روزی ۲۵ میلی-مولار NaCl شروع گردید. در نهایت بعد از ۴ روز سطوح شوری به حد مورد نظر رسانده شدند. اعمال تنش شوری کلا تا ۲۵ روز ادامه یافت و پس از آن میزان فعالیت آنتی-اکسیدان‌ها، تنظیم کننده‌های اسمزی (کربوهیدرات و پرولین)، کلروفیل برگها، عناصر سدیم و پتاسیم و وزن بخش هوایی گیاهان اندازه گیری شدند

استخراج عصاره و روش اندازه گیری آنزیم ها

تهیه بافر Ice–Cold Extraction: این محلول شامل محلول بافر پتاسیم فسفات ۱۰۰ میلی‌مولار با pH=۷ و محلول EDTA 0.1 mM درحجم cc ۴ بود. برای محلول پتاسیم فسفات از دو نمک KH_2PO_4 و K_2HPO_4 استفاده شدند. جهت تهیه محلول ابتدا محلول ۱ مولار از هر کدام از این نمکها تهیه شد. سپس cc ۲۵ از آنها برداشت شده، با هم مخلوط و به حجم cc ۱۰۰ رسانده شدند.pH این محلول در حد ۷ تنظیم گردید.

تهیه محلول EDTA : این محلول در حجم cc ۵۰ و با غلظت ۰/۲ مولار ساخته شد. برای تهیه بافر Ice–Cold Extraction، ۱۶۰۰ میکرولیتر از بافر پتاسیم فسفات به همراه ۲۰ میکرولیتر EDTA برداشت شده و به حجمcc۴ رسانده شدند.

جهت اندازه‌گیری آنزیم‌ها، ۰/۲ گرم از بافت سبز برگ برداشت و با ۴ سی سی بافر Ice – cold extraction در هاون سرد کاملاً ساییده و بصورت همگن درآورده شدند. مخلوط همگن از کاغذ صافی عبور و به مدت ۱۵ دقیقه با دور ۱۶۰۰۰ سانتریفوژ شدند. سپس فاز بالایی به عنوان عصاره پروتئینی برای سنجش فعالیت آنزیمی استفاده گردید. همه این عملیاتها در دمای ۴ درجه سانتیگراد

1. Reactive Oxygen Species (ROS)

انجام گرفت. در نهایت جهت اندازه گیری فعالیت آنزیم کاتالاز (CAT) از روش Beers and Sizer (1952)، آنزیم آسکوربات پراکسیداز (APX) از روش Nakano and Asada (1981) و گایاکول پراکسیداز (GPX) از روش Urbanek et al. (1991) استفاده شد.

همچنین جهت اندازه گیری پرولین از روش Bates et al. (1973) و کربوهیدرات از روش Schlegel (1956) استفاده گردید. میزان سدیم و پتاسیم از روش خاکسترگیری خشک و با دستگاه فلیم‌فتومتر و کلروفیل برگها بوسیله دستگاه SPAD اندازه‌گیری شدند. در نهایت داده‌های بدست آمده با استفاده از نرم افزار آماری SAS تجزیه و مقایسه میانگین ها براساس آزمون LSD در سطح ۵٪ صورت گرفت.

نتایج و بحث

الف) آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان

نتایج تجزیه آماری داده‌ها در جدول ۱ نشان می‌دهد تفاوت معنی‌داری بین ارقام، سطوح مختلف شوری و برهم‌کنش این دو (بجز آنزیم GPX) بر فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدان کاتالاز (CAT)، اسکوربات پراکسیداز (APX) و گایاکول پراکسیداز (GPX) وجود دارد. در این بین با بالا رفتن میزان شوری از شاهد به ۳۰۰ میلی مولار تنها بر میزان فعالیت آنزیم APX افزوده شد و از فعالیت دو آنزیم GPX و CAT کاسته شد. میزان افزایش فعالیت آنزیم APX در سطح شوری ۳۰۰ میلی‌مولار نسبت به شاهد برابر ۳۴/۴ درصد بود (جدول ۲).

Chen and Gallie (2004) اعلام کردند آنزیم اسکوربات پراکسیداز نقش مهمی در فعالیت روزنه ها از طریق تنظیم غلظت H_2O_2 در سلول گیاهان تحت تنش شوری دارند، چرا که غلظت این ترکیب بعنوان یکی از سیکنال های مهم در به حرکت درآوردن سلولهای محافظ روزنه عمل می کند. Neill et al. (2002) اعلام کردند تغییرات در میزان فعالیت آنزیم های آنتی اکسیدان علاوه بر تغییرات یونی و تنظیم کننده های اسمزی می تواند بعنوان یکی از موارد تاثیر گذار تنش شوری بر گیاهان در نظر گرفته شود. بسته به میزان حساسیت گونه گیاهی، مرحله رشد، شدت و مدت تنش غلظت و فعالیت این نوع آنزیم ها تغییر خواهند کرد.

در این آزمایش مشخص گردید که در ارقام گندم مورد بررسی، تنها بر میزان فعالیت آنزیم APX در طی بروز تنش شوری افزوده می شود. در بین ارقام، فلات و الوند به ترتیب از بیشترین و کمترین میزان فعالیت این آنزیم برخوردار بودند (جدول ۲). در طی اعمال تنش شوری و با بالا رفتن سطح شوری از شاهد به ۳۰۰ میلی مولار نیز این دو رقم از بیشترین و کمترین میزان فعالیت این آنزیم برخوردار بودند، بطوریکه رقم فلات با ۰/۰۸۲ ($\mu mol\ H_2O_2\ min^{-1}\ mg^{-1}$ protein) در سطح شوری ۳۰۰ میلی‌مولار و رقم الوند با ۰/۰۰۵ ($\mu mol\ H_2O_2$ $min^{-1}\ mg^{-1}$ protein) در سطح شوری شاهد به ترتیب دارای بیشترین و کمترین میزان APX بودند (شکل ۱).

Sairam et al. (2002) از تشکیل گونه های مختلف رادیکالهای اکسیژن (ROS[1]) و افزایش فعالیت بسیاری از آنزیم های اکسیدان در طی بروز تنش شوری در گندم گزارش کرده اند. این گزارشات در مورد دیگر گونه های گیاهی از جمله پنبه (Gosset et al., 1994) و ذرت (Alvesda Costa et al., 2005) نیز ارائه شده است. نکته ای که در همه این تحقیقات آمده است این که در این گیاهان همه آنزیم های آنتی اکسیدان در طی اعمال تنش شوری افزایش پیدا نمی کنند بلکه بسته به گونه گیاهی، مرحله رشد، غلظت و نوع نمک دسته خاصی از این آنتی اکسیدان ها افزایش می یابند. مشابه نتیجه ای که در این آزمایش بدست آمد.

در این آزمایش هر چند همبستگی معنی داری بین مقدار سدیم در بخش هوایی با فعالیت آنزیم های آنتی اکسیدان بدست نیامد، اما این همبستگی تنها در مورد آنزیم APX مثبت و در مورد دو آنزیم GPX و CAT منفی بود. در این بین همبستگی معنی دار و مثبت سدیم با دو ترکیب آلی کربوهیدرات و پرولین بدست آمد (جدول ۳) که به نوعی می تواند بیانگر این باشد که در این مرحله از رشد مکانیسم تنظیم اسمزی بهتر و موثرتر از فعالیت آنزیم های آنتی اکسیدان در مقاومت به شوری گندم دخالت دارد.

1. Reactive Oxygen Species (ROS)

جدول ۱. تجزیه واریانس فعالیت آنزیم های آنتی اکسیدان، عناصر سدیم و پتاسیم و تنظیم کننده های اسمزی

Table 1. Analysis of variance of antioxidant activity, sodium, potassium and osmotic components

سدیم Na	پتاسیم K	کربوهیدرات (میکرو مول گلوکز بر گرم وزن تر)	پرولین (میکرو مول بر گرم وزن تر)	کلروفیل (قرائت SPAD)	وزن تک بوته (گرم)	آسکوربات پراکسیداز APX	کاتالاز CAT	گایاکول پراکسیداز GPX	درجه آزادی	منابع تغییرات
(میلی‌گرم در گرم ماده خشک) (mg. g^{-1} dry weight.)		Carbohydrate (µm glucose. g^{-1} Fresh W)	Proline (µm. g^{-1} Fresh W)	Chl. (SPAD)	Plant weigh (gr)	میکرومول H_2O_2 در دقیقه بر میلی‌گرم پروتئین (µmol H_2O_2 min^{-1} mg^{-1} prot)			df	S.O.V
0.11**	0.08**	29.7**	20.4**	0.28**	0.09**	0.00025**	0.0028**	0.27**	5	رقم Cultivar
1.02**	10.19**	11.28**	121.4**	0.32**	1.66**	0.00045**	0.00039**	0.43**	3	شوری Salinity
0.03^{ns}	0.036**	4.7^{ns}	1.02^{ns}	0.094^{ns}	0.03**	0.0011**	0.00061**	0.016^{ns}	15	رقم × شوری Cultivar × Salinity
0.023	0.011	0.96	1.82	0.077	0.0017	0.000016	0.000021	0.042	48	خطا Error
18.5	10.2	12.9	13.7	19.3	12.2	15.2	16.5	17.2		CV%

*، **و ^{ns} به ترتیب نشاندهنده معنی دار بودن در سطح ۵٪ و ۱٪ و عدم معنی دار بودن می باشد

^{ns}, * and ** means non-significant, and significant at 5% and 1% probability levels, respectively

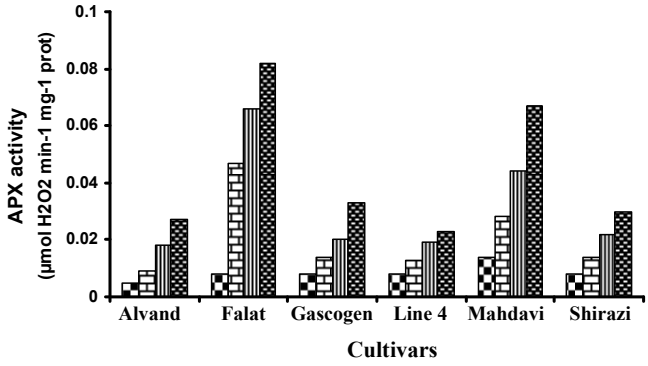
جدول ۲. مقایسه میانگین فعالیت آنزیم های آنتی اکسیدان،عناصر سدیم و پتاسیم و تنظیم کننده های اسمزی

Table 2. Mean comparison for antioxidant activity, sodium, potassium and osmotic components

سدیم Na	پتاسیم K	کربوهیدرات (میکرو مول گلوکز بر گرم وزن تر)	پرولین (میکرو مول بر گرم وزن تر)	کلروفیل (قرائت SPAD)	وزن تک بوته (گرم)	آسکوربات پراکسیداز APX	کاتالاز CAT	گایاکول پراکسیداز GPX	تیمار	
(میلی‌گرم در گرم ماده خشک) (mg. g^{-1} dry weight.)		Carbohydrate (µm glucose. g^{-1} Fresh W)	Proline (µm. g^{-1} Fresh W)	Chl. (SPAD)	Plant weigh (gr)	میکرومول H_2O_2 در دقیقه بر میلی‌گرم پروتئین (µmol H_2O_2 min^{-1} mg^{-1} prot)			Treatments	
									Cultivar	**رقم**
0.812bc	1.018b	7.2b	9.88b	1.61a	0.45a	0.051a	0.034c	1.16a	Falat	فلات
0.89ab	0.89c	5.63c	9.45bc	1.54ab	0.29c	0.038b	0.047a	1.24a	Mahdavi	مهدوی
1.07ab	1.067ab	6.98b	12.32a	1.39abc	0.24d	0.019c	0.019d	0.89b	Shirazi	شیرازی
1.56ab	1.056ab	9.82a	8.76c	1.36bc	0.25d	0.019c	0.013e	1.23a	Gascogen	گاسکوژن
1.104ab	1.104ab	6.85b	9.02bc	1.55ab	0.42a	0.017cd	0.039b	1.28a	Line 4	لاین ۴
1.14a	1.140a	9.16a	9.22bc	1.2c	0.37b	0.015d	0.010e	1.33a	Alvand	الوند
									Salinity (m mol)	**شوری (میلی مولار)**
0.51d	2.011a	7.3bc	6.4d	1.58a	0.68a	0.021d	0.029a	1.39a	0	۰
0.78c	1.26b	6.83c	9.3c	1.51a	0.51b	0.025c	0.028a	1.19b	100	۱۰۰
0.92b	0.56c	7.57b	10.8b	1.42ab	0.10c	0.028b	0.0307a	1.15bc	200	۲۰۰
1.082a	0.34d	8.6a	12.5a	1.26b	0.063d	0.032a	0.0204b	1.02c	300	۳۰۰

در هر صفت و هر فاکتور میانگین هایی که دارای حداقل یک حرف مشترک هستند فاقد تفاوت معنی دار آماری براساس LSD5% هستند

Means in each column and for each treatment, followed by the same letter are not significantly different at 5% of probability level-using LSD Test



شکل ۱. اثر متقابل سطوح شوری و رقم بر فعالیت آنزیم APX. سطوح شوری عبارت بودند از صفر (■)، ۱۰۰ (■)، ۲۰۰ (■) و ۳۰۰ (■) میلی‌مولار نمک کلریدسدیم.

Fig 1. Interaction between salinity and cultivar on APX activity. The salinity levels were 0 (■), 100 (■), 200 (■) and 300 (■) mM NaCl.

ب) کربوهیدرات، پرولین و مقدار کلروفیل

اثر رقم، شوری و اثر متقابل شوری و رقم (بجز پرولین) بر میزان تجمع کربوهیدرات، پرولین و مقدار کلروفیل برگ معنی‌دار بودند (جدول ۱). با بالا رفتن میزان شوری از شاهد به ۳۰۰ میلی‌مولار بر غلظت هر دو ترکیب کربوهیدرات و پرولین افزوده و از میزان کلروفیل کاسته شد (جدول ۲).

Munns (1993) اعلام کرد در ژنوتیپ‌های مقاوم به شوری گندم در ابتدای قرارگیری در معرض تنش بر مقدار کربوهیدرات‌های محلول به سبب تبدیل شدن ساکارز به قندهای مونوساکارید افزوده می‌شود. Fedine et al. (1996) اعلام کردند در طی بروز تنش خشکی حفظ و نگهداری پتانسیل فشار جهت فعال نگهداشتن فتوسنتز و ادامه رشد از طریق افزایش غلظت املاح محلول در سلول بوجود می‌آید. کربوهیدرات و پرولین مهمترین این ترکیبات هستند. در این بین پرولین بعنوان یک شاخص برای ارزیابی مقاومت به تنش به شمار می‌رود.

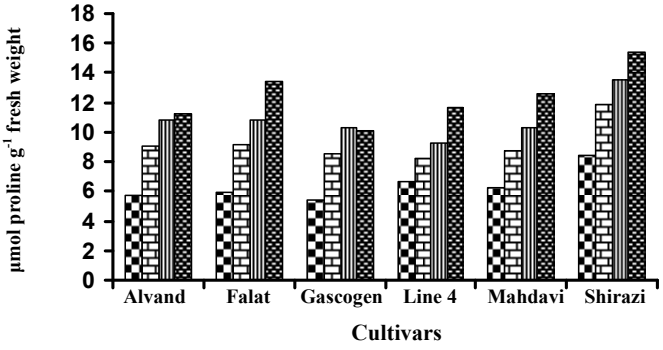
افزایش میزان پرولین، کربوهیدرات و کاهش کلروفیل در سطح شوری ۳۰۰ میلی‌مولار نسبت به شاهد در این آزمایش به ترتیب برابر ۴۸/۸، ۱۵/۲ و ۳۴/۱ درصد بودند (جدول ۲). در این آزمایش همبستگی مثبتی بین میزان کربوهیدرات و پرولین با کلروفیل بدست آمد (جدول ۳). این امر به نوعی بیانگر این است که در طی بروز تنش شوری، بالا رفتن غلظت دو تنظیم کننده اسمزی می‌تواند تا حدی مانع از دست رفتن کلروفیل برگ شده، راه را برای ادامه فرآیند فتوسنتزی هموار سازد.

شش رقم گندم در این آزمایش از لحاظ غلظت دو ترکیب کربوهیدرات، پرولین و میزان کلروفیل برگ دارای تفاوت معنی‌داری با هم بودند، بطوری‌که بالاترین میزان پرولین در رقم شیرازی، کربوهیدرات در رقم مهدوی و کلروفیل در رقم فلات بدست آمد (جدول ۲).

در زمان قرارگیری این ارقام در معرض سطوح مختلف شوری (شکل‌های ۲ و ۳) مشاهده می‌شود غلظت پرولین و کربوهیدرات در ارقامی که نتوانسته بودند جهت مقاومت از مکانیسم افزایش فعالیت آنزیم آنتی‌اکسیدان استفاده کنند، بیشتر افزایش یافت. برای مثال بیشترین میزان کربوهیدرات و پرولین به ترتیب مربوط به ارقام الوند و شیرازی در سطح شوری ۳۰۰ میلی‌مولار بودند. در دو رقم مهدوی و فلات که همراه با افزایش شوری از فعالیت آنزیمی بالایی برخوردار بودند، افزایش غلظت دو تنظیم کننده نیز بر مکانسیم مقاومت آنها افزود، بطوری که سبب شد در رقم فلات نه تنها همراه با بالا رفتن شوری از شاهد به ۳۰۰ میلی‌مولار از میزان کلروفیل آنها کاسته نشود، بلکه بر مقدار آن نیز افزوده گردد. میزان افزایش کلروفیل در سطح ۳۰۰ میلی‌مولار نسبت به شاهد در رقم فلات برابر ۴/۷ درصد بود.

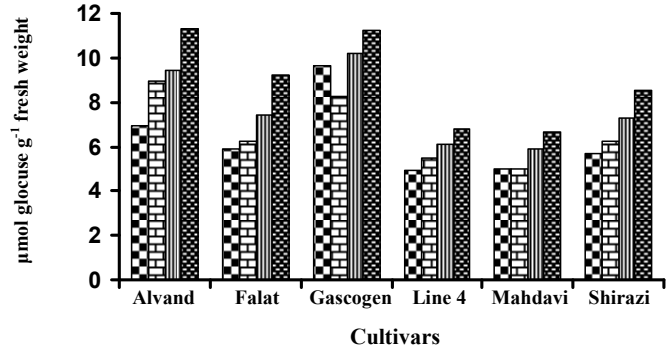
محققین مختلف از جمله Sultana et al. (1999) از افزایش میزان پرولین در برنج تحت تنش شوری خبر می-

دهند. Cavelier (1983) اعلام کرد افزایش پرولین در گیاهان تحت تنش شوری در واقع نوعی واکنش از طرف گیاه به کاهش پتانسیل آب در محیط ریشه است. در این زمان پرولین با کم کردن پتانسیل اسمزی سلولهای ریشه شرایط لازم برای جذب آب و عناصر غذایی را فراهم می‌کند.



شکل ۲. اثر متقابل سطوح شوری و رقم بر میزان پرولین. سطوح شوری عبارت بودند از صفر (■)، ۱۰۰ (■)، ۲۰۰ (■) و ۳۰۰ (■) میلی‌مولار نمک کلریدسدیم.

Fig 2. Interaction between salinity and cultivar on proline content. The salinity levels were 0 (■), 100 (■), 200 (■) and 300 (■) mM NaCl.



شکل ۳. اثر متقابل سطوح شوری و رقم بر میزان کربوهیدرات. سطوح شوری عبارت بودند از صفر (■)، ۱۰۰ (■)، ۲۰۰ (■) و ۳۰۰ (■) میلی‌مولار نمک کلریدسدیم.

Fig 3. Interaction between salinity and cultivar on carbohydrate content. The salinity levels were 0 (■), 100 (■), 200 (■) and 300 (■) mM NaCl.

ج) عناصر سدیم و پتاسیم

رابطه بین شوری و قابلیت جذب عناصر غذایی مورد نیاز برای رشد پیچیده بوده و بستگی به گونه گیاهی، غلظت و نوع نمک و میزان عناصر غذایی موجود در محیط ریشه دارد. مطالعات فیزیولوژیک نشان داده است که تنش شوری اثرات سویی بر رشد گیاهان دارد. این امر به سبب تغییر در نسبت عناصر غذایی، تنش اسمزی و سمیت برخی از یونهای خاص می‌باشد (Grattan and Grieve, 1999). در این آزمایش شوری تاثیر معنی‌داری بر جذب و در نتیجه میزان تجمع دو عنصر سدیم و پتاسیم در بخش هوایی گیاهان داشت (جدول ۱). با بالا رفتن میزان شوری از شاهد به ۳۰۰ میلی‌مولار از مقدار جذبی پتاسیم کاسته بر مقدار سدیم افزوده شد. در سطح شوری ۳۰۰ میلی‌مولار نسبت به شاهد میزان سدیم از افزایشی معادل ۵۲/۹

و پتاسیم از کاهشی معادل ۸۳/۱ درصد برخوردار بودند (جدول ۲). این نتایج با گزارشات Irshad et al. (2002) مطابقت دارد.

شش رقم گندم مورد بررسی در این آزمایش از لحاظ میزان جذب دو عنصر سدیم و پتاسیم تفاوت معنی‌داری با هم داشتند (جدول ۱). در این بین ارقام گاسکوژن و شیرازی به ترتیب از بیشترین و کمترین میزان سدیم و ارقام الوند و مهدوی به ترتیب از بیشترین و کمترین مقدار جذب پتاسیم برخوردار بودند (جدول ۲). تفاوت در میزان جذب این عناصر در ارقام با تفاوت در ساختار ژنتیکی آنها مرتبط است.

در طی اعمال تنش شوری و با بالا رفتن سطح شوری از شاهد به ۳۰۰ میلی مولار اثر متقابل شوری و رقم تنها در مورد پتاسیم معنی دار بود (جدول ۱). در این بین رقم گاسگوژن در سطح شوری شاهد به میزان ۲/۰۸ میلی گرم در گرم ماده خشک و رقم مهدوی در سطح شوری ۳۰۰ میلی‌مولار به میزان ۰/۳۰ میلی گرم در گرم ماده خشک به ترتیب از بیشترین و کمترین میزان پتاسیم برخوردار بودند (شکل‌های ۴ و ۵).

Yeo and Flowers (1983) گزارش کردند که عامل اصلی خسارت ناشی از تنش شوری در برنج بالا رفتن میزان سدیم و در نتیجه سمیت این عنصر در گیاه است. زمانی که میزان سدیم در محیط ریشه افزایش می‌یابد، اثرات آن ممکن است منجر به تغییراتی در فشار اسمزی سلول شود. این عامل موجب پلاسمولیز و کاهش جذب انتخابی عناصر در ریشه خواهد شد. در این آزمایش هر چند در واکنش به شوری از جذب پتاسیم کاسته شد، اما تنظیم اسمزی با کمک کربوهیدرات و پرولین همبستگی معنی‌دار و مثبتی با جذب این دو عنصر داشت (جدول ۳). این امر بیان می‌کند که در طی بروز تنش شوری هر چند با تنظیم اسمزی تا حدی شرایط لازم برای جذب آب فراهم می‌شود اما این امر با جذب بیشتر عناصر ناخواسته همانند سدیم نیز می‌تواند همراه باشد.

تفاوت معنی‌داری بین شوری، رقم و اثر متقابل این دو بر وزن ساقه وجود داشت (جدول ۱). با بالا رفتن میزان شوری از وزن ساقه گیاهان کاسته شد و این کاهش در سطح شوری ۳۰۰ میلی مولار نسبت به شاهد معادل ۸۹ درصد بود (جدول ۲). در بین ارقام، رقم شیرازی و الوند در این سطح شوری به میزان ۰/۰۵ گرم در بوته از کمترین وزن ساقه برخوردار بودند. این در حالی بود که این دو رقم در این سطح از شوری از تجمع بالایی از سدیم و پرولین برخوردار بودند.

جدول ۳. همبستگی بین فعالیت آنزیم های آنتی اکسیدان، عناصر سدیم و پتاسیم و با تنظیم کننده های اسمزی

Table 3. Correlation coefficients between antioxidant activity, sodium, potassium and osmotic components

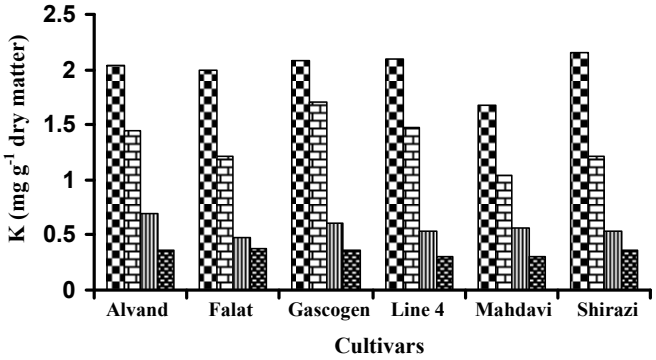
		آسکوربات پراکسیداز	گایاکول پراکسیداز	کاتالاز	وزن بوته	پرولین	کربوهیدرات	کلروفیل	سدیم	پتاسیم
		APX	GPX	CAT	Plant W.	Proline	Carbohydrate	Chl.	Na	K
آسکوربات پراکسیداز	APX	1								
گایاکول پراکسیداز	GPX	-0.176	1							
کاتالاز	CAT	0.36**	0.113	1						
وزن بوته	Plant W.	-0.162	0.467**	0.216*	1					
پرولین	Proline	0.21*	-0.61*	-0.15	-0.719**	1				
کربوهیدرات	Carbohydrate	0.1007	-0.138	-0.45**	-0.223*	0.090	1			
کلروفیل	Chl.	0.23*	0.22*	0.24*	0.295*	-0.209*	-0.245*	1		
سدیم	Na	0.091	-0.176	-0.091	-0.615**	0.502**	0.286*	-0.30**	1	
پتاسیم	K	-0.21*	-0.47**	0.008	-0.74*	-0.75*	-0.182	0.316**	-0.74*	1

*،** و ns ، به ترتیب نشاندهنده معنی دار بودن در سطح ۵٪ و ۱٪ و عدم معنی دار بودن می باشد

ns, * and ** means non-significant, significant at 5% and 1% probability levels, respectively

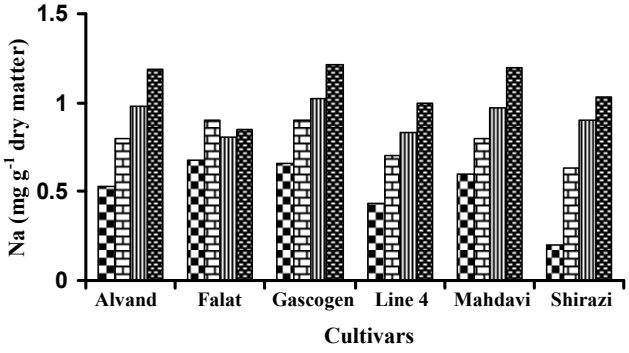
نتیجه گیری

گندم همانند بسیاری دیگر از گیاهان زراعی از مکانیسم-های متعددی جهت مقابله با تنش شوری استفاده می‌کند. براساس نتایج بدست آمده در این آزمایش، مکانیسم تنظیم اسمزی (به کمک دو ترکیب آلی کربوهیدرات و پرولین) در مرحله گیاهچه‌ای بسیار کاراتر و موثرتر از افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدان عمل کرده و شرایط لازم را برای جذب آب و املاح معدنی در گندم فراهم نموده است. در این آزمایش ارقام گندم فلات و مهدوی در بین شش رقم گندم مورد بررسی از بالاترین فعالیت آنزیم APX و تجمع مقادیر مناسبی از کربوهیدرات و پرولین در بخش هوایی خود برخوردار بودند. این امر شرایط لازم برای جذب بیشتر پتاسیم و مقدار کمتر سدیم را برای آنها فراهم نمود.



شکل ۴. اثر متقابل سطوح شوری و رقم بر میزان پتاسیم اندام‌های هوایی. سطوح شوری عبارت بودند از صفر (□)، ۱۰۰ (▤)، ۲۰۰ (▥) و ۳۰۰ (▩) میلی‌مولار نمک کلریدسدیم.

Fig 4. Interaction between salinity and cultivar on shoot potassium content. The salinity levels were 0 (□), 100 (▤), 200 (▥) and 300 (▩) mM NaCl.



شکل ۵. اثر متقابل سطوح شوری و رقم بر میزان سدیم اندام‌های هوایی. سطوح شوری عبارت بودند از صفر (□)، ۱۰۰ (▤)، ۲۰۰ (▥) و ۳۰۰ (▩) میلی‌مولار نمک کلریدسدیم.

Fig 5. Interaction between salinity and cultivar on shoot sodium content. The salinity levels were 0 (□), 100 (▤), 200 (▥) and 300 (▩) mM NaCl.

منابع

Alvesda Costa, P.H., Azevedo Neto. A.D., Alves Bezerra. M., Tarquinio paisco. J., Gomes–Filho, E., 2005. Antoxidative–enzymatic system of two sorghum genotypes differing in salt tolerance. Plant Physiol. 17(4), 353–361.

Appel, K., Hirt, H., 2004. Reactive oxygen species: metabolism, oxidative stress and signal transduction. Annu. Rev. Plant Biol. 55, 373-399.

Ashraf, M., Harris, P.J.C., 2004. Potential biochemical indicators of salinity tolerance in plants. Plant Sci. 166, 3-16.

Bates, S., Waldern, R.P., Teare, E.D., 1973. Rapid determination of free proline for water stress studies. Plant and Soli, 39: 205-207.

Beers, G.R., Sizer, I.W., 1952. A spectrophotometric method for measuring the breakdown of hydrogen peroxide by catalase. Biol. Chem. 195, 133 – 140.

Cavelierl, A.J., 1983. Proline and glycin-betain accumulation by *Sparina alterniflora* L. in respose to Nacl and nitrogen in a controlled environment. Oecologia. 57, 20- 24.

Chen, Z., Gallie, D.R., 2004. The ascorbic acid redox state controls guard cell signaling and stomata movement. The Plant Cell. 16: 1143-1162.

Fedine, L.S., Popova, A.V., 1996. Photosynthesis, photorespiration and proline accumulation in water-stressed pea leaves. Crop Sci. 32, 213-220.

Grattan. S. R., Grieve. C.M., 1999. Salinity – mineral nutrient relations in horticultural crops. Scientica Horticuture. 78, 127–157

Good .A., Zaplachiniski, S., 1994. The effects of drought on free amino acid accumulation and protein syntesis in *Brassica napus*. Physiologia Plantarum, 90, 9–14.

Gosset, D.R., Millhollon. E.P., Lucas, M.C., 1994. Antioxidant response to NaCl stress in salt–tolerant and salt sensitive cultivars of cotton. Crop Sci. 34, 106–714.

Harvey, D.M.R., 1985. The effects of salinity on ion concentrations within the root cells of *Zea mays* L. Planta. 165, 242-248.

Irshad, M., Honna. T., Enejl. A.E., Yamamoto, S., 2002. Wheat response to nitrogen source under saline conditions. J. Nutr. 25, 2603-2612.

Munns, R., 1993. Physiological process limiting plant growth in saline soil: some dogmas and hypotheses. Plant Cell Environ.16, 15-24.

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

Nakano, Y., Asada, K., 1981. Hydrogen peroxide is scavenged by ascorbate–specific peroxidases in spinach chloroplasts. Plants Cell Physiol. 22, 867–880.

Neill, S., Desika, R., Hancock, J., 2002. Hydrogen peroxide signaling curropin. Plant Biol. 5, 388- 395.

Rhoader, J.D., Loveday. J., 1990. Salinity in irrigated agriculture. In: Stewart, B.A, Nilesen D.R. (Eds.), Civil Engineers Irrigation of Agricultural Crops. Am. Soc. Agron. Madison, Wl, Monograph. 30, 1089-1142.

Sairam, R.K., Rao, K.V., Srivastava, G.C., 2002. Differential response of wheat genotypes to long-term salinity stress in relationto axidative stress. Antioxidant active and osmolyte consentration. Plant Sci. 163, 1037-1046.

Schlegel, H.G., 1956. Die verwertung organischer sauren durch chlorella in lincht. Planta, 47, 510.

Sultana, N., Ikeda, T., Itoh, R., 1999. Effect of NaCl on photosynthesis and dry matter accumulation in developing rice. Environ. Exp. Botany 42, 211-220.

Urbanek, H., Kuzniak–Gebarowska, E., Herka, K., 1991. Elicitation of defense responses in bean leaves by *Botrytis cinerea* polyglacturonase. Acta Phys. Plant. 13, 43–50.

Yeo, A.R., Flowers. T.J., 1983. Varietal differences in the toxicity of sodium ions in rice leaves. Physio. Plant, 56, 543- 548.

.

The University of Birjand
Faculty of Agriculture

Environmental Stresses in Crop Sciences (ESCS) Vol. 3(1): 83-94 (2010)

تنشهای محیطی در علوم زراعی
Environmental Stresses in Crop Sciences

Studying the effects of different salinity levels on physiological reactions and sodium and potassium uptake in wheat

M. Heidari[1], F. Mesri[2]

1. Assistant Professor. Agronomy and Plant Breeding Dept., University of Zabol.
2. B.Sc of Agricultural Biotechnology Institute, University of Zabol

Abstract

Drought stress is one of the most important environmental factors in reducing growth, development and production of plants. To evaluate the effect of different salinity levels on antioxidant enzymatic activity (CAT, APX and GPX), sodium and potassium uptake and two organic compounds (carbohydrate and proline) in six wheat cultivars at seedling stage, a factorial experiment based on CRD was conducted with three replications at Biosynthesis Research Centre of Zabol University in 2007. The treatments were salinity at four concentrations including 0, 100, 200 and 300 mM NaCl and six wheat cultivars (Alvand, Falat, Gaskojen, Line4, Mahdavi and Shirazi). Results showed that increasing salinity level from 0 to 300 mM NaCl significantly increased the activity of only APX antioxidant enzyme, while decreased the activity of the two other antioxidant enzymes. Among the cultivars, Falat and Mahdavi had the highest level of APX activity at 300mM salinity level. Increased salinity levels enhanced carbohydrate and proline concentrations in all six cultivars. Among the cultivars, Alvand, Gaskojen, Lain4 and Shirazi which had the lowest APX enzyme activity, showed the highest carbohydrate and proline concentrations. Salinity caused reduction in potassium and an increase in sodium uptake. Falat and Mahdavi cultivars had the best controlling on sodium and potassium uptake due to possessing the highest APX activity as well as a desirable carbohydrate and proline content in aboveground parts especially at S_3 salinity level. From the results of this study it can be deduced that osmotic adjustment is more effective in conferring the salinity tolerance to wheat cultivars than the antioxidant enzyme activity at seedling stage.

Keywords: salinity, antioxidant-enzymes, sodium and potassium, osmotic regulators, wheat

* Correspondent author: Mostafa Heidari; E-Mail: haydari2005@yahoo.com