

## بررسی اثر شوری بر رشد، میزان اسمولیت‌ها و ترکیبات دیواره سلولی

### گیاه *Puccinellia distans* (jacq.)

زهرا سلیمان نژاد، احمد عبدالزاده\* و حمیدرضا صادقی‌پور<sup>۱</sup>

<sup>۱</sup>گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه گلستان

#### چکیده:

شوری یکی از مهمترین عوامل محیطی محدود کننده رشد و تولید محصول در گیاهان می‌باشد. گیاه *Puccinellia distans* گیاهی مرتعی، چند ساله و مقاوم به شوری است. اثرات شوری ناشی از کلرید سدیم بر رشد و میزان اسمولیت‌ها و ترکیبات دیواره سلولی گیاه *Puccinellia distans* موضوع این پژوهش است. گیاهان در گلخانه در محیط کشت هیدروپونیک با محلول غذایی هوگلدن رشد داده شدند. تیمارهای شوری شامل دو سطح صفر و ۲۰۰ میلی‌مولار کلرید سدیم بود. گیاهان قبل از رسیدن به مرحله زایشی برداشت شدند. نتایج آزمایش نشان داد که تیمار شوری منجر به کاهش معنی‌دار صفات رشد نظیر، وزن تر بخش هوایی و کل، وزن خشک ریشه، بخش هوایی و کل، میزان آب نسبی و تعداد برگ گیاه گردید. شوری سبب افزایش میزان سدیم و کاهش میزان پتاسیم در بخش هوایی و ریشه گیاهان شد و میزان نشت الکترولیت‌ها را در بخش هوایی افزایش داد. شوری سبب افزایش معنی‌دار قندهای محلول و فنل در ریشه گیاه گردید، اما در بخش هوایی تأثیر معنی‌داری نداشت. همچنین شوری به صورت معنی‌داری میزان اسیدآمین کل، پرولین و سلولز بخش هوایی و ریشه و پروتئین‌های محلول و لیگنین بخش هوایی گیاه را افزایش داد. این نتایج نشان می‌دهد، احتمالاً کاهش آب در گیاه منجر به فعالیت گیاه برای تنظیم اسمزی با افزایش اسمولیت‌ها گردید، اما این امر برای حفظ میزان آب نسبی کافی نبود. در نتیجه کمبود آب همراه با سمیت یونی منجر به کاهش رشد گیاهان شده است.

**کلمات کلیدی:** اسمولیت، *Puccinellia distans*، ترکیبات دیواره، شوری.

#### مقدمه:

از: گرگان، خراسان، آذربایجان، کرمان و زاهدان (مبین، ۱۳۵۴). این گیاه یک گونه خوش‌خوراک با پروتئین خام ۱۴/۳۵ تا ۱۶/۰۵ درصد و قابلیت هضم ۵۰ درصد می‌باشد (حسینی، ۱۳۷۳) و با توجه به مقاومت به شوری قابل توجه در آن می‌تواند برای اصلاح مراتع شور و چرای دام مورد استفاده قرار گیرد (حسینی، ۱۳۷۳؛ Langlosi et al., 2003).

*Puccinellia distans* یک گیاه چندساله به طول ۶۰-۱۰ سانتی‌متر، دارای ساقه‌های باریک با ۲ تا ۴ گره و از تیره گندمیان است (Hubbard, 1954). این گونه بیشتر در سواحل دریاها و دریاچه‌های شور، کنار جاده‌ها و چمن‌زارهای رودخانه‌ای دیده می‌شود (1983 Tsvelev). پراکنش جغرافیایی این گونه در ایران عبارتند

<sup>۱</sup>نویسنده مسؤل، نشانی پست الکترونیکی: ah\_ab99@yahoo.com

اصطلاحاً محلول‌های سازگار نامیده می‌شوند ( Zhifang and Loescher, 2003 ). این محلول‌های سازگار به طور عمده شامل الکل‌های چند ظرفیتی، اسیدهای آمینه پرولین و گلايسین بتائین می‌باشند. این اسمولیت‌ها با تنظیم اسمزی، باعث برگشت آب به سیتوپلاسم و توقف سدیم در واکوئل یا اپوپلاست می‌شوند و ساختارهای سلولی را از طریق واکنش با غشا، کمپلکس‌های پروتئینی یا آنزیم‌ها محافظت می‌کنند ( Sairam and Tyagi, 2003; Kumar et al., 2004 ). قندهایی همچون گلوکز، فروکتوز، ساکارز و فروکتان‌ها و تعدادی از ترکیبات دارای نیتروژن مانند آمیدها، پلی‌آمین‌ها و پروتئین‌ها نیز در گیاهانی که در معرض تنش شوری قرار گرفته‌اند انباشته می‌گردند ( Parida and Das, 2002 ). اعمال عمده این مواد شامل حفاظت اسمزی، تعدیل اسمزی، ذخیره کربن و نیتروژن و پالایندگی رادیکال‌های آزاد اکسیژن می‌باشد. انباشته شدن ترکیبات دارای نیتروژن معمولاً با تحمل شوری همبستگی دارد ( Mansour, 2000 ).

اثر شوری در دیواره سلولی گیاهان با کاهش بزرگ شدن سلول‌های آن‌ها به دلیل از دست رفتن فشار تورگر تحت شوری مشخص می‌شود ( Iraki et al., 1989 ). محتمل است که شوری با افزایش لیگنین ( Brayant et al., 1983 ) باعث ضخیم‌تر و سخت‌تر شدن دیواره گشته ( Radin and Ackerson, 1982 ) و در نتیجه با کاهش قابلیت ارتجاعی آن، بزرگ شدن سلول را دچار اختلال نماید.

پوکسینلیا دیستنس گیاهی علفی و چندساله است که به طور طبیعی در بسیاری نقاط دیگر کشور از جمله در کنار تالاب‌های شمال استان گلستان می‌روید و به نظر می‌رسد که به تنش غرقابی مقاوم است. این گیاه برای تعلیف دام خوش‌خوراک بوده و پروتئین خام آن ۱۴/۳۵ تا ۱۶/۰۵ درصد و قابلیت هضم آن ۵۰ درصد می‌باشد و می‌تواند

شوری پس از خشکی از مهم‌ترین و متداول‌ترین تنش‌های محیطی در سطح جهان، از جمله ایران است ( Akhani and Ghorbanli, 1993 ). شور شدن بیش از اندازه خاک می‌تواند ناشی از فرآیندهای طبیعی و یا آبیاری مزارع با آب شور تحت شرایط زهکشی نامناسب به وجود آید. شوری مفرط در بسیاری از نواحی خشک و نیمه‌خشک کره زمین محدودکننده رشد و حاصلخیزی محصولات کشاورزی و کاهش رستنی‌های طبیعی می‌باشد ( Parida and Das, 2005 ). اثرات زیان‌بار شوری در گیاهان را می‌توان در تمام سطوح اعم از کاهش رشد و باروری تا مرگ گیاه مشاهده نمود. تنش شوری رشد و نمو گیاهان را از طریق تنش اسمزی، سمیت یون‌ها و نامتعادل‌سازی تغذیه‌ای تحت تأثیر قرار می‌دهد. زیادهای یون‌های سدیم و کلر در محیط کشت خارجی سبب سمیت این یون‌ها و کاهش دسترسی گیاه به مواد معدنی مورد نیاز شده و جذب و انتقال این عناصر را توسط گیاه دچار اختلال می‌کند ( Romero and Maranon, 1996 ). به علاوه، پتانسیل اسمزی شدیداً منفی در خاک شور سبب کاهش جذب و کمبود آب در گیاه می‌شود ( Munns, 1993 ). در طی شروع و توسعه تنش شوری در داخل گیاه، همه فرآیندهای اصلی مانند فتوسنتز، ساخت پروتئین، متابولیسم لیپید و تولید انرژی و برخی از ساختارهای سلولی مانند غشاهای زیستی آسیب می‌بیند.

در گیاهان مکانیسم‌های بیوشیمیایی و مولکولی متعددی برای مقابله با تنش شوری ایجاد شده است. این مکانیسم‌ها منجر به محصولات و فرآیندهایی می‌گردد که تحمل به شوری را بهبود می‌بخشند ( Iyengar and Reddy, 1996 ). یکی از این موارد تنظیم اسمزی و القاء بیوسنتز محلول‌های سازگار توسط گیاه است. برای حفظ تعادل یونی در واکوئل‌ها و سیتوپلاسم ترکیباتی با وزن مولکولی کم انباشته می‌شود و به دلیل این که این مواد تداخلی با واکنش‌های معمول بیوشیمیایی ایجاد نمی‌کنند،

را تخریب کند. محلول غذایی مورد استفاده هوگلدن بوده که هر هفته تعویض شده و اسیدیته محلول نیز هر روز با اسید کلریدریک و سود بر روی  $6 \pm 0.2$  تنظیم شد. در طول دوره آزمایش حداکثر و حداقل دمای روز و شب در گلخانه به ترتیب ۳۰ و ۱۸ درجه سانتی‌گراد و میانگین رطوبت نسبی ۷۴٪ بود. گیاهان پس از چهار هفته تیماردهی و رسیدن به حداکثر رشد رویشی، برای اندازه‌گیری صفات رشد و تجزیه بیوشیمیایی برداشت شدند.

**ترکیبات معدنی:** برای استخراج عناصر سدیم و پتاسیم ۵۰ میلی‌گرم از پودر خشک حاصل از ریشه و بخش هوایی با ۱۰ میلی‌لیتر اسید نیتریک و سپس ۳ میلی‌لیتر اسید پرکلریک زیر هود هضم شد، تا محلول کاملاً شفاف به دست آید. برای اندازه‌گیری کاتیون‌های سدیم و پتاسیم از دستگاه فلیم‌فتومتر JENWAY استفاده شد.

**اندازه‌گیری نشت الکترولیت‌ها:** از هر گیاه ۴ برگ سالم و یک‌نواخت جدا گردید و سپس با آب دوباره تقطیر آب‌کشی گردید. از هر برگ، ۲ دیسک به اندازه یک سانتی‌متر جدا گردید و درون ارلن‌های حاوی ۱۰ میلی‌لیتر آب دوبار تقطیر منتقل شد. ارلن‌ها به مدت ۲۴ ساعت در دمای اطاق (۲۵ درجه سانتی‌گراد) روی شیکر تکان داده شد و پس از آن هدایت الکتریکی آب داخل ارلن‌ها به وسیله هدایت‌سنج اندازه‌گیری شد ( $EC_1$ ). ارلن‌های حاوی نمونه به مدت یک ساعت درون اتوکلاو در دمای ۱۲۰ درجه سانتی‌گراد قرار گرفت و پس از خنک شدن مجدداً هدایت الکتریکی آب داخل ارلن‌ها اندازه‌گیری شد ( $EC_2$ ). در نهایت درصد نشت یون با فرمول زیر محاسبه گردید:

$$\text{درصد نشت یون} = \frac{EC_1}{EC_2} \times 100$$

**اندازه‌گیری صفات بیوشیمیایی:** اندازه‌گیری پروتئین‌های

برای اصلاح مراتع شور و چرای دام مورد استفاده قرار گیرد (حسینی، ۱۳۷۳). بندانی و همکاران کاهش رشد و افزایش غلظت یون‌های سدیم و کلر را در گیاه *Puccinellia distans* تحت شوری گزارش نموده‌اند (بندانی و عبدالزاده ۱۳۸۶)، هر چند، در حیطة اطلاعات ما گزارشی در ارتباط با تأثیر شوری در میزان اسمولیت‌ها و ترکیبات دیواره‌ای گیاه *Puccinellia distans* وجود ندارد. این پژوهش با هدف بررسی چگونگی اثر شوری در گیاه *Puccinellia distans* طراحی شده است. لذا با اندازه‌گیری رشد، انباشتگی برخی یون‌ها، اسمولیت‌ها و ترکیبات دیواره‌ای تلاش شد تا درک بهتری از چگونگی کاهش رشد این گیاه تحت شوری به دست دهد.

#### مواد و روش‌ها:

**شرایط کشت:** بذر گیاه *Puccinellia distans* (jacq.) *Parl.* از مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی استان گلستان تهیه شد. بذرها پس از ضدعفونی در بیستم اسفند ماه سال ۱۳۸۹ در گلخانه‌ی دانشکده علوم دانشگاه گلستان داخل گلدان‌های پلاستیکی حاوی شن کشت گردیدند. آبیاری و تغذیه گیاهان تا مرحله سه‌برگی به وسیله محلول ۱/۲ هوگلدن انجام گرفت و پس از آن گیاهچه‌ها به محیط کشت هیدروپونیک انتقال داده شدند. به این منظور از تشت‌های پلاستیکی با گنجایش ۷ لیتر استفاده گردید و در هر تشت ۴ گیاهچه تثبیت شد. طرح آزمایش بلوک‌های کامل تصادفی و با پنج تکرار بود. تیمارهای شوری شامل دو سطح ۰ و ۲۰۰ میلی‌مولار کلریدسدیم یک هفته پس از انتقال گیاهان به محیط کشت هیدروپونیک اعمال شد. این غلظت‌ها بر اساس آزمایشات قبلی با این گیاه (بندانی و عبدالزاده ۱۳۸۶) و این نکته انتخاب شد که سطوح بالاتر شوری ممکن چنان تنش را تشدید نماید که بسیاری از فرآیندهای بیوشیمیایی

جدول ۱- تأثیر تیمار شوری بر صفات رشد گیاه *Puccinellia distans*

سطوح شوری (میلی مولار کلرید سدیم)		صفات رشد
۲۰۰	۰	
۲/۷۶ ± ۰/۱۹ <sup>a</sup>	۳/۳۸ ± ۰/۲۲ <sup>a</sup>	وزن تر ریشه
۶/۳۴ ± ۰/۵۲ <sup>b</sup>	۱۴/۱۷ ± ۰/۹۸ <sup>a</sup>	وزن تر بخش هوایی
۹/۱۰ ± ۰/۷۰ <sup>b</sup>	۱۷/۵۶ ± ۱/۱۵ <sup>a</sup>	وزن تر کل
۰/۱۲ ± ۰/۰۱ <sup>b</sup>	۰/۲۱ ± ۰/۰۳ <sup>a</sup>	وزن خشک ریشه
۰/۷۲ ± ۰/۰۶ <sup>b</sup>	۱/۲۶ ± ۰/۰۶ <sup>a</sup>	وزن خشک بخش هوایی
۰/۸۵ ± ۰/۰۷ <sup>b</sup>	۱/۴۷ ± ۰/۰۸ <sup>a</sup>	وزن خشک کل
۸۹/۶۲ ± ۰/۲۵ <sup>b</sup>	۹۱/۴۵ ± ۰/۲۰ <sup>a</sup>	درصد آب نسبی
۴۸/۵۰ ± ۵/۴۰ <sup>b</sup>	۶۱/۱۳ ± ۴/۶۰ <sup>a</sup>	تعداد برگ

داده‌ها میانگین ± خطای استاندارد است، میانگین‌هایی که حداقل دارای یک حرف مشترک باشند در سطح ۹۵٪ با آزمون دانکن اختلاف معنی‌دار ندارند.

سنجش ترکیبات دیواره سلولی: استخراج سلولز با روش Kokubo و همکاران (۱۹۸۹) انجام شد و اندازه‌گیری آن با روش Updegraff (۱۹۶۹) با معرف اترون با استفاده از اسپکتروفتومتر و در طول موج ۶۲۰ نانومتر صورت گرفت. استخراج لیگنین به روش Zimmer (۱۹۹۹) توسط هیدروکلریک اسید اتانولی (اتانول مطلق: اسید کلریدریک یک مولار، ۱:۱) صورت گرفت و اندازه‌گیری آن نیز به روش Zimmer (۱۹۹۹) با استفاده از معرف فلوروگلوکوسینول توسط اسپکتروفتومتری و در طول موج ۴۸۸ نانومتر انجام شد.

تجزیه آماری: رسم نمودارها و تجزیه داده‌ها در نرم افزار Excel و SAS صورت گرفت. کلیه داده‌ها با تجزیه واریانس یک عاملی تجزیه گردیدند و مقایسه میانگین‌ها با آزمون دانکن صورت پذیرفت.

#### نتایج:

تیمار شوری منجر به کاهش معنی‌دار وزن تر بخش هوایی و کل، وزن خشک ریشه، بخش هوایی و کل و تعداد برگ گیاه گردید، اما وزن تر ریشه تحت شوری کاهش

محلول به روش Bradford (۱۹۷۶) در طول موج ۵۹۵ نانومتر و به وسیله دستگاه اسپکتروفتومتر UV-160 Shimadzo انجام شد. به منظور اندازه‌گیری پرولین در گیاهان از روش Bates و همکاران (۱۹۷۳) استفاده شد. استخراج عصاره های فنلی، قندهای محلول و اسید آمینه کل به روش Fukoda و Yoshida (۲۰۰۳) انجام گرفت. به این ترتیب که مقدار ۰/۱ گرم از پودر خشک ریشه و بخش هوایی گیاه با ۵ میلی لیتر اتانول ۷۰ درصد مخلوط شده و بعد از ۸ ساعت عصاره اتانولی رویی جدا گردید. این عمل ۳ بار تکرار شد. اتانول مخلوط بدست آمده در دمای ۷۰ درجه تبخیر شده و به منظور حذف ترکیبات رنگی عصاره به نسبت ۱ به ۳ با کلروفرم مخلوط گردید، بعد از گذشت ۵ دقیقه عصاره شفاف رویی با سانتریفیوژ جدا شد. اندازه‌گیری فنل به روش Lavid و همکاران (۲۰۰۱) با معرف پروسین بلو و اندازه‌گیری قندها به وسیله معرف اترون با روش McCready و همکاران (۱۹۵۰) صورت گرفت. اندازه‌گیری اسیدهای آمینه با اسپکتروفتومتری بر اساس واکنش با ناین هیدرین و از طریق روش Yemm و Cocking (۱۹۹۵) انجام گرفت.

#### بحث:

شوری سبب کاهش معنی‌دار صفات رشد در گیاه *Puccinellia distans* گردید. محققان متعددی کاهش رشد ریشه و بخش هوایی گیاهان تحت تیمار شوری را گزارش کرده‌اند (Kaya et al., 2002).

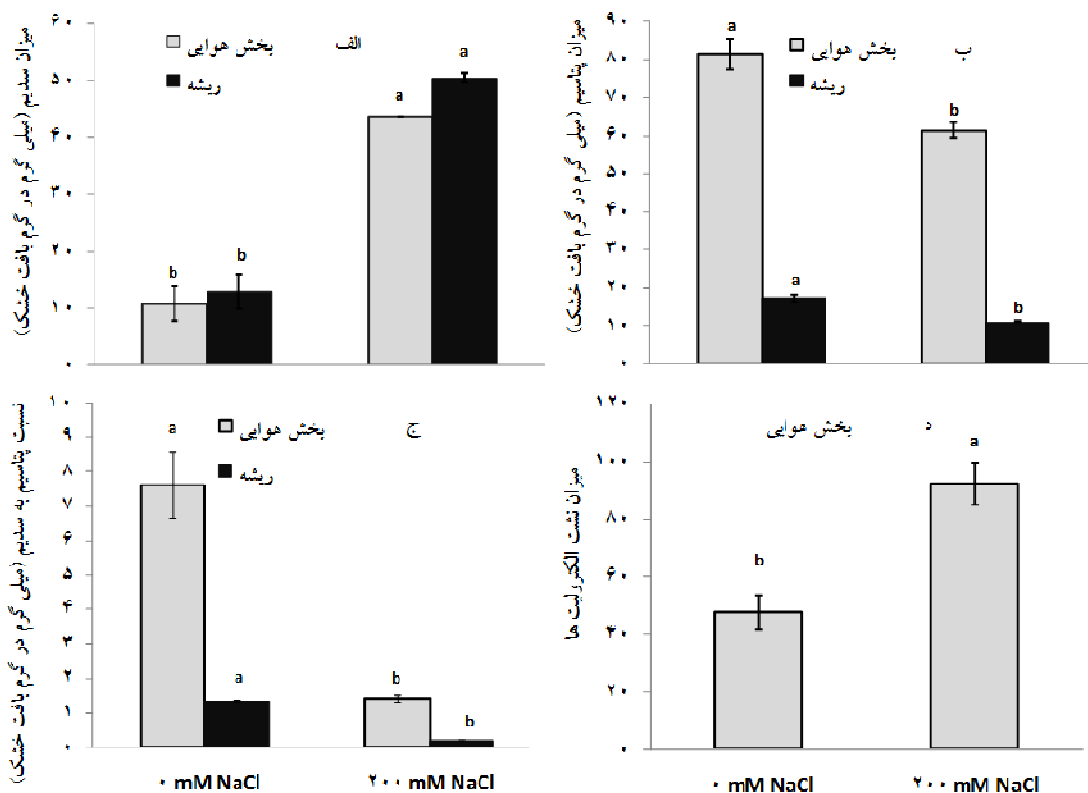
شوری موجب افزایش یون سدیم در تمام پیکر گیاه *Puccinellia distans* شد، به طوری که به میزان حدود ۴ برابر شاهد رسید. افزایش غلظت یون‌های سمی در گیاه منجر به نشت الکترولیت‌ها از خلال غشاهای زیستی گردید که محتمل است با جایگزینی یون سدیم به جای کلسیم در غشا و یا با تجمع سدیم در آپوپلاست رخ داده باشد (Tester and Devenport, 2003). این نتایج با تأثیر شوری در افزایش نشت الکترولیت‌ها در گیاه اسفناج سازگار است (بخشی خانیکی، ۱۳۸۳). به علاوه، شوری منجر به کاهش غلظت یون پتاسیم و نسبت پتاسیم به سدیم در گیاه *Puccinellia distans* شد. یکی دیگر از عوارض شوری کمبود پتاسیم است، که در اثر رقابت سدیم با پتاسیم برای جذب در ریشه پیش می‌آید. گزارش شده است که به دلیل انتقال کاتیون‌های سدیم و پتاسیم با یک پروتئین کانال که قدرت تفکیک آن نسبت به کاتیون‌ها کم است، سدیم برای ورود به درون سلول با پتاسیم رقابت می‌کند (Hasegawa et al., 2000). این نتایج با داده‌های به دست آمده در مورد اسفناج (Delphin et al., 1998) و *Puccinellia distans* (بندانی و عبدالزاده، ۱۳۸۶) مطابقت دارد.

شوری سبب کاهش جذب آب در گیاه *Puccinellia distans* شد. در اثر افزایش شوری، جذب آب، هدایت هیدرولیکی سلول و ریشه تغییر کرده و کاهش می‌یابد (Azaizeh et al., 1992). در گیاهان عالی وقتی ریشه‌ها در معرض تنش شوری قرار می‌گیرند، پتانسیل اسمزی برگ‌ها کاهش می‌یابد (میرمحمدی و قره‌یاضی، ۱۳۸۱).

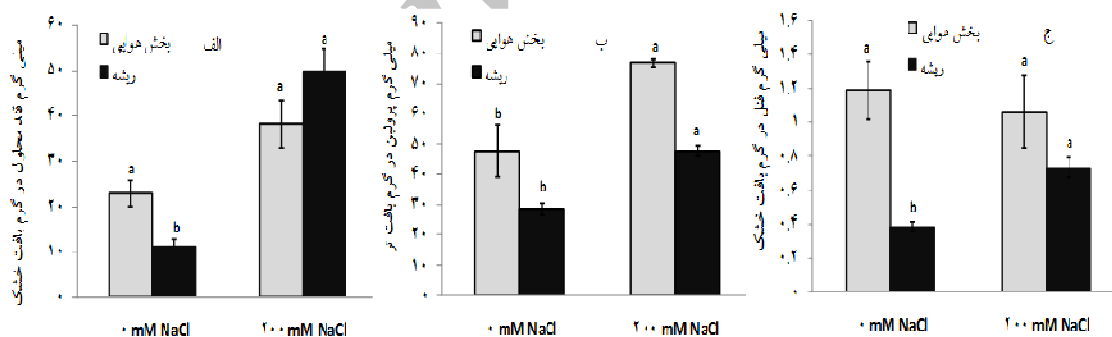
معنی‌داری نشان نداد. به علاوه میزان آب نسبی گیاهان تحت شوری به صورت معنی‌داری کاهش یافت (جدول ۱). غلظت یون سدیم در گیاهان شاهد ناچیز بود. تیمار شوری باعث افزایش معنی‌دار غلظت یون سدیم در بخش هوایی و ریشه گیاه شد. در گیاهان شاهد، میزان یون پتاسیم در ریشه نسبت به بخش هوایی گیاه کم بود. تیمار شوری میزان پتاسیم و نسبت پتاسیم به سدیم را در بخش هوایی و ریشه نسبت به تیمار شاهد به صورت معنی‌داری کاهش داد. به علاوه، میزان نشت الکترولیت‌ها در بخش هوایی گیاهان تحت شوری به صورت معنی‌داری افزایش یافت (شکل ۱).

تیمار شوری باعث افزایش معنی‌دار میزان قندهای محلول در ریشه گیاه شد، ولی تأثیر معنی‌داری در میزان قندهای محلول بخش هوایی گیاه نداشت (شکل ۲ الف). میزان پرولین در بخش هوایی، بسیار بیشتر از ریشه گیاهان بود. تیمار شوری منجر به افزایش معنی‌دار پرولین در بخش هوایی و ریشه گیاه گردید (شکل ۲ ب). میزان فنل نیز مشابه پرولین در بخش هوایی بسیار بیشتر از ریشه بود. شوری اثر معنی‌داری در میزان فنل بخش هوایی نداشت، هرچند در ریشه مقدار فنل به طور معنی‌داری افزایش یافت (شکل ۲ ج).

شوری باعث افزایش میزان اسیدهای آمینه کل در ریشه و بخش هوایی گیاه گردید (شکل ۳ الف). میزان پروتئین‌های محلول در بخش هوایی گیاه بسیار بیشتر از ریشه بود. تیمار شوری در بخش هوایی سبب افزایش معنی‌دار میزان پروتئین‌های محلول شد، ولی در ریشه تأثیر معنی‌داری نداشت (شکل ۳ ب). میزان لیگنین در ریشه بیشتر از بخش هوایی گیاه بود. شوری در بخش هوایی منجر به افزایش معنی‌دار میزان لیگنین گردید، ولی اثر معنی‌داری در لیگنین ریشه نداشت (شکل ۴ الف). میزان سلولز نیز همانند لیگنین در ریشه بیشتر از بخش هوایی گیاه بود. تیمار شوری افزایش معنی‌دار میزان سلولز بخش هوایی و ریشه گیاه را سبب شد (شکل ۴ ب).



شکل ۱- مقایسه تأثیر تیمار شوری بر ترکیبات معدنی. الف) میزان سدیم. ب) میزان پتاسیم. ج) نسبت پتاسیم به سدیم. د) میزان نشت

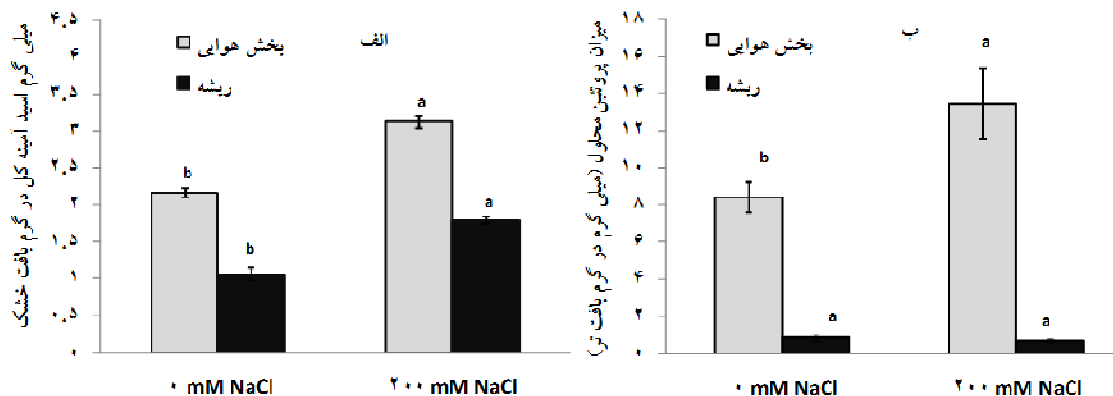


شکل ۲- مقایسه تأثیر تیمار شوری بر فاکتورهای بیوشیمیایی الف) میزان قند محلول ب) میزان پرولین ج) میزان فنل.

داده های میانگین ± خطای استاندارد را نشان می دهد، میانگین با حرف مشترک در سطح ۹۵٪ با آزمون دانکن با یکدیگر اختلاف معنی دار ندارند.

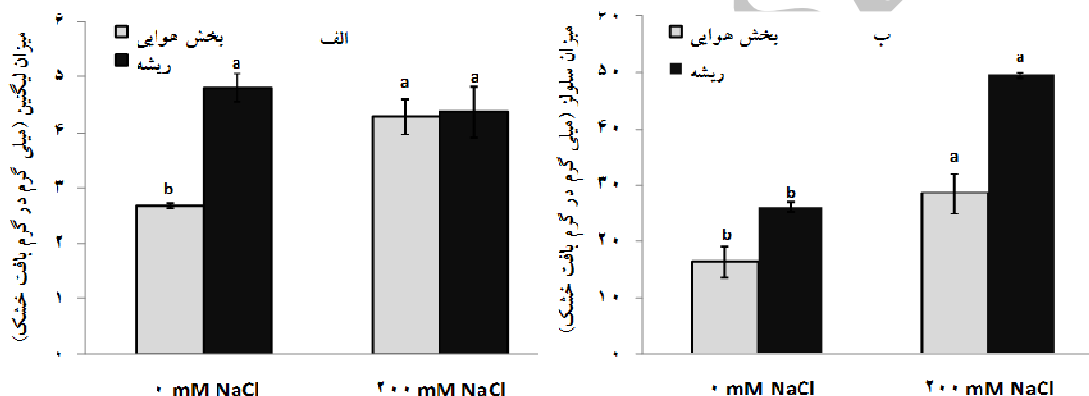
سدیم و کلر و سنتز محلول سازگار مانند پرولین، بتائین گلیسین و قندها حاصل می شود (Rahman et al., 1995, 2008; Munns and Tester). مواد محلول سازگار وزن ملکولی کم و حلالیت زیاد در آب دارند، از نظر الکتریکی خنثی هستند و با مراحل متابولیسم گیاه

گیاهان تحت شوری یونهای زیادی را و ترکیبات آلی خاصی را سنتز کنند و به این علت پتانسیل اسمزی آنها کاهش می یابد، به طوری که گیاه قادر می شود آب بیشتری جذب نماید. این گونه تطبیق گیاهان به شرایط شور را تطابق اسمزی می نامند که اغلب از طریق جذب یونهای



شکل ۳- مقایسه تأثیر تیمار شوری بر فاکتورهای بیوشیمیایی (الف) میزان اسید آمینه کل (ب) میزان پروتئین.

داده ها میانگین  $\pm$  خطای استاندارد را نشان می‌دهد، میانگین با حرف مشترک در سطح ۰.۰۵٪ با آزمون دانکن با یکدیگر اختلاف معنی‌دار ندارند.



شکل ۴- مقایسه تأثیر تیمار شوری بر ترکیبات دیواره (الف) میزان لیگنین (ب) میزان سلولز.

داده ها میانگین  $\pm$  خطای استاندارد را نشان می‌دهد، میانگین با حرف مشترک در سطح ۰.۰۵٪ با آزمون دانکن با یکدیگر اختلاف معنی‌دار ندارند.

Muscolet al., 2003; Das, 2002). افزایش میزان قند محلول با افزایش شوری، نشان می‌دهد که احتمال دارد قند واسطه بیوسنتز پرولین در *Puccinellia distans* مشابه سنبل (Myrene et al., 2009) باشد، که نتیجه آن افزایش میزان پرولین با افزایش شوری بود. پرولین در شرایط تنش نقش‌های متعددی دارد و می‌تواند به عنوان یک اسموتیک، مخزن کربن، مخزن انرژی و نیتروژن و در شرایط تنش، پالاینده رادیکال هیدروکسیل و حفاظت کننده آنزیم‌ها و اندامک‌ها باشد (Harinasut et al., 2000). همچنین افزایش پرولین در شرایط تنش ممکن است به علت فعال‌سازی آنزیم‌های بیوسنتزی

مداخله نمی‌کنند (Ashraf and McNeilly, 2004). در بررسی حاضر میزان قند محلول تحت شوری در گیاه *Puccinellia distans* افزایش یافت. قندهای محلول می‌توانند به شکل‌های مختلف در تحمل تنش‌های اسمزی در گیاهان شرکت نمایند. همچنین قندهای محلول می‌توانند در مراحل بیوسنتز، تولید انرژی، پایداری غشای سلولی، حفظ تورگر و سیگنالینگ در شبکه علامت دهی گیاه (علامت‌دهی به هورمون‌ها) تحت تنش عمل کنند (Nayer and Reza, 2008; Roland et al., 2006). افزایش میزان قندها تحت شوری توسط محققین زیادی گزارش شده است (Parida and Tattini et al., 1996);

دلیل کاهش جذب آب و سمیت ناشی از املاح سدیم و کلر دانسته‌اند (Munns, 1993; Qasim et al., 2003). شوری منجر به افزایش میزان فنل در ریشه گیاه گردید. فنل‌ها سلول را از آسیب اکسیداتیو حفظ می‌کنند و باعث افزایش پایداری غشای سلول می‌شوند (Burguieres et al., 2006). افزایش شوری سبب افزایش سلولز در بخش هوایی و ریشه گیاه *Puccinellia distans* گردید. سلولز ترکیب اساسی دیواره سلولی بوده، که شکل و مورفولوژی سلول را تعیین می‌کند. میکروفیبریل سلولز غیرمحلول، از نظر شیمیایی مقاوم، از نظر مکانیکی سخت بوده و در غشای پلاسمایی توسط کمپلکس‌های روزت مانند ساخته می‌شود. این کمپلکس پروتئین هگزامری است که در هر یک از آن‌ها شش ملکول سلولز سنتاز وجود دارد (Kimura et al., 1999; Mueller and Brown, 1980). سنتز سلولز در گیاهان به وسیله عوامل طبیعی و محیطی تنظیم می‌شود. سنتز سلولز در تنش فشار در درختان نهان‌دانه زیاد شد که ممکن است به دلیل افزایش بیان ژن سلولز سنتاز مخصوص باشد (Wu et al., 2000; Bhandari et al., 2006). از دیگر اثرات شوری در گیاه *Puccinellia distans* افزایش لیگنین در بخش هوایی بود. لیگنین از مخلوطی ترکیبات فنلی شامل: پارا-کوماریل، کونیفریل و سیناپیل الکل تشکیل شده است (Goujon et al., 2003). افزایش لیگنین تحت شوری احتمالاً منجر به خشبی شدن گیاه و دشوار نمودن بزرگ شدن سلول‌ها و کاهش رشد گیاه *Puccinellia distans* شده است. همچنین افزایش لیگنین احتمالاً با افزایش فنل‌ها به عنوان پیش ساز این ماده ارتباط دارد. این نتایج با افزایش لیگنین در بخش هوایی گیاه کلزا تحت شوری مطابقت دارد (Hashemi et al., 2010). گیاهان تحت تنش شوری برای جلوگیری از دست رفتن آب از طریق دیواره سلولی، بیوسنتز لیگنین را افزایش می‌دهند (Garcia et al., 1997).

پرولین، کاهش اکسیداسیون و تبدیل آن به گلوتامات و کاهش استفاده از پرولین در سنتز پروتئین‌ها باشد (Maggio et al., 2002). در این تحقیق شوری میزان اسیدآمینو کل ریشه و پروتئین محلول بخش هوایی را به طور معنی‌دار افزایش داد. در گیاهان تحت تنش شوری ترکیبات دارای نیتروژن متعددی انباشته می‌گردند که متداول‌ترین آن‌ها اسیدهای آمینه، آمیدها، پروتئین‌ها و پلی‌آمین‌ها می‌باشند. نوع و میزان انباشتگی ترکیبات دارای نیتروژن در گونه‌های مختلف گیاهی متفاوت است. تعدیل اسمزی، محافظت از درشت مولکول‌های سلولی، ذخیره نیتروژن، حفظ pH سلولی، سم‌زدایی از سلول و پالایش رادیکال‌های آزاد اکسیژن از جمله اعمالی هستند که برای این ترکیبات در شرایط تنش شوری پیشنهاد شده است. انباشته شدن ترکیبات دارای نیتروژن معمولاً با تحمل شوری همبستگی دارد (Mansour, 2000). افزایش میزان پروتئین‌ها در تنش شوری در بسیاری از گونه‌های گیاهی مشاهده شده است. برای مثال افزایش پروتئین‌های محلول در ساقه و برگ گوجه فرنگی هنگام افزایش شوری توسط Amini و Ehsanpour (۲۰۰۵) گزارش شد. آنان افزایش پروتئین‌های محلول را ناشی از سنتز پروتئین شبه اسمزی اسموتین و یا پروتئین‌های ساختمانی به ویژه آن‌هایی که در سنتز اختصاصی پروتئین‌های تغییر دهنده خواص دیواره سلولی دخالت دارند، می‌دانند. بر اساس گزارش Ashraf و Harris (۲۰۰۴) در واریته‌های مقاوم جو، آفتابگردان، ارزن و برنج میزان بالایی از پروتئین‌های محلول مشاهده شده است که در واریته‌های حساس آن وجود ندارد. بنابراین احتمالاً کاهش جذب آب در گیاه *Puccinellia distans* منجر به تلاش گیاه برای تنظیم اسمزی با افزایش پرولین، اسیدهای آمینه و قندهای محلول گردید، اما افزایش اسمولیت‌ها برای جبران کاهش نسبی آب کافی نبود و در نتیجه رشد گیاهان کاهش یافت. محققان متعددی کاهش رشد گیاهان تحت شوری را به



Academic Publishers. Printed in the Netherlands 1: 35-44.

- Amini, F. and Ehsanpour, A. (2005) Soluble protein, carbohydrates and  $\text{Na}^+/\text{K}^+$  changes in two tomato (*Lycopersicon esculentum* Mill.) cultivars *in vitro* salt stress. American Journal of Biochemistry and Biotechnology 1: 212-216.
- Ashraf, M. and McNeilly, T. (2004) Salinity tolerance in Brassica oilseeds. Critical Reviews in Plant Sciences 23:157-174.
- Ashraf, M. and Harris, D. J. C. (2004) Potential biochemical indicators of salinity tolerance in plants. Plant Science 166: 3-160.
- Azaizeh, H., Gunse, B. and Steudle, R. (1992) Effect of NaCl and CaCl<sub>2</sub> on water transport across root cells of maize (*zea mays* L.) seedlings. Plant Physiology 99: 886-894.
- Bates, L. S., Waldern, R. P. and Teare, I. D. (1973) Rapid determination of free proline for water stress studies. Plant Soil 39: 205- 207.
- Bhandari, S., Fujino, T., Thammanagowda, S., Zhang, D., Xu, F. and Joshi, CP. (2006) Xylem-specific and tension stress-responsive coexpression of KORRIGAN endoglucanase and three secondary wall-associated cellulose synthase genes in aspen trees. Planta 224: 828-837.
- Bradford, M. (1976) A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. Analytical Biochemistry 72: 248-254.
- Brayant, J. P., Chapin, F. S. and Klein, D. R. (1983) Carbon nutrient balance of boreal plants in relation to vertebrate herbivory. Oikos 40: 357-368.
- Burguieres, EP., McCXue, Y., Kwon, I. and Shelty, K. (2006) Effect of vitamin c and folic acid on seed vigour response and phenoliclinked antioxidant activity. Bioresour Technol 95:1393-1404.
- Delphin, S., Alvino, A., Zacchini, M. and Loreto, F. (1998) Consequences of salt stress on conductance to CO<sub>2</sub> diffusion, Rubisco characteristics and anatomy of

## نتیجه‌گیری:

نتایج این مطالعه نشان داد که شوری منجر به کاهش رشد گیاه *Puccinellia distans* گردید، که بخشی از این کاهش رشد را می‌توان به سمیت یونی، کاهش میزان پتاسیم، نشت الکترولیت‌ها نسبت داد. از طرف دیگر کاهش آب نسبی با کاهش احتمالی فشار در یاخته‌ها و افزایش لیگنین با کاهش قدرت ارتجاعی دیواره آن‌ها ممکن است بزرگ شدن سلول‌ها و رشد گیاه را دچار اختلال نموده باشد.

## منابع:

- بخشی خانیکی، غ. (۱۳۸۳) هالوفیت‌ها. دانشگاه پیام نور، تهران.
- بندانی، م. و عبدالزاده، ا. (۱۳۸۶) اثر تغذیه سیلیکون در تحمل به شوری گیاه *Puccinellia distans*. مجله علوم کشاورزی و منابع طبیعی ۳: ۱-۱۲.
- حسینی، غ. (۱۳۷۳) بررسی اتکولوژی *Puccinellia distans* در رویشگاه‌های شور و قلیایی شمال منطقه گرگان. پایان نامه کارشناسی ارشد، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان، گرگان، ایران.
- مبین، صادق. (۱۳۵۴) رستنی‌های ایران (نهانزادان، بازدانگان، تک لپه‌ای‌ها). جلد اول، انتشارات دانشگاه تهران، تهران.
- میرمحمدی، م. و قره‌یاضی، ب. (۱۳۸۱) جنبه‌های فیزیولوژیک و بهنژادی تنش شوری گیاهان. انتشارات دانشگاه صنعتی اصفهان، اصفهان.
- Alshammery, S. F., Qian, Y. L. and Wallner, S. J. (2004) Growth response of four turfgrass species to salinity. Agricultural Water Managemet 66: 97- 111.
- Akhani, H. and Ghorbanli, M. (1993) A contribution to the halophytic vegetable and flora of Iran. In: H. Leith and A. A. Almasson (eds) towards the Rational use of High salinity tolerant. Kluwer

- Australian Journal of Experimental Agriculture 42: 631- 636.
- Kimura, S., Laosinchai, W., Itoh, T., Cui, X., Linder, CR. and Brown, RM. Jr. (1999) Immunogold labeling of rosette terminal cellulose-synthesizing complexes in the vascular plant *Vigna angularis*. Plant Cell 11: 2075–2086.
- Kokubo, A., Kuraishi, S. and Sakurai, N. (1989) Culm strength of barley. Plant Physiology 91:876-882.
- Kumar, S.G., Reddy, A.M. and Sudhakar, C. (2003) NaCl effects on proline metabolism in two high yielding genotypes of mulberry (*Morus alba* L) with contrasting salt tolerance. Science Direct 162: 1245-1251.
- Langlosi, E., Bonis, A. and Bouzille, J.B. (2003) Sediment and plant dynamics in saltmarshes pioneer zone: Puccinellia as a key species. Estuarine, Coastal and Shelf Science 56: 239-249.
- Lavid, N., Schwrtz, A., Yarden, O. and Tel-Or, E. (2001) The involvement of polyphenols and peroxidase activities in heavy-metal accumulation by epidermal glands of waterlily (Nymphaeaceae). Planta 212: 323- 331.
- Maggio, A., Miyazaki, S., Verones, P., Fujita, T., Ibeas, J. I., Damsz, B., Narasimhan, M. L., Hasegawa, P. M., Joly, R. J. and Bressan, R.A. (2002) Does proline accumulation play an active role in stress induced growth reduction? The Plant Journal 31: 699- 712.
- Mansour, M.M.F. (2000) Nitrogen containing compounds and adaptation of plants to salinity stress. Plant Biology 43: 491–500.
- McCready, R., guggolz, M. J., Silveira, V. and Owens, HS. (1950) Determination of starch. and amylase in vegetables. Analytical Chemistry 22: 1156- 1158.
- Mueller, SC. and Brown, RM. Jr. (1980) Evidence for an intramembrane component associated with a cellulose microfibril-synthesizing complex in higher plants. The Journal of Cell Biology 84: 315–326.
- Munns, R. (1993) Physiological processes limiting plant growth in saline soil some spinach leaves. Annual Review of Plant Physiology 25: 395-420.
- Fukoda, T., Ito, H. and Yoshida, T. (2003) Antioxidative polyphenols from Walnuts (*Juglans regia* L.). Phytochemistry 63: 795- 801.
- Garcia, A.B., Engler, J.A., Iyer, S., Gerats, T., Van Montagu, M. and Caplan, A.B. (1997) Effects of osmoprotectants upon NaCl stress in rice. Plant Physiol 115: 159–169.
- Goujon, T., Sibout, R., Eudes, A., MacKay, J. and Joulain, L. (2003) Genes involved in the biosynthesis of lignin precursors in *Arabidopsis thaliana*. Plant Physiology and Biochemistry 41:677–687.
- Harinasut, P., Srisunak, S., Pitukchaisopol, S. and Charoensataporn, R. (2000) Mechanisms of adaptation to increasing salinity of mulberry: Proline content and ascorbate peroxidase activity in leaves of multiple shoots. Science Asia 26: 207-11.
- Hasegawa, P. M., Bressan, R.A., Zhu, J.K. and Bohnert, H.J. (2000) Plant cellular and molecular responses to high salinity. Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology 51: 436-499.
- Hashemi, A., Abdolzadeh, A. and Sadeghipour, H. R. (2010) Beneficial effects of silicon nutrition in alleviation salinity stress in hydroponically grown canola, *Brassica napus* L., and plants. Soil Science and Plant Nutrition 56: 244-253.
- Hubbard, C. E. (1954) Grasses: a guide to their structure identification uses, and distribution in the British Isles. Harmondsworth: Penguin Books.
- Iraki, N. M., Bressan, R. A., Hasegawa, P. M. and Carpita, N. C. (1989) Alteration of the Physical and Chemical Structure of the Primary Cell Wall of Growth-Limited Plant Cells Adapted to Osmotic Stress. Plant Physiol 91: 39-47.
- Iyengar, E.R.R. and Reddy, M. P. (1996) Photosynthesis in highly salttolerant plants., Handbook of photosynthesis. Marshal Dekar, Baten Rose USA, 897-909.
- Kaya, C. B. E. AK., Higgs, D. and Murillo-Amador, B. (2002) Influence of foliar applied calcium nitrate on strawberry plants grown under salt stress conditions.

- Roland, F., Baena-Gonzalez, E. and Sheen, J. (2006) Sugar sensing and signaling in plants: conserved and novel mechanisms. *Annual Review of Plant Biology* 57: 675-709.
- Romero, J.M. and Maranon, T. (1996) Allocation of biomass and mineral elements in *Melilotus segetalis* (Annual Sweetclover): effects of NaCl salinity and plant age. *New Phytologist* 132: 565-573
- Sairam, R.K. and Tyagi, A. (2004) Physiology and molecular biology of salinity stress tolerance in plants. *Current Science* 86: 407-421.
- Tattini, M., Gucci, R., Romni, A., Baldi, A. and Everard, D. (1996) Changes in non structural carbohydrates in olive (*Olea europaea*) leaves during root zone salinity stress. *Physiologia Plantarum* 98: 117-124.
- Tester, M. and Devenport, R. (2003) Na<sup>+</sup> tolerance Na<sup>+</sup> transport in higher plants. *Annals of Botany* 503 – 527.
- Tsvelev, N. N. (1984) Grasses of the soviet union (Par2). Taylor & Francis, Inc.
- Updegraff, DM. (1969) Semimicro determination of cellulose in biological materials. *Analytical Biochemistry* 32: 420-424
- Wu, L., Joshi, C. P. and Chiang, VL. (2000) A xylem-specific cellulose synthase gene from aspen (*Populus tremuloides*) is responsive to mechanical stress. *The Plant Journal* 22: 495-502.
- Yemm, E. and Cocking, E. (1995) The determination of amino acids with ninhydrin. *Analyst* 80: 209-213.
- Zhifang, G. and Loescher, W. H. (2003) Expression of a celery mannose 6-phosphate reductase in *Arabidopsis thaliana* enhances salt tolerance and induces biosynthesis of both mannitol and a glucosyl-mannitol dimer. *Plant Cell and Environment* 26, 275-283.
- Zimmer, M. (1999) Combined methods for the determination of lignin and cellulose in leaf litter. *Sciences of Soils* 4: 20- 32.
- dogmas and hypothesis. *Plant Cell and Environment* 16: 15-24.
- Munns, R. and Tester, M. (2008) Mechanism of salinity tolerance. *Annual Review of Plant Biotechnology* 59: 651-681.
- Muscolo, A., Panuccio, M. R. and Sidari, M. (2003) Effects of salinity on growth, carbohydrate metabolism and nutritive properties of kikuyu grass (*pennisetum clandestinum* Hochst). *Plant Science* 164: 1103.
- Myrene, R., Souza, D. and Varadahally, R.D. (2009) Biochemical responses of Hyacinth bean (*Lablab purpureus*) to salinity stress. *Acta Physiologia Plantarum* 32:341-353.
- Nayer, M. and Reza, H. (2008) Drought induced accumulation of soluble sugars and proline in two maize varieties. *World Applied Science Journal* 3:448-453.
- Parida, A. B. and Das, P. (2002) NaCl stress causes changes in photosynthetic pigments, proteins and other metabolic components in the leaves of a true mangrove, *Bruguiera parviflora*, in hydroponic cultures. *Plant Biology* 45: 28-36.
- Parida, A.K. and Das, A.B. (2005) Salt tolerance and salinity effects on plants. *Ecotoxicology and Environmental Safety* 60:324-349.
- Qasim, M., Ashraf, M., Ashraf, M.Y., Rehman, S.U. and Rha, E.S. (2003) Salt-induced changes in two canola cultivars differing in salt tolerance. *Biologia Plantarum* 46(4): 629-632.
- Radin, J. W. and Ackerson, R. C. (1982) Water relations of cotton plants under nitrogen deficiency .II. Stomatal conductance, photosynthesis and abscisic acid
- Rahman, M. H., Krishnaraj, S. and T. A. (1995) Selection for salt tolerance in vitro using microspore-derived embryo of *Brassica napus* Cv. topas, and the characterization of putative tolerant plants. *In vitro cellular and Developmental Biology* 31: 110-121.

## Effects of salinity on growth, osmolite contents and cell wall components of *Puccinellia distans* (jacq.) parl.

Zahra Soleimannejad, Ahmad Abdolzadeh\* and Hamid Reza Sadeghipour<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Department of Biology, Faculty of Science, Golestan University, Gorgan, Iran

\*Corresponding Author: ah\_ab99@yahoo.com

### Abstract:

Salinity is one of the most important limiting factors in growth and production of plants. *Puccinellia distans* is a perennial, salt tolerant forage. The object of this study was evaluation of the salinity effects of NaCl on growth, osmolite contents and cell wall components of *Puccinellia distans*. The plants were grown in greenhouse in hydroponic culture with Hoagland nutrient solution. Salt treatments included two levels of 0 and 200 mM sodium chloride. Plants were harvested before achieving to the reproductive stage. The results showed that salinity reduced growth parameters such as fresh and dry weight of shoots, dry weight of roots, relative water content and leaf number. Salinity induced significant increase in concentration of Na<sup>+</sup> and drastic decrease in potassium concentration in shoots and roots. Also electrolyte leakage increased due to salinity in shoots. Salinity imposed significant increase in soluble sugars and phenols in the roots, but did not impose significant effect in shoots. Also, the total amount of amino acids, proline and cellulose increased due to salinity in both roots and shoots as well. Besides, lignin and soluble proteins increased in shoots under salinity. These results indicated that probably water deficit led to accumulation of osmolites for osmotic adjustment; however, it was not sufficient for maintaining relative water content. Consequently, water deficit accompanied with ions toxicity resulted in retardation of plant growth.

**Keywords:** Cell wall component, Osmolyte, *Puccinellia distans*, Salinity.