



به‌زرعی کشاورزی

دوره ۱۹ ■ شماره ۳ ■ پاییز ۱۳۹۶
صفحه‌های ۶۸۶-۶۷۱

بررسی بهبود صدمات تنش شوری در دانه‌های خرمندی (*Diospyros lotus L.*) با پوتریسین و کیتوزان

فریبا رضایی‌آدریانی^۱، آیتاله رضایی^۲، اورنگ خادمی^{۲*} و یاور شرفی^۲

۱. کارشناسی‌ارشد، گروه باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شاهد، تهران، ایران
۲. استادیار، گروه باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شاهد، تهران، ایران

تاریخ پذیرش مقاله: ۱۳۹۵/۰۹/۱۵

تاریخ وصول مقاله: ۱۳۹۵/۰۷/۱۲

چکیده

شوری یکی از مهم‌ترین عوامل محدودکننده رشد گیاهان است که با استفاده از مواد تعدیل‌دهنده تنش می‌توان از آثار نامطلوب آن کاست. در این پژوهش پاسخ دانه‌های خرمندی به تنش شوری کلرید سدیم و اثر دو ترکیب پوتریسین و کیتوزان بر کاهش آثار ناشی از شوری بررسی شد. آزمایش در دانشگاه شاهد، در سال ۹۵-۱۳۹۴، به‌صورت فاکتوریل، شامل سه سطح کلرید سدیم (۰، ۳۰ و ۶۰ میلی‌مولار) و پنج تیمار ضدتنش (شاهد، پوتریسین در دو غلظت ۱ و ۲ میلی‌مولار و کیتوزان در دو غلظت ۰/۲۵ و ۰/۵ درصد) بر پایه طرحی کاملاً تصادفی با چهار تکرار اجرا شد. نتایج نشان داد که گیاه خرمندی در مراحل اولیه رشد، حساس به تنش شوری بود و کاهش معناداری در وزن تر ساقه، وزن تر ریشه، طول ساقه، طول ریشه و مقدار کلروفیل برگ در دانه‌های تیمار شده با تنش شوری کلرید سدیم در مقایسه با شوری صفر مشاهده شد. در حالی که مقدار سدیم، درصد سوختگی برگ، درصد نشت یونی و مقدار مالون دی‌آلدهید در دانه‌های تنش شوری کلرید سدیم افزایش یافت. تیمار پوتریسین، به‌خصوص در غلظت ۲ میلی‌مولار به‌طور معناداری آثار ناشی از تنش شوری کلرید سدیم را در دانه‌های خرمندی کاهش داد و موجب بهبود رشد رویشی ریشه و ساقه شد، در حالی که تیمار کیتوزان اثر معناداری در کاهش آثار مضر ناشی از تنش شوری در این آزمایش نشان نداد. بنابراین، دانه‌های خرمندی حساس به شوری و از جمله تیمارهای مؤثر در افزایش تحمل آن به تنش شوری استفاده از پوتریسین است.

کلیدواژه‌ها: خرمالو، رشد رویشی، کلروفیل، کلرید سدیم، مواد ضدتنش.

۱. مقدمه

خرمندی (*Diospyros lotus* L.) متعلق به خانوادهٔ آبنوس^۱ و پایه‌ای برای خرمالوی خوراکی (*Diospyros kaki* Thunb.) مطرح است [۳۷]. روش اصلی ازدیاد خرمالوی خوراکی، پیوند آن روی دانه‌های حاصل از خرمندی یا خرمالوی آمریکایی (*Diospyros virginiana* Thunb.) است [۲۸]. در چین و ژاپن از خرمندی به‌عنوان پایه برای خرمالوی خوراکی استفاده می‌شود. در ایران نیز استفاده از این پایه عمومیت بیشتری دارد، زیرا دارای ریشه‌های منشعب است و جابه‌جایی و استقرار درختان بهتر انجام می‌گیرد. علاوه بر آن، به‌طور طبیعی در جنگل‌های شمال ایران گسترش دارد و تهیهٔ بذر آن آسان است [۴، ۱۸، ۲۸]. خرمندی نسبت به بیشتر گونه‌های جنس *Diospyros* تحمل بیشتری نسبت به خشکی دارد، ولی در مقایسه با نوع آمریکایی تحمل آن به سرما کمتر است [۲۸].

تنش شوری از مهم‌ترین عوامل محدودکنندهٔ کشت و پرورش درختان به‌شمار می‌رود [۳۶]. تنش شوری بر فرایندهای عمده‌ای از قبیل رشد، فتوسنتز، سنتز پروتئین و سوخت‌وساز چربی تأثیر دارد. رادیکال‌های آزاد تولیدشده در شرایط تنش ممکن است موجب آسیب اکسایشی در ساختار سلولی، پروتئین‌ها، لیپیدهای غشا و مولکول‌های حیاتی همچون DNA و RNA شود [۲۹، ۳۴]. خرمالوها از جمله خرمالوی خوراکی و خرمالوی آمریکایی درختانی حساس به تنش شوری و خشکی شناخته می‌شوند [۱۸]، ولی در خصوص پاسخ خرمالوها، به‌خصوص خرمندی، به تنش شوری اطلاعات چندانی در دسترس نیست.

پلی‌آمین‌ها شامل پوتریسین (دی‌آمین)، اسپرمیدین (تری‌آمین) و اسپرمین (تترا‌آمین) و ترکیباتی با وزن مولکولی کم و آمین‌های آلیفاتیک کوچک است [۲، ۸]. در گیاهان تحت شرایط تنش شوری و دیگر عوامل

غیرزیستی، مقدار پلی‌آمین‌ها به‌طور معناداری تغییر می‌کند. ازاین‌رو، پلی‌آمین نقش‌های پیچیده‌ای در ارتباط با سازگاری گیاه با تنش‌های زیستی و غیرزیستی بر عهده دارد [۲۱، ۳۳]. ممانعت از تولید پلی‌آمین‌ها، موجب حساس‌شدن گیاه به تنش می‌شود. در همین حال، بالابردن سطح پلی‌آمین موجب افزایش تحمل گیاه به تنش‌ها می‌شود [۱۷، ۳۲].

تنش شوری از طریق تأثیر بر چند سازوکار مهم در گیاه مانند فتوسنتز، تنظیم فشار اسمزی و فعالیت آنزیم‌ها رشد گیاه را کاهش می‌دهد [۳۶]. حضور پلی‌آمین‌ها در گیاهان تحت تنش شوری از پراکسایش لیپیدها و تخریب ماکرومولکول‌ها جلوگیری می‌کند و موجب افزایش مقدار گلوکاتینون و کارتنوئیدها می‌شود که آنتی‌اکسیدان عمل می‌کند. همچنین، پلی‌آمین‌ها سنتز ATP و کارایی فتوسنتز را افزایش می‌دهد و با افزایش سطح انرژی تحمل شرایط تنش را بهبود می‌بخشد [۱۲، ۱۴، ۱۷]. یکی از سازوکارهای تحمل گیاهان به تنش شوری ممانعت از ورود یون‌های اضافی است که پلی‌آمین‌ها میزان ورود یون‌ها را با بستن کانال‌های غیرانتخابی کاتیونی کاهش می‌دهد [۱۶]. تأثیر مثبت تیمار پوتریسین در کاهش آثار نامطلوب تنش شوری در کنار [۵]، نخودفرنگی [۱۷]، پسته [۲۱]، پایهٔ مرکبات [۳۲] و تاتوره [۹] نشان داده شده است.

کیتوزان پلی‌ساکارید گلوکوزآمین مشتق‌شده از کیتین است. در کشاورزی از کیتوزان برای افزایش تولید، تحریک سیستم ایمنی گیاه و تحریک جوانه‌زنی و رشد گیاه استفاده می‌شود [۱۳]. اثر مثبت کیتوزان در غلظت‌های کم در ایجاد تحمل به تنش‌های غیرزیستی، از جمله تنش شوری، نشان داده شده است که ناشی از نقش تنظیم‌کنندگی این ترکیب در افزایش بیان ژن‌های درگیر در تولید مواد ضدتنش همانند آنتی‌اکسیدان‌هاست [۶، ۷، ۲۶].

1. Ebenaceae

استقرار بهتر دانه‌ها آبیاری با محلول غذایی تغییر یافته هوگلند (جدول ۱) با فاصله سه روز انجام شد. در طول مدت آزمایش دمای متوسط روزانه گلخانه ۳۰ درجه سانتی‌گراد و دمای متوسط شبانه آن ۲۵ درجه سانتی‌گراد و رطوبت متوسط ۳۵ تا ۴۰ درصد، همچنین طول روز به‌طور میانگین ۱۲ ساعت روشنایی بود.

پس از آنکه دانه‌ها به مرحله چهار برگی رسید (حدود ۴۰ روز پس از کاشت بذرها)، گلدان‌های حاوی دانه‌های یکنواخت برای اعمال تیمارها انتخاب شد. سطوح تنش شوری مورد استفاده در این آزمایش شامل کلرید سدیم صفر میلی‌مولار به‌عنوان شاهد (آب آشامیدنی) و کلرید سدیم ۳۰ و ۶۰ میلی‌مولار بود که در ترکیب با محلول غذایی به‌صورت آبیاری در سطح گلدان‌ها اعمال شد. در هر بار آبیاری برای هر گلدان ۲۰۰ میلی‌لیتر محلول اختصاص یافت.

هم‌زمان با اعمال تنش شوری، تیمارهای ضدتنش کیتوزان و پوتریسین نیز به‌صورت محلول‌پاشی برگی اعمال شد. کیتوزان در غلظت‌های ۰/۲۵ و ۰/۵ درصد [۷] و پوتریسین در غلظت‌های ۱ و ۲ میلی‌مولار [۲۱] اعمال شد. از آب مقطر نیز به‌عنوان تیمار شاهد استفاده شد. همچنین، برای سورفکتانت در محلول‌های اعمال‌شده از توین-۲۰ استفاده و محلول‌پاشی تا مرحله آب‌چک انجام شد.

در این پژوهش، با هدف بررسی تحمل یا حساسیت دانه‌های خرمندی به تنش شوری ناشی از کلرید سدیم، همچنین اثر تیمارهای کیتوزان و پوتریسین در کاهش آثار احتمالی ناشی از تنش شوری روی دانه‌های خرمندی بررسی شد.

۲. مواد و روش‌ها

این آزمایش در سال ۹۵-۱۳۹۴ در گلخانه آموزشی-پژوهشی و آزمایشگاه‌های دانشگاه شاهد تهران انجام گرفت. در آبان ماه سال ۱۳۹۴ میوه‌های خرمندی از باغ گیاه‌شناسی پردیس کشاورزی کرج جمع‌آوری و بذرها آن در آزمایشگاه جداسازی شد. سپس، برای برطرف‌سازی نیاز سرمایی، بذور در پرلیت مرطوب به مدت ۲۰ روز در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد نگهداری شد [۲۸]. پس از طی این مدت، بذرها از بستر پرلیت خارج و شستشو داده شد. سپس، به مدت ۲۴ ساعت در محلول بنومیل ۱ درصد ضدعفونی و برای کاشت آماده شد.

کاشت بذرها در گلدان‌های پلاستیکی با قطر دهانه ۱۲ سانتی‌متر و ارتفاع ۲۰ سانتی‌متر حاوی ۵۰ درصد پرلیت و ۵۰ درصد پامپس صورت گرفت. در هر گلدان سه بذر در عمق ۱ سانتی‌متری کشت شد و آبیاری با آب آشامیدنی (EC برابر با ۰/۳ دسی‌زیمنس بر متر) تا زمان جوانه‌زنی به‌طور روزانه صورت گرفت. پس از جوانه‌زنی بذرها برای

جدول ۱. غلظت عناصر غذایی محلول غذایی هوگلند (هوگلند و آرنون، ۱۹۵۰)

| عنصر غذایی | N | P | K | Ca | Mg | S | B | Cu | Fe | Mn | Mo | Zn |
|--------------|-----|----|-----|-----|----|-----|------|------|----|-----|--------|------|
| مقدار (mg/l) | ۲۴۲ | ۳۱ | ۲۳۲ | ۲۲۴ | ۴۹ | ۱۱۳ | ۰/۴۵ | ۰/۰۲ | ۳ | ۰/۵ | ۰/۰۱۰۶ | ۰/۴۸ |

سانتریفوژ (Universal-PIT320) با دور ۱۰۰۰۰ به مدت ۱۰ دقیقه و در دمای ۴ درجه سانتی گراد سانتریفوژ و محلول رویی جمع آوری شد. میزان جذب محلول رویی در طول موج‌های ۶۴۵ و ۶۶۳ نانومتر با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر (Lambda 25-ParkinElmer USA) اندازه‌گیری و مقدار کلروفیل آ، کلروفیل ب و کلروفیل کل با استفاده از فرمول‌های (۲) تا (۴) محاسبه شد [۱۷].

$$\text{Chlorophyll a (mg/g)} = [12.7(A_{663}) - 2.69(A_{645})] \times (V/1000 \times W) \quad (2)$$

$$\text{Chlorophyll b (mg/g)} = [22.9(A_{645}) - 4.68(A_{663})] \times (V/1000 \times W) \quad (3)$$

$$\text{Total Chlorophyll (mg/g)} = [20.2(A_{645}) + 8.02(A_{663})] \times (V/1000 \times W) \quad (4)$$

A: میزان جذب نوری، V: حجم عصاره، و W: وزن تر بافت گیاهی است.

برای سنجش درصد نشت یونی، ۰/۲ گرم از نمونه برگ توزین و به هر نمونه ۱۰ میلی لیتر آب دیونیزه اضافه شد و به مدت ۳۰ دقیقه روی شیکر قرار گرفت. پس از آن هدایت الکتریکی نمونه‌ها با دستگاه هدایت‌سنج الکتریکی در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد اندازه‌گیری و به‌عنوان هدایت الکتریکی اولیه (EC₁) یادداشت شد. سپس، نمونه‌ها در حمام آب گرم در دمای ۱۰۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۳۰ دقیقه قرار گرفت و بعد از رسیدن دمای نمونه به دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد، هدایت الکتریکی ثانویه (EC₂) یادداشت شد. در نهایت، نشت یونی نسبی با استفاده از رابطه (۵) محاسبه شد [۱۱].

$$\%REL = (EC_1 / EC_2) \times 100 \quad (5)$$

اندازه‌گیری میزان پراکسایش لیپیدهای غشا با تست تیوباربتوریک اسید (TBAT) با سنجش غلظت مالون‌دی‌آلدهید انجام شد. برای این منظور ۰/۲ گرم از

بیست روز پس از اعمال تنش شوری کلرید سدیم و هم‌زمان با ظهور علائم سوختگی برگ‌ها، دانه‌ها از بستر کشت خارج و از نظر شاخص‌های رشدی و فیزیولوژیکی از قبیل درصد سوختگی برگ‌ها، طول ریشه، طول ساقه، وزن تر ساقه، وزن تر ریشه، محتوای نسبی آب (RWC)^۱ برگ‌ها، غلظت کلروفیل، مالون‌دی‌آلدهید و سدیم برگ، درصد نشت یونی، و مقدار برگ در تیمارهای مختلف ارزیابی شد.

شدت سوختگی برگ‌ها به‌صورت مشاهده‌ای و به درصد یادداشت شد. طول ساقه و طول ریشه با خط‌کش اندازه‌گیری و بر اساس میلی‌متر بیان گردید. برای محاسبه وزن تر اندام هوایی و ریشه، این دو قسمت از ناحیه یقه از هم جدا و وزن تر آن با استفاده از ترازوی دیجیتال با دقت ۰/۰۰۰۱ اندازه‌گیری شد.

برای اندازه‌گیری محتوای آب نسبی برگ نیز از هر گیاه یک برگ چیده و وزن تر (FW)^۲ آن یادداشت شد. سپس، نمونه‌های برگ در پتری‌دیش‌های جداگانه حاوی آب مقطر قرار گرفت و پس از ۲۴ ساعت برگ‌ها دوباره توزین و به‌عنوان وزن معرف آماس (TW)^۳ یادداشت شد. در مرحله سوم، نمونه‌های برگ داخل پاکت‌های کاغذی به مدت ۲۴ ساعت در آون با دمای ۷۰ درجه سانتی‌گراد قرار گرفت. سپس، وزن آن به‌عنوان وزن خشک (DW)^۴ یادداشت شد. در نهایت، محتوای آب نسبی برگ از طریق فرمول (۱) به‌دست آمد [۱۱].

$$\%RWC = [(FW - DW) / (TW - DW)] \times 100 \quad (1)$$

برای اندازه‌گیری مقدار کلروفیل برگ، ۰/۱ گرم از نمونه برگ و در ۳ میلی لیتر استون ۸۰ درصد به‌خوبی همگن شد. سپس، مخلوط به‌دست‌آمده در دستگاه

1. Relative Water Content
2. Fresh Weight
3. Torger Weight
4. Dry weight

تصادفی با چهار تکرار، هر تکرار حاوی ۱۵ گلدان، در هر گلدان سه گیاه اجرا شد. فاکتورهای آزمایش شامل تنش شوری کلرید سدیم (در سه سطح) و تیمارهای ضدتنش کیتوزان و پوتریسین (در پنج سطح) و در مجموع شامل ۱۵ تیمار اعمال شده (تنش شوری کلرید سدیم \times تیمار ضدتنش) بود. داده‌ها پس از بررسی نرمال بودن با استفاده از نرم‌افزار آماری SAS (9.3) تجزیه و برای مقایسه اختلاف بین میانگین‌ها از آزمون حداقل تفاوت معنادار *LSD* در سطح احتمال ۵ درصد استفاده شد.

۳. نتایج و بحث

۱.۳. شاخص‌های رشدی دانه‌های خرمندی

بر اساس نتایج تجزیه واریانس (جدول ۲)، اثر تنش شوری کلرید سدیم بر طول ریشه، وزن تر ساقه، وزن تر ریشه و درصد سوختگی برگ معنادار بود، ولی بر طول ساقه معنادار نبود. همچنین، اثر تیمارهای ضدتنش در تمامی شاخص‌های رشد شامل طول ساقه، طول ریشه، وزن تر ساقه، وزن تر ریشه و درصد سوختگی معنادار بود. اثر برهم‌کنش بین تنش شوری کلرید سدیم و تیمار ضدتنش در هیچ یک از شاخص‌های رشد معنادار نبود.

بر اساس نتایج مقایسه میانگین (جدول ۳)، اعمال تنش شوری کلرید سدیم در هر دو غلظت ۳۰ و ۶۰ میلی‌مولار موجب کاهش معنادار طول ریشه در مقایسه با تنش شوری صفر میلی‌مولار شد. بین دو غلظت ۳۰ و ۶۰ میلی‌مولار تنش شوری کلرید سدیم از نظر طول ریشه اختلاف معناداری مشاهده نشد. همچنین، تنش شوری ۶۰ میلی‌مولار به‌طور معناداری دارای وزن تر ساقه کمتری در مقایسه با شوری صفر میلی‌مولار بود، در حالی که با وجود کاهش نسبی اختلاف آماری معناداری بین تنش شوری ۳۰ میلی‌مولار و شوری صفر میلی‌مولار از نظر وزن تر ساقه مشاهده نشد (جدول ۳).

بافت برگ در ۵ میلی‌لیتر محلول ۰/۱ درصد تری‌کلرواستیک اسید همگن و سپس هموژن به‌دست‌آمده به مدت پنج دقیقه در ۱۰۰۰۰ دور سانتریفیوژ شد. به ۱ میلی‌لیتر از محلول رویی ۴ میلی‌لیتر محلول تری‌کلرواستیک اسید ۲۰ درصد حاوی ۰/۵ درصد تیوباربیتریک اسید اضافه شد. مخلوط حاصل به مدت ۳۰ دقیقه در حمام آب گرم (۹۵ درجه سانتی‌گراد) قرار گرفت. سپس، در آب یخ سرد شد. بعد از آن به مدت ۱۰ دقیقه در ۱۰۰۰۰ دور سانتریفیوژ شد. شدت جذب محلول حاصل با استفاده از اسپکتروفتومتر در طول موج‌های ۵۳۲ و ۶۰۰ نانومتر قرائت و غلظت مالون‌دی‌آلدئید با استفاده از ضریب تصحیح ($1 \text{ mmol}^{-1} \text{ cm}^{-1}$) ۱۵۵ محاسبه و بر اساس واحد نانومول بر گرم وزن تر ($\text{nmol g}^{-1} \text{ FW}$) بیان شد [۲۳].

غلظت سدیم برگ با استفاده از ماده خشک حاصل از برگ‌های هر واحد آزمایشی در پایان آزمایش اندازه‌گیری شد. برای تهیه عصاره ۰/۱ گرم از پودر خشک گیاهی که قبلاً در آون با دمای ۸۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲۴ ساعت خشک شده بود، با ترازوی دیجیتال به دقت یک‌هزارم گرم وزن و درون کروزه ریخته شد. کروزه‌ها به مدت هفت ساعت در دمای ۶۰۰ درجه سانتی‌گراد در داخل کوره الکتریکی قرار گرفت. پس از خنک‌شدن، به محتویات کروزه‌ها، ۱۰ میلی‌لیتر اسید کلریدریک دو نرمال اضافه و سپس کروزه‌ها روی هیتر به آرامی حرارت داده شد. به محض مشاهده خروج دود سفید رنگ از کروزه‌ها (تبخیر نیمی از اسید)، مواد از کاغذ صافی عبور داده شد و عصاره در بالن ژوژه جمع‌آوری و برای تجزیه شیمیایی در ظروف تمیز در یخچال نگهداری شد. از عصاره حاصل برای قرائت مقدار عنصر سدیم، با دستگاه فلیم فتومتر استفاده شد [۳۲].

آزمایش به‌صورت فاکتوریل در قالب طرح پایه کاملاً

جدول ۲. نتایج تجزیه واریانس اثر تنش شوری کلرید سدیم و تیمارهای ضدتنش بر شاخص‌های رشد دانهال خرمندی

| منابع تغییرات | درجه آزادی | میانگین مربعات | | | |
|---------------------|------------|-----------------------|----------------------|---------------------|---------------------|
| | | طول ساقه | طول ریشه | وزن تر ساقه | وزن تر ریشه |
| تنش شوری کلرید سدیم | ۲ | ۲۳۵/۱۱۶ ^{NS} | ۳۵۱/۶۵ ^{**} | ۰/۲۶۶ ^{**} | ۰/۰۶۳ ^{**} |
| تیمار ضدتنش | ۴ | ۴۰۹/۵۶۶ [*] | ۱۰۹/۴۴۱ [*] | ۰/۱۶۹ ^{**} | ۰/۰۳ [*] |
| تنش شوری × ضدتنش | ۸ | ۱۱۳/۲۴۱ ^{NS} | ۴۶/۶ ^{NS} | ۰/۰۴۲ ^{NS} | ۰/۰۱۱ ^{NS} |
| خطای آزمایش | ۴۵ | ۱۲۰/۱۲ | ۳۷/۹۰۱ | ۰/۰۴۳ | ۰/۰۰۹ |
| ضریب تغییرات | - | ۱۷/۳۰ | ۱۵/۳۱۴ | ۲۱/۷۰۳ | ۲۰/۸۶۵ |

* معنادار در سطح احتمال ۵ درصد، ** معنادار در سطح احتمال ۱ درصد و ^{NS} عدم وجود اختلاف معنادار

جدول ۳. اثر تنش شوری کلرید سدیم بر شاخص‌های رشد دانهال خرمندی

| شاخص | طول ریشه (mm) | وزن تر ساقه (gr) | وزن تر ریشه (gr) | سوختگی (%) |
|-----------------------------|---------------|------------------|------------------|------------|
| تنش شوری کلرید سدیم ۰ (mM) | ۴۴/۹۹a | ۱/۰۸a | ۰/۵۳۵a | ۷c |
| تنش شوری کلرید سدیم ۳۰ (mM) | ۳۸/۳۵b | ۰/۹۴ab | ۰/۴۵b | ۱۵/۵b |
| تنش شوری کلرید سدیم ۶۰ (mM) | ۳۷/۲۵b | ۰/۸۴۷b | ۰/۴۳b | ۲۸/۵a |

میانگین‌هایی با حروف مشابه دارای اختلاف معنادار نسبت به یکدیگر در سطح ۵ درصد آزمون LSD نیست.

تنش شوری، رشد گیاهان کاهش و درصد برگ‌های نکروزه افزایش یافته است. بنابراین، تحت این شرایط سطح اندام‌های فتوسنتزکننده و راندمان فتوسنتز کاهش یافت. بررسی اثر تنش شوری بر برخی پایه‌های پرتقال نشان داد که نخستین نشانه‌های ظاهری تأثیر شوری در پرتقال‌های ناول به صورت سوختگی حاشیه و نوک برگ‌ها بروز پیدا می‌کند که با نتایج به دست آمده در این آزمایش منطبق است [۱۰].

کاهش رشد در شوری‌های بالا به دلایل کاهش انرژی مورد نیاز برای رشد و از بین رفتن تورژسانس است. کاهش انرژی ممکن است نتیجه انحراف مواد فتوسنتزی به سمت انتقال فعال و جذب یون‌ها باشد [۲۸]. در شوری زیاد تجمع

هر دو تنش شوری ۳۰ و ۶۰ میلی‌مولار بدون اختلاف معنادار نسبت به یکدیگر به کاهش معنادار وزن تر ریشه در مقایسه با شوری صفر میلی‌مولار انجامید (جدول ۳). درصد سوختگی برگ‌های خرمندی با اعمال تنش شوری ۳۰ و ۶۰ میلی‌مولار در مقایسه با شوری صفر میلی‌مولار افزایش یافت و با افزایش غلظت شوری کلرید سدیم درصد سوختگی برگ‌ها به طور معناداری بیشتر نیز شد (جدول ۳).

یکی از نخستین پاسخ‌های گیاه در مقابل تنش شوری، کاهش رشد گیاه در نتیجه کاهش میزان سطح قابلاستفاده برگ و تأثیرگذاری بر فتوسنتز است [۲۹]. با توجه به نتایج حاصل از آزمایش به خوبی مشخص است که با افزایش

بررسی بهبود صدمات تنش شوری در دانه‌های خرمندی (*Diospyros lotus L.*) با پوتریسین و کیتوزان

است و مقدار شوری اندک نیز به بروز علائم سوختگی و کاهش رشد در آن می‌انجامد.

بر اساس نتایج مقایسه میانگین، دانه‌های تیمار شده با پوتریسین ۱ و ۲ میلی‌مولار بدون اختلاف معنادار نسبت به یکدیگر دارای طول ساقه و طول ریشه بیشتری در مقایسه با دانه‌های شاهد بود، در حالی که اختلاف معناداری بین دانه‌های تیمارهای کیتوزان و شاهد از نظر طول ساقه و طول ریشه مشاهده نشد (جدول ۴). همچنین، دانه‌های تیمارهای پوتریسین دارای وزن تر ساقه بیشتری در مقایسه با شاهد بود، در حالی که دانه‌های تیمارهای کیتوزان اختلاف معناداری با شاهد از نظر وزن تر ساقه نشان نداد (جدول ۴).

دانه‌های تیمار پوتریسین ۲ میلی‌مولار به‌طور معناداری دارای وزن تر ریشه بیشتری در مقایسه با دانه‌های شاهد بود، در حالی که دانه‌های تیمارهای پوتریسین ۱ میلی‌مولار و کیتوزان ۰/۲۵ و ۰/۵ درصد اختلاف معناداری با شاهد از نظر وزن تر ریشه نشان نداد (جدول ۴).

نمک‌ها در دیواره‌های سلول، گسترش سلولی را کاهش می‌دهد و در نتیجه تورژسانس سلول کاهش می‌یابد [۳۰]. همچنین، هر چه گیاه در معرض شوری قرار بگیرد، کاهش وزن سایر قسمت‌ها به دلیل عدم انتقال یا انتقال کم آب و عناصر غذایی از ناحیه ریشه کاسته خواهد شد [۱۹، ۳۱].

در حالت کلی، خرمالو درختی بسیار حساس به شوری معرفی شده است، ولی مطالعات کاملی در انواع خاک‌های شور و آبیاری با آب شور روی آن صورت نگرفته است [۲۰]. با این حال، آزمایش‌ها روی دو نوع خرمالوی خوراکی و آمریکایی نشان داده است که افزایش غلظت کلرید سدیم در آب آبیاری سبب بروز علائم شوری در برگ این دو گونه می‌شود، به طوری که بر اساس گزارش صورت گرفته، با افزایش میزان نمک، تعداد برگ و طول ساقه به‌طور معناداری کاهش می‌یابد و این کاهش در تعداد برگ و طول ساقه در کاکای بیشتر از ویرجینیاناست [۱۸]. بر اساس نتایج آزمایش حاضر، سوختگی هر چند به مقدار کم حتی در دانه‌های آبیاری شده با آب آشامیدنی نیز دیده شد. بنابراین، خرمندی نیز بسیار حساس به شوری

جدول ۴. اثر تیمارهای ضد تنش بر شاخص‌های رشدی دانه‌های خرمندی

| شاخص | طول ساقه (mm) | طول ریشه (mm) | وزن تر ساقه (gr) | وزن تر ریشه (gr) | سوختگی (%) |
|------------------|---------------|---------------|------------------|------------------|------------|
| شاهد | ۵۶b | ۳۶/۷۵c | ۰/۸۹۴b | ۰/۴۲۸abc | ۲۲/۵a |
| پوتریسین (۱ mM) | ۶۹/۵۸a | ۴۲/۳۳ab | ۱/۰۹a | ۰/۵۱ab | ۱۵b |
| پوتریسین (۲ mM) | ۶۹/۰۸a | ۴۴/۱۶a | ۱/۰۸a | ۰/۵۳۲a | ۸/۳۳c |
| کیتوزان (۰/۲۵ %) | ۶۱/۵۸ab | ۳۸/۲۵bc | ۰/۸۳b | ۰/۴۷۴b | ۱۸/۳۳ab |
| کیتوزان (۰/۵ %) | ۶۰/۵۸ab | ۳۹/۵bc | ۰/۸۸b | ۰/۴۱۵c | ۲۰/۸۳a |

میانگین‌های با حروف مشابه دارای اختلاف معنادار نسبت به یکدیگر در سطح ۵ درصد آزمون LSD نیست.

جدول ۵. نتایج تجزیه واریانس اثر تنش شوری کلرید سدیم و تیمارهای ضدتنش بر شاخص‌های فیزیولوژیکی دانهال خرمندی

| منابع تغییرات | درجه آزادی | میانگین مربعات | | | | | | |
|------------------|------------|-----------------------|-----------------------|----------------------|-----------------------|-----------------------|--------------------------|-----------------------|
| | | محتوی آب نسبی | کلروفیل a | کلروفیل b | کلروفیل کل | نشت الکترولیت | مالون‌دی‌آلدهید | سدیم |
| شوری کلرید سدیم | ۲ | ۲۷۶/۵۸۹ ^{ns} | ۲۰۵/۲۴۸ ^{**} | ۶۰/۳۶۸ ^{**} | ۴۸۱/۰۲۶ ^{**} | ۳۸۰/۳۵۳ ^{**} | ۳۱۵۴۷۷/۰۶۱ ^{**} | ۶۹۶/۹۸۳ ^{**} |
| تیمار ضدتنش | ۴ | ۱۹۳/۹۸۳ ^{ns} | ۳۶/۴۱۷ ^{**} | ۳۲/۲۰۲ ^{**} | ۱۳۳/۲۸۳ ^{**} | ۲۱۰/۷۱۷ ^{**} | ۱۲۵۶۴۰/۶۸۹ ^{**} | ۲۰۹/۶۳۵ ^{**} |
| تنش شوری × ضدتنش | ۸ | ۱۶۵/۰۱۶ ^{ns} | ۲۳/۶۸۷ [*] | ۶/۶۱۱ ^{ns} | ۵۱/۶۳۸ ^{**} | ۵۱/۳۴۲ ^{ns} | ۲۳۱۳۳/۱۳۶ ^{ns} | ۱۰۶/۱۳ ^{ns} |
| خط‌های آزمایش | ۴۵ | ۲۷۲/۷۴۶ | ۹/۰۰۹ | ۳/۷ | ۱۶/۷۵ | ۴۰/۶۶۱ | ۲۶۰۲۵/۹۲۷ | ۵۶/۱۷۱ |
| ضریب تغییرات | - | ۲۱/۶۵ | ۳۰ | ۲۹/۵۱ | ۲۴/۷۷۶ | ۱۶/۰۶۳ | ۱۷/۵ | ۲۳/۸۰۷ |

* معنادار در سطح احتمال ۵ درصد، ** معنادار در سطح احتمال ۱ درصد و ns عدم وجود اختلاف معنادار

Malus sylvestris) نشان داده شده است که طی تنش شوری، غلظت پوتریسین در مقایسه با شاهد به دلیل فعال‌شدن مسیر مربوط افزایش پیدا می‌کند [۲۷]. برخلاف بسیاری از پژوهش‌های انجام‌شده در خصوص تأثیر کیتوزان در کاهش آثار تنش شوری در گیاهان مختلف [۲۴]، در این پژوهش مشاهده شد که کیتوزان بر هیچ‌کدام از صفات رویشی اندازه‌گیری‌شده اثر معناداری ندارد. این امر ممکن است به دلیل ماهیت برگ‌های خرمالو باشد که دارای کوتیکول نسبتاً ضخیم است و کیتوزان به دلیل ماهیت ژله‌ای خود قدرت نفوذ کافی در برگ‌ها را نداشته است [۸، ۱۳].

۲.۳. محتوی آب نسبی

بر اساس نتایج تجزیه واریانس (جدول ۵)، اثر هیچ یک از تیمارهای تنش شوری کلرید سدیم و مواد ضدتنش و برهم‌کنش بین آن‌ها بر محتوی آب نسبی برگ خرمندی معنادار نشد.

بیشترین درصد سوختگی برگ در دانهال‌های شاهد مشاهده شد. البته، اختلاف معناداری بین دانهال‌های تیمارهای کیتوزان و شاهد از نظر درصد سوختگی برگ مشاهده نشد، در حالی که تیمارهای پوتریسین ۱ و ۲ میلی‌مولار به کاهش معنادار درصد سوختگی برگ در مقایسه با شاهد انجامید. در این بین، تأثیر تیمار پوتریسین ۲ میلی‌مولار به‌طور معناداری بیشتر از تأثیر تیمار پوتریسین ۱ میلی‌مولار در کاهش درصد سوختگی بود (جدول ۴).

مشابه با نتایج این پژوهش، در بررسی اثر تیمار پوتریسین بر رشد گیاه دارویی تاتوره در پاسخ به تنش شوری گزارش شده است که طول ساقه در اثر تیمار شوری کاهش یافت و تیمار پوتریسین به افزایش طول ساقه انجامید [۹]. تأثیر مثبت تیمار پوتریسین در افزایش رشد ساقه و ریشه احتمالاً مربوط به نقش این هورمون در افزایش تقسیم سلولی و افزایش مقدار سایر هورمون‌های گیاهی از قبیل اکسین و جیبرلین است [۱۷]. در میوه سبب

۳.۳. مقدار کلروفیل

بر اساس نتایج تجزیه واریانس (جدول ۵)، اثر تنش شوری کلرید سدیم، اثر تیمار ضدتنش و اثر برهم‌کنش بین تنش شوری و تیمار ضدتنش بر مقدار کلروفیل آ و کلروفیل کل معنادار بود. همچنین، اثر تنش شوری کلرید سدیم و تیمار ضدتنش بر مقدار کلروفیل ب معنادار بود، ولی اثر برهم‌کنش بین تنش شوری و تیمار ضدتنش بر آن معنادار نبود (جدول ۵).

نتایج مقایسه میانگین‌ها نشان داد که با اعمال تنش شوری کلرید سدیم در هر دو غلظت ۳۰ و ۶۰ میلی‌مولار مقدار کلروفیل ب به‌طور معناداری در مقایسه با شوری صفر میلی‌مولار کاهش یافت. اختلاف معناداری نیز بین تنش شوری ۳۰ و ۶۰ میلی‌مولار از نظر کلروفیل ب مشاهده نشد (جدول ۶). اعمال تیمار پوتریسین در غلظت ۲ میلی‌مولار موجب حفظ بهتر و معنادار کلروفیل ب در مقایسه با شاهد شد، در حالی که بین دانه‌های شاهد و تیمارهای کیتوزان ۰/۲۵ و ۰/۵ درصد اختلاف آماری معناداری از نظر کلروفیل ب مشاهده نشد (جدول ۷).

بر اساس نتایج، اثر برهم‌کنش بین تنش شوری کلرید سدیم و تیمار ضدتنش با افزایش غلظت تنش شوری مقدار کلروفیل آ در تمامی دانه‌ها به‌طور معناداری کاهش یافت. در همین حال، در شوری صفر میلی‌مولار مقدار کلروفیل آ در تیمارهای پوتریسین ۱ و ۲ میلی‌مولار به‌طور معناداری بیش از مقدار کلروفیل آ در دانه‌های شاهد و تیمارهای

کیتوزان ۰/۲۵ و ۰/۵ درصد بود، در حالی که بین دانه‌های شاهد و تیمارهای کیتوزان ۰/۲۵ و ۰/۵ درصد اختلاف آماری معناداری از نظر مقدار کلروفیل ب مشاهده نشد. در تنش شوری ۳۰ و ۶۰ میلی‌مولار اختلاف آماری معناداری بین هیچ‌یک از دانه‌های شاهد و تیمارهای پوتریسین و کیتوزان از نظر مقدار کلروفیل آ مشاهده نشد (جدول ۸).

بر اساس نتایج اثر برهم‌کنش بین تنش شوری کلرید سدیم و تیمار ضدتنش با افزایش غلظت تنش شوری مقدار کلروفیل کل در تمامی دانه‌ها به‌طور معناداری کاهش یافت. در شوری صفر میلی‌مولار مقدار کلروفیل کل تیمارهای پوتریسین ۱ و ۲ میلی‌مولار به‌طور معناداری بیش از مقدار کلروفیل کل دانه‌های شاهد و تیمارهای کیتوزان ۰/۲۵ و ۰/۵ درصد بود، در حالی که بین دانه‌های شاهد و تیمارهای کیتوزان ۰/۲۵ و ۰/۵ درصد اختلاف آماری معناداری از نظر مقدار کلروفیل ب مشاهده نشد. در تنش شوری ۳۰ میلی‌مولار مقدار کلروفیل کل تیمار پوتریسین ۲ میلی‌مولار به‌طور معناداری بیش از مقدار کلروفیل کل دانه‌های شاهد بود، در حالی که بین تیمارهای کیتوزان ۰/۲۵ و ۰/۵ درصد و پوتریسین ۱ میلی‌مولار و شاهد اختلاف آماری معناداری از نظر مقدار کلروفیل کل مشاهده نشد. در شوری ۶۰ میلی‌مولار اختلاف آماری معناداری بین هیچ‌یک از دانه‌های شاهد و تیمارهای پوتریسین و کیتوزان از نظر مقدار کلروفیل کل مشاهده نشد (جدول ۹).

جدول ۶. اثر تنش شوری کلرید سدیم بر شاخص‌های فیزیولوژیکی دانه‌های خرمندی

| شاخص | کلروفیل ب | نشت الکترولیت | مالون‌دی‌آلدهید | سدیم |
|---------------------|-------------------------|---------------|---------------------------|-------------------------|
| تنش شوری کلرید سدیم | (mg g ⁻¹ FW) | (%) | (nmol g ⁻¹ FW) | (mg g ⁻¹ DW) |
| ۰ (mM) | ۸/۴۱a | ۳۴/۶۷۱b | ۵۸۰/۹۴c | ۲۴/۶۶۵b |
| ۳۰ (mM) | ۶/۱۲b | ۴۲/۴۷۱a | ۸۲۶/۶۲b | ۳۴/۹۹۷ |
| ۶۰ (mM) | ۵/۰۱b | ۴۱/۹۵a | ۱۰۰۷/۹۵a | ۳۷/۷۸a |

میانگین‌های با حروف مشابه دارای اختلاف معنادار نسبت به یکدیگر در سطح ۵ درصد آزمون LSD نیست.

جدول ۷. اثر تیمارهای ضدتنش بر شاخص‌های فیزیولوژیکی دانهال خرمندی

| سديم (mg g ⁻¹ DW) | مالون‌دی‌آلدهید (nmol g ⁻¹ FW) | نشت الکترولیت (%) | کلروفیل ب (mg g ⁻¹ FW) | شاخص تیمار ضدتنش |
|---------------------------------|--|----------------------|--------------------------------------|---------------------|
| ۳۵/۳۴۶a | ۹۸۹/۰۱a | ۴۴/۲۸۷a | ۵/۲۸۸b | شاهد |
| ۲۶/۸۸۶b | ۷۹۳/۱۷c | ۳۳/۸۵۱c | ۸/۰۷۲a | پوتریسین (۱ mM) |
| ۲۷/۰۹۶b | ۸۴۳/۰۹bc | ۳۷/۳۸bc | ۸/۳۶۴a | پوتریسین (۲ mM) |
| ۳۴/۹۰۹a | ۱۰۴۰/۸۴a | ۴۰/۲۱۱ab | ۶/۱۴۲b | کیتوزان (۰/۲۵) |
| ۳۳/۱۶۷ab | ۶/۵۹۳d | ۸/۸۶۴bcd | ۱۱/۵۳۲b | کیتوزان (۰/۵) |

میانگین‌هایی با حروف مشابه دارای اختلاف معنادار نسبت به یکدیگر در سطح ۵ درصد آزمون LSD نیست.

جدول ۸. اثر برهم‌کنش بین تنش شوری کلرید سدیم و تیمارهای ضدتنش بر مقدار کلروفیل آ دانهال خرمندی

| تنش شوری کلرید سدیم | | | تیمار ضدتنش |
|---------------------|----------|-----------|-----------------|
| ۶۰ (mM) | ۳۰ (mM) | ۰ (mM) | |
| ۶/۵۹۳d | ۸/۸۶۴bcd | ۱۱/۵۳۲b | شاهد |
| ۷/۹۷۳bcd | ۷/۱۲۴cd | ۱۷/۵۹۱a | پوتریسین (۱ mM) |
| ۷/۹۷۸bcd | ۱۱/۱۲۷bc | ۱۸/۷۶۲a | پوتریسین (۲ mM) |
| ۸/۹۲۶bcd | ۷/۸۱۰bcd | ۱۰/۷۹۸bcd | کیتوزان (۰/۲۵) |
| ۸/۲۲۳bcd | ۶/۹۸۵cd | ۹/۷۷۴bcd | کیتوزان (۰/۵) |

میانگین‌هایی با حروف مشابه دارای اختلاف معنادار نسبت به یکدیگر در سطح ۵ درصد آزمون LSD نیست.

جدول ۹. اثر برهم‌کنش بین تنش شوری کلرید سدیم و تیمارهای ضدتنش بر مقدار کلروفیل کل دانهال خرمندی

| تنش شوری کلرید سدیم | | | تیمار ضدتنش |
|---------------------|-----------|----------|-----------------|
| ۶۰ (mM) | ۳۰ (mM) | ۰ (mM) | |
| ۹/۴۸۵ d | ۱۱/۲۶۰cd | ۱۸/۶۹۸b | شاهد |
| ۱۴/۴۲۷bcd | ۱۳/۶۵۴bcd | ۲۸/۷۸۹a | پوتریسین (۱ mM) |
| ۱۴/۰۰۳bcd | ۱۸/۷۵۷b | ۳۰/۲۰۱a | پوتریسین (۲ mM) |
| ۱۲/۹۳۶d | ۱۴/۱۷۸bcd | ۱۶/۸۴۵bc | کیتوزان (۰/۲۵) |
| ۱۱/۸۵۵cd | ۱۴/۶۷۱bcd | ۱۶/۰۰۹bc | کیتوزان (۰/۵) |

میانگین‌هایی با حروف مشابه دارای اختلاف معنادار نسبت به یکدیگر در سطح ۵ درصد آزمون LSD نیست.

۴.۳. نشت الکترولیت و مقدار مالون‌دی‌آلدهید

بر اساس نتایج تجزیه واریانس، اثر تنش شوری کلرید سدیم و تیمار ضدتنش بر درصد نشت الکترولیت و مقدار مالون‌دی‌آلدهید معنادار ولی اثر برهم‌کنش بین تنش شوری و تیمار ضدتنش غیرمعنادار بود (جدول ۵). بر اساس نتایج مقایسه میانگین‌ها با اعمال تنش شوری کلرید سدیم در هر دو غلظت ۳۰ و ۶۰ میلی‌مولار مقدار نشت الکترولیت و مالون‌دی‌آلدهید در مقایسه با شوری صفر میلی‌مولار به‌طور معناداری افزایش یافت. اختلاف معناداری نیز بین دو غلظت ۳۰ و ۶۰ میلی‌مولار تنش شوری از نظر درصد نشت یونی مشاهده نشد، ولی تنش شوری ۶۰ میلی‌مولار به‌طور معناداری دارای مقدار مالون‌دی‌آلدهید بیشتری در مقایسه با تنش شوری ۳۰ میلی‌مولار بود (جدول ۶).

اعمال تیمار پوتریسین در هر دو غلظت ۱ و ۲ میلی‌مولار بدون اختلاف معنادار نسبت به یکدیگر به‌طور معناداری موجب کاهش درصد نشت یونی و مقدار مالون‌دی‌آلدهید دانه‌های برگ‌گی خرمندی در مقایسه با شاهد شد. در حالی که بین تیمارهای کیتوزان ۰/۲۵ و ۰/۵ و شاهد اختلاف معناداری از نظر درصد نشت یونی و مقدار مالون‌دی‌آلدهید مشاهده نشد (جدول ۷).

صدمه ناشی از عوامل تنش‌زای محیطی نظیر گرما، سرما، خشکی، شوری در مرحله نخست روی غشاهای سلولی قابل مشاهده است، به‌طوری که بر اثر اعمال تنش شوری، نفوذپذیری غشا تحت تأثیر قرار می‌گیرد [۳]. در این پژوهش با افزایش شوری نشت الکترولیتی غشا در برگ‌ها افزایش یافت که افزایش نشت الکترولیت ناشی از آسیب و کاهش پایداری غشاها و احتمالاً نتیجه تنش اکسایشی منتج از شوری است [۱۵]. افزایش نشت الکترولیت در نتیجه افزایش سطوح شوری، در اسفناج [۲۴] و کلزا [۳۱] نیز گزارش شده است.

در این آزمایش همچنین، مقدار مالون‌دی‌آلدهید در

کلروفیل‌ها و کاروتنوئیدها از رنگیزه‌های اصلی فتوسنتزی است که نقش مهمی در فتوسنتز ایفا می‌کند و تغییر در مقدار رنگیزه‌های فتوسنتزی بیانگر تغییر در فتوسنتز است [۱۲]. مقدار رنگیزه‌های گیاهی در واریته‌های متعددی از گیاهان حساس یا مقاوم در دامنه وسیعی از غلظت‌های متفاوت نمک اندازه‌گیری می‌شود [۳۲]. در بسیاری از گیاهان افزایش یا کاهش مقدار کلروفیل به مدت زمان قرارگرفتن گیاه در معرض کلرید سدیم بستگی دارد [۳۰]. کاهش میزان کلروفیل‌ها با کاربرد کلرید سدیم، در بسیاری از گیاهان از جمله ذرت، لوبیا، گلرنگ، خردل و برخی گیاهان تیره نعناسانان گزارش شده و به‌علت افزایش آنزیم مخرب کلروفیلاز بوده است [۲۵، ۳۱].

در دیگر ارقام خرمالو نیز مشابه با نتایج این پژوهش با افزایش سطح شوری، کاهش قابل‌ملاحظه‌ای در غلظت کلروفیل نسبت به شاهد دیده شده است [۱۸]. در بررسی اثر پوتریسین و پاکلوبوترازول بر پایه *Citrus karna Raf.* مشاهده شد، مقدار کلروفیل آ و کلروفیل ب تحت تنش شوری به‌طور معناداری کاهش پیدا می‌کند و پوتریسین بر مقدار آن‌ها اثرگذار است، به‌طوری که بیشترین مقدار کلروفیل وقتی به ثبت رسید گیاهان تحت تنش شوری بودند با ۵۰ میلی‌گرم بر لیتر پوتریسین [۳۱]. همچنین، در گیاه پسته نشان داده شده است که مقدار کلروفیل با محلولپاشی پلی‌آمین‌ها تحت تنش شوری افزایش می‌یابد [۲۱].

به‌نظر می‌رسد نقش آنتی‌اکسیدانی پوتریسین سبب ثبات غشای تیلاکوئیدی و حفظ پروتئین و لیپیدهای آن در مقابل تنش ثانویه اکسایشی حاصل از تنش شوری می‌گردد که نتیجه آن به شکل حفظ کلروفیل از صدمات ناشی از تنش مشاهده می‌شود. از طرف دیگر، در شرایط تنش شوری افزایش فعالیت کلروفیلاز، موجب کاهش مقدار کلروفیل می‌شود و احتمالاً اثر حفاظتی پوتریسین مربوط به کاهش فعالیت این آنزیم است [۳۵].

که با اعمال تنش شوری در هر دو غلظت ۳۰ و ۶۰ میلی مولار مقدار سدیم در مقایسه با شوری صفر میلی مولار به طور معناداری در بافت گیاه خرمندی افزایش یافت و اختلاف آماری معناداری نیز بین دو غلظت تنش شوری کلرید سدیم از نظر مقدار سدیم مشاهده نشد (جدول ۶).

اعمال تیمار پوتریسین در هر دو غلظت ۱ و ۲ میلی مولار منجر به کاهش معنادار تجمع سدیم در بافت گیاه خرمندی شد در حالی که اختلاف معناداری بین تیمارهای کیتوزان و شاهد از نظر مقدار سدیم مشاهده نشد (جدول ۷).

در آزمایش صورت گرفته روی خرمالوی آمریکایی و ژاپنی دیده شد که در صورت آبیاری با تیمار کلرید سدیم صفر، ۵۰ و ۷۵ میلی مولار به ترتیب در خرمالوی ژاپنی ۲۰، ۸۷ و ۱۰۳ میلی گرم در هر گرم وزن خشک و در خرمالوی آمریکایی به ترتیب ۱۸، ۲۸ و ۴۰ میلی گرم بر گرم وزن خشک سدیم تجمع پیدا کرد [۱۸]. در بررسی مشابهی روی پایه‌های مختلف پسته نشان داده شد که با افزایش غلظت شوری در آب آبیاری غلظت سدیم در ریشه و قسمت هوایی پایه‌های مورد مطالعه افزایش یافت ولی بین پایه‌ها در مقدار سدیم اندام هوایی اختلاف معناداری وجود داشت، به طوری که کمترین مقدار تجمع سدیم اندام هوایی، در پایه Atlantica و بیشترین آن در Kurdica مشاهده شد [۲۱]. از این رو، بر اساس نتایج آزمایش حاضر می‌توان عنوان داشت خرمندی همانند خرمالوی آمریکایی و پایه پسته Atlantica تحمل بیشتری به شوری دارد و سدیم کمتری در بافت خود تجمع می‌دهد. سدیم به جای تجمع در برگ‌های بالایی و جوان تر، ترجیحاً در برگ‌های پایینی، به خصوص ریشه تجمع می‌یابد [۲۱]. اعمال تیمار ۱ میلی مولار پوتریسین در مراحل اولیه رشد گیاه خردل سبب کاهش نفوذپذیری غشای سلولی و تعدیل سمیت یونی با خروج یون سدیم و ورود یون پتاسیم تحت تنش شوری شد [۲۵].

برگ خرمندی تحت تنش شوری افزایش یافت. مالون‌دی‌آلدهید محصول پراکسایشی اسیدهای چرب اشباع نشده در فسفولیپیدها و معرف میزان صدمات غشا در شرایط تنش است. در واقع، از سطح تجمع مالون‌دی‌آلدهید به عنوان نشانگر وجود رادیکال آزاد مضر در درون سلول استفاده می‌شود [۲۳]. یکی از تغییرات بیوشیمیایی ایجاد شده در گیاه تحت تنش، تجمع گونه‌های فعال اکسیژن (سوپر اکسید، پراکسید هیدروژن و رادیکال هیدروکسیل) است که محصول اجتناب‌ناپذیر سوخت و ساز طبیعی سلول است. این گونه‌های فعال اکسیژن سمی و بسیار واکنش‌پذیرند و در غیاب سازوکارهای حفاظتی، سوخت و ساز طبیعی سلول را به میزان زیادی مختل می‌کنند. این رادیکال‌ها از طریق پراکسایش لیپیدها و در نتیجه تخریب غشا، تخریب پروتئین‌ها، غیرفعال کردن آنزیم‌ها، از بین بردن رنگیزه‌ها و اختلال در عملکرد DNA، تنش ثانویه اکسایشی ایجاد می‌کند که به خسارت‌های جدی به ساختارهای سلولی و گیاه می‌انجامد [۳۳].

نتایج به دست آمده در این پژوهش با نتایج دیگر پژوهش‌های مبنی بر نقش کلیدی پلی‌آمین‌ها در حفظ یکپارچگی و بقای غشای سلولی، در شرایط تنش شوری همخوانی دارد. پلی‌آمین‌ها به دلیل خاصیت پلی‌کاتیونی و اتصال فیزیکی به ساختار غشاهای زیستی، همچنین به دلیل خاصیت آنتی‌اکسیدانی و افزایش سطح آنتی‌اکسیدان درون سلول در حفاظت از ساختارهای غشا و پایداری سلول‌ها تحت شرایط تنش مؤثر است [۲۷].

۵.۳. مقدار سدیم

بر اساس نتایج تجزیه واریانس، اثر تنش شوری کلرید سدیم و تیمار ضدتنش بر مقدار سدیم معنادار ولی اثر برهم‌کنش بین تنش شوری و تیمار ضدتنش بر آن غیرمعنادار بود (جدول ۵). نتایج مقایسه میانگین نشان داد

کیتوزان تأثیر معناداری در بهبود شاخص‌های مورفولوژیکی و فیزیولوژیکی اندازه‌گیری شده در این پژوهش نداشت، در حالی که با اعمال تیمار پوتریسین به صورت محلول پاشی برگ، دانه‌های خرمندی تا حدی نسبت به شرایط شوری متحمل گردید و بهبود معناداری در شاخص‌های رشد حاصل شد. بنابراین، می‌توان گفت که در مناطق خشک و نیمه‌خشک که با مشکل شوری خاک و آب روبه‌روست با اعمال تیمار پوتریسین تأثیر تنش شوری به صورت کوتاه مدت تعدیل می‌شود.

منابع

۱. اورعی م، طباطبایی س ج، فلاحی ا و ایمانی ع (۱۳۸۸) اثرات تنش شوری و پایه بر رشد، شدت فتوسنتز، غلظت عناصر غذایی و سدیم درخت بادام. نشریه علوم باغبانی. ۲۳: ۱۳۱-۱۴۰.
۲. ایزدی ز و تدین م (۱۳۹۲) نقش کاربرد خارجی پلی‌آمین‌ها در مقاومت به تنش در گیاهان زراعی. کنفرانس ملی پدافند غیرعامل در بخش کشاورزی. ۱-۲.
۳. تیموری ع و جعفری م (۱۳۸۹) بررسی تأثیر تنش شوری بر روی برخی خصوصیات مورفولوژی و آناتومی سه گونه سالسولا. فصلنامه علمی- پژوهشی تحقیقات مرتع و بیابان ایران. ۱۷: ۳۱-۳۴.
۴. خدیوی ع (۱۳۹۰) میوه‌کاری (عمومی و خصوصی). انتشارات آموزش و ترویج کشاورزی. ۴۶۸ ص.
۵. گردی تختی ش (۱۳۹۰) تأثیر پلی‌آمین پوتریسین بر افزایش تحمل به نمک و برخی ویژگی‌های مورفولوژیکی و فیزیولوژیکی دو رقم کنار پیوندی. پایان‌نامه کارشناسی ارشد، دانشگاه شیراز.
۶. مهدوی ب، مدرس ثانوی م، آقاعلیخانی م و شریفی

آسیب ناشی از سدیم با تجمع سدیم در بافت برگ همراه بود و ماحصل آن نکروزه برگ‌های پیر است که نخست از نوک و حاشیه‌ها شروع می‌شود و در صورت تشدید آن به سمت مرکز برگ گسترش می‌یابد. در این آزمایش نیز سوختگی برگ از علایم تیمار با کلرید سدیم بود. تجمع یون سدیم تغییراتی در تعادل یونی ایجاد کرد و عدم تعادل یونی سبب کاهش یا ممانعت از رشد گیاه شد [۱].

در این آزمایش تیمار پوتریسین با کاهش تجمع سدیم در بافت دانه‌های خرمندی از بروز علایم ناشی از سمیت سدیم کاهش داد. مشابه با این نتایج نشان داده شده است که محلول پاشی برگ پلی‌آمین‌ها روی دانه‌های پسته قرار گرفته در معرض شوری، سبب کاهش تجمع یون‌های سدیم و کلر در ساقه‌ها شد و آثار سمی ناشی از سطوح بالای این یون‌ها را بهبود بخشید [۲۱]. کانال‌های جذب و انتقال یون سدیم در شرایط تنش شوری، میزان زیادی سدیم را به داخل ریشه و بافت‌ها انتقال می‌دهد و به انباشته شدن یون سدیم در بافت و ایجاد اختلال در سوخت‌وساز سلولی می‌انجامد. ثابت شده است که تیمار نخود با پلی‌آمین‌ها سبب کاهش خروج پتاسیم در سلول‌های مزوفیل برگ می‌شود و این به دلیل بسته شدن کانال‌های غیرانتخابی کاتیونی به وقوع می‌پیوندد. در واقع، با حضور پلی‌آمین‌ها و فعالیت این کانال‌ها از خروج پتاسیم و ورود سدیم ممانعت به عمل می‌آید [۱۷].

با توجه به تمامی مباحث ذکر شده می‌توان بیان کرد که گیاه خرمندی در مراحل اولیه رشد، حساس به تنش شوری است و با افزایش مقدار کلرید سدیم در آب آبیاری کاهش معناداری در صفاتی چون وزن تر ساقه و ریشه، طول ساقه و ریشه و میزان کلروفیل، همچنین افزایش در میزان سدیم، مالون دی‌آلدئید، نشت یونی و درصد سوختگی در آن دید شد، به طوری که در کلرید سدیم ۶۰ میلی‌مولار پس از سه بار آبیاری، علایم تنش شوری نظیر سوختگی، به سرعت در آن بروز پیدا کرد.

- interactions with food components and applicability as a coating on fruit and vegetables. *Food Microbiology*. 21: 703-714.
14. Hajiboland R, Ebrahimi N and Poschenrieder C (2012) Bound putrescine, a distinctive player under salt stress in the natrophilic sugar beet in contrast to glycophyte tobacco. *Journal of Sciences*, 23: 105-114.
15. Hasegawa PM, Bressan RA, Zhu JK and Bohnert HJ (2000) Plant cellular and molecular responses to high salinity. *Annual Review Plant Physiology and Plant Molecular Biology*. 51: 463-499.
16. Health RL and Packer L (1968) Photoperoxidation in isolate chloroplast Kinetics and stoichiometry of fatty acid peroxidation. *Archives of Biochemistry and Biophysics*. 125: 189-198.
17. Hussein MM, EL-Geready NHM and El-Desuki M (2006) Role of putrescine in resistance to salinity of pea plants (*Pisum sativum* L.). *Applied Science Research*. 2: 598-604.
18. Incesu M, Cimen B, Yesiloglu T and Yilmaz B (2014) Growth and photosynthetic response of two persimmon rootstocks (*Diospyros kaki* and *D. virginiana*) under different salinity levels. *Notulae Botanicae Horticulture Agrobotanici Cluj-Napoca*. 42: 386-391.
19. Jaleel CA, Gopi B, Sankar P, Manivannan A, Kishorekumar RS and Panneers L (2007) Studies on germination, seedling vigour, Lipid peroxidation and proline metabolism in *Catharanthus roseus* seedling under salt stress. *South African Journal of Botany*. 73: 190-195.
20. Kagami H (1999) Effect of sugars on rooting of shoots of Japanese persimmon propagated in vitro. *Plant Biotechnology*. 16: 371-374.
21. Kamiab F, Talaie A, Khezri M and Javanshah A (2013) Exogenous application of free polyamines enhance salt tolerance of pistachio (*Pistacia vera* L.) seedlings. *Plant Growth Regulation*. 72: 257-268.
- م (۱۳۹۲) اثر غلظت‌های مختلف کیتوزان بر جوانه‌زنی بذر و آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانت گلرنگ در شرایط تنش کم‌آبی. *مجله پژوهش‌های گیاهی مجله زیست‌شناسی ایران*. ۲۶: ۳۶۵-۳۵۲.
۷. نادری ص، فاخری بع و اسمعیل‌زاده بهابادی ص (۱۳۹۲) اثر تنش شوری و کیتوزان بر جوانه‌زنی و رشد دانهال گیاه ریحان *Ocimum basilicum*. اولین کنفرانس ملی تنش شوری در گیاهان و راهکارهای توسعه کشاورزی در شرایط شور. دانشگاه شهید مدنی آذربایجان: ۶۹۰-۶۹۳.
۸. نوح پیشه ز و منوچهری کلانتری خ (۱۳۹۰) اثرات کاربرد متقابل اسپرمیدین و تنش شوری در گیاه فلفل. *مجله زیست‌شناسی ایران*. ۲۴: ۸۴۸-۸۵۷.
۹. نیاکان م، رضاپور مش و قربانلی م (۱۳۹۴). اثر پوترسین بر رشد، فتوسنتز و ترکیبات آلکالوئیدی گیاه دارویی تاتوره در پاسخ به تنش شوری تحت شرایط هیدروپونیک. *مجله علوم و فنون کشت‌های گلخانه‌ای*. ۲۱: ۱۱۱-۱۲۳.
10. Banuls J and Primo-Millo E (1995) Effect of salinity on some citrus scion rootstock combination. *Annals Botany*. 76: 97-102.
11. Besma BD and Denden M (2012) Effect of salt stress on growth, anthocyanins, membrane permeability and chlorophyll fluorescence of okra (*Abelmoschus esculentus* L.) seedlings. *American Journal of Plant Physiology*. 7: 174-183.
12. Cohen AS, Popovic RB and Zalik S (2004) Effects of polyamines on chlorophyll and protein content, photochemical activity, and chloroplast ultrastructure of barley leaf discs during senescence. *Plant Physiology*. 64: 717-720.
13. Devlieghere F, Vermeulen A and Debevere J (2004) Chitosan: antimicrobial activity,

22. Karimi HR, Zamani Z, Ebadi A and Fatahi R (2012) Effects of water salinity on growth indices and physiological parameters in some wild pistachio. *International Journal of Nuts and Related Sciences* 3: 41-48.
23. Katsuhara M, Otsuka T and Ezaki B (2005) Salt stress-induced lipid peroxidation is reduced by glutathione S-transferase, but this reduction of lipid peroxides is not enough for a recovery of root growth in *Arabidopsis*. *Plant Sciences*. 169: 369- 373.
24. Kaya C, Higgs D and Kirnak H (2001) The effects of high salinity (NaCl) and supplementary phosphorus and potassium on physiology and nutrition development of spinach *Bulgican*. *Plant Physiology*. 27: 47-59.
25. Lakra N, Pushpa C and Mishrab SN (2016) Growth response modulation by putrescine in Indian mustard *Brassica juncea* L. under multiple stress. *Indian Journal of Experimental Biology*. 1: 262-270.
26. Lianju M, Yueying L, Cuimei Y, Yan W, Xuemei L, Na L, Qiang C and Ning B (2011) Alleviation of exogenous oligochitosan on wheat seedlings growth under salt stress. *Protoplasma*. 249: 393-399.
27. Liu JH, Kazuyoshi N, Chikako H, Hiroyasu K, Xiao-Peng W, Xiao-Ming P and Takaya M (2006) Polyamine biosynthesis of apple callus under salt stress: importance of the arginine decarboxylase pathway in stress response. *Experimental Botany*. 57: 2589-2599.
28. Mowat AD, George AP and Collins RJ (1995) Cultivation of persimmon *Diospyros kaki* under tropical conditions. *Acta Horticulturae*. 409: 141-149.
29. Oertli JJ (1968) Extracellular salt accumulation, a possible mechanism of salt injury in plants. *Agrochemica*. 12: 461-465.
30. Pinheiro HA, Silva JV, Endres L, Ferreira VM, Camara CA, Cabral FF and Santos BG (2008) Leaf gas exchange, chloroplastic pigments and dry matter accumulation in Caster bean (*Ricinus communis* L.) seedlings to salt conditions. *Crop Science*. 27: 385-392.
31. Rezaei H, Khosh SK, Malakouti MJ and Pessaraki M (2006) Salt tolerance of canola in relation to accumulation and xylem transportation of cations. *Journal of Plant Nutrition*. 29: 1903-1917.
32. Sharma DK, Dubey AK, Srivastav M, Singh AK, Sairam RK, Pandey RN (2011) Effect of putrescine and paclobutrazol on growth, physiochemical parameters, and nutrient acquisition of salt-sensitive citrus rootstock Karna khatta (*Citrus karna* Raf.) under NaCl stress. *Journal of Plant Growth Regulation*. 30: 301-311.
33. Tang W and Newton JR (2005) Polyamines reduced salt induced oxidative damage by increasing the activities of antioxidant enzymes and decreasing lipid peroxidation in Virginia pine. *Plant Growth Regulation*. 46: 31-43.
34. Wei P, Yang Y, Fang M, Wang F and Chen H (2016) Physiological response of young seedlings from five accessions of *Diospyros* L. under salinity stress. *Korean Journal of Horticultural Science and Technology*. 1: 564-577.
35. Xiao-Ming P, Zhi-Yi Z, Xiao-Peng W, Yusuke B and Takaya M (2007) Polyamines, All-purpose in response to environment stresses in plants. *Plant Stress*. 1: 173-188.
36. Yarami N and Sepaskhah AR (2016) Effect of irrigation water salinity, manure application and planting method on soil ions variation and ions uptake by saffron (*Crocus sativus* L.). *International Journal of Plant Production*. 10: 197-220.
37. Yonemori K, Sugiera A and Yamada M (2000) Persimmon genetics and breeding. *Plant Breeding Reviews*. 19: 191-225.



Crops Improvement

(Journal of Agricultural Crops Production)

Vol. 19 ■ No. 3 ■ Autumn 2017

Investigation of improving salinity stress damages in *Diospyros lotus* seedlings by putrescine and chitosan

Fariba Rezaei Aderyani¹, Ayatollah Rezaei², Orang Khademi^{2*} and Yavar Sharafi²

1. M.Sc., Department of Horticulture, Faculty of Agriculture, Shahed University, Tehran, Iran

2. Assistant Professor, Department of Horticulture, Faculty of Agriculture, Shahed University, Tehran, Iran

Received: October 3, 2016

Accepted: December 5, 2016

Abstract

Salinity is one of the most important plant growth limiting factors, which using the anti-stress materials is considered as an important approach in moderating its effects on plants. In this research, the date plum seedlings response to salinity stress and two compounds putrescine and chitosan to reduce salinity stress was studied. The experiment was conducted as a factorial with three levels of sodium chloride (0, 30 and 60 mM), and five treatments of control, putrescine (1 and 2 mM) and chitosan (0.25 and 0.5%), based on a completely randomized design with four replications at Shahed University in 2016. The results showed that date plum was sensitive to salt stress in the early stages of growth and sodium chloride salinity stress resulted in significant decrease in vegetative traits such as fresh matter weight and length of shoots and roots as well as leaf chlorophyll content in compared to 0 salinity. In addition, the leaf blight percentage, sodium content, electrolyte leakage and malondialdehyde content were increased in plants treated with salinity. Putrescine treatment, especially at 2 mM concentration effectively reduced the effects of salinity on date plum seedlings and improved vegetative growth of stem and root, while chitosan had no significant effect in reducing the harmful effects induced by salt stress in this experiment. According to the results, *Diospyros lotus* seedlings were sensitive to salinity and using treatments such as putrescine is effective in increasing its resistance to salinity stress.

Keywords: anti-stress materials, chlorophyll, persimmon, sodium chloride, vegetative growth.