Archive of SID

نشریه علمی ـ پژوهشی اکوفیزیولوژی گیاهان زراعی، جلد دهم، شماره ۱(۳۷)، بهار ۱۳۹۵، صفحه ۲۸۲-۲۶۹

**مقاله کوتاه**

# واکنش کلروفیل، محتوای نسبی آب و پروتئین برگ گلرنگ به تنش شوری و محلول‌پاشی کلسیم، پتاسیم و منگنز

**محمود عطارزاده [۱*]، اصغر رحیمی [۲] و بنیامین ترابی [۳]**

**تاریخ دریافت: ۱۳۹۳/۶/۳۰ تاریخ بازنگری: ۱۳۹۴/۸/۲۲ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۴/۱۱/۲۷**


## چکیده

به‌منظور بررسی تاثیر محلول‌پاشی کلسیم، پتاسیم و منگنز روی شاخص‌های کلروفیل و محتوای نسبی آب برگ گلرنگ رقم پدیده در شرایط تنش شوری، آزمایش گلدانی در گلخانه دانشگاه ولی عصر رفسنجان در سال ۱۳۹۰ اجرا شد. این آزمایش به صورت فاکتوریل دو عاملی، در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی با ۳ تکرار انجام شد. عامل اول شوری در چهار سطح، شامل بدون شوری (شاهد) و شوری ۵۰۰، ۱۰۰۰ و ۱۵۰۰ میلی‌گرم کلرید سدیم بر کیلوگرم خاک بود و عامل دوم محلول‌پاشی در چهار سطح: محلول‌پاشی با آب مقطر (شاهد) و محلول‌پاشی نیترات کلسیم و پتاسیم‌دی‌هیدروژن‌فسفات، هر یک با غلظت ده میلی‌مولار، و محلول‌پاشی سولفات منگنز به مقدار یک میلی‌مولار از دو هفته پس از سبز شدن و هر دو هفته یک‌بار اعمال شد. نتایج نشان داد که تیمار ۱۵۰۰ میلی‌گرم کلرید سدیم، به‌طور معنی‌داری عدد اسپد، نسبت Fv/Fm و محتوای آب نسبی را در برگ گلرنگ تحت تاثیر قرار داد و باعث کاهش معنی‌دار آنها شد، از طرف دیگر افزایش شوری منجر به افزایش کمبود آب اشباع برگ گردید. محلول‌پاشی نیترات کلسیم، پتاسیم دی‌هیدروژن فسفات و سولفات منگنز نیز باعث کاهش عدد اسپد گردیده است. محلول‌پاشی نیترات کلسیم سبب افزایش محتوای پروتئین برگ در شرایط شوری ۵۰۰ میلی‌گرم کلرید سدیم و بدون شوری گردید. محلول‌پاشی سولفات منگنز سبب افزایش میزان کلروفیل b و a+b و کلروفیل a در سطح شوری ۵۰۰ میلی‌گرم کلرید سدیم گردید. بنابراین، با توجه به نقش مثبت کلسیم و منگنز در تولید و حفاظت از کلروفیل و پروتئین، محلول‌پاشی آن می‌تواند راه‌کار مناسبی در جهت کاهش خسارت گیاهان در شرایط تنش شوری باشد.


**واژگان کلیدی**: تنش شوری، کلروفیل، گلرنگ، محلول‌پاشی.


۱- دانشجوی دکتری زراعت دانشگاه یاسوج ، یاسوج، ایران (* نگارنده‌ی مسئول) Attarzadeh2012@yahoo.com

۲- دانشیار گروه زراعت، دانشگاه ولی عصر رفسنجان، رفسنجان، ایران

۳- استادیار گروه زراعت دانشگاه ولی عصر رفسنجان، رفسنجان، ایران


www.SID.ir

Archive of SID



**مقدمه**

شوری خاک یکی مخرب‌ترین تنش‌های عمده زیست محیطی است که تاثیر منفی بر رشد و متابولیسم گیاه می‌گذارد. تنش شوری را می‌توان یکی از علل کاهش قابلیت استفاده اراضی برای تولید محصولات کشاورزی دانست (Ashraf, 2009). گیاهان در محیط شور با مشکلات اصلی مواجه هستند، املاح زیاد موجود در محلول خاک پتانسیل اسمزی خاک را پایین می‌آورد (Hajlaoui *et al*., 2010). کاهش پتانسیل اسمزی مهم‌ترین عامل بازدارندگی رشد گیاهان تحت شرایط شوری است. طبق گزارش‌های به‌دست آمده توسط محققان، غلظت‌های بالای نمک باعث کمبود آب و در نتیجه باعث اختلال در بسیاری از فرآیندهای فیزیولوژیک گیاه می‌گردد (Khan and Panda, 2008).

شواهد زیادی نشان می‌دهد که شوری باعث تغییر در شاخص‌های فتوسنتزی از جمله میزان کلروفیل و کارتنوئیدها می‌گردد (Tavallali *et al*., 2008). مقدار کلروفیل و رنگدانه‌های فتوسنتزی از مهم‌ترین عوامل مؤثر در ظرفیت فتوسنتزی گیاهان هستند. زیرا به طور مستقیم بر سرعت و میزان فتوسنتز و در نهایت تولید زیست توده مؤثر می‌باشند. کاهش رشد تحت شرایط تنش شوری را می‌توان به کاهش میزان فتوسنتز که خود ناشی از تاثیر شوری بر مکانیزم‌های شیمیایی و غیرشیمیایی است نسبت داد (Munns, and Tester, 2008). محتوای نسبی آب برگ معیار مناسبی جهت بررسی وضعیت آبی گیاه است. کاهش محتوای آب نسبی می‌تواند در نتیجه کاهش دسترسی به آب در اثر افزایش پتانسیل اسمزی ناشی از وجود نمک باشد (Kaya *et al*., 2006). تحت تنش شوری، استفاده از عناصر مغذی همراه با آبیاری سبب کاهش کارآیی آنها به دلیل قلیایی بودن بیش از حد خاک‌ها و عدم قابلیت استفاده از آن‌ها به دلیل تثبیت در خاک می‌گردد، اما استفاده از این عناصر به صورت محلول‌پاشی روی گیاه به دلیل افزایش کارآیی جذب عناصر، روش مناسبی می‌باشد (Zayed *et al*., 2011). کاربرد برخی عناصر به صورت محلول‌پاشی سبب کم کردن اثرات منفی شوری می‌گردد. سانگ و فوجییاما (Song and Fujiyama, 1996) بر اثرات مثبت عناصر بر کاهش اثرات شوری در گیاه تاکید دارند. از جمله این عناصر یون کلسیم و پتاسیم می‌باشد که اثرات قابل توجهی در فرآیندهای فیزیولوژیک گیاهان داشته و اثرات منفی شوری بر رشد گیاهان را کاهش می‌دهند (Zheng *et al*., 2008; Nedjimi and Daoud, 2009). برای حفاظت غشا پلاسمایی در مقابل آسیب‌های ناشی از تنش‌های مختلف، حضور کلسیم در محیط بیرونی، جایی که می‌تواند جذب یون‌ها تنظیم شود، ضروری است (Rodrigo-Moreno *et al*., 2013). همچنین منگنز در حفاظت سطح بیرونی غشاء تیلاکوئید در ساختمان کلروپلاست نقش دارد و به عنوان راه‌کاری در گیاهان جهت افزایش تحمل گیاه به تنش شوری استفاده می‌گردد (Zayed *et al*., 2011). با توجه به تحقیقات انجام شده و بررسی صفات بیوشیمیایی و مورفولوژیک گیاه گلرنگ در محیط آبکشت، می‌توان گفت که یون کلسیم در غلظت‌های بهینه اثرات مخرب شوری را بر گیاه بهبود می‌بخشد و باعث افزایش تحمل گیاه به تنش شوری می‌شود (Gorgi *et al*., 2010). نتایج بدست آمده توسط دیگر محققان نشان می‌دهد که شوری باعث کاهش برخی از پارامترهای رشد در برنج می‌گردد. از طرف دیگر محلول‌پاشی کلسیم، پتاسیم و منگنز حساسیت به شوری را پایین آورده و پارامترهای رشدی و فیزیولوژیکی را به خوبی بهبود می‌بخشد (Sultana *et al*., 2001).

www.SID.ir

Archive of SID



با توجه به اهمیت کشت دانه‌های روغنی از جمله گلرنگ و از طرف دیگر اثرات مثبت عناصر تغذیه‌ای در کاهش اثرات تنش‌های محیطی از جمله شوری بر رشد گیاهان، و وجود مشکل تنش شوری در بسیاری از خاک‌های زیر کشت، و ضرورت استفاده از راه‌کارهایی برای مقابله با این تنش‌ها پژوهش حاضر انجام شده است.

**مواد و روش‌ها**

این پژوهش در سال ۱۳۹۰ در گلخانه‌ی تحقیقاتی دانشکده‌ی کشاورزی دانشگاه ولی عصر (عج) رفسنجان با عرض جغرافیای ۳۰ درجه و ۲۳ دقیقه و طول جغرافیای ۵۶ درجه با ارتفاع ۱۵۲۰ متر از سطح دریا انجام گردید. شرایط مورد بررسی در گلخانه شامل دمای گلخانه در شب ۲۰ درجه و در روز ۲۶ درجه سلسیوس و رطوبت محل بین ۵۰ تا ۵۵ درصد و نور گلخانه مشابه با شرایط محیط بود. این پژوهش به صورت فاکتوریل دو عاملی، در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی با سه تکرار انجام شد. عامل اول شوری در چهار سطح شامل: بدون شوری (شاهد) و شوری ۵۰۰، ۱۰۰۰ و ۱۵۰۰ میلی‌گرم کلرید سدیم بر کیلوگرم خاک (Grewal *et al.*, 2004) و عامل دوم محلول‌پاشی در چهار سطح: شامل محلول‌پاشی آب مقطر (شاهد)، محلول‌پاشی نیترات کلسیم، پتاسیم‌دی‌هیدروژن‌فسفات هر کدام با غلظت ده میلی‌مولار و محلول‌پاشی سولفات منگنز با غلظت یک میلی‌مولار در آب مقطر اعمال شد (Sultana *et al.*, 2001). بستر کشت در گلدان‌هایی به ارتفاع ۱۸ سانتی‌متر و قطر ۲۰ سانتی‌متر، با وزن خاک یکسان ۶ کیلوگرم استفاده شد. برخی ویژگی‌های فیزیکی و شیمیایی خاک مورد استفاده در آزمایش دارای مشخصات به شرح جدول ۱ می‌باشد.

در هر گلدان تعداد ۱۰ بذر گلرنگ رقم پدیده در اسفند ماه سال ۱۳۸۹ کشت گردید. لازم به ذکر است که رقم پدیده دارای تیپ رشد پاییزه است و وزن هزار دانه آن ۳۵-۳۰ گرم و ارتفاع آن حدود ۱۵۰ تا ۱۷۰ سانتی‌متر است. تاریخ مناسب کاشت آن در مناطق سرد و معتدل کشور اواسط شهریور ماه تا اوایل مهر ماه است (Omidi *et al.*, 2008) دو هفته پس از کاشت (مرحله دو برگی)، عمل تنک کردن گیاهچه‌ها صورت گرفت و تعداد پنج بوته در هر گلدان حفظ گردید. در سطح شوری اول، دوم و سوم به‌ترتیب، ۳۰۰۰، ۶۰۰۰ و ۹۰۰۰ میلی‌گرم کلرید سدیم به‌صورت محلول با ۲۵۰ میلی‌لیتر آب مقطر به گلدان‌های هر تیمار در مرحله چهار برگی اضافه شد، و در تیمار شاهد، نمک اضافه نگردید. به‌منظور جلوگیری از شوک اسمزی، تیمارهای شوری از روز بیستم، با فاصله زمانی پنج روز، بطوری‌که میزان نمک محاسبه شده تقسیم و در سه مرحله اعمال گردیدند. پس از اعمال تیمارهای شوری، به‌منظور جلوگیری از تغییر شوری خاک گلدان‌ها تا پایان دوره رشد با آب مقطر به میزان ۲۵۰ میلی‌لیتر براساس ظرفیت زراعی خاک گلدان، هر پنج روز یکبار آبیاری شدند. محلول‌پاشی کلسیم، پتاسیم و منگنز با غلظت‌های تعریف شده دو هفته پس از اعمال شوری، هر دو هفته یک‌بار و تا پایان دوره رشدی گیاه (Sultana *et al.*, 2001) در چهار مرحله اعمال گردید. جهت اندازه‌گیری عدد اسپد و فلورسانس کلروفیل در مرحله شروع گلدهی گلرنگ نمونه‌برداری انجام شد. جهت اندازه‌گیری عدد اسپد، از هر گلدان ۵ برگ انتخاب و میزان سبزینگی با دستگاه SPAD-502 قرائت شد (Uddling *et al.*, 2007). برای اندازه‌گیری فلورسانس کلروفیل از دستگاه Chlorophyll Fluorimeter مدل Hansatech LTD Pocket PEA استفاده شد. به این منظور برگ‌های گیاهان به مدت ۱۵ دقیقه جهت سازگاری به تاریکی به وسیله گیره‌های مخصوص از تابش نور خورشید محافظت شدند. بعد از گذشت ۱۵

www.SID.ir

Archive of SID



دقیقه سنسور دستگاه داخل گیره‌ها قرار داده شد و میزان فلورسانس کلروفیل برگ‌ها توسط دستگاه ثبت شد. عدد حاصل از این دستگاه نشان دهنده میزان بازدهی فتوسنتزی فتوسیستم دو یا همان نسبت Fv/Fm (نسبت فلورسانس متغیر به فلورسانس حداکثر) می‌باشد که بر اساس درصد بیان می‌شود (Baker, 2008). جهت اندازه‌گیری محتوای نسبی آب برگ و کمبود آب اشباع برگ، از روش ویدرلی (Weatherely, 1950) استفاده شد. بدین منظور از هر تیمار یک برگ بالغ و کاملاً توسعه یافته در مرحله شروع گلدهی گلرنگ انتخاب کرده و پس از جداکردن از ساقه، برگ‌ها داخل فویل آلومینیومی پیچیده شده و بلافاصله داخل فلاسک یخ به آزمایشگاه منتقل شده و وزن آن‌ها با ترازوی ۰/۰۰۰۱ گرم اندازه‌گیری شد (وزن تر). به‌منظور اندازه‌گیری وزن آماس برگ‌ها به مدت ۲۴ ساعت در آب مقطر (پتری‌دیش حاوی ۳۰ میلی لیتر آب مقطر) به دور از نور قرار گرفته و سپس وزن شدند (وزن آماس)، سپس برگ‌ها به مدت ۴۸ ساعت در آون در دمای ۷۰ درجه سلسیوس قرار گرفته و وزن شدند (وزن خشک). در نهایت با استفاده از فرمول زیر محتوای آب نسبی و کمبود آب اشباع برگ بر اساس درصد محاسبه گردید.

(وزن خشک - وزن اشباع) / (وزن ] =محتوای آب نسبی برگ
۱۰۰× [خشک - وزن تر)

[(وزن آماس) /(وزن تر- وزن آماس)] = کمبود آب اشباع برگ
× ۱۰۰

برای اندازه‌گیری محتوای پروتئین، برگ‌های بالغ و کاملاً توسعه یافته در مرحله شروع گلدهی گلرنگ انتخاب گردید و میزان پروتئین با استفاده از روش وانـگ و هـــان (Wang and Han, 2009) اندازه‌گیری شد. برای اندازه‌گیری میزان کلروفیل a، b، a+b و کارتنوئید، برگ‌های بالغ و کاملاً توسعه یافته در مرحله شروع گلدهی گلرنگ انتخاب گردید و با استفاده از روش آرنون (Arnon, 1949) عصاره برگی تهیه و سپس میزان جذب نور عصاره تهیه شده از نمونه ها با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر مدل (Cintra 5, Australia) قرائت شد. در نهایت بوته‌های گلرنگ در مرحله گلدهی برداشت شدند. محاسبات آماری داده‌های حاصل از آزمایش با استفاده از رویه Proc GLM نرم‌افزار SAS 9.1 و مقایسه میانگین‌ها از طریق آزمون دانکن در سطح احتمال ۵٪ انجام شد.

## نتایج و بحث

**عدد اسپد:** نتایج حاصل از تجزیه واریانس داده‌های مربوط به عدد اسپد برگ گلرنگ نشان داد که اثر شوری و نوع محلول‌پاشی بر عدد اسپد برگ گلرنگ معنی‌دار بود (جدول ۲). نتایج مقایسه میانگین داده‌ها نشان داد که در شوری ۱۵۰۰ میلی‌گرم کلریدسدیم، عدد اسپد برگ گلرنگ ۳۲ بود که نسبت به شرایط بدون تنش (۳۳/۶) و شوری ۵۰۰ و ۱۰۰۰ میلی‌گرم کلریدسدیم (به‌ترتیب ۳۳/۵ و ۳۳/۹) به‌طور معنی‌داری کمتر بود (شکل ۱- الف). یکی از اثرهای شوری در گیاه کاهش فعالیت فتوسنتزی هست که در نتیجه کاهش مقدار کلروفیل، کاهش جذب دی‌اکسیدکربن و ظرفیت فتوسنتزی می‌باشد (Francisco, 2002). در سویا غلظت کلروفیل برگ به متابولیسم گیاه، فعالیت آنزیم رابیسکو، میزان نیتروژن برگ و شرایط بستگی دارد و همچنین ممکن است در غلظت بالای املاح، به علت اثری که شوری بر پروتئین‌ها دارند، اتصال بین کلروفیل و پروتئین‌های کلروپلاستی سست شده و کلروفیل‌ها تخریب گردند (Wang, 2001). جمیل و همکاران (Jamil *et al.*, 2007) طی مطالعه‌ای روی گیاه تربچه در چهار سطح شوری (۰، ۴/۷، ۹/۴، ۱۴/۱ دسی‌زیمنس بر متر) گزارش کردند با افزایش سطح شوری میزان کلروفیل کاهش نشان داد به‌طوری‌که کمترین میزان کلروفیل در سطح شوری ۱۴/۱ بوده

www.SID.ir

Archive of SID



است. نتایج دیگر حاکی از این است که در شرایط محلول‌پاشی آب مقطر، عدد اسپد به‌طور معنی‌داری بیشتر از سایر تیمارهای محلول‌پاشی بود و از طرفی بین سایر تیمارهای محلول‌پاشی اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد (شکل ۱- ب). محلول‌پاشی ترکیبات در این آزمایش باعث کاهش عدد اسپد شده است. کاهش عدد اسپد در شرایط محلول‌پاشی احتمالاً به علت افزایش سطح برگ گلرنگ و در نتیجه نازکتر شدن برگ و پراکنده شدن کلروفیل در سطح برگ می‌باشد.

**نسبت Fv/Fm:** نتایج حاصل از تجزیه واریانس داده‌های مربوط به نسبت Fv/Fm برگ گلرنگ نشان داد که تنها تیمار شوری تاثیر معنی‌داری ($P<0/01$) بر نسبت Fv/Fm گلرنگ داشته است و اثر متقابل شوری و محلول‌پاشی نتوانست نسبت Fv/Fm برگ را تحت تاثیر قرار دهد (جدول ۲). نتایج مقایسه میانگین داده‌ها نشان داد که نسبت Fv/Fm در سطح شوری ۱۵۰۰ میلی‌گرم کلرید سدیم به طور معنی‌داری نسبت به شوری ۱۰۰۰ میلی‌گرم کلرید سدیم کمتر بود. بین سایر سطوح شوری و شاهد اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد (شکل ۱- ج). جریان الکترون در فتوسیستم شاخصی برای میزان کلی فتوسنتز می‌باشد و اندازه‌گیری فلورسانس کلروفیل تخمینی از نحوه عمل فتوسنتز را امکان پذیر می‌سازد. در واقع بررسی وضعیت فتوسنتز یک معیار قابل قبول برای ارزیابی میزان سازگاری گیاهان نسبت به محیط اطراف می‌باشد. وقتی تنشی به دستگاه فتوسنتزی گیاه وارد شود، Fv (فلورسانس متغیر) کاهش می‌یابد. علت این کاهش، تخریب ساختمان کلروفیل گیاه می‌باشد و در نتیجه نسبت Fv/Fm کاهش می‌یابد (Maxwell and Johanson, 2000). نتایج به‌دست آمده توسط محققان نشان می‌دهد که با افزایش شوری در گلرنگ میزان حداکثر عملکرد کوانتومی فتوسیستم در شرایط سازگار با تاریکی (Fv/Fm)، که نشان دهنده ظرفیت انتقال الکترون در فتوسیستم II می‌باشد، در مرحله رشد رویشی کاهش می‌یابد. در نتیجه، دلیل کاهش Fv/Fm به طور عمده به خاطر وجود اختلال در ساختمان کلروپلاست می‌باشد (Javadipour *et al.*, 2013). به‌نظر می‌رسد کاهش نسبت Fv/Fm گلرنگ در تیمار شوری ۱۵۰۰ میلی‌گرم کلرید سدیم، دلیلی منطقی بر تخریب ساختمان کلروفیل تحت تیمار شوری ذکر شده، می‌باشد.

**محتوای نسبی آب و کمبود آب اشباع برگ:** تنها اثر تیمار شوری ۱۵۰۰ میلی‌گرم کلرید سدیم بر محتوای نسبی آب برگ گیاه معنی‌دار بود (جدول ۲). نتایج مقایسه میانگین داده‌ها نشان داد که محتوای نسبی آب برگ در شرایط شاهد ۶۹/۶ درصد بود که با تیمار شوری ۱۵۰۰ میلی‌گرم کلریدسدیم (۵۹/۲ درصد) اختلاف معنی‌داری داشت اما با شوری ۵۰۰ و ۱۰۰۰ میلی‌گرم کلریدسدیم اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد (شکل ۱- د). هم‌چنین بین تیمارهای شوری اختلاف معنی‌داری وجود نداشت. یکی از شاخص‌های تحمل به شوری حفظ آماس سلولی است که از این طریق گیاه با کاهش رشد در اثر شوری مقابله می‌کند (Shabala *et al.*, 2000). تجمع نمک در منطقه ریشه از طریق کاهش پتانسیل اسمزی، از جذب آب توسط ریشه جلوگیری می‌کند. هر چند که مولکول‌های آب در خاک شور با نیروی چسبندگی زیاد به ذرات خاک نچسبیده‌اند، اما وجود نمک باعث می‌شود گیاه برای جذب آب نیروی بیشتری صرف کند که این امر می‌تواند عامل تنش برای گیاه باشد. در واقع غلظت زیاد نمک در محیط ریشه باعث کاهش میزان آب برگ‌ها می‌شود (Warrence *et al.*, 2002).

www.SID.ir

Archive of SID



نتایج حاصل از تجزیه واریانس داده‌های مربوط به کمبود آب اشباع برگ گلرنگ نشان داد که تنها تیمار شوری تاثیر معنی‌داری (P<۰/۰۱) بر آن داشته است و اثر متقابل شوری و محلول‌پاشی نتوانست کمبود آب اشباع برگ گلرنگ را تحت تاثیر قرار دهد (جدول ۲). نتایج مقایسه میانگین داده‌ها نشان داد که بیشترین کمبود آب اشباع برگ گلرنگ (۷۰/۹ درصد) مربوط به تیمار ۱۵۰۰ میلی گرم کلرید سدیم بود و کمترین (۵۰/۹ درصد) مربوط به تیمار شاهد بدون کاربرد نمک بود (شکل ۲). هم‌چنین بین تیمارهای شوری اختلاف معنی‌داری وجود نداشت. نتایج بدست آمده توسط محققان نشان می‌دهد که افزایش شوری در گلرنگ سبب ایجاد تغییرات در اندامک‌های نظیر کلروپلاست و واکوئل و همچنین سبب افزایش نشت غشا می‌شود، که در این شرایط محتوای نسبی آب برگ کاهش می‌یابد. نتایج بدست آمده ارتباط مستقیم بین افزایش شوری و کاهش پتانسیل آبی در گلرنگ را نشان می‌دهد (Javadipour *et al*., 2012). کاهش محتوای نسبی آب برگ و به دنبال آن افزایش کمبود آب اشباع برگ در شرایط تنش شوری در گیاه سورگوم نیز گزارش شده است (Sadeghi Lotfabadi *et al*., 2010).

**محتوای پروتئین برگ:** سطوح مختلف شوری، محلول‌پاشی و اثر متقابل آن‌ها محتوای پروتئین برگ گلرنگ را به طور معنی‌داری تحت تاثیر قرار داد (جدول ۲). نتایج مقایسه میانگین داده‌ها نشان داد که در شرایط تیمار بدون شوری و محلول‌پاشی نیترات کلسیم، محتوای پروتئین برگ ۲۸/۷ میلی‌گرم بر گرم بود، که نسبت به تیمار محلول‌پاشی آب مقطر (۱۹ میلی‌گرم بر گرم) افزایش معنی‌داری نشان داد، اما نسبت به تیمار محلول‌پاشی پتاسیم دی‌هیدروژن فسفات و سولفات منگنز (به‌ترتیب ۲۳/۱ و ۲۲ میلی‌گرم بر گرم) اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد (شکل ۳). همچنین، در شوری ۵۰۰ میلی‌گرم کلریدسدیم بیشترین محتوای پروتئین برگ (۲۷/۲ میلی‌گرم بر گرم) مربوط به تیمار محلول‌پاشی نیترات کلسیم و کمترین (۱۸/۴ میلی‌گرم بر گرم) مربوط به تیمار شاهد بدون کاربرد محلول‌پاشی بود.

نتایج به‌دست آمده دیگر حاکی از این است که در شرایط شوری ۱۰۰۰ و ۱۵۰۰ میلی‌گرم کلریدسدیم تغییرات قابل توجهی در محتوای پروتئین برگ در تیمارهای مختلف محلول‌پاشی صورت نگرفته است (شکل ۳). به نظر می‌رسد در سطوح شوری کم، محلول‌پاشی نیترات کلسیم می‌تواند سبب افزایش محتوای پروتئین شود و تا حدودی اثرات نامطلوب شوری را بهبود بخشد، اما در شوری بالا، به علت اختلال در ساختمان آنزیم و پروتئین‌ها سبب کاهش میزان محتوای پروتئین گردید. اثرات شوری، کاهش سنتز پروتئین است این اثرات منفی شامل تخریب مکانیسم‌های رونویسی و ترجمه mRNA است (Singh and Pal, 1995). در محیط داخلی سلول، کلسیم به عنوان پیام‌بر ثانویه عمل می‌کند و با تاثیر گذاری بر روی پایداری و فعالیت پروتئین و آنزیم‌ها سلول را از شرایط تنش خارج می‌کند. در شرایط معمولی غلظت این یون در سیتوپلاسم پایین می‌باشد (Mudrik *et al*., 2002).

**میزان کلروفیل a، b، a+b و کارتنوئید:** نتایج حاصل از تجزیه واریانس داده‌های مربوط به کلروفیل a گلرنگ نشان داد که اثر متقابل شوری و محلول‌پاشی، بر آن معنی‌داری (P<۰/۰۱) بود (جدول ۳). نتایج مقایسه میانگین داده‌ها نشان داد که در سطح شوری ۵۰۰ میلی‌گرم کلریدسدیم، محلول‌پاشی سولفات منگنز، کلروفیل a گلرنگ ۲۱/۵ میلی‌گرم در میلی‌لیتر بود که نسبت به سایر محلول‌پاشی‌ها به‌طور معنی‌داری بیشتر بود (شکل ۴). نتایج دیگر حاکی از این است که در تیمارهای بدون تنش و شوری ۱۰۰۰

www.SID.ir

Archive of SID



و ۱۵۰۰ میلی‌گرم کلریدسدیم اختلاف معنی‌داری بین ترکیبات مختلف محلول‌پاشی وجود نداشت (شکل ۴). به نظر می‌رسد در سطوح شوری کم، محلول‌پاشی سولفات منگنز می‌تواند سبب حفاظت از ساختمان کلروپلاست شود و تا حدودی اثرات نامطلوب شوری را بهبود بخشد، اما در شوری بالا، به علت تغییرات القاء کننده سدیم بر منگنز نتوانست اثرات منفی شوری را کاهش دهد. نتایج حاصل از تجزیه واریانس نشان داد که اثر شوری و نوع محلول‌پاشی بر کلروفیل b گلرنگ معنی‌دار بود ولی این صفت تحت تاثیر اثر متقابل عوامل آزمایشی قرار نگرفت (جدول ۳). نتایج مقایسه میانگین نشان داد که کلروفیل b در سطح شوری ۱۵۰۰ میلی‌گرم کلرید سدیم به‌طور معنی‌داری نسبت به شوری ۵۰۰ میلی‌گرم کلرید سدیم کاهش معنی‌داری نشان داد و از طرفی با شاهد و سطح شوری ۱۰۰۰ میلی‌گرم کلرید سدیم اختلاف معنی‌داری نشان نداد (شکل ۵). نتایج دیگر حاکی از این است که محلول‌پاشی سولفات منگنز، کلروفیل b گیاه گلرنگ را به‌طور معنی‌داری نسبت به محلول‌پاشی نیترات کلسیم افزایش داد اما با محلول‌پاشی پتاسیم دی‌هیدروژن فسفات و آب مقطر اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد (شکل ۶). نتایج حاصل از تجزیه واریانس داده‌های مربوط به کلروفیل a+b گیاه گلرنگ نشان داد که تنها اثر نوع محلول‌پاشی، کلروفیل a+b را تحت تاثیر قرار داد (جدول ۳). نتایج مقایسه میانگین داده‌ها نشان داد که محلول‌پاشی سولفات منگنز، کلروفیل a+b گیاه گلرنگ را که ۰/۰۵۴ میلی‌گرم در میلی‌لیتر بود، به‌طور معنی‌داری نسبت به سایر سطوح محلول‌پاشی افزایش داد، هر چند بین سایر سطوح محلول‌پاشی اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد (شکل ۷). منگنز در سیستم‌های ترکیبی و واکنش‌های انتقال الکترون در گیاه مشارکت دارد، در نتیجه در تولید کلروفیل نقش بسزایی ایفا می‌کند. به‌نظر می‌رسد محلول‌پاشی سولفات منگنز که سبب افزایش محتوای کلروفیل گیاه گلرنگ شده است، دلیل منطقی برای تایید این امر باشد. افزایش محتوای هر یک از کلروفیل‌های گیاه سبب افزایش عملکرد کوآنتومی فتوسنتز (تعداد مول $CO_2$ احیا شده توسط هر مول فوتون) گیاه می‌شود، که در نتیجه باعث افزایش جذب نور بیشتر و سبب تاثیر مثبتی بر کلروفیل گیاه می‌شود (Sharaf, 2008).

افزایش شوری تخریب کلروفیل برگ را در پی دارد، چرا که شوری باعث تغییرات در کلروپلاست شامل چروکیدگی و به هم ریختن ساختمان گرانا می‌شود. یکی از مهم‌ترین دلایل کاهش کلروفیل‌ها تخریب آن‌ها به وسیله گونه‌های اکسیژن فعال می‌باشد. نرخ تولید گونه‌های اکسیژن فعال وابسته به گونه، مدت تنش، سن گیاه و مهم‌تر از همه شدت تنش می‌باشد (Kumar *et al*., 2007). نتایج حاصل از تجزیه واریانس داده‌های مربوط به محتوای کارتنوئید برگ گلرنگ نشان داد که اثر شوری، نوع محلول‌پاشی و اثر متقابل شوری و محلول‌پاشی تاثیر معنی‌داری بر محتوای کارتنوئید این گیاه نداشت (جدول ۳).

## نتیجه‌گیری کلی

با توجه به نتایج بدست آمده در این آزمایش به نظر می‌رسد که شوری باعث تاثیر نامطلوبی بر رنگدانه‌های فتوسنتزی، تخریب ساختمان کلروفیل و همچنین سبب کاهش محتوای نسبی آب و افزایش کمبود آب اشباع برگ گلرنگ گردیده است. از طرف دیگر به نظر می‌رسد محلول‌پاشی سولفات منگنز و نیترات کلسیم در سطوح شوری کم، می‌تواند تا حدودی سبب حفاظت از ساختمان کلروپلاست و افزایش محتوای پروتئین برگ گلرنگ شود و اثرات نامطلوب شوری را بهبود بخشد.

www.SID.ir

Archive of SID



**جدول ۱**- ویژگی‌های فیزیکی و شیمیایی خاک مورد استفاده در آزمایش

**Table 1** - Physical and chemical analysis of soil, used in the experiment

| بافت Tissue | لوم رسی Clay Loam |
|---|---|
| اسیدیته pH | 7.5 |
| کلسیم Ca (meq/L) | 29 |
| منیزیم Mg (meq/L) | 27.8 |
| پتاسیم K (mg/kg soil) | 71 |
| سدیم Na (meq/L) | 25 |

**جدول ۲**- جدول تجزیه واریانس برای صفات مورد مطالعه

**Table 2-** Analysis of variance for studied traits

| منابع تغییر S.O.V | درجه آزادی df | میانگین مربعات M.S. | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | | عدد اسپد SPAD | نسبت Fv/Fm | محتوای نسبی آب برگ RWC | کمبود آب اشباع برگ WSD | پروتئین برگ leaf Protein |
| تکرار Replication | 2 | 154.85 ** | 0.0006 * | 89.62 ns | 35.6 ns | 0.017 ns |
| شوری salinity | 3 | 6.79 * | 0.0006* | 245.23 * | 326.4** | 24.22** |
| محلول‌پاشی foliar | 3 | 9.09 * | 0.0004 ns | 175.07 ns | 41.26 ns | 56.20** |
| اثر متقابل Interaction | 9 | 5.54 ns | 0.0004 ns | 131.21 ns | 44.9 ns | 28.40** |
| خطا Error | 30 | 2.79 | 0.0003 | 117.26 | 12 | 1.73 |
| ضریب تغییرات C.V(٪) | | 14.1 | 19 | 16.8 | 11 | 10.3 |

*، ** و ns به‌ترتیب معنی‌دار در سطح احتمال ۵ و ۱ درصد و عدم معنی‌دار.

** ,* and ns is significant at the 1and 5 percent probability level, respectively and non-significant.

**جدول ۳**- جدول تجزیه واریانس برای صفات مورد مطالعه

**Table 3-** Analysis of variance for studied traits

| منابع تغییر S.O.V | درجه آزادی df | میانگین مربعات M.S. | | | |
|---|---|---|---|---|---|
| | | کلروفیل a Chl a | کلروفیل b Chl b | کلروفیل ab Chl ab | کارتنوئید Carotenoid |
| تکرار Replication | 2 | 10.32 ns | 0.073 ns | 0.0001 ns | 0.0002 ns |
| شوری salinity | 3 | 5.78 ns | 0.307 * | 0.0002 ns | 0.0004 ns |
| محلول‌پاشی foliar | 3 | 19.16 ns | 0.268 * | 0.0003 * | 0.005 ns |
| اثر متقابل Interaction | 9 | 23.63 ** | 0.076 ns | 0.0002 ns | 0.002 ns |
| خطا Error | 30 | 8.15 | 0.148 | 0.0001 | 0.001 |
| ضریب تغییرات C.V(٪) | | 20.3 | 17.3 | 22.8 | 11.08 |

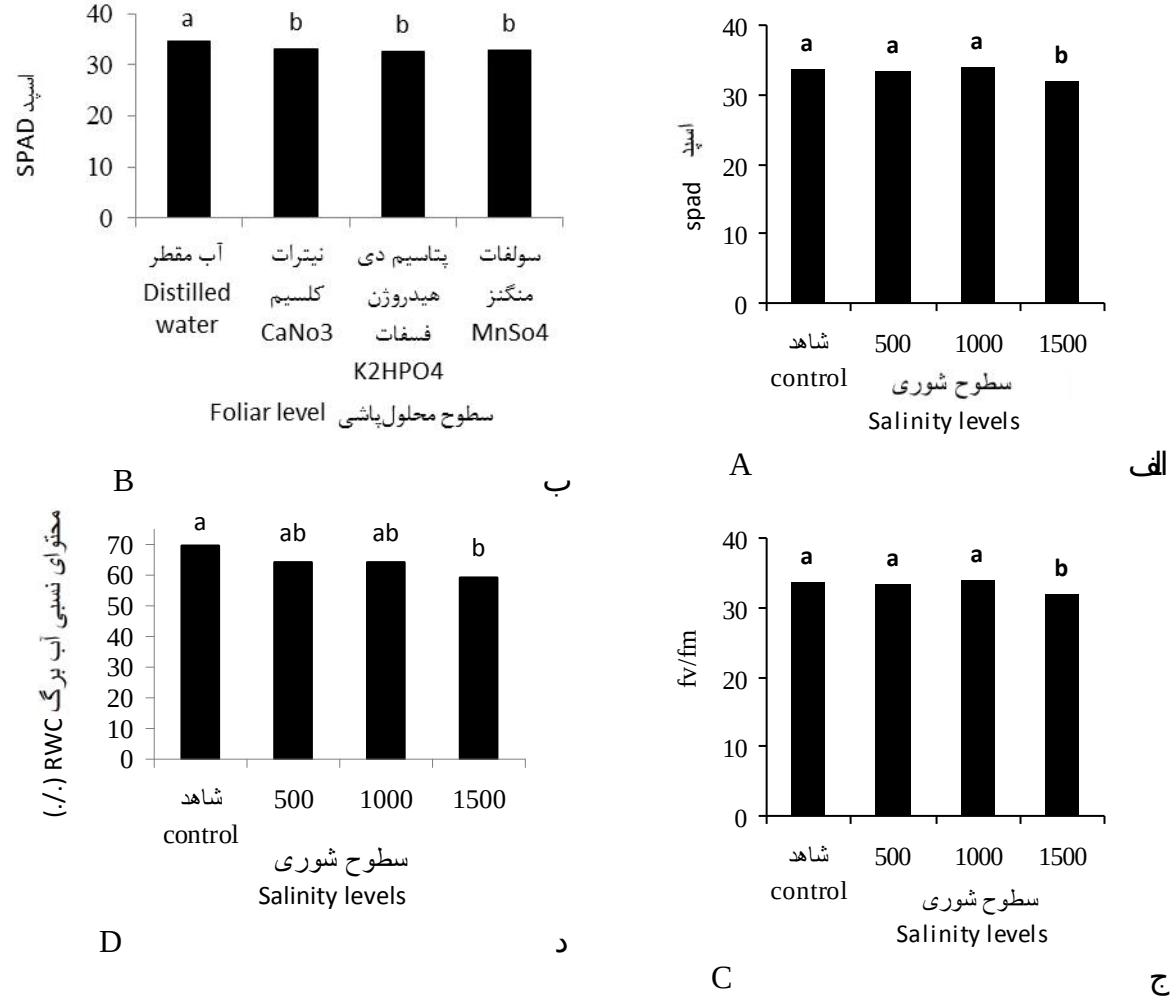
*، ** و ns به‌ترتیب معنی‌دار در سطح احتمال ۵ و ۱ درصد و عدم معنی‌دار.

** ,* and ns is significant at the 5 and 1 percent probability level, respectively and non-significant.

www.SID.ir

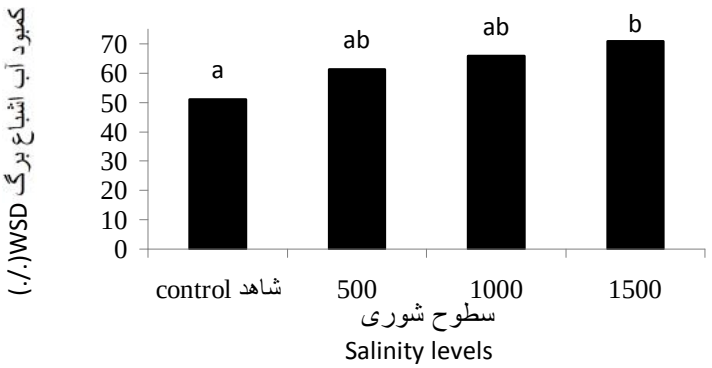
Archive of SID






**شکل ۱**- شاخص اسپد تحت سطوح شوری (الف)، شاخص اسپد تحت سطوح محلول‌پاشی (ب)، نسبت Fv/Fm برگ تحت سطوح شوری (ج) و محتوای نسبی آب برگ تحت سطوح شوری (د)

**Figure 1-** Spad index under levels of salinity (A), Spad index under various levels of foliar (B), the ratio Fv/Fm on leaves under levels of salinity (C) and leaf relative water content under levels of salinity (D)



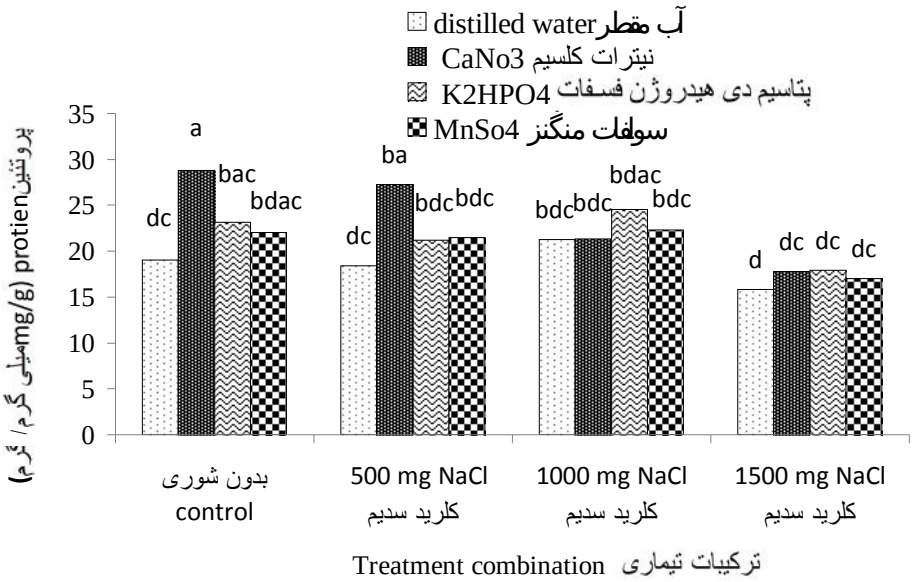

**شکل ۲**- کمبود آب اشباع برگ تحت سطوح شوری

**Figure 2-** Leaf water saturation different under levels of salinity

www.SID.ir

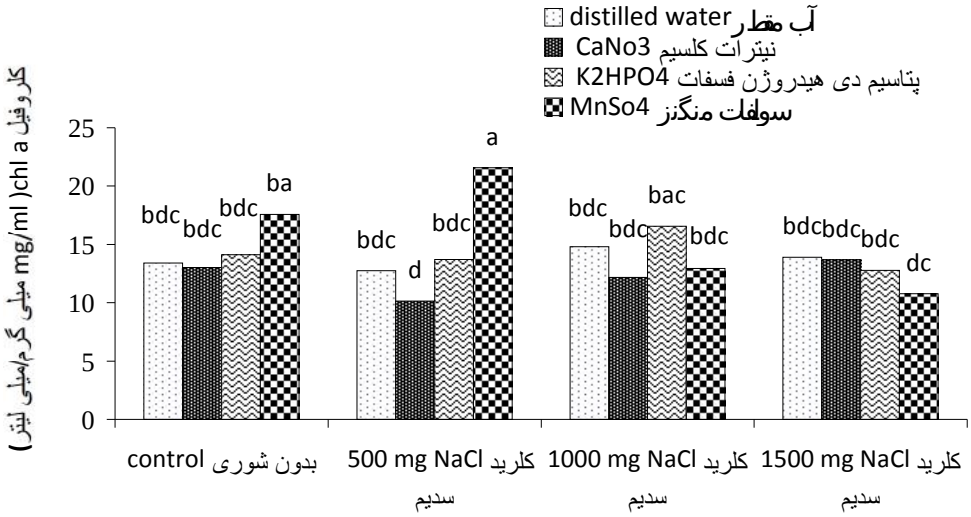
Archive of SID





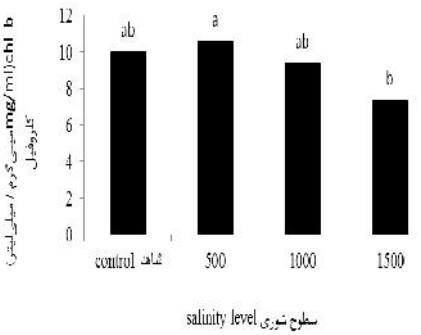

**شکل ۳**- میانگین ترکیب تیماری شوری و محلول‌پاشی از نظر پروتئین برگ

**Figure 3-** The treatment combination of salinity and foliar application on leaf protein



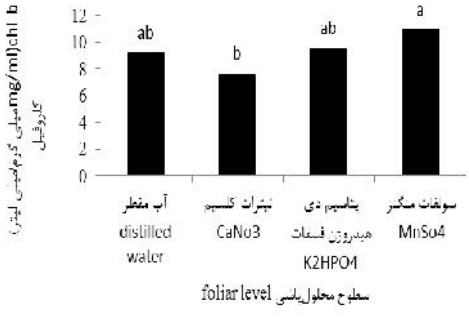

**شکل ۴**- میانگین ترکیب تیماری شوری و محلول‌پاشی از نظر کلروفیل a

**Figure 4-** The treatment combination of between salinity and foliar application on chlorophyll a




**شکل ۵**- کلروفیل b تحت سطوح شوری

**Figure 5-** Chlorophyll b under levels of salinity



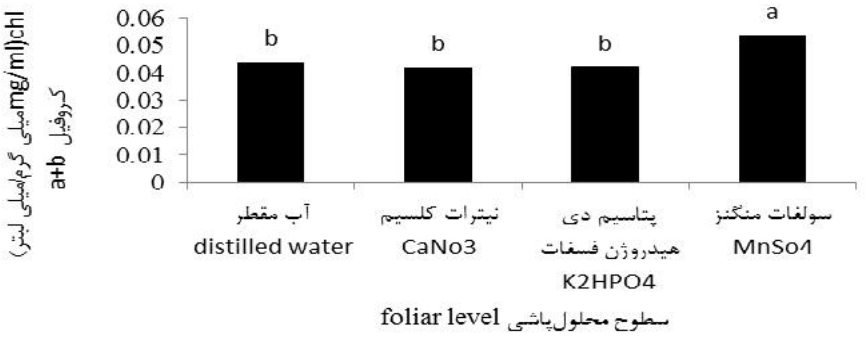

**شکل ۶**- کلروفیل b تحت سطوح محلول‌پاشی

**Figure 6-** Foliar application levels on chlorophyll b

www.SID.ir

Archive of SID






**شکل ۷**- کلروفیل a+b تحت سطوح محلول‌پاشی

**Figure 7-** Foliar application levels on chlorophyll a + b

## References

## منابع مورد استفاده


- Arnon, D.E. 1949. Copper enzymes in isolated chloroplasts polyphenol oxidase (*Beta vulgaris*). *Plant Physiology*. 24: 1-15.
- Ashraf, M.Y. 2009. Biotechnological approach of improving plant salt tolerance using antioxidants as markers. *Biotechnology Advances*. 27: 84-93.
- Baker, N.R. 2008. Chlorophyll fluorescence: a probe of photosynthesis in vivo. *Annual Review of Plant Biology*. 59:89-113.
- Francisco, G., L. Jhon, S. Jifon, C. Micaela, and P. S. James. 2002. Gas exchanges chlorophyll and nutrient contents in relation to $Na^+$ and $Cl^-$ accumulation in 'sunburst' Mandarin grafted on different root stocks. *Plant Science*. 35: 314-320.
- Gorgi, M., M. Zahedi, and A. H. Khoshgoftarmanesh. 2010. The effects of potassium and calcium on the response of safflower to salinity in hydroponic nutrient solution. Journal of Science and Technology of Agriculture and Natural Resources. *Water and Soil Science*. 14(53): 1-7. (In Persian).
- Grewal, H. S., S. Norrish, and P. Cornish. 2004. Subsoil salts affect root function; shoot growth and ionic balance of wheat plants. Australian Agronomy Conference 2004 12th AAC, 4th ICSC.
- Hajlaoui, H., N. El Ayeb, J.P. Garrec, and M. Denden. 2010. Differential effects of salt stress on osmotic adjustment and solutes allocation on the basis of root and leaf tissue senescence of two silage maize (*Zea mays* L.) varieties. *Industrial Crops and Products*. 31: 122-130.
- Jamil, M., S.H. Rehman, K.J. Lee, J. Man Kim, H.S.E. Kimand, and S.H. Rha. 2007. Salinity reduced growth $PS_2$ photochemistry and chlorophyll content in radish. *Science Agricultural*. 64(2): 111-118.


www.SID.ir

Archive of SID




- Javadipour, Z., M. Movahhedi Dehnavi, and H.R. Balouchi. 2012. Changes in the rate of proline, soluble sugars, glycinebetaine and protein content in leaves of six spring safflower (*Carthamus tinctirius* L.) under salinity stress. *Plant Process and Function*. 1(2): 13-24. (In Persian).
- Javadipour, Z., M. Movahhedi Dehnavi, and H.R. Balouchi. 2013. Evaluation of photosynthesis parameters, chlorophyll content and fluorescence of safflower cultivars under saline condition. *Electronic Journal of Crop Production*. 6(2): 35-56. (In Persian).
- Kaya, M. D., G. Okcu, M. Atak, Y. Cikili, and O. Kolsarici. 2006. Seed treatments to overcome salt and drought stress during germination in sunflower (*Helianthus annuus* L.). *European Journal of Agronomy*. 24: 291-295.
- Khan, M.H., and S.K. Panda. 2008. Alterations in root lipid peroxidation and antioxidative responses in two rice cultivars under NaCl- salinity stress. *Acta Physiological Plantarum*. 30: 89-91.
- Kumar, V., V. Shiram, N. Jawali, and M. G. Shitole. 2007. Differential response of indicia rice genotypes to NaCl stress in relation to physiological and biochemical parameters. *Archives of Agronomy and Soil Science*. 53(2): 581-592.
- Maxwell, K., and G.N. Johanson. 2000. Chlorophyll fluorescence a practical guide. *Journal of Experimental Botany*. 51: 659-668.
- Mudrik, V., A. Kosobrukhov, I. Knyazeva, and T. Pigulevskaya. 2002. Changes in the photosynthetic characteristics of Plantago major plants caused by soil drought stress. *Plant Growth Regulation*. 00: 1–6.
- Munns, R., and M. Tester. 2008. Mechanisms of salinity tolerance. *Annual Review of Plant Biology*. 59: 651- 681.
- Nedjimi, B., and Y. Daoud. 2009. Ameliorative effect of $CaCl_2$ on growth, membrane permeability and nutrient uptake in *Atriplex halimus* subsp. schweinfurthii grown at high (NaCl) salinity. *Desalination*. 249: 163–166.
- Omidi, A.H., M.R. Shahsavari, A. Alhani, and B. P. Eslam. 2008. Padideh, a new safflower cultivar. *Seed and Plant*. 24(1): 215-219. (In Persian).
- Rodrigo-Moreno, A., N. Andres-Colas, C. Poschenrieder, B. Gunse, L. Penarrubia, and S. Shabala. 2013. Calcium- and potassium-permeable plasma membrane transporters are activated by copper in Arabidopsis root tips: linking copper transport with cytosolic hydroxyl radical production. *Plant, Cell and Environment*. 36(4): 844-855.
- Sadeghi Lotfabadi S., M. Kafi, and H.R. Khazaei. 2010. Effects of calcium, potassium and method of application on sorghum (*Sorghum bicolor* L.) morphological and physiological traits in the presence of salinity. *Journal of Soil and Water Conservation*. 24(2): 385-393.
- Shabala, S., O. Bamurina, and L. Newman. 2000. Ion-specific mechanisms of osmoregulation in been mesophyll cells. *Journal of Biology Sciences*. 331: 215-225.


www.SID.ir

Archive of SID




- Sharaf, M. 2008. Tolerance of five genotypes of lentil to NaCl-salinity stress. *New York Science Journal*. 1(3): 70-80.
- Singh, L., and B. Pal. 1995. Effect of water salinity on yield and yield attributing characters of blond Psyllium. *Indian Journal of Agricultural Sciences*. 65: 503-505.
- Song, J., and Q. Fujiyama. 1996. Amelioration effect of potassium on rice and tomato subject to sodium salinization. *Journal of Plant Nutrient and Soil Science*. 42: 493- 501.
- Sultana, N., T. Ikeda, and M. A. Kashem. 2001. Effect of foliar spray of nutrient solutions on photosynthesis, dry matter accumulation and yield in seawater-stressed rice. *Environmental and Experimental Botany*. 46: 129–140.
- Tavallali, V., M. Rahemi, and B. Panahi. 2008. Calcium induces salinity tolerance in pistachio rootstocks. *Fruits*. 63: 201-208.
- Uddling, J., J. Gelang-Alfredsson, K. Piikki, and H. Pleijel. 2007. Evaluating the relationship between leaf chlorophyll concentration and SPAD-502 chlorophyll meter readings. *Photosynthesis Research*. 91: 37–46.
- Wang, D., M. C. Shannon, and C. M. Grieve. 2001. Salinity reduces radiation absorption and use efficiency in soybean. *Field Crops Research*. 69: 267-277.
- Wang, X.S., and J.G. Han. 2009. Changes of proline content, activity, and active isoforms of antioxidative enzymes in two alfalfa cultivars under salt stress. *Agricultural Sciences in China*. 8(4): 431-440.
- Warrence, N., K.E. Pearson, and J.W. Bavder. 2002. The basic of salinity and sodicity effect on soil physical properties. *Journal of Plant Physiology*. 25: 64-70.
- Weatherely, P.E. 1950. Studies in water relation on cotton plants, the field measurement of water deficit in leaves. *New Phytologist*. 49: 81- 87.
- Zayed, B.A., A.K.M. Salem, and H.M. El-Sharkawy. 2011. Effect of different micronutrient treatments on rice (*Oryza sativa* L.) growth and yield under saline soil conditions. *World Journal of Agricultural Sciences*. 7(2): 179-184.
- Zheng, Y., J. Aijun, N. Tangyuan, J. Xud, L. Zengjia, and J. Gaoming. 2008. Potassium nitrate application alleviates sodium chloride stress in winter wheat cultivars differing in salt tolerance. *Journal of Plant Physiology*. 165: 1455-1465.


www.SID.ir

Archive of SID



**Short Article**

# Response of Chlorophyll, Relative Water Content and Protein Percentage of Safflower Leaves to Salinity and Foliar Calcium, Potassium and Magnesium Applications

**Mahmood Attarzadeh [1*], Asghar Rahimi [2], and Benyamin Torabi [3]**

*Received: September 2014, Revised: 13 November 2015, Accepted: 16 February 2016*

## Abstract

To study the effect of Ca, K, and Mn foliar spray on chlorophyll and relative water contents of safflower (cv. Padideh) leaves under salinity condition a factorial experiment based on randomized complete block design with three replications was conducted at Vali-e-Asr University Greenhouse in 2011. Factors were salinity with four levels: 0, 500, 1000, and 1500 mg NaCl $kg^{-1}$, and foliar spraying of plants with four levels: distilled water, 10 mM $CaNo_3$, 10 mM $K_2HPO_4$ and 1 mM $MnSo_4$. Spraying were applied two weeks after emergence and continued every 2 weeks. Results showed that 1500 mg NaCl reduced SPAD value, leaf chlorophyll fluorescence and relative water content. However, increasing salinity induced higher leaf water saturation. Foliar spraying of plants with $MnSO_4$, $K_2HPO_4$ and $CaNo_3$ nutrients, also reduced SPAD value. Foliar application of plants with $Ca(NO_3)_2$ increased leaf protein in 500 mg NaCl and without salinity. Application of $MnSo_4$ increased chlorophyll b, a+b and also chlorophyll *a* (in 500 mg NaCl). Thus, in respect to the positive role of calcium and manganese in the production and preservation of chlorophyll and protein, foliar spray application can be a suitable strategy to reduce crop losses under salinity conditions.

**Key words**: Chlorophyll, Foliar Application, Safflower, Salt stress.

1- Ph.D. Student, Department of Agronomy and Plant Breeding, Faculty of Agriculture, Yasouj University, Yasouj, Iran.
2- Associated Professor, Department of Agronomy, Agriculture College, Vali-E-Asr University of Rafsanjan, Rafsanjan, Iran.
3- Assistant Professor, Department of Agronomy, Agriculture College, Vali-E-Asr University of Rafsanjan, Rafsanjan, Iran.
* *Corresponding Author: Attarzadeh2012@yahoo.com*

www.SID.ir