Archive of SID

# پاسخ گونه‌های سیب زمینی خودرو به تنش شوری در شرایط کشت درون شیشه

**فاطمه دانشمند*[۱و۲]، محمدجواد آروین[۳] و خسرو منوچهری کلانتری[۲]**

[۱] تهران، دانشگاه پیام نور، گروه علمی زیست شناسی

[۲] کرمان، دانشگاه شهید باهنر، دانشکده علوم، گروه زیست شناسی

[۳] کرمان، دانشگاه شهید باهنر، دانشکده کشاورزی، گروه علوم باغبانی

تاریخ دریافت: ۸۷/٦/۱٦ تاریخ پذیرش: ۸۸/۸/۱۱

## چکیده

تنش شوری یکی از عوامل محیطی محدود کننده رشد و نمو وتولید محصول در گیاهان می‌باشد. در این مطالعه آثار تنش شوری بر برخی پارامترهای مورفولوژیکی و فیزیولوژیکی در سه گونه وحشی سیب‌زمینی با مقاومتهای متفاوت به شوری، با نامهای *Solanum acaule* (متحمل)، *Solanum stoloniferum* (نیمه‌حساس) و *Solanum bulbosum* (حساس) در کشت درون شیشه‌ای مورد بررسی قرار گرفت. غلظتهای ۰، ۴۰، ۸۰ و ۱۲۰ میلی‌مولار کلریدسدیم به محیط کشت مایع موراشیگ و اسکوگ (MS) حاوی ۳ درصد ساکارز و فاقد هورمون اضافه گردید. جداکشت‌های ساقه حاوی گره و برگ در این محیط قرار داده شد و پس از ۵ هفته برخی تغییرات مورفولوژیکی و فیزیولوژیکی ایجاد شده مورد سنجش قرار گرفت. در گونه‌های *S. stoloniferum* و *S. bulbosum* تنش شوری باعث کاهش ارتفاع ساقه، مقادیر کلروفیل a، b، کلروفیل کل، کاروتنوئیدها و مخزن آسکوربات گردید درحالی‌که مقدار پرولین، مالون‌دآلدئید، سایر آلدئیدها و درصد نشت یونی افزایش نشان داد. در گونه *S. acaule* تنش شوری تأثیری بر ارتفاع ساقه، مقدار مالون‌دآلدئید، مخزن آسکوربات و درصد نشت یونی نداشت ولی باعث افزایش مقدار کلروفیلa ،b ،کلروفیل کل، کاروتنوئیدها و پرولین گردید و تنها در غلظت ۱۲۰میلی‌مولار مقدار سایر آلدئیدها نیز افزایش یافت. با توجه به نتایج به‌دست آمده به نظر می‌رسد پراکسیداسیون غشا و درصد نشت یونی پارامترهای مناسبی برای بررسی میزان مقاومت به شوری و غربال‌گری گونه‌های خودروی سیب‌زمینی باشند.

واژه‌های کلیدی: شوری، گونه‌های خودروی سیب‌زمینی، شرایط درون‌شیشه‌ای

* نویسنده مسئول، تلفن: ۰۳٤۱-۳۲۲۲۰۳۲ پست الکترونیکی: f.daneshmand@yahoo.com

## مقدمه

شوری یکی از عوامل محیطی است که حدود یک سوم زمینهای کشاورزی جهان را تحت تأثیر خود قرار داده است و در مناطق خشک و نیمه خشک به عنوان یک مشکل جدی مطرح است. در این مناطق کمبود آب و بارندگی محدود، گرمای زیاد، تبخیر و تعرق بالا، کیفیت پایین آبهای کشاورزی و یا روشهای غلط کشاورزی و مدیریت ضعیف در سیستمهای آبیاری این مشکل را جدی‌تر ساخته است. با کاهش منابع آب استفاده از آبهای شور یا آبهای با کیفیت پایین اجتناب ناپذیر خواهد بود (۹، ۳٤ و ۳٦).

شوری به عنوان یک عامل محیطی محدود کننده رشد و نمو و تولید محصول در گیاهان می‌باشد (۲۸ و ۳٤). آسیبهای وارد شده به گیاهان در معرض شوری شامل سمیت یونی، تنش اسمزی، عدم تعادلی یونی و دخالت در جذب عناصر ماکرو و میکرو و بر هم زدن فعالیت متابولیکی سلول می‌باشد (۱ و ۲۸). علاوه بر این، شوری



www.SID.ir

Archive of SID

موجب تنش اکسایشی به عنوان یک تنش ثانویه می‌گردد (۱، ۸ و ۲۰).

تنش اکسایشی به دنبال افزایش سریع گونه‌های اکسیژن فعال (ROS) نظیر رادیکال سوپراکسید، رادیکال هیدروکسیل، پراکسید هیدروژن و اکسیژن یکتایی رخ می‌دهد. گونه های اکسیژن فعال بسیار واکنش‌گر بوده و با گستره وسیعی از مولکولها واکنش داده و موجب اکسیداسیون همزمان رنگیزه‌ها، پراکسیداسیون لیپیدها، تخریب غشاهای زیستی، واسرشته شدن پروتئینها و جهش در DNA و به طور کلی برهم‌زدن متابولیسم طبیعی سلول می‌گردند (۱۰، ۲۸ و ٤۱).

مقدار ROS در سلول بستگی به سرعت تولید شدن آنها، سرعت واکنش آنها با مولکولهای هدف (نظیر پروتئینها، لیپیدها یا اسیدهای نوکلئیک)، سرعت تجزیه، جاروب شدن و یا خنثی شدن آنها توسط آنزیمها یا مولکولهای پاداکسایشی غیر آنزیمی دارد (٤۱).

گیاهان برای کاهش یا غلبه بر آسیبهای اکسایشی ایجاد شده توسط ROS، دارای سیستم دفاع پاداکسایشی می‌باشند که شامل: ۱- ترکیبات غیر قابل حل در آب مانند آلفاتوکوفرول و بتاکاروتن ۲- ترکیبات قابل حل در آب مانند آسکوربات و گلوتاتیون و ۳- آنزیمهایی مانند سوپراکسید دیسموتاز، کاتالاز، پراکسیداز، آسکوربات پراکسیداز و گلوتاتیون ردااکتاز می‌باشد (۱۰، ۳۱ و ۳۲).

گزارشهای بسیاری وجود دارد که نشان دهنده ارتباط بین ظرفیت پاداکسایشی سلول و مقاومت به شوری در گیاهان می‌باشد (٤۱). گزارش شده است که گیاهان با سطح بالای ترکیبات پاداکسایشی (القایی یا ساختاری) دارای مقاومت بالایی نسبت به آسیبهای اکسایشی هستند (۳۷). همچنین مطالعات متعدد نشان داده است که در گونه‌های مقاوم به نمک، فعالیت آنزیمهای پاداکسایشی و غلظت ترکیبات پاداکسایشی آنها در پاسخ به نمک افزایش می‌یابد درحالی‌که گونه‌های حساس قادر به چنین پاسخی نیستند و میزان آسیبهای اکسایشی و پراکسیداسیون لیپیدها در آنها بالاتر است (۸، ۹ و ۱۰).

گیاهان برای مقابله با تنش شوری نیاز به تطابق اسمزی نیز دارند. برای رسیدن به این منظور مولکولهائی قابل حل و سازگار در سلول سنتز می‌شوند که به عنوان اسمولیت و محافظ اسمزی عمل می‌نمایند. این مولکولها موجب پایین آوردن فشار اسمزی درون سلول شده و به جذب آب درون سلول کمک می نمایند، همچنین هموستاز یون را درون سلول حفظ نموده و ترکیبات داخل سلول را در هنگام تنش کم آبی محافظت می‌نمایند، به‌علاوه دارای خاصیت جاروب کنندگی رادیکالهای آزاد نیز می‌باشند (۲۸). پرولین یکی از این مواد است که تجمع آن یکی از معمول ترین پاسخها به تنش کم آبی وشوری می باشد. پرولین به عنوان یک ماده سازگار و یک محافظ اسمزی برای آنزیمهای سیتوسلی و اندامکهای سلول عمل می‌کند وبه عنوان یک منبع کربن و نیتروژن برای بهبود اثرات تنش و رشد بعدی، پایدارکننده غشاهای زیستی و ماکرومولکولها و همچنین جاروب کننده رادیکالهای آزاد و حتی به عنوان یک مولکول علامت دهنده مرتبط با تنش عمل می‌نماید (۵، ۱٦ و ۳۲).

سیب زمینی چهارمین منبع تامین کننده غذای مردم جهان بعد از گندم، برنج و ذرت است و در بسیاری از کشورها در مناطق خشک و نیمه خشک کشت می‌گردد و در این مناطق کمبود آب یا آبهای شور مهمترین عامل محدودکننده رشد و تولید محصول می‌باشد. اگر چه سیب‌زمینی در گروه گیاهان با حساسیت متوسط به شوری قرار می‌گیرد اما این مقاومت در بین ارقام و گونه های خودروی سیب زمینی متفاوت است. بنابراین مطالعه میزان مقاومت به نمک در این گونه‌ها برای به‌نژادگران، فیزیولوژیستها و مهندسان ژنتیک بسیار حائز اهمیت می‌باشد (۳٤). خویشاوندان خودروی محصولات کشاورزی نقش مهمی را در افزایش کارآیی محصولات کشاورزی ایفاء می‌کنند. از گونه‌های


www.SID.ir

Archive of SID

خودروی سیب‌زمینی برای دستیابی به ژنهای مقاومت به آفات و بیماریها استفاده شده است. با توجه به کاربرد بیش از ۲۰ گونه وحشی سیب‌زمینی در انتقال ژن به گونه زراعی، این گیاه یکی از بهترین موارد برای معرفی اهمیت گونه‌های وحشی در به‌نژادی گیاهان به‌شمار می‌رود. با توجه به متنوع بودن زیستگاههای گونه‌های خودروی سیب‌زمینی (نواحی ساحلی، بیابانی مرتفع، عرضهای جغرافیایی متفاوت و...) این گستره وسیع تحمل شرایط اقلیمی متفاوت و بررسی میزان مقاومت این گونه‌ها به تنشهای محیطی از جمله شوری و نحوه و مکانیسمهای پاسخ این گیاهان به تنشها می‌تواند بسیار کارآمد باشد (۱۳، ۱۷ و ۳۳).

در این مطالعه میزان مقاومت به شوری و پاسخ گونه‌های خودروی سیب‌زمینی به‌روش درون‌شیشه‌ای تحت تأثیر درجات مختلف شوری در محیط کشت مایع موراشیک و اسکوگ (MS) مورد بررسی قرار گرفت. کشتهای درون‌شیشه‌ای یک محیط یکنواخت و منظم را برای بررسی میزان مقاومت به شوری و مکانیسمهای مقاومت به شوری فراهم می‌کند. این گونه کشتها یک محیط جایگزین مؤثر برای جلوگیری از برهم‌کنشهای پیچیده محیط و خاک است که موجب بررسی دقیق‌تر پاسخهای بیوشیمیایی و فیزیولوژیکی گیاه به تنش شوری می‌گردد (۳، ٤ و ۳٦).

از آنجا که درک بهتر مکانیسمهای بیوشیمیایی و فیزیولوژیکی دخیل در مقاومت به شوری یک کلید برای توسعه راهکارهای انتخاب، غربالگری و به‌نژادی گیاهان مقاوم به شوری می‌باشد، در این بررسی برخی از شاخصهای مورفولوژیک و فیزیولوژیک شاخص مقاومت و تنش در گونه‌های خودروی سیب‌زمینی در شرایط درون شیشه ای مورد مقایسه و بررسی قرار گرفت.

## مواد و روشها

**کاشت گیاه و نحوه اعمال تیمار:** بذرهای گونه‌های خودروی سیب‌زمینی با مقاومتهای متفاوت به نمک با نامهای *Solanum acaule* (متحمل)، *Solanum stoloniferum* (نیمه‌حساس)و *Solanum bulbosum* (حساس) (٤)، از مرکز تحقیقات کشاورزی اسکاتلند تهیه گردید.

بذرها پس از قرار گرفتن در جیبرلین با غلظت ۲۰۰ میلی‌گرم در لیتر به مدت ۲٤ ساعت و ضدعفونی با وایتکس ۳۰ درصد به مدت ۲۰ دقیقه والکل ۷۰ درجه به مدت یک دقیقه و ۳ بار شستشو با آب مقطر استریل در کابین هوای تمیز درون ظرف پتری ضدعفونی شده حاوی ۰/۸ درصد آگار قرار گرفت و پتریها با سلفون ضدعفونی شده با الکل پوشانده و به اتاق کشت با دمای ۱ ± ۲۵ سانتی گراد و شدت نور $٤۰\mu M\ m^{-2}\ S^{-1}$ منتقل و در فتوپریود ۱٦ ساعت روشنایی و ۸ ساعت تاریکی قرار گرفتند (٤). بعد از گذشت حدود ۲ هفته از جوانه زنی بذرها، دانه‌رستها در شرایط استریل از پتری به لوله‌ی آزمایش درپیچ‌دار اتوکلاو شده حاوی محیط کشت موراشیگ و اسکوگ (MS) (بدون هورمون)، ۳ درصد ساکارز و ۰/۷ درصد آگار (pH ۵/۷)، انتقال یافتند (۲۹). لوله‌های آزمایش حاوی گیاه در اتاق کشت با شرایط ذکر شده در بالا قرار گرفتند. بعد از رشد دانه‌رستها و رسیدن به ارتفاع حدود ۱۰ سانتیمتر این گیاهان در شرایط استریل در کابین هوای تمیز به قطعات حدود ۲ تا ۳ سانتیمتر تقسیم شده، به‌طوری‌که هر قطعه حاوی یک گره و یک برگ و یک جوانه جانبی بود. این قطعات به ظرفهای اتوکلاو شده از جنس پلی پروپیلن(Sigma)(به ارتفاع ۷۸ میلی متر، قطر کف ظرف ۸٦ میلی متر و قطر لبه ظرف ۱۱٦ میلی متر) حاوی محیط کشت مایع MS (بدون هورمون)، ۳ درصد ساکارز و بدون آگار با pH ۵/۷ منتقل شدند و در اتاق کشت با شرایط ذکر شده قرار گرفتند و بعد از گذشت یک‌ماه، از این گیاهان برای اعمال تیمار استفاده گردید.


www.SID.ir

Archive of SID

برای اعمال تیمار شوری از نمک کلریدسدیم استفاده گردید و غلظتهای ۰، ٤۰، ۸۰ و ۱۲۰ میلی مولار آن به محیط کشت مایع MS حاوی ۳درصد ساکارز (pH ۵/۷) اضافه و ۳۵ میلی لیتر از محیط کشت در هر ظرف پلی‌پروپیلن ریخته شد و اتوکلاو گردید. سپس گیاهان رشدیافته فوق (به صورت جداکشتهایی ۳-۲ سانتیمتری) در محیطهای دارای نمک یا بدون نمک به مدت ۵ هفته تیمار داده شدند و سپس پارامترهای ذیل اندازه گیری گردید(برای هر تیمار ۳ تکرار در نظر گرفته شد.).

**پارامتر رشد:** طول ساقه گیاهان شاهد و تیماراندازه‌گیری گردید.

**رنگیزه‌های فتوسنتزی:** اندازه گیری مقدار رنگیزه‌های فتوسنتزی شامل کلروفیلa, b, کلروفیل کل و کاروتنوئیدها با استفاده از روش Lichtenthaler (۱۹۸۷) انجام پذیرفت(۲۲). ۰/۲ گرم از برگهای فریز شده انتهای گیاه با ۱۵ میلی‌لیتر استن ۸۰ درصد ساییده شده و پس از صاف کردن جذب آنها با دستگاه اسپکتروفتومتر uv-visible مدل Cary50 ساخت آلمان در طول موجهای ٦٤٦/۸، ٦٦۳/۲۰ و ٤۷۰ نانومتر خوانده شد و غلظت رنگیزه‌ها بر حسب میلی‌گرم بر گرم وزن‌تر محاسبه گردید(۲۲).

$chla = 12.25\ A_{663.2} - 2.79\ A_{646.8}$ (کلروفیلa)

$chlb = 21.21\ A_{646.8} - 5.1\ A_{663.2}$ (کلروفیلb)

$chlT = chla + chlb$ (کلروفیل کل)

$car = (1000A_{470} - 1.8\ chla - 85.02\ chlb)/198$ (کاروتنوئید)

**پراکسیداسیون چربیها:** برای سنجش مقدار پراکسیداسیون چربیهای غشاء، غلظت مالون‌دآلدئید و سایر آلدئیدهای حاصل از این واکنش اندازه گیری گردید. اندازه گیری مالون دآلدئید (MDA) به روش Packer (۱۹٦۹) و Heath انجام شد(۱٤). طبق این روش ۰/۲ گرم از بافت فریزشده گیاه(ساقه و برگ) با ۵ میلی لیتر تری کلرواستیک اسید (TCA) ۰/۱ درصد ساییده شد. عصاره حاصل با استفاده از سانتریفوژ به مدت ۵ دقیقه در ۱۰۰۰۰g سانتریفوژ شد. به یک میلی لیتر از محلول رویی حاصل از سانتریفوژ، ٤ میلی لیتر محلول تری کلرواستیک اسید ۲۰ درصد که حاوی ۰/۵ درصد تیوباربیتوریک اسید (TBA) بود، اضافه شد. مخلوط حاصل به مدت ۳۰ دقیقه در دمای ۹۵ درجه سانتی گراد در حمام آب گرم حرارت داده شده سپس بلافاصله در یخ سرد شد و دوباره مخلوط به مدت ۱۰ دقیقه در g ۱۰۰۰ سانتریفوژ گردید. شدت جذب این محلول با استفاده از اسپکتروفتومتر در طول موج ۵۳۲ نانومتر خوانده شد. ماده مورد نظر برای جذب در این طول موج، کمپلکس قرمز MDA-TBA است. جذب بقیه رنگیزه‌های غیراختصاصی در ٦۰۰ نانومتر تعیین و از این مقدار کسر گردید. برای محاسبه غلظت MDA از ضریب خاموشی معادل $155\ mM^{-1}cm^{-1}$ و فرمول $A=\varepsilon bc$ استفاده شد. در این فرمول Aمقدار جذب خوانده شده توسط دستگاه اسپکتروفتومتر، ε ضریب خاموشی، b عرض کووت معادل ۱ سانتیمتر و c غلظت ماده مورد نظر درمحلول می باشد. نتایج حاصل از اندازه‌گیری بر حسب نانومول بر گرم وزن‌تر محاسبه گردید(۱٤).

اندازه گیری سایر آلدئیدها با روش(۱۹۹۲) Meirs و همکاران انجام شد (۲۵). ۰/۲ گرم از بافت فریز شده گیاه(برگ و ساقه) در ۵ میلی‌لیتر تری‌کلرواستیک اسید ۰/۱ درصد ساییده شد. عصاره حاصل ۵ دقیقه در ۱۰۰۰۰g سانتریفیوژ گردید و به یک میلی‌لیتر از محلول روی، ٤ میلی لیتر محلول تری کلرواستیک اسید ۲۰ درصد که حاوی ۰/۵ درصد تیوباربیتوریک اسید بود اضافه شد. مخلوط حاصل به مدت ۳۰ دقیقه در حمام آب گرم با دمای ۹۵ درجه سانتی گراد قرار داده شد سپس بلافاصله در یخ سرد گردید. دوباره مخلوط سرد شده به مدت ۱۰ دقیقه در ۱۰۰۰۰g سانتریفوژ گردید و شدت جذب آن در طول موج ٤۵۵ نانومتر خوانده شد. جذب سایر رنگیزه‌های غیر اختصاصی در ٦۰۰ نانومتر خوانده شد و از این مقدار


www.SID.ir

Archive of SID

کسر گردید. برای محاسبه غلظت این آلدئیدها از ضریب خاموشی معادل $۱۰^{۵} \times ۰/٤٥٨$ $mM^{-1}cm^{-1}$ و فرمول $A=\varepsilon bc$ (ذکر شده در بالا)استفاده شد. نتایج بر حسب نانومول بر گرم وزن تر محاسبه گردید (۲۵).

**پرولین** : برای اندازه گیری پرولین از روش Bates (۱۹۷۳) استفاده شد (۷). ۰/۰۲ گرم از بافت فریز شده گیاه(ساقه و برگ) در ۱۰ میلی‌لیتر محلول ۳ درصد سولفوسالیسیلیک اسید ساییده و عصاره حاصل به مدت ۵ دقیقه در ۱۰۰۰۰g سانتریفوژ شد. سپس دو میلی‌لیتر از مایع رویی را با ۲ میلی‌لیتر معرف نین هیدرین و ۲ میلی‌لیتر استیک اسید خالص مخلوط کرده و یک ساعت در دمای ۱۰۰ درجه سانتی‌گراد در حمام آب گرم قرار گرفت. سپس بلافاصله لوله‌های محتوی مخلوط در حمام یخ سرد گردید. بعد ٤ میلی‌لیتر تولوئن به مخلوط اضافه گردید و لوله ها به خوبی تکان داده شد. با ثابت نگه داشتن لوله ها به مدت ۱۵ تا ۲۰ ثانیه دو لایه مجزا تشکیل شد. میزان جذب لایه رنگی فوقانی که حاوی تولوئن و پرولین بود در ۵۲۰ نانومتر تعیین شد و برای محاسبه مقدار پرولین از منحنی استاندارد پرولین استفاده گردید و نتایج برحسب میلی‌گرم بر گرم وزن تر محاسبه گردید(۷).

**آسکوربات و دهیدروآسکوربات:** برای سنجش مقدار آسکوربات و دهیدروآسکوربات از روش Mc de Pinto (۱۹۹۹) و همکاران استفاده شد (۲٤). ۰/۵ گرم بافت فریز شده گیاه (ساقه و برگ) در ۱۰ میلی‌لیتر متافسفریک اسید ۵ درصد ساییده شد و به مدت ۱۵ دقیقه در ۱۰۰۰۰g سانتریفوژ گردید.

برای اندازه‌گیری آسکوربات ۳۰۰ میکرولیتر از عصاره سانتریفوژ شده درون لوله‌ی آزمایش ریخته شد و محلولهای زیر به‌ترتیب به آن اضافه شد. ابتدا ۷۵۰ میکرولیتر بافر فسفات پتاسیم ۱۰۰ میلی‌مولار و سپس ۳۰۰ میکرولیتر آب مقطر اضافه گردید و مخلوط حاصل ورتکس گردید و به مدت ۱۰ دقیقه در دمای اتاق قرار داده شد. سپس به ترتیب ٦۰۰ میکرولیتر تری کلرواستیک اسید ۱۰ درصد، ٦۰۰ میکرولیتر ارتوفسفریک اسید ٤٤ درصد و ٦۰۰ میکرولیتر آلفا آلفادی پیریدیل ٤ درصد و ۱۰ میکرولیتر $FeCl_3$ (٤۷۵ میلی‌گرم در۰/۵ میلی‌لیتر آب) اضافه و مخلوط حاصل بلافاصله ورتکس گردید و به مدت ۲۰ دقیقه در حمام آب گرم با دمای ٤۰ درجه سانتی گراد قرار گرفت. سپس لوله آزمایش از حمام خارج و مجدداً ورتکس شد و برای بار دوم به مدت ۲۰ دقیقه در حمام آب گرم با دمای ٤۰ درجه ی سانتی گراد قرار گرفت. سپس شدت جذب در طول موج ۵۲۵ نانومتر خوانده شد. برای محاسبه مقدار آسکوربات از منحنی استاندارد آسکوربات استفاده شد و نتایج بر حسب میلی‌گرم بر گرم وزن‌تر گزارش شد (۲٤).

برای اندازه‌گیری دهیدروآسکوربات ۳۰۰ میکرولیتر از عصاره سانتریفوژ شده در لوله‌ی آزمایش ریخته شده و محلولهای زیر به‌ترتیب به آن اضافه شد. ابتدا ۷۵۰ میکرولیتر بافر فسفات پتاسیم ۱۰۰ میلی مولار سپس ۱۵۰ میکرولیتر دی تیو ترایتول ۱۰ میلی مولار و مخلوط حاصل ۱۰ دقیقه در درجه حرارت اتاق قرار داده شد. سپس ۱۵۰ میکرولیتر N- اتیل مالامید ۰/۵ درصد اضافه و مخلوط حاصل ورتکس و مدت ۱۰ دقیقه در درجه حرارت اتاق قرار گرفت. بعد ٦۰۰ میکرولیتر تری کلرواستیک اسید ۱۰ درصد، ٦۰۰ میکرولیتر ارتوفسفریک اسید ٤٤ درصد، ٦۰۰ میکرولیتر آلفا آلفادی پیریدیل ٤ درصد و ۱۰ میکرولیتر $FeCl_3$ (٤۷۵ میلیگرم در ۰/۵ میلی لیتر آب) اضافه گردید. مخلوط حاصل با ورتکس به‌هم زده شده و به مدت ۲۰ دقیقه در حمام آب گرم با دمای ٤۰ درجه سانتی گراد قرار گرفت سپس مجدداً ورتکس شد و برای بار دوم به مدت ۲۰ دقیقه در حمام آب گرم با دمای ٤۰ درجه سانتی گراد قرار گرفت و شدت جذب در ۵۲۵ نانومتر خوانده شد. برای محاسبه مقدار دهیدروآسکوربات با استفاده از آسکوربات منحنی استاندارد دهیدروآسکوربات رسم


www.SID.ir

Archive of SID

گردید و نتایج بر حسب میلی‌گرم بر گرم وزن تـر محاسـبه شد (۲٤).

جدول۱- آثار تنش شوری بر پارامترهای رشد و فیزیولوژیکی گیاه *S. stoloniferum* (داده ها نشان دهنده انحراف معیار ±میانگین (سه تکرار) می باشد. حروف غیرمشابه در یک ردیف بیانگر معنی دار بودن داده ها بر اساس آزمون دانکن و ۰/۰۵≥p۰می باشد.)

| | ۰ mM NaCl | ٤۰ mM NaCl | ۸۰ mM NaCl | ۱۲۰ mM NaCl |
|---|---|---|---|---|
| ارتفاع ساقه (سانتی متر) | ۱۹/٦٦ ± ۰/۳۳ a | ۱٤/۱٦ ± ۱/۱٦ b | ۱۳ ± ۱/۵۲ b | ۷/۳ ± ۲/۳۳ c |
| کلروفیل a * (mg/g.FW) | ٥٤/۷۲ ± ۰/۱٤ a | ۱۲/۰۷ ± ۰/۸۱ b | ۱۰/۵۸ ± ۰/٤٤ b | ۸/۵۷ ± ۰/۵٦c |
| کلروفیل b (mg/g.FW) | ۳۲/۱۸ ± ۲/۵۳ a | ۵/۷٦ ± ۰/۳٤ b | ٤/۳۲ ± ۰/۱٤ b | ۳/٤۲ ± ۰/۲٦b |
| کلروفیل کل (mg/g.FW) | ۸٦/۹۰ ± ۲/۳۹ a | ۱۷/۸٤ ± ۱/۱٤ b | ۱٤/۹۱ ± ۰/۵۱ bc | ۱۲ ± ۰/۸۲ c |
| کاروتنوئید (mg/g.FW) | ۲۱/۰۲ ± ۰/٤۵ a | ۷/٦٤ ± ۱/۳۸ b | ٤/۷۲ ± ۰/۱۵۹ c | ۳/۷۷ ± ۰/۲۹ c |
| پرولین (mg/g.FW) | ۰/۰۱۸ ± ۰/۰۰۲ c | ۰/۱۲۳ ± ۰/۰۰۱ b | ۰/۱۸ ± ۰/۰۲۸ a | ۰/۱۱۵ ± ۰/۰۱ b |
| مالون دآلدئید (nmol/g.FW) | ۷ ± ۰/۵۷c | ۹/۳ ± ۰/۳۳ bc | ۱٤/۹٤ ± ۰/۲۸ a | ۱۳/٦۵ ± ۳/۰۱ab |
| سایر آلدئیدها(nmol/g.FW) | ۰/۰۲۵ ± ۰/۰۰۲ c | ۰/۰۳۵ ± ۰/۰۰۲ bc | ۰/۰۵۵ ± ۰/۰۰۸ b | ۰/۱۷۹ ± ۰/۰۱٤ a |
| آسکوربات (mg/g.FW) | ۰/٦٤ ± ۰/۰٤۹ a | ۰/۳٦ ± ۰/۰۳٦ b | ۰/۲٤۷ ± ۰/۰۱۷ b | ۰/۲۵ ± ۰/۰۳ b |
| دهیدروآسکوربات (mg/g.FW) | ۰/٦۹ ± ۰/۰٤٤ a | ۰/۳۹ ± ۰/۰۲۹ b | ۰/۲۱ ± ۰/۰۱۳ c | ۰/۲۱ ± ۰/۰۳۲ c |
| آسکوربات کل(mg/g.FW) | ۱/۳۳ ± ۰/۰۹٤ a | ۰/۷۵ ± ۰/۰٦٦ b | ۰/٤٦ ± ۰/۰۳ c | ۰/٤٦ ± ۰/۰٦۱ c |
| نشت یونی (٪) | ۳/٤۱ ± ۰/٦۵d | ۸ ± ۰/۵۷۷c | ۱۷ ± ۱/۲۵ b | ۳۵ ± ۰/۱۵٤a |

*FW: وزن تازه برگ و ساقه

**نشت یونی** : برای سنجش میـزان آسـیب بـه غشـاء میـزان نشـت یـونی از روش Ben Hamed (۲۰۰۷) و همکـاران استفاده شد (۸). ۰/۲ گرم از بافت سالم و تازه اندام هـوایی گیاه را بعد از شستشو با آب مقطر برای شستشوی یونهـای احتمالی از سطح گیاه درون لولـه آزمـایش درپـیچ‌دار قـرار داده و ۱۰ میلی‌لیتر آب یون‌گیری شده به‌آن اضـافه گردیـد. سپس لوله‌های آزمایش به مدت ۲ساعت در حمام آب گرم با دمای ۳۲ درجه سـانتی‌گـراد قـرار داده و میـزان هـدایت الکتریکـی نمونـه هـا($Ec_1$) بـا اسـتفاده از Ec متـر مـدل Metrhom ساخت کشور سوئیس اندازه‌گیـری شـد .سـپس لوله‌های آزمایش در دمای ۱۲۱ درجه سانتی‌گراد بـه مـدت ۲۰ دقیقه اتوکلاو و بعد از خنک شدن لوله‌ها تـا ۲۵ درجـه سانتی‌گراد، میزان هدایت الکتریکی نمونـه‌هـا($Ec_2$) مجـدداً اندازه گیری و با فرمول زیر درصـد نشـت یـونی محاسـبه گردید (۸).

$$\text{درصد نشت یونی} = \frac{Ec_1}{Ec_2} \times 100$$

**تجزیه و تحلیل آماری:** تجزیـه و تحلیلهـای آمـاری طبـق طرح کامل تصادفی با سه تکرار صورت گرفته و داده‌ها بـا استفاده از نرم افزار SPSS تحت آنالیز واریانس یک طرفـه قرار گرفته و اختلاف میانگینها بـا اسـتفاده از آزمـون چنـد دامنه ای دانکن در سطح اطمینان ۹۵ درصد مقایسه شدند.

## نتایج

**گونه *S. stoloniferum*** : شوری باعث کاهش معنی‌دار طول ساقه (شکل۱، جـدول۱)، کلروفیـلa، b و کـل و همچنـین مقـدار کاروتنوئیـد در کلیـه غلظتهـای نمـک گردیـد و بـا افـزایش غلظـت نمـک شـدت کـاهش نیـز افـزایش یافت(جدول۱). در مقایسـه بـا تیمـار شـاهد، غلظـت ۱۲۰ میلی‌مولار نمک باعـث کـاهش طـول سـاقه بـه میـزان ٦۳ درصد، کلروفیل a به میزان ۸٤درصد، کلروفیل b به میزان ۸۹ درصد، کلروفیل کل به میزان ۸٦ درصـد و کاروتنوئیـد


www.SID.ir

Archive of SID

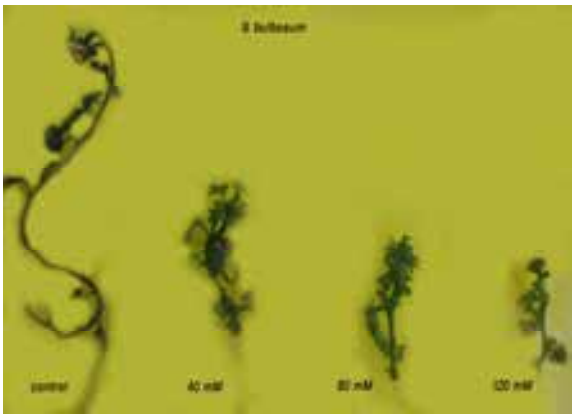
به میزان ۸٦ درصد گردید. تنش شوری باعث افزایش مقدار پرولین و مالوندآلدئید گردید و بیشترین اثر مربوط به تیمار ۸۰ میلی‌مول بود که در مقایسه با شاهد مقدار پرولین را ۱۰ برابر و مقدار مالوندآلدئید را ۲ برابر افزایش داد. تنش شوری همچنین باعث افزایش سایر آلدئیدها گردید و بیشترین اثر مربوط غلظت ۱۲۰میلی‌مولار نمک بود که در مقایسه با شاهد مقدار آن را به بیش از ۷ برابر افزایش داد. تنش شوری موجب کاهش مقدار آسکوربات، دهیدروآسکوربات، آسکوربات کل و افزایش درصد نشت یونی گردید و با افزایش غلظت نمک، میزان نشت یونی به ۱۰برابر افزایش یافت (جدول۱).

جدول۲- آثار تنش شوری بر پارامترهای رشد و فیزیولوژیکی گیاه *S. bulbosum*( داده ها نشان دهنده انحراف معیار ±میانگین (سه تکرار) ) می باشد. حروف غیرمشابه در یک ردیف بیانگر معنی دار بودن داده ها بر اساس آزمون دانکن و $p\leq$۰/۰۵می باشد.)

| | ۰ mM NaCl | ٤۰ mM NaCl | ۸۰ mM NaCl | ۱۲۰ mM NaCl |
|---|---|---|---|---|
| ارتفاع ساقه (سانتی متر) | ۲۱/٦٦ ± ۱/۳۳ a | ۸/۳۳ ± ۰/٦٦ b | ۵/۳۳ ± ۰/۳۳ c | ۵ ± ۰c |
| کلروفیل a (mg/g.FW) * | ۵۸/۷۰ ± ۱/۷۲ a | ۹/۸۸ ± ۲/٦۹ b | ٤/۲۷ ± ۰/۳ B | ۵/۱۲ ± ۲/۲۱ b |
| کلروفیل b (mg/g.FW) | ۲۰/۸۱ ± ۰/۸٤ a | ۳/۳۷ ± ۱/۱٦ b | ۰/۸۷ ± ۰/۱۱ b | ۱/٤٤ ± ۰/۷۹ b |
| کلروفیل کل (mg/g.FW) | ۷۹/۵۱ ± ۲/۳۱ a | ۱۳/۲۵ ± ۳/۸۵ b | ۵/۱۵ ± ۰/٤۱ b | ٦/۵۷ ± ۳/۰۰۵ b |
| کاروتنوئید (mg/g.FW) | ۱۹/٦۳ ± ۰/٦۲ a | ٤/۳٤ ± ۱/۱۹ b | ۱/۷۹ ± ۰/۱۵ b | ۲/۰۵ ± ۰/۸۸ b |
| پرولین (mg/g.FW) | ۰/۰٦۱ ± ۰/۰۰۳ c | ۰/۱۳۹ ± ۰/۰۲۷ b | ۰/۱۱٤ ± ۰/۰۰۸ b | ۰/۲ ± ۰/۰۱۲a |
| مالون دآلدئید (nmol/g.FW) | ۸/۳۳ ± ۰/۳۳ c | ۱۰/۹٦ ± ۰/۷٤ bc | ۱۲/۵۸ ± ۱/٤۷ ab | ۱۵/۲٦ ± ۱/۰۲ a |
| سایر آلدئیدها(nmol/g.FW) | ۰/۰۹۲ ± ۰/۱٦ c | ۰/۱٦ ± ۰/۰۰۹ b | ۰/۲۵ ± ۰/۰۱۸ a | ۰/۲٦ ± ۰/۰۱۱ a |
| آسکوربات (mg/g.FW) | ۰/۳۸ ± ۰/۰۱۸ a | ۰/۳ ± ۰/۰۲۷ b | ۰/۲۷ ± ۰/۰۰۷ b | ۰/۲۵ ± ۰/۰۲ b |
| دهیدروآسکوربات (mg/g.FW) | ۰/۳۵ ± ۰/۰۱ a | ۰/۲۵ ± ۰/۰۲۲ b | ۰/۲٤۵ ± ۰/۰۳ b | ۰/۲ ± ۰/۰٤٦ b |
| آسکوربات کل(mg/g.FW) | ۰/۷۳ ± ۰/۰۲۸ a | ۰/۵۵ ± ۰/۰۳۷ b | ۰/۵۱ ± ۰/۰۳۷ b | ۰/٤۵ ± ۰/۰٦٦ b |
| نشت یونی (٪) | ٤/۷ ± ۰/۱٤ c | ۳۰/۱ ± ۱/۱٦ b | ٦۰ ± ۲/۸۸ a | ٦٤ ± ۲/۳۳ a |

* FW: وزن تازه برگ و ساقه

شکل ۱- تأثیر غلظت‌های مختلف NaCl بر میزان رشد در گیاه *S. stoloniferum*




شکل ۲- تأثیر غلظت‌های مختلف NaCl بر میزان رشد در گیاه *S. bulbosum*


www.SID.ir

Archive of SID

**گونه *S. bulbosum*** : تنش شوری در این گونه باعث کاهش معنی‌دار طول ساقه (شکل۲، جدول۲)، کلروفیلها، کاروتنوئید، آسکوربات، دهیدروآسکوربات و آسکوربات کل و افزایش معنی دار مقدار پرولین، مالون‌دآلدئید و سایر آلدئیدها و درصد نشت یونی گردید. در مقایسه با تیمار شاهد، غلظت ۱۲۰میلی‌مولار نمک باعث کاهش طول ساقه به میزان ۷٦ درصد، کلروفیل a به میزان ۹۱ درصد، کلروفیل b به میزان ۹۳ درصد، کلروفیل کل به میزان ۹۲ درصد و کاروتنوئید به میزان ۹۰ درصد و افزایش ۳ برابر در مقدار پرولین ،۲برابر در میزان مالون‌دآلدئید، ۳برابر در مقدار سایر آلدئیدها و ۱٤برابر در مقدار نشت یونی گردید(جدول۲).

جدول۳- آثار تنش شوری بر پارامترهای رشد و فیزیولوژیکی گیاه *S. acaule* (داده ها نشان دهنده انحراف معیار ± میانگین (سه تکرار) می باشد. حروف غیرمشابه در یک ردیف بیانگر معنی دار بودن داده ها بر اساس آزمون دانکن و ۰/۰۵ ≥p۰می باشد.)

| | ۰ mM NaCl | ٤۰ mM NaCl | ۸۰ mM NaCl | ۱۲۰ mM NaCl |
|---|---|---|---|---|
| ارتفاع ساقه (سانتی متر) | ۱۵/٦۷ ± ۱/۲ a | ۱٤/۸۳ ± ۱/۳٦ a | ۱۵/۳۳ ± ۰/۳۳a | ۱٤ ± ۱a |
| کلروفیل a (mg/g.FW)* | ۲٦/٦۷ ± ۲/٦۵ c | ۵۳/۵۳ ± ۳/٦۲ a | ۳۸/۵۹ ± ۲/۵۷ b | ٤۱/۵۳ ± ۲/۸۸ b |
| کلروفیل b (mg/g.FW) | ۱۱/۳٤ ± ۱/۱۵c | ۲۳/۲۳ ± ۱/٤۸ a | ۱٦/۷٤ ± ۰/۹۵ b | ۱٦/٦۱ ± ۱/۰۷ b |
| کلروفیل کل (mg/g.FW) | ۳۸/۰۳ ± ۳/۷۹ c | ۷٦/۷۷ ± ۵/۰۹ a | ۵۵.۳٤ ± ۳/۵۳ b | ۵۸/۱۵ ± ۳/۹۵b |
| کاروتنوئید (mg/g.FW) | ۹/٤۷ ± ۰/۸۱ c | ۱۸/٦۳ ± ۱/٤ a | ۱۵/۱٦ ± ۰/۵۹ b | ۱٤/۸۹ ± ۰/٦٤ b |
| پرولین (mg/g.FW) | ۰/۰۳۷ ± ۰/۰۱٤ b | ۰/۱۱۸ ± ۰/۰۲٤ b | ۰/۲٦۳ ± ۰/۰٦۹ a | ۰/۳۸۹ ± ۰/۰۳ a |
| مالون دآلدئید (nmol/g.FW) | ٤/۹٤ ± ۰/۷۷a | ٦/۲۳ ± ۲/۳۵a | ٤/۷۳ ± ۰/۵٦a | ۵/۳۷ ± ۰/٤٦a |
| سایر آلدئیدها(nmol/g.FW) | ۰/۰٦٦ ± ۰/۰۰۵ b | ۰/۱۲٤ ± ۰/۰۲۵ ab | ۰/۱۲۷ ± ۰/۰۱۷ ab | ۰/۱۳۳ ± ۰/۰۱۸ a |
| آسکوربات (mg/g.FW) | ۰/۱٦۹ ± ۰/۰۱۸ a | ۰/۱۷۹ ± ۰/۰۰٤ a | ۰/۱٦۱ ± ۰/۰۲ a | ۰/۱۷۳ ± ۰/۰۲ a |
| دهیدروآسکوربات (mg/g.FW) | ۰/۱۵۲ ± ۰/۰۰٤٤ b | ۰/۲۲۹ ± ۰/۰٤۷ a | ۰/۱۵۳ ± ۰/۰۱۳ ab | ۰/۱۳٦ ± ۰/۰۰۳ ab |
| آسکوربات کل(mg/g.FW) | ۰/۳۲ ± ۰/۰۱٤ a | ۰/٤۰ ± ۰/۰٤۳ a | ۰/۳۱۵ ± ۰/۰۳۲ a | ۰/۳۰ ± ۰/۰۱۸۷ a |
| نشت یونی (٪) | ۵/۳۳±۰/۷۲٦a | ٦/۹±۰/۹٤۵ a | ٦/۵±۰/۸٦٦a | ٦/۹± /٦٦۵ a |

*FW: وزن تازه برگ و ساقه

**گونه *S. acaule*** : تنش شوری تأثیر منفی بر طول ساقه نداشت (جدول ۳ ، شکل ۳) ولی باعث افزایش مقدار کلروفیل a، کلروفیل b و کلروفیل کل گردید. مقدار کاروتنوئیدها نیز نتایج مشابه با کلروفیل داشتند. مقدار پرولین در شوری ۸۰ و ۱۲۰ میلی مولار NaCl افزایش معنی‌داری نسبت به تیمار شاهد و شوری ٤۰ میلی‌مولار NaCl داشت. تنش شوری تأثیری بر مقدار مالون دآلدئید نداشت ولی شوری ۱۲۰ میلی‌مولار نمک باعث افزایش معنی‌دار مقدار سایر آلدئیدها گردید. شوری تأثیری بر مقدار آسکوربات، آسکوربات کل و نشت یونی نداشت ولی غلظت ٤۰ میلی‌مول شوری باعث افزایش معنی‌دار دهیدروآسکوربات گردید(جدول۳).

شکل۳- تأثیر غلظت‌های مختلف NaCl بر میزان رشد در گیاه *S. acaule*


www.SID.ir

Archive of SID

## بحث

تنش شوری باعث کاهش طول ساقه در دو گونه *S. stoloniferum* و *S. bulbosum* گردید. کاهش رشد طولی گیاه تحت تأثیر تنش شوری در گونه‌های مختلف گزارش شده‌است. شوری باعث کاهش طول و وزن ساقه و تعداد برگهای گیاه گوجه فرنگی (۲۷) و همچنین کاهش رشد ساقه در گیاه پنبه (۲٦)گردیده است. کاهش ارتفاع ساقه در تنش شوری در گیاه گوجه فرنگی در محیط درون شیشه ای (۳٦)، عدس (٦) و *Cassia angustiflora* (۲) نیز گزارش شده است.

کاهش میزان رشد گیاه تحت تنش شوری می تواند به دلائلی چون مهار تقسیم و گسترش سلولی و یا حتی مرگ سلولی، کاهش سطح برگ و بنابراین کاهش سطح دریافت نور، تحت تأثیر قرار گرفتن دستگاه فتوسنتزی گیاه، تغییر در هدایت روزنه ای، تغییر در مقدار رنگیزه های فتوسنتزی، کمبود آب و یا سمیت نمک همراه با جذب زیادی یونهایی مثل سدیم و کلر، عدم تعادل مواد معدنی و اختلال در جذب و انتقال یونهایی مثل پتاسیم و کلسیم، دخالت در فرآیندهای طبیعی سلول به خصوص فرآیندهای دخیل در تولید انرژی مثل فتوسنتز و تنفس باشد (۳۰، ۳۱ و ۳٦).

کاهش مقدار رنگیزه‌های فتوسنتزی نیز یکی از اثرات تنش شوری بر گیاهان می‌باشد (۳۱). در این بررسی تنش شوری موجب کاهش مقدار کلروفیل b,a، کلروفیل کل و کاروتنوئیدها در گونه‌های *S. bulbosum* و *S. stoloniferum* شد که این نتایج با نتایج به‌دست آمده از بررسیهای مشابه دیگر روی رقمهای مختلف گوجه فرنگی (۱٦، ۱۹)، سویا (۱) و *Kochia prostrata* (۱۸) مطابقت دارد. همچنین گزارشاتی وجود دارد که نشان می‌دهند تنش شوری موجب کاهش نسبت کلروفیل a/b در سه گیاه آبزی (ماکروفیت آبزی)(۳۵) و کاهش کلروفیل کل در گیاه سیب در شرایط درون شیشه‌ای شده‌است (۲۸). کاهش مقدار کلروفیل در گیاهان تحت تنش شوری ممکن است به‌علت افزایش فعالیت آنزیم تجزیه کننده کلروفیل یعنی کلروفیلاز باشد (۳۸). مقدار تجمع یونها در برگ نیز تأثیر منفی بر غلظت کلروفیل دارد. کاهش مقدار کارتنوئیدها در گونه های غیرمتحمل در هنگام تنش شوری به علت تجزیه بتاکاروتن و تشکیل زئازانترین در چرخه گزانتوفیل می‌باشد (۳۸).

از طرف دیگر تنش شوری هیچ‌گونه تأثیر منفی بر پارامترهای رشد در گونه *S. acaule* نداشت که نشان‌دهنده مقاومت احتمالی این گونه به غلظتهای نمک مورد استفاده در این آزمایش می‌باشد.گزارش شده است که این گونه گیاهی متحمل به تنش شوری بوده و تحت تأثیر تیمارهای شوری رفتاری مشابه گیاهان هالوفیت دارد (٤). کاهش نیافتن مقدار کلروفیلها و کاروتنوئیدها در این گونه تحت تأثیر شوری مؤید این مقاومت است (۱٦). Juan و همکارانش (۲۰۰۵) (۱٦) مقدار کلروفیل و کاروتنوئیدها را در هنگام تنش شوری به عنوان یکی از شاخصهای مقاومت به نمک در گیاهان ذکر نموده اند. در طی تنش شوری در گیاه هالوفیت *Plantago coronopa* نیز مقدار کاروتنوئید افزایش یافته‌است که علت آن القای سنتز کاروتنوئیدها در برگ این گیاه گزارش شده‌است (۲۱).

تنش شوری به دلیل برهم زدن تعادل متابولیکی، کمبود مواد معدنی، تنش اسمزی و کم آبی و القای بستن روزنه ها موجب تولید گونه های فعال اکسیژن و تنش اکسایشی می‌گردد (۳۱،۳۰). رادیکالهای آزاد تولید شده در طی تنش شوری می‌تواند باعث پراکسیداسیون لیپیدها شده و موجب تولید مالون دآلدئید به عنوان یک محصول تجزیه اسیدهای چرب غیر اشباع می‌گردد.

گزارشات متعددی نشان می‌دهد که با افزایش سطح شوری میزان پراکسیداسیون لیپیدها در گیاهان حساس به شوری بیشتر از گیاهان مقاوم به نمک می باشد (۱۰، ۱٦ و ۳۷). بررسیهای مقایسه‌ای در دو گونه حساس و مقاوم به نمک


www.SID.ir

Archive of SID

در توت (۳۷) و رقمهای گوجه فرنگی (۱٦) نشان داد که درگونه‌های مقاوم به نمک مقدار مالون دآلدئید کمتری در تنش شوری تولید شده است. بررسیهای مشابه در گیاه عدس (٦)، اسفناج (۱۱)، برنج (۱۰)، سرخس آزولا (۲۳)، ذرت (۹)، صبر زرد (۱۵) و *Crithmum maritimum* (۸) همگی حاکی این مطلب است که تنش شوری موجب افزایش پراکسیداسیون لیپیدها و افزایش تولید مالون دآلدئید می‌گردد. بررسیها نشان می‌دهد که مقدار پایین مالون‌دآلدئید در گونه‌های مقاوم به شوری در هنگام تنش اکسایشی در نتیجه‌ی افزایش فعالیت آنزیمهای پاداکسایشی است که موجب کاهش مقدار $H_2O_2$ شده و مقدار آسیب به غشاء را کاهش می‌دهند (٤۱،۹). بنابراین سطح مالون‌دآلدئید و سایر آلدئیدهای تولید شده به عنوان یک شاخص آسیب اکسایشی به حساب می‌آید. نتایج به دست‌آمده در این بررسی نشان دهنده این مطلب است که با افزایش میزان شوری، میزان پراکسیداسیون لیپیدها در دو گونه *S. bulbosum* و *S. stoloniferum* افزایش یافت اما در گونه *S. acaule* پراکسیداسیون غشاء در هیچ‌کدام از غلظتهای نمک تغییر نکرد و فقط در غلظت ۱۲۰ میلی‌مولار نمک مقدار سایر آلدئیدها افزایش یافت. با توجه به نتایج این بررسی به‌نظر می‌رسد که شاخص پراکسیداسیون لیپیدها یک شاخص خوب برای بررسی مقاومت به شوری در گیاهان باشد.

در برخی گزارشها از میزان پراکسیداسیون لیپید و نشت یونی برای نشان دادن میزان تنش اکسایشی و آسیب به غشا استفاده می‌شود (٦). نتایج به دست‌آمده در این بررسی نشان داد که دو گونه *S. bulbosum* و *S. stoloniferum* با افزایش غلظت نمک میزان آسیب به غشاء و نشت یونی زیاد گردید و این میزان در گونه *S. bulbosum* بسیار بیشتر بود اما در گونه *S. acaule* میزان نشت یونی در طی تنش شوری تغییری نشان نداد.

بررسیها در گیاه توت (۳۷)، گوجه فرنگی در محیط درون شیشه‌ای (۳٦)، اسفناج (۱۱) و صبر زرد (۱۵) نشان می‌دهد که تنش شوری موجب آسیب به غشاء و افزایش نشت یونی می‌گردد که افزایش نشت یونی در گونه های حساس بیشتر از گونه های مقاوم به شوری می باشد . دراین بررسیها گزارش شده است که گونه‌های مقاوم به دلیل داشتن دفاع پاداکسایشی (آنزیمی و غیر آنزیمی) قوی‌تر، با تنش اکسایشی ناشی از تولید رادیکالهای آزاد اکسیژن بهتر مقابله می‌نمایند.

گیاهان برای مقابله با اثرات منفی تنش شوری راهکارهای متعددی دارند. افزایش و یا حفظ سیستم دفاع پاداکسایشی (آنزیمی و غیر آنزیمی) یکی از راههای مقابله با تنش اکسایشی ناشی از تنش شوری می‌باشد (۲، ۸، ۹، ۲۸ و ٤۱).

آسکوربات یکی از این مواد پاداکسایشی می‌باشد که در چرخه آسکوربات-گلوتاتیون که یک چرخه بسیار مهم در تجزیه $H_2O_2$ می‌باشد، نقش اساسی را ایفاء می‌کند. به علاوه آسکوربات می‌تواند یا با واکنش مستقیم با رادیکال سوپراکسید،اکسیده شود یا به عنوان یک عامل احیاء کننده رادیکال آلفاکرموکسیل در آلفاتوکوفرول اکسید شده، مصرف شود (۳۱). نتایج به‌دست آمده در این بررسی نشان داد که در گونه *S. bulbosum* و *S. stoloniferum* در تنش شوری مقدار مخزن آسکوربات کاهش یافت اما در گونه *S.acaule* مقدار آن بدون تغییر ماند. نتایج به‌دست آمده در گونه های *S. bulbosum* و *S. stoloniferum* با نتایج به‌دست آمده در گیاه پنبه (۳۱)، *Cassia angustifolia*(۲)، *Crithmum maritimum* (۸)، اسفناج (۱۱) و جو (٤۰) مطابقت دارد.

گزارشاتی نیز وجود دارد که نشان می‌دهد تنش شوری مقدار آسکوربات در گیاه خیار (۳۱) و ظرفیت پاداکسایشی غیرآنزیمی را در شاخه‌های کشت شده سیب در محیط درون شیشه‌ای افزایش داد (۲۸). اگر چه در این بررسی


www.SID.ir

Archive of SID

مقدار آسکوربات در گونه *S. acaule* افزایش نیافت اما حفظ مقدار مخزن آسکوربات (به عنوان یکی از اجزای دفاع پاداکسایشی) در حین تنش شوری می تواند برای غلبه بر آسیبهای اکسایشی مؤثر باشد. در این بررسی مقدار فعالیت آنزیمهای پاداکسایشی و سایر مولکولهای غیر آنزیمی پاداکسایشی نظیر گلوتاتیون و آلفا توکوفرول اندازه‌گیری نشد که بررسی این پارامترها نیز برای درک بهتر مکانیسمهای مقاومت به نمک در این گونه مفید و کارآمد می‌باشد.

یکی دیگر از راههای مقابله با تنشهایی از قبیل شوری و خشکی سنتز ترکیبات سازگار و اسمزا می باشد که پرولین از جمله این ترکیبات است. در این بررسی مقدار پرولین در تمام گونه‌های مورد بررسی در تنش شوری افزایش یافت. گزارشات متعدد و متفاوتی در مورد مقدار پرولین در گونه‌های حساس و مقاوم به نمک و نقش آن در افزایش مقاومت به نمک وجود دارد (۱۲، ۱۸ و ۳۹).

با توجه به افزایش مقدار پرولین در شرایط تنش در هر سه گونه مورد مطالعه به نظر می‌رسد که در این گونه‌ها بررسی مقدار پرولین شاخص مناسبی برای سنجش مقدار مقاومت به نمک نمی‌باشد.

با توجه به پارامترهای مورفولوژیکی و رشد مورد مطالعه در این بررسی به نظر می‌رسد که مقاومت به نمک گونه *S. acaule* احتمالاً به دلیل افزایش مقدار کلروفیل،پرولین و کارتنوئید(یک ترکیب پاد اکسایشی) و حفظ مخزن آسکوربات(یک ترکیب پاداکسایشی) و در نتیجه کاهش نشت یونی و مقدار پراکسیداسیون غشاء می‌باشد .

نتایج این بررسی نشان داد که شاخصهای پراکسیداسیون لیپیدها و درصد نشت یونی شاخصهای بسیار مناسبی برای بررسی میزان مقاومت به نمک در گونه‌های خودروی سیب زمینی به‌نظر می‌رسد، که شاید بتوان از آن در انتخاب و غربال‌گری گیاهان مقاوم به شوری استفاده نمود. به علاوه با توجه به ظرفیت بالای گونه *S. acaule* در مقابله با نمک، درک بهتر مکانیسمهای فیزیولوژیکی آن می‌تواند در به‌نژادی گیاهان مقاوم به شوری مورد استفاده قرار گیرد.

## منابع


1- Abd El Samad, H. M. and Shaddad, M. A. K. 1997. Salt tolerance of soybean cultivars. Biologia Plantarum 39 (2): 263-269.

2- Agarwal,S. and Pandey,V. 2004. Antioxidant enzyme responses to NaCl stress in *Cassia angustifolia*. Biologia Plantarum 48 (4): 555-56.

3- Aqueel Ahmad, M.S. Javed, F. and Ashraf, M. 2007. Iso osmotic effect of NaCl and PEG on growth, cations and free proline accumulation in callus tissue of two indica rice (*Oryza sativa* L.) genotypes. Plant Growth Regulation 53: 53-63.

4- Arvin, M. J. and Donnelly, D.J. 2008. Screening potato cultivars and wild species to abiotic stresses using an electrolyte leakage bioassay. Journal of Agricultural Science and Technology 7: 10: 33-42.

5- Ashraf, M.and Foolad, M.R. 2007. Role of glycine betain and proline in improving plant abiotic stress resistance. Environmental and Experimental Botany 59(2): 206-216.

6- Bandeoglu, E. Egidogan, F. Yucel, M and Avni Oktem, H. 2004. Antioxidant Responses of shoots and Roots of lentil to NaCl- salinity stress. Plant Growth Regulation 42: 69-77.

7- Bates, L.S. Waldern, R. P. and Tare. I. D. 1973. Rapid determination of free proline for water stress studies. Plant and Soil 29: 205-207.

8- Ben Hamed, K. Castagna, A. Salem, E. Ranieri, A. and Abdelly, C. 2007. Sea fennel (*Crithmum maritimum* L.) under salinity conditions: a comparison of leaf and root antioxidant responses. Plant Growth Regulation 53: 185-194.

9- De Azevedo Neto, A. D. Prisco, J. T. Eneas-Filho, J. De Abreu, C. E. B. and Gomes- Filho, E. 2006. Effect of salt stress on antioxidative enzymes and lipid peroxidation in leaves and roots of salt tolerant and salt sensitive maize genotypes. Environmental and Experimental Botany 56:87-94.

10- Demiral, T. and Turkan, I. 2005. Comparative lipid peroxidation, antioxidant defense system



www.SID.ir

Archive of SID

and proline content in roots of two rice cultivars differing in salt tolerance. Environmental and Experimental Botany 53: 247-257.

11- Eraslan, F. Inal, A. Pilbeam, D. J. and Gunes, A. 2008. Interactive effects of salicylic acid and silicon on oxidative damage and antioxidant activity in spinach (*Spinacia oleracea* L. CV. Matador) grown under boron toxicity and salinity. Plant Growth Regulation 55: 207-219.

12- Guerrier, G. 1997/1998. Proline accumulation in leaves of NaCl- sensitive and NaCl-tolerant tomatoes. Biologia Plantarum 40(4): 623-628.

13- Harries, P. M. 1992. The Potato Crop, the scientific basis for improvement. Second edition. Chapman and Hall. London. pp: 35-67.

14- Heath, R. L. and packer, L. 1969. Photoperoxidation in isolated chloroplast. I. kinetics and stoichiometry of fatty acid peroxidation. Archive of Biochemistry, Biophysics 125: 189-198.

15- Jin, Z.M. Wang, C. H. Liu, Z. P. and Gong, W. J. 2007. Physiological and ecological characters studies on *Aloe vera* under soil salinity and seawater irrigation. Process Biochemistry 42: 710-714.

16- Juan, M. Rivero, R.M. Romero, L. and Ruiz, J. M. 2005. Evaluation of some nutritional and biochemical indicators in selecting salt-resistant tomato cultivars. Environmental and Experimental Botany 54: 193-201.

17- Kao,W.Y. Tsai. T. T. Tsai. H. c. and Shih, C. N. 2006. Response of three Glycine species to salt stress. Environmental and Experimental Botany 56: 120-125.

18- Karimi, G. Ghorbanli, M. Heidari, H. Khavarinejad, R. A. and Assareh, M. H. 2005. The effects of NaCl on growth, water relations, osmolytes and ion content in *Kochia prostrata*. Biologia Plantarum 49(2): 301-304.

19-Khavarinejad, R. A. and Mostofi, Y. 1999. Effects of NaCl on photosynthetic pigments, saccharides and ultrastructure in leaves of tomato. Photosynthetica 35: 151-154.

20- Koca, H. Bor, M. Ozdemir, F. and Turkan, I. 2007. The effect of salt stress on lipid peroxidation, antioxidative enzymes and proline content of sesame cultivars. Environmental and Experimental Botany 60(3): 344-351.

21- Koyro, H. W.2006. Effect of salinity on growth, photosynthesis, water relations and solute composition of potential cash crop halophyte *Plantago coronopus* (L.). Environmental and Experimental Botany 56: 136-149.

22- Lichtenthaler, H. K. 1987. Chlorophylls and carteniods: pigments of photosynthetic biomembranes. Methods in Enzymology 148: 350-382.

23- Masood, A. Shab, N. A. Zeeshan, M. and Abraham, G. 2006. Differential Response of antioxidant enzymes to salinity stress in two varieties of Azolla(*Azolla pinnata* and *Azolla filiculcides*). Environmental and Experimental Botany 58: 216-222.

24- Mc de Pinto. Francis, D. and Gara, L. 1999. The redox state of ascorbate-dehydroascorbate pairs a specific sensor of cell division in tobacco By-Z cells. Protoplasma 209: 90-97.

25- Meirs, S. Philosophhadas, S. and Aharoni, N. 1992. Ethylene increased accumulation of fluorescent lipid peroxidation products detected during senescence of parsley by a newly developed method. Journal of the American Society for Horticultural Science 117:128-132.

26- Meloni, D. A. Oliva, M. A. Ruiz, H. A. and Martinez, C. A. 2001. Contribution of proline and inorganic solutes to osmotic adjustment in cotton under salt stress. Journal of Plant Nutrition 24: 599-612.

27- Mohammad, M. Shibli, R. Ajouni, M. and Nimvi, L. 1998. Tomato root and shoot responses to salt stress under different level of phosphorous nutrition. Journal of Plant Nutrition 21: 1667-1680.

28- Molassiotis, A. N. Sotiropoulos, T. Tanou, G. Kofidis, G. Diamantidis, G. and Therios, I. 2006. Antioxidant and anatomical responses in shoot culture of the apple rootstock MM 106 treated with NaCl, KCl , mannitiol or sorbitol. Biologia Plantarum 50(1): 61-68.

29- Murashige, T. and Skoog, F. 1962. A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue culture. Physiologia Plantarum 15: 473-497.

30- Orcutt, D. M. and Nilsen, E. T. 2000. The physiology of plants under stress, soil and biotic factors. John Wiley and Sons. New York. pp: 177-235.

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

32- Patade, V.Y. Suprasanna, P. and Bapat, V. A. 2008. Effects of salt stress in relation to osmotic


www.SID.ir

Archive of SID

adjustment on sugarcane (*Saccharum officinarum* L.) callus cultures. Plant Growth Regulation 55: 169-173.

33- Pluckantt, D. L. 1987. Gene bank and the world's food. Perincton University Press. Perincton. pp: 15-20.

34- Rahnama, H. and Ebrahimzadeh, H. 2004. The effect of NaCl on proline accumulation in potato seedlings and calli. Acta Physiologia Plantarum 26(3): 263-270.

35- Rout, N. P. and Shaw, B. P. 2001. Salt tolerance in aquatic macrophytes: possible involvement of the antioxidative enzymes. Plant Science 160: 415-423.

36- Shibli, R. A. Kushad, M. Yousef, G. G. and Lila, M. A. 2007. Physiological and biochemical responses of tomato micro shoots to induced salinity stress with associated ethylene accumulation. Plant Growth Regulation 51: 159-169.

37- Sudhakar, C. Lakshmi, A. and Giridarakumar, S. 2001. Changes in the antioxidant enzyme efficacy in two high yielding genotypes of mulberry (*Morus alba* L.) under NaCl salinity. Plant Science 141: 613-619.

. 38- Sultana, N, Ikeda, T. and Itoh, R. 1999. Effect of NaCl salinity on photosynthesis and dry matter accumulation in developing rice grains. Environmental and Experimental Botany 42(3):211-220.

39- Woodward, A. J. and Bennett, I. J. 2005. The effect of salt stress and abscisic acid on proline production, chlorophyll content and growth of *in vitro* propagated shoots of *Eucalyptus camaldulensis*. Plant Cell Tissue and Organ Culture 82: 189-200.

40- Xu, Q. Xu, X. Zhao,Y. Jiao,K. Herbert,S.J. and Hao, L. 2008. Salicylic acid, hydrogen peroxide and calcium induced saline tolerance associated with endogenous hydrogen peroxide homeostasis in naked oat seedlings. Plant Growth Regulation 54: 249-259.

41- Yazici, I, Turkan, F. Sekmen, A. H. and Demiral, T. 2007. Salinity tolerance of purslane (*Portulaca oleracea* L.) is achieved by enhanced antioxidative system, lower level of lipid peroxidation and proline accumulation. Environmental and Experimental Botany 61(1): 49-57.


www.SID.ir

Archive of SID

# Responses of Wild Species of Potato to SaltS tress under *In vitro* Culture

**Daneshmand F[1,2], Arvin M.J.[3], and Kalantari K.M.[2]**

[1] **Biology Dept., Payame Noor University tehran, I.R. of IRAN**

[2] **Biology Dept., Faculty of Science, Shahid Bahonar University, Kerman, I.R. of IRAN**

[3] **Horticulture Science Dept., Faculty of Agriculture, Shahid Bahonar University, Kerman, I.R. of IRAN**

## Abstract

Salinity is one of the major abiotic factors which restrict plant growth, development and productivity. In this study the morphological and physiological effects of different concentrations of NaCl of three wild species of potato with different sensivity to salt including *Solanum acaule* (tolerant), *Solanum stoloniferum* (semi-sensetive) and *Solanum bulbosum* (sensetive) were investigated. Stem explants with one single nod were transsfered to MS medium with different concentrations of NaCl (0, 40, 80 and 120 mM). After 5 weeks some of the physiological and morphological changes induced by NaCl were studied. Salinity reduced shoot height, chlorophyll content (a, b and total), carotenoids and ascorbates and increased proline, lipid peroxidation and ion leakage in *S.stoloniferum* and *S.bulbosum*. On the other hand salinity had no adverse effects on shoot height, chlorophyll content, MDA, ascorbates and ion leakage but increased chlorophyll content(a, b and total) ), carotenoids and proline in *S. acaule*. In *S. acule* only at high salinity level (120mM) the level of aldehydes was increased. Based on these results, lipid peroxidation and ion leakage parameters can be used as screening criteria in wild species of potato.

**Keywords**: Salinity stress, Wild species of potato, In vitro.



www.SID.ir