

بررسی تاثیر سازگارکننده‌های معدنی و آلی مهم در تحمل به شوری گیاه هالوفیت آلوروپوس لگوپویدیس

زهره علیزاده^۱، خدیجه رضوی*^۲، محمدعلی ملبویی^۲، فائزه قناتی^۱، عطیه کاشانی نیا^۳، وحیده هدایتی^۳

^۱ تهران، دانشگاه تربیت مدرس، دانشکده علوم پایه، بخش زیست شناسی، گروه ژنتیک مولکولی

^۲ تهران، پژوهشگاه ملی مهندسی ژنتیک و زیست فناوری، پژوهشکده بیوتکنولوژی گیاهی

^۳ زنجان، دانشگاه زنجان، دانشکده کشاورزی، گروه اصلاح نباتات

تاریخ پذیرش: ۸۹/۶/۱۴

تاریخ دریافت: ۸۸/۹/۱۸

چکیده

آلوروپوس لگوپویدیس (*Aeluropus lagopoides*) از خویشاوندان هالوفیت گندمیان و از تیره پوآسه است که در خاکهای بسیار شور رشد و نمو می‌کند. شاخصهای متعددی در گیاهان تحت تیمار با غلظتهای مختلفی از نمک در کشت هیدروپونیک آن مورد بررسی قرار گرفت. در مقایسه رشد طولی ریشه، اندام هوایی و گیاه کامل و تحت تیمارهای مختلف مشخص شد که بیشترین رشد در تیمار ۳۰۰ میلی مولار سدیم کلراید اتفاق می افتد و مقادیر این شاخصها در غلظتهای بیشتر و کمتر از آن کاهش می یابند. در حالی که در تمامی غلظتهای مورد آزمایش رشد طولی ریشه به شدت تابع مقدار نمک بود، در غلظتهای کمتر اثر شوری بر رشد اندامهای هوایی معنی دار نبود. نتایج تجزیه واریانس نشان می‌داد که کاتیونها (سدیم و پتاسیم) در ریشه و اندامهای هوایی گیاهان شاهد و تحت تیمارهای مختلف توزیع متفاوتی را نشان می‌دادند. به طور کلی، می‌توان گفت آلوروپوس لگوپویدیس در تحمل برابر غلظتهای مختلف سدیم کلراید محیط واکنشهای متفاوتی را بروز می دهد. نتایج نشان می دهد در غلظتهای کمتر سدیم کلراید با گسترش سیستم ریشه ای و افزایش جذب کاتیونهای معدنی املاح مورد نیاز خود را تأمین می‌نماید. به عبارت دیگر، بیشتر از اسمولایت‌های معدنی که در غلظتهای پایین سدیم کلراید محیط غیرسمی هستند، جهت حفظ آب و فشار اسمزی داخل سلولی استفاده می‌کند. در حالی که در غلظتهای متوسط و بالای سدیم کلراید، به ترتیب از تجمع مواد اسمزی آلی گلیسین بتائین و پرولین برای تنظیم فشار اسمزی استفاده می‌کند. یکی از نتایج این اتفاقات، کاهش میزان رشد گیاه است تا بتواند شوری را پشت سر بگذارد. همچنین به نظر می رسد سطح سدیم و پتاسیم اندامهای هوایی در همه تیمارها و شاهد به شدت تنظیم می‌شود که می تواند به علت تنظیم شدید انتقال نمک از ریشه به اندام هوایی باشد.

واژه های کلیدی: آلوروپوس لگوپویدیس، تحمل شوری، مواد اسمزی، پرولین، گلیسین بتائین

* نویسنده مسئول، تلفن: ۰۲۱-۴۴۵۸۰۳۷۰، پست الکترونیکی: razavi@nigeb.ac.ir

مقدمه

تنشهای اسمزی شامل تنشهای محیطی مثل خشکی، شوری، سرما و گرما رشد و نمو غلات را کاهش می‌دهند (۳). از این بین، خشکی و شوری بخشهای وسیعی از زراعت در جهان را تهدید می‌کنند به طوری که پیش بینی شده تا سال ۲۰۵۰ بیشتر از ۵۰ درصد از زمینهای زراعی شور خواهند شد (۱۷). از نظر زیست شناسی بقا و حفظ توانایی رشد و نمو گیاه در شرایط نمکی را تحمل شوری می‌نامند که صفتی متغیر

نامرغوب رشد می‌کند. این گیاه ساقه زیرزمینی با دوام دارد و سامانه فتوسنتزی آن C_4 است. آلورپوس لگوپویدیس گیاهی مرتعی است که از آن به عنوان غذای دام استفاده می‌شود و به واسطه شبکه ریشه‌ای ضخیم مانع فرسایش خاک می‌گردد. تکثیر رویشی بوسیله استولن، تولید دانه فراوان، ریشه‌های بلند زیاد، اپی کوتیل مومی و برگهای کوچک از شاخصهای مهمی هستند که باعث سازگاری این گیاه نسبت به شرایط سخت محیطی می‌شوند (۱۸).

در تحقیق حاضر، برخی از سازوکارهای احتمالی مسئول تحمل آلورپوس لگوپویدیس در برابر غلظتهای بالای نمک سدیم کلراید در محیط بررسی شد. از سازوکارهای احتمالی می‌توان به استفاده گیاه از مواد اسمزی مختلف معدنی یا آلی جهت تنظیم فشار اسمزی در محیط اشاره کرد. در این رابطه سهم نسبی کاتیونهای معدنی (پتاسیم و سدیم) و آلی (گلايسين بتائين و پرولين) در اندامهای هوایی و ریشه و در ارتباط با رشد گیاه با هم مقایسه شد.

مواد و روشها

کشت گیاهان، تیمار شوری و اندازگیری رشد: بذرهای آلورپوس لگوپویدیس به روش رضوی و همکاران (۲۷) ضد عفونی و برای جوانه زنی روی محیط جامد MS (۲۲) حاوی ۰/۵ درصد آگاروز به مدت ۳ روز در تاریکی و دمای ۴ درجه سانتی گراد قرار داده شد. پس از جوانه زنی، مش‌های حامل دانه‌رستها به درون لیوانهای محتوی ۷۰ میلی لیتر محیط کشت MS/۲ به مدت ۲۱ روز در اتاقک رشد با دمای ۲۴ درجه سانتی گراد و ۱۶ ساعت روشنایی و شدت نور لامپ‌های فلورسنت ۱۲۰۰۰ لوکس و سرعت ۷۰ دور در دقیقه رشد داده شدند. سپس این گیاهان به محیطهای کشت حاوی مقادیر ۱۵۰، ۳۰۰، ۴۵۰، ۶۰۰، ۷۵۰ و ۹۰۰ میلی مولار سدیم کلراید منتقل و محیط فاقد نمک به عنوان شاهد در نظر گرفته شد. پس از ۱۰ روز تیمار، نمونه برداری از اندامهای هوایی و ریشه برای اندازگیری

است و به عوامل متعددی از جمله گونه گیاه بستگی دارد. طیف گسترده‌ای از انواع حالات تحمل به شوری و سطح تحمل به این تنش در گیاهان وجود دارد (۲۸). به عنوان مثال گیاهان هالوفیت قادرند در غلظتهای بالای نمک نزدیک به غلظت نمک آب دریا (۵۰۰ میلی مولار) رشد نمایند که این ناشی از تجمع مواد اسمزی و در نتیجه تنظیم فشار اسمزی و جذب آب می‌باشد (۱۶). از نظر تحمل شوری و سازوکار تحمل به شوری تفاوتهای آشکاری بین هالوفیت‌ها وجود دارد (۱۲ و ۱۴). از جمله سازوکارها می‌توان به مواردی مانند جذب انتخابی یا اجتناب از یونهای نمکی، کنترل جذب یونها بوسیله ریشه‌ها و انتقال به اندامهای هوایی، کده بندی یونها (compartmentation)، ساخت مواد اسمزی، تغییر مسیر فتوسنتزی، تغییر در ساختار غشاها، القای آنزیمهای آنتی اکسیدان و تحریک هورمونهای گیاهی اشاره نمود (۲۴).

تنظیم اسمزی روش سازگارکننده‌ای است که موجب تحمل خشکی در گیاهان می‌شود و در نهایت سبب انباشتگی مواد اسمزی در پاسخ به کاهش پتانسیل آب یا افزایش نمک در محیط گردد (۶). به طور دقیق‌تر، حفظ تعادل یونی و تنظیم اسمزی سیتوزل با تجمع سازگار کننده‌های معدنی مانند سدیم و پتاسیم (۲۳ و ۲۶) و آلی به ویژه پرولين و گلايسين بتائين (۲۵) میسر می‌شود.

وجود اسمولایت‌های آلی در آرکتاباکتریها، مخمرها، جلبکها، گیاهان عالی و همچنین انواع جانوران نشان داده شده است. از جمله اسمولایت‌های آلی شناخته شده پلی اولها، اسیدهای آمینه آزاد مانند پرولين، گلوآمین، سیترویلین و مشتقات آنها، اسید آمینه‌های N استیله مثل N-دلئا استیل اورنی تین و اکتوئین‌ها، بتائین‌ها و دی ساکاریدهایی مثل ساکاروز و تره‌هالوز هستند (۵).

آلورپوس لگوپویدیس هالوفیتی تک‌لپه‌ای از تیره گندمیان (Gramineae) است که در مناطق خشک و خاکهای

تیمار شده با ۳۰۰ میلی مولار سدیم کلراید مشاهده شد که با افزایش یا کاهش غلظت نمک در محیط کشت مقدار آن کاهش یافت و گیاهان تیمار شده با ۹۰۰ میلی مولار نمک کمترین وزن را نشان داد (شکل الف و ب). همچنین وزن تر و خشک اندام هوایی گیاهان تیمار شده با ۳۰۰ میلی مولار نمک بیشترین مقدار است که با افزایش یا کاهش غلظت نمک (به جز در شاهد) از مقادیر آنها کاسته شد. به همین ترتیب، بیشترین وزن تر و خشک کل در گیاهان تحت تیمار با ۳۰۰ میلی مولار سدیم کلراید مشاهده می‌شود (شکل اب).

با در نظر گرفتن طول ریشه‌ها و اندامهای هوایی، مشاهده شد که رشد طولی ریشه در مقایسه با اندامهای هوایی در همه تیمارها بیشتر است. البته رشد طولی ریشه به طور معنی‌داری تابع غلظت نمک می‌باشد و بیشترین و کمترین رشد طولی ریشه به ترتیب در گیاهان تحت تیمار ۳۰۰ و ۹۰۰ میلی مولار سدیم کلراید دیده شد (شکل ۲). در مقایسه، اثر شوری بر رشد اندامهای هوایی در غلظتهای بیشتر از ۳۰۰ میلی مولار سدیم کلراید منفی بود و در غلظتهای کمتر نیز اثر شوری بر رشد اندامهای هوایی معنی‌دار نبود (شکل ۱-ت).

نسبت وزن خشک به تر گیاهان تحت تیمارهای شوری مختلف با هم مقایسه شد (شکل ۱-پ). در ریشه گیاهان شاهد و تحت تیمارهای ۱۵۰، ۳۰۰ و ۴۵۰ میلی مولار نمک نسبت وزن خشک به تر افزایش یافت و سپس با افزایش غلظت نمک به تدریج از مقدار آن کاسته شد. در اندامهای هوایی این نسبت در شاهد و تا تیمار ۳۰۰ میلی مولار سدیم کلراید افزوده شده و سپس با افزایش غلظت نمک محیط کشت تا ۶۰۰ میلی مولار کاسته می‌شود و مجدداً در تیمار با ۷۵۰ میلی مولار نمک این نسبت به بالاترین میزان خود رسید و سپس در تیمار ۹۰۰ میلی مولار کاهش یافت. در گیاه کامل روند تغییر نسبت وزن خشک به تر از شاهد تا ۳۰۰ میلی مولار نمک افزایشی

رشد طولی و وزن تر و خشک و همچنین سنجش میزان مواد اسمزی انجام گرفت. کشت گیاهان در سه نوبت و هر نوبت با حداقل سه تکرار برای هر تیمار انجام شد.

سنجش سدیم و پتاسیم: ۴۰ میلی گرم از بافت خشک گیاه با هاون چینی به شکل پودر در آمد و از پودر گیاهی حاصل به روش محسن زاده و همکاران یون های معدنی استخراج گردید. تعیین غلظت یونهای سدیم و پتاسیم توسط دستگاه جذب اتمی Shimadzu AA-670/G V-8 انجام گرفت. نتایج بر حسب میلی گرم بر گرم وزن خشک محاسبه گردید (۱۸).

سنجش پرولین: ۱۰۰-۵۰ میلی گرم از بافت تر با استفاده از نیتروژن مایع و هاون به شکل پودر در آمد و از پودر حاصل به روش Bates پرولین استخراج و سنجیده شد (۴). غلظت پرولین موجود در تولوئن با استفاده از رسم منحنی استاندارد برای جذب آن در طول موج ۵۱۸ نانومتر و بر حسب میلی مول بر گرم وزن تر محاسبه شد.

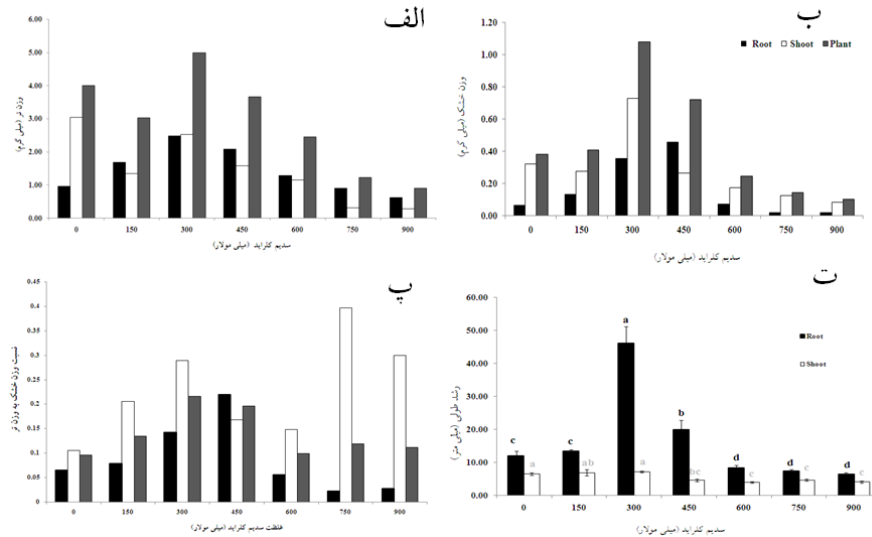
سنجش گلاسیسین بتائین: ۰/۵ گرم بافت خشک به خوبی پودر شد. سپس طبق روش Grieve و همکاران گلاسیسین بتائین اندازه گیری شد (۱۵). برای تهیه نمودار استاندارد از غلظتهای ۷ تا ۱۰۰ میکرو گرم در میلی لیتر گلاسیسین بتائین استفاده شد.

محاسبات عددی و آماری: برای محاسبات عددی و رسم نمودارها از نرم افزار Excel 2007 و برای محاسبات آماری از نرم افزار SPSS (Version 16) استفاده شد. مقایسه میانگینها با روش آزمون چند دامنه ای دانکن در سطح احتمال ۰/۰۵ انجام شد.

نتایج

اثر شوری بر رشد آلوروپوس لگوپویدیس: بهترین رشد گیاه در حضور ۳۰۰ میلی مولار سدیم کلراید صورت گرفت. زیرا بیشترین وزن تر و خشک در ریشه گیاهان

بود و سپس کاهش یافت. البته افزایش شاخص مذکور را در شوریه‌های ۷۵۰ و ۹۰۰ میلی مولار می توان به از دست رفتن آب بافتی به دلیل اسمزی شدید نسبت داد.



شکل ۱- تغییرات وزنی و رشدی آلورپوس لگوپویدیس در غلظت‌های مختلف سدیم کلراید. برای رسم هیستوگرام بخش‌های الف (میانگین وزن تر)، ب (وزن خشک) و پ (نسبت وزن خشک به تر) ۱۵ تا ۴۰ گیاه توزین و سپس میانگین‌ها محاسبه گردیده اند. ت- رشد طولی ریشه و اندام هوایی آلورپوس لگوپویدیس در حضور غلظت‌های مختلف سدیم کلراید (۱۵۰ تا ۹۰۰ میلی مولار) و بدون نمک (شاهد) می باشد و میله‌های عمودی نشانگر میانگین داده‌های گیاه \pm انحراف معیار (SE) می‌باشند. حروف کوچک غیر یکسان نشان دهنده تفاوت معنی دار بین تیمارهای مختلف در سطح احتمال ۰/۰۵ می‌باشد.

به افزایش را نشان می‌دادند. بیشترین مقدار سدیم در تیمار ۹۰۰ میلی مولار نمک در اندام‌های هوایی مشاهده شد و در تیمارهای ۳۰۰ تا ۷۵۰ میلی مولار سدیم کلراید، محتوای سدیم اندام‌های هوایی نسبتاً ثابت می‌ماند و تغییرات معنی‌دار نبود (شکل ۳- الف).

محتوای پتاسیم نیز در ریشه گیاه در تیمار ۱۵۰ میلی مولار بالاترین مقدار را دارد و تفاوت آن با همه تیمارها معنی‌دار بود. سپس با افزایش یا کاهش غلظت نمک محیط از محتوای پتاسیم ریشه‌ها کاسته شد به طوری که محتوای پتاسیم در ریشه‌های تحت تیمار ۹۰۰ میلی مولار، کمترین مقدار بود. در اندام‌های هوایی بالاترین مقدار پتاسیم در شاهد و تیمار با ۴۵۰ میلی مولار نمک مشاهده گردید و

اثر شوری بر محتوای سدیم و پتاسیم بافتی: تجزیه واریانس نشان داد که شوری اثر معنی‌داری بر محتوای سدیم ریشه و اندام هوایی دارد. مقایسه میانگین بین تیمارها نشان داد که در تمام تیمارها به استثنای ۹۰۰ میلی مولار سدیم کلراید، محتوای سدیم ریشه‌ها همواره بیشتر از اندام‌های هوایی بود و بیشترین مقدار سدیم در ریشه‌ها در تیمار ۱۵۰ میلی مولار کلراید سدیم مشاهده شد و در تیمار ۳۰۰ میلی مولار کاهش می‌یابد ولی در تیمار با ۴۵۰ میلی مولار کلراید سدیم مجدداً افزایش در محتوای سدیم ریشه‌ها مشاهده می‌گردد. سپس به تدریج با اعمال شوری بیشتر محتوای سدیم ریشه‌ها نیز کاهش یافت. مقایسه میانگین تیمارها با آزمون دانکن نشان داد که با افزایش غلظت سدیم کلراید محیط، سدیم اندام‌های هوایی روند رو

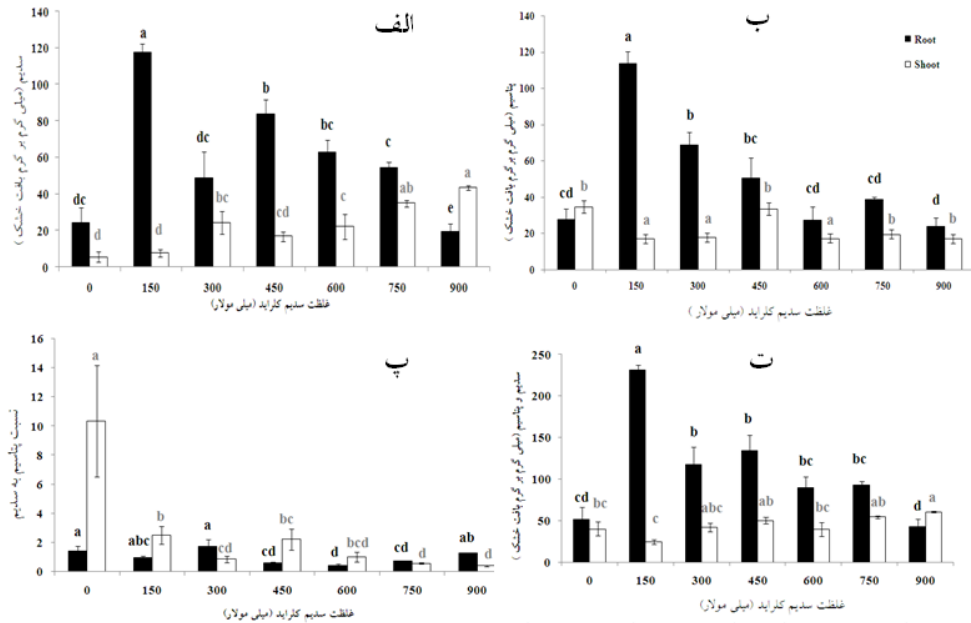
ریشه گیاهان تحت تیمار تا ۳۰۰ میلی مولار سدیم، بیشترین نسبت پتاسیم به سدیم قابل مشاهده بود و همچون اندامهای هوایی با افزایش غلظت نمک محیط این نسبت به شدت کاهش یافت و به کمتر از ۱ رسید. هرچند در تیمار با ۹۰۰ میلی مولار مجدداً افزایش معنی داری در نسبت پتاسیم به سدیم در ریشه مشاهده شد (شکل ۳پ).

اختلاف آنها با سایر تیمارها در سطح ۱ درصد معنی دار بود (شکل ۳-ب).

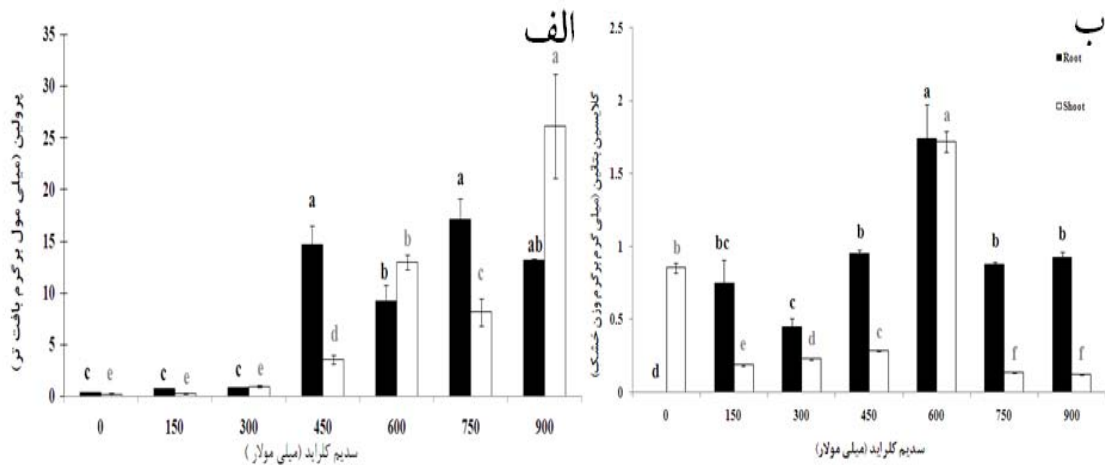
اثر شوری بر نسبت پتاسیم به سدیم : بالاترین نسبت پتاسیم به سدیم در اندامهای هوایی گیاهان شاهد مشاهده شد. این نسبت با افزایش غلظت سدیم کلراید محیط به طور معنی داری کاهش یافت به نحوی که از غلظت ۴۵۰ میلی مولار به بعد به کمتر از ۱ رسید (شکل ۳-پ).



شکل ۲- عکس گیاهان تیمار شده با غلظتهای مختلف سدیم کلراید از ۰ تا ۹۰۰ میلی مولار را به ترتیب از چپ به راست نشان می دهد.



شکل ۳- محتوی سدیم (الف)، پتاسیم (ب) و نسبت پتاسیم به سدیم (پ) و مجموع هر دو کاتیون (ت) بافتی آلورپوس لگوپویدیس کشت شده در حضور غلظتهای مختلف سدیم کلراید (۱۵۰ تا ۹۰۰ میلی مولار) و بدون نمک (شاهد). میله‌های عمودی نشانگر میانگین داده‌های مربوط به سه تکرار \pm انحراف معیار (SE) می‌باشند. حروف کوچک غیریکسان نشان دهنده تفاوت معنی دار بین تیمارهای مختلف در سطح احتمال ۰/۰۵ می‌باشد.



شکل ۴- محتوای پروکلین (الف) و گلاسیسین بتائین (ب) بافتی آلورپوس لگوپویدیس کشت شده در حضور غلظتهای مختلف سدیم کلراید (۱۵۰ تا ۹۰۰ میلی مولار) و بدون نمک (شاهد). میله‌های عمودی نشانگر میانگین داده‌های مربوط به دو تکرار \pm انحراف معیار (SE) می‌باشند. حروف کوچک غیریکسان نشان دهنده تفاوت معنی دار بین تیمارهای مختلف در سطح احتمال ۰/۰۵ می‌باشد.

بود. بالاترین انباشتگی کاتیونهای معدنی سدیم و پتاسیم تحت تیمار ۱۵۰ میلی مولار و کمترین آن در ریشه‌های گیاهان تحت تیمار ۹۰۰ میلی مولار نمک مشاهده شد که

از دیدگاه دیگری، به جز در تیمار ۹۰۰ میلی مولار سدیم کلراید، در سایر تیمارها و نیز شاهد مجموع کاتیونهای معدنی سدیم و پتاسیم در ریشه از اندامهای هوایی بیشتر

می‌باشد. بررسی رشد این گیاه در غلظت‌های مختلف سدیم کلراید نشان می‌دهد این گیاه در تیمار ۳۰۰ میلی مولار دارای بیشترین رشد طولی و وزن است. بررسی سایر هالوفیت‌ها نیز بیانگر آن است که هالوفیت‌ها در حد خاصی از شوریه‌های متوسط افزایش رشد نشان می‌دهند که گاهی غلظت این شوری به ۴۰۰ میلی مولار می‌رسد (۱۴) و (۲۱). بدین ترتیب، رشد طولی و وزن ریشه و اندام هوایی گیاهان هالوفیت در دو طرف حد بهینه غلظت نمک کاهش می‌یابد. این اثر وابسته به غلظت سدیم در بافت‌های در حال رشد نیست، بلکه بیشتر به اسمولاریتی محلول‌های خارجی مربوط می‌باشد (۲۰ و ۱۹). چنین وضعیتی در مورد نسبت وزن خشک به وزن تر نیز صادق است. البته افزایش این نسبت در اندام‌های هوایی در غلظت‌های ۷۵۰ و ۹۰۰ میلی مولار نمک می‌تواند به علت رسوب کاتیون‌ها در فضاهای بین سلولی باشد. در هالوفیت‌ها بین تحمل نمک و محتوای آن در اندام هوایی ارتباطی وجود ندارد. برخی از گونه‌های هالوفیت می‌توانند تا ۵۰ درصد وزن خود را سدیم انباشته سازند. آلوروپوس لگوپویدیس تحت تیمار ۷۵۰ میلی مولار و بالاتر نیز درصد وزن خشک به تر به ۴۰ در اندام‌های هوایی می‌رسد (۱۴ و ۱۱).

نتایج این تحقیق نشان می‌دهند که متابولیسم این گیاه وابسته به غلظت خاصی از نمک (۳۰۰ میلی مولار) است. با توجه به محتوای سدیم در شاهد و تیمارهای شوری فعالیت ناقل‌های اختصاصی در غلظت‌های مختلف نمک محتمل به نظر می‌رسد. بدین لحاظ، در غلظت‌های پایین نمک ناقلین با تمایل جذبی بالا وارد عمل می‌شوند و لذا سطح سدیم و پتاسیم در حضور ۱۵۰ میلی مولار نمک در ریشه بالاست. در گیاهان شاهد نیز ممکن است این موضوع صادق باشد، لکن در محیط کشت هیدروپونیک کاتیون‌ها در غلظتی نیستند که توسط ناقلین مذکور جذب زیادی صورت گیرد. برعکس ورود سدیم به ریشه گیاه در غلظت‌های ۳۰۰ میلی مولار و بیشتر سدیم کلراید به شدت

در مقایسه با سایر تیمارها تفاوت معنی‌داری داشتند. در حالی که در اندام‌های هوایی تغییرات زیاد نبود و بیشترین و کمترین میزان انباشتگی کاتیون‌ها به ترتیب در تیمارهای ۹۰۰ و ۱۵۰ میلی مولار سدیم کلراید مشاهده شد (شکل ۳-ت).

اثر شوری بر محتوای پرولین و گلاسیسین بتائین بافتی :
طبق شکل ۴- الف، جز در تیمارهای ۶۰۰ و ۹۰۰ میلی مولار سدیم کلراید، در سایر تیمارها محتوای پرولین ریشه از اندام‌های هوایی بیشتر بود و نوسانات در محتوای پرولین ریشه‌ها دیده شد. در ریشه با افزایش غلظت نمک در محیط کشت از ۴۵۰ میلی مولار و بیشتر محتوای پرولین افزایش زیادی یافت. از نظر آماری تفاوت محتوای پرولین ریشه‌های تحت تیمارهای ۴۵۰ و ۷۵۰ میلی مولار سدیم کلراید معنی‌دار نبود در حالی که در مقایسه با تیمار ۶۰۰ میلی مولار، اختلاف معنی‌دار بود. محتوای پرولین ریشه‌های تحت تیمار ۹۰۰ میلی مولار سدیم کلراید در مقایسه با تیمارهای ۴۵۰، ۶۰۰ و ۷۵۰ میلی مولار سدیم کلراید اختلاف معنی‌داری را نشان نمی‌داد (شکل ۴- الف). از سویی دیگر در اندام‌های هوایی محتوای پرولین با افزایش غلظت سدیم کلراید محیط به تدریج افزایش می‌یافت و در ۹۰۰ میلی مولار به بالاترین مقدار می‌رسید (شکل ۴- الف).

به جز در شاهد، در سایر تیمارها محتوای گلاسیسین بتائین ریشه‌ها از اندام‌های هوایی بیشتر بود و بیشترین مقدار گلاسیسین بتائین در ریشه‌های با تیمار ۶۰۰ میلی مولار سدیم کلراید مشاهده شد که در مقایسه با سایر تیمارها اختلاف معنی‌دار بود. در اندام‌های هوایی نیز بیشترین انباشتگی گلاسیسین بتائین را می‌توان در تیمار ۶۰۰ میلی مولار نمک مشاهده نمود (شکل ۴- ب).

بحث

آلوروپوس لگوپویدیس گیاهی تک لپه و هالوفیت اختیاری

انباشته شدن یا دفع آن در اندام هوایی می‌باشد (۲). حتی هالوفیت‌هایی که سدیم را از اندامهای هوایی خود ترشح می‌نمایند گیاه در غلظتهای بالای نمک رشد خود را کاهش می‌دهد (۱).

همچنین دیده شد در غلظتهای بیشتر نمک محیط، سدیم برای تنظیم اسمزی و تسهیل جذب آب در اندامهای هوایی نیز انباشته می‌گردد. در تحقیقات قبلی Glenn و همکاران (۱۹۹۸) نشان دادند که تنظیم اسمزی در آتریپلکس کانسنس (*Atriplex canescens*) و تحت تشهای آب و شوری توسط یون سدیم انجام می‌گیرد (۱۳). لازم به ذکر است در سلولهای برگ گیاهان شورپسند جهت حفظ تعادل یونی و فشار اسمزی در سلولها، محلولهای سازگارکننده معدنی و آلی کده بندی می‌شوند به نحوی که یونهای سدیم، کلر و اندکی از پتاسیم در واکنشها و بیشتر پتاسیم و تقریباً همه اسمولایت‌های آلی در سیتوزل قرار می‌گیرند (۱۲). شواهدی دیگر نیز گویای این واقعیت است که نقش یون سدیم در تنظیم اسمزی همیشه مستقیم نیست مثلاً Subbarao و همکاران (۲۰۰۱) نشان دادند که یون سدیم علاوه بر تنش اسمزی، ساخت گلیسین بتائین را نیز فعال می‌کند (۲۹).

برخی گونه‌های آتریپلکس که با شوری سازش یافته‌اند برای تنظیم فشار اسمزی هر دو یون سدیم و پتاسیم را انباشته می‌نمایند (۲۸). نتایج این پژوهش هم نشان می‌دهد که در غلظتهای کمتر از نمک محیط، گیاه غالباً با تنش اسمزی با استفاده از اسمولایت‌های معدنی مقابله می‌کند. در حالی که تحت غلظتهای بیشتر نمک، که گیاه با تنش یونی نیز مواجه می‌شود، تجمع اسمولایت‌های آلی مانند پرولین و گلیسین بتائین صورت می‌گیرد در این حالت، گیاه با کاهش رشد نسبی و محدود کردن ورود سدیم و ساخت پرولین بیشتر خود را برای گذر از شرایط شوری آماده می‌سازد. به عبارت دیگر، استفاده از یونها برای تنظیم اسمزی در مقایسه با بیوستز اسمولایت‌های آلی به انرژی

کنترل می‌گردد. به عبارت دیگر، ناقلین با تمایل جذبی بالا غیر فعال شده و فعالیت ناقلین دیگر سدیم و پتاسیم در غلظتهای بیشتر نمک طوری تنظیم می‌شود که از ورود مقادیر بیشتر این کاتیونها به ریشه ممانعت به عمل آید. انباشتگی سدیم همچنین موید آن است که احتمالاً سدیم همچون یک اسمولایت اختصاصی در آلوروپوس عمل می‌کند.

کاتیونها در ریشه و اندامهای هوایی شاهد و تحت تیمارهای مختلف توزیع متفاوتی را نشان دادند. در تیمار با ۱۵۰ میلی مولار سدیم کلراید مجموع کاتیونهای ریشه ۱۰ برابر و در تیمار با ۳۰۰، ۴۵۰ و ۶۰۰ میلی مولار سدیم کلراید تقریباً دو برابر اندامهای هوایی بود. در گیاهان شاهد و نیز تحت تیمار ۷۵۰ میلی مولار سدیم کلراید کمتر از ۲ بود و تنها تحت تیمار ۹۰۰ میلی مولار سدیم کلراید این نسبت در اندامهای هوایی از ریشه بیشتر بود. در هر حال در ریشه گیاهان تحت تیمار و حتی شاهد مقدار سدیم بیشتر از بخش هوایی بود در حالی که نسبت یون پتاسیم به یون سدیم در اندامهای هوایی گیاهان تحت تیمار و شاهد از همان نسبت در ریشه بیشتر بود و به نظر می‌رسد ریشه در نگهداری و حتی خارج نمودن سدیم اضافی و منتقل نکردن آن به بخش هوایی کارآمدتر عمل می‌کند و همزمان جذب پتاسیم و انتقال آن به اندامهای هوایی با سازوکار مؤثرتری انجام می‌گیرد.

در آلوروپوس لگوپویدیس سطح سدیم و پتاسیم اندامهای هوایی در همه تیمارها و شاهد به شدت تنظیم می‌شود که می‌تواند به علت تنظیم شدید انتقال نمک از ریشه به اندام هوایی و یا از طریق افزایش دفع از طریق غدد نمکی در برگها باشد. کاهش تدریجی نمک در ریشه‌ها و در همان حال افزایش نمک در اندام هوایی متناسب با غلظت نمک در محیط شاهدهی به نفع حالت اول است. همچنین شواهد کمی برای حرکت سدیم از اندام هوایی به سمت ریشه وجود دارد که نشان دهنده انتقال یک طرفه سدیم و

به طور کلی می توان گفت که در آلورپوس لگوپویدیس برای تحمل سدیم کلراید محیط از سازوکارهای متفاوت استفاده می شود: ۱- در غلظتهای کمتر سدیم کلراید محیط با گسترش سیستم ریشه ای و افزایش جذب کاتیونهای معدنی املاح مورد نیاز خود را تأمین می نماید، ۲- در غلظتهای بیشتر سدیم کلراید، میزان رشد خود را کاهش می دهد تا بتواند شوری را پشت سر بگذارد و در غلظتهای ۷۵۰ و ۹۰۰ میلی مولار نمک با انباشتن کاتیونهای معدنی در اندام های هوایی موجب افزایش نسبت جرم خشک به تر تا ۴۰ درصد می شود، ۳- در غلظتهای بالاتر سدیم کلراید محیط، از سازوکار ساخت اسمولایت ها استفاده می کند. ظاهراً در غلظتهای پایین تر نمک کاتیونهای سدیم و پتاسیم نقش اسمولایت را بر عهده دارند و در غلظتهای بالاتر از ۴۵۰ میلی مولار نمک پرولین و گلايسين بتائين نیز جهت تنظیم اسمزی و حفاظت از تمامیت سلول مشارکت می نمایند.

تشکر و قدردانی: لازم به یادآوری است که پژوهش حاضر در قالب طرح مصوب پژوهشگاه ملی مهندسی ژنتیک و زیست فناوری، انجام گرفته است. نویسندگان در اینجا بر خود لازم می دانند از پژوهشگاه و دانشگاه تربیت مدرس در رابطه با تأمین مواد و امکانات لازم برای پژوهش صورت گرفته تشکر و قدردانی نمایند.

کمتری نیاز دارد. اما با این حال بسیاری از گیاهان در مواجهه با غلظتهای بیشتر سدیم کلراید محیط با انباشتن اسمولایت های آلی تنش اسمزی را تحمل می کنند (۵).

به نظر می رسد که پرولین و گلايسين بتائين نیز در شوریه های مختلف نقشهای متفاوتی دارند در غلظتهای پایین سدیم کلراید محیط (تا ۳۰۰ میلی مولار)، مقدار آنها و در نتیجه نقش آنها در تنظیم اسمزی تام در مقایسه با اسمولایت های کاتیونی ناچیز است. ظاهراً حضور آنها برای محافظت اسمزی آنزیمهای سیتوزولی ضروری می باشد، زیرا توزیع آنها در ریشه و اندامهای هوایی متناسب با مقدار سدیم است. از طرف دیگر شوری باعث خروج یون پتاسیم از گیاهان می شود و اثر اسمولایت ها در کاهش خروج یون پتاسیم از ریشه های آرابیدوپسیس (۸) و جو (۹) تحت تیمار شوری را نشان داده است. اسمولایت ها می توانند اثر سمی ناشی از گونه های اکسیژن فعال بر ناکلهای پتاسیم و در نتیجه آسیبهای ناشی از تنش شوری بکاهند (۷). Einset و همکاران (۲۰۰۷) نشان داده اند که کاربرد خارجی گلايسين بتائين (۱۰۰ میلی مولار) بیان ژنهای رمز کننده عوامل رونویسی، اجزاء تبادلات غشایی، ردوکتاز وابسته به NADP غشای پلاسمایی و آنزیمهای به دام اندازنده گونه های اکسیژن فعال را در میتوکندری افزایش می دهد (۱۰).

منابع

- Ball, M.C. 1988. Salinity tolerance in the mangroves, *Aegiceras corniculatum* and *Avicennia marina*. 1. Water use in relation to growth, carbon partitioning and salt balance. *Australian Journal of Plant Physiology* 15: 447-464.
- Bhandal, I.S., Malik, C.P. 1988. Potassium estimation, uptake, and its role in the physiology and metabolism of flowering plants. *International Review of Cytology* 110: 205-254.
- Banu, M.N.A., Hoque, M.A., Watanabe-Sugimoto, M., Matsuoka, K., Nakamura, Y., Shimoishi, Y., Murata, Y. 2009. Proline and glycinebetaine induce antioxidant defense gene expression and suppress cell death in culture tobacco cells under salt stress. *Journal of Plant Physiology*. 166: 146-156.
- Bates, L.S. 1973. Rapid determination of free proline for water-stress studies. *Plant and Soil*. 39: 205-207.
- Chinnusamy, V., Jagendorf, A., and Zhu, J.K. 2005. Understanding and Improving Salt Tolerance in Plants. *Crop Science*. 45: 437-448.
- Chimenti, C.A., Pearson, J., Hall, A.J. 2002. Osmotic adjustment and yield maintenance

- under drought in sunflower. *Field Crop Research*. 75: 235–246.
7. Cuin, T.A., Shabala, S. 2008. Compatible solutes mitigate damaging effects of salt stress by reducing the impact of stress-induced reactive oxygen species. *Plant Signaling & Behavior* 3: 207-208.
 8. Cuin, T.A., Shabala, S. 2007. Compatible solutes reduce ROS-induced potassium efflux in *Arabidopsis* roots. *Plant Cell Environment*. 30: 875-885.
 9. Cuin, T.A., Shabala, S. 2005. Exogenously supplied compatible solutes rapidly ameliorate NaCl-induced potassium efflux from barley roots. *Plant Cell Physiology*. 46: 1924-1933.
 10. Einset, J., Nielsen, E., Connolly, E.L., Bones, A., Sparstad, T., Wing, P., Zhu, J.K. 2007. Membrane trafficking RabA4c involved in the effect of glycinebetaine on recovery from chilling stress in *Arabidopsis*. *Physiologia Plantarum* 130: 511-518.
 11. Flowers, T.J., Yeo, A.R. 1986. Ion relations of plants under drought and salinity. *Australian Journal of Plant Physiology* 13: 75-91.
 12. Flowers, T.J., Troke, P.F., Yeo, A.R. 1977. The mechanism of salt tolerance in halophytes. *Annual Review of Plant Physiology*. 28: 89–121.
 13. Glenn, E.P., Brown, J.J. 1998. Effects of soil salt levels on the growth and water use efficiency of *Atriplex canescens* (Chenopodiaceae) varieties in drying soil. *American Journal of Botany* 85: 10–16.
 14. Glenn, E.P., Brown, J.J., Blumwald, E.J. 1999. Salt tolerance and crop potential of halophytes. *Critical Reviews in Plant Sciences* 18: 227–255.
 15. Grieve, C.M., Grattan, S.R. 1983. Rapid assay for determination of water-soluble quaternary ammonium-compounds. *Plant Soil* 70: 303-30.
 16. Hassine, A.B., Ghanem, M.E., Bouzid, S., Lutts, S. 2008. An inland and a coastal population of the Mediterranean xero-halophyte species *Atriplex halimus* L. differ in their ability to accumulate proline and glycinebetaine in response to salinity and water stress. *Journal of Experimental Botany* 59: 1315–1326.
 17. Mayra R., Eduardo C., Orlando, B. 2005: Plants Molecular aspects of abiotic stress. *Biotechnology Applicada* 22: 1-10.
 18. Mohsenzadeh, S., Malboobi, M.A., Razavi, K., and Farrahi-Aschtiani, S. 2006. Physiological and molecular responses of *Aeluropus Lagopoides* (Poaceae) to water deficit. *Environmental and Experimental Botany*. 56: 314-322.
 19. Munns, R. 2002. Comparative physiology of salt and water stress. *Plant, Cell and environment* 25: 239-250.
 20. Munns, R., Guo, J., Passioura, J.B., Cramer, G.R. 2000. Leaf water status controls day-time but not daily rates of leaf expansion in salt-treated barley. *Australian Journal of Plant Physiology* 27: 949-957.
 21. Munns, R., Cramer, G.R., Ball, M.C. 1999. Interactions between rising CO₂, soil salinity and plant growth. In: Luo Y, Mooney HA, eds. Carbon dioxide and environmental stress. London: Academic Press, 139-167 pp.
 22. Murashige, T. and Skoog, F. 1962. A revised medium for rapid growth and bioassay with tobacco tissue cultures. *Physiologia Plantarum* 15: 473-497.
 23. Naidoo, G., vonWillert, D.J. 1995. Diurnal gas exchange characteristics and water-use efficiency of three salt-secreting mangroves at low and high salinities. *Hydrobiologia* 295: 13–22.
 24. Parida, A.K., Das, A.B. 2005. Salt tolerance and salinity effects on plants: a review. *Ecotoxicology and Environmental Safety* 60: 324-349
 25. Poljakoff-Mayber, A., Symon, D.E., Jones, G.P. 1987. Nitrogenous compatible solutes in native South Australian plants. *Aus. J. Plant Physiology*. 14: 341–350.
 26. Ramos, J., Lopez, M.J., Benloch, M. 2004. Effect of NaCl and KCl salts on the growth and solute accumulation of the halophyte *Atriplex nummularia*. *Plant Soil* 259: 163–168.
 27. Razavi, K., Malboobi, M.A., Aschtiani, S.F., Ghanati, F., Mohsenzadeh S. 2005. Methods for propagations of two *Aeluropus* species in controlled environments. *Iranian Journal of Biology* 18: 60-68.
 28. Reda, E. A., Moghaieb, Hirofumi S., Kounosuke, F. 2004. Effect of salinity on osmotic adjustment, glycinebetaine accumulation and the *BADH* gene expression in two halophytic plants, *Salicornia europaea* and *Suaeda maritima*: *Plant Science* 66: 1345-1349.

29. Subbarao, G.V., Wheeler, R.M., Levine, L.H., Stutte, G.W. 2001. Glycine betaine accumulation, ionic and water relations of red-beet at contrasting levels of sodium supply. *Journal of Plant Physiology*. 158: 767–776.

The effect of some in/organic osmolytes in salt tolerance of *Aeluropus lagopoides* plants

Alizadeh Z.¹, Razavi Kh.², Malboobi M.A.², Ghanati F.¹, Kashaninia A.³, and Hedayati V.³

¹ Biology Dept., Basic Science Faculty, Tarbiat Modares University, Tehran, I.R. of IRAN

² Plant Biotechnology Dept., National Institute of Genetic Engineering and Biotechnology, Tehran, I.R. of IRAN

³ Plant Breeding group, Agricultural Faculty, Zanzan University, Zanzan, I.R. of IRAN

Abstract

Aeluropus lagopoides is a Gramineae related halophytic plant belongs to Poaceae family that grows in salty soils. In this research, several indicators were studied on plants under different concentrations of NaCl in hydroponic culture. Comparison the fresh and dry weights of roots, shoots, and whole plants under various treatments determined that the highest growth rates occur in the presence of 300 mM NaCl, however, lower and higher salinity reduces the growth rate. While the root length was highly depended on the salt concentration, shoots height did not vary significantly. Variances analysis showed that cations (Na⁺ and K⁺) are distributed differentially in the roots and shoots when the control and salt-treated plants were compared, and as a result, salinity had significant effect on roots and shoots Na⁺ content. In general, it may be stated that *Aeluropus lagopoides* reacts differently to various concentrations of Na⁺. Apparently, at low environmental NaCl concentrations the root system is developed and the absorption of cations is increased to provide water and essential minerals. In other words, it uses mineral osmolytes that are not toxic for the cell at low exogenous NaCl concentrations in order to maintain intracellular water and osmotic pressure, whereas at medium and high concentrations of NaCl, organic osmolytes like glycine betaine and proline are accumulated, respectively, to regulate osmotic pressure. As a result, the rate of plant growth is reduced in order to stand high salinity for a while. Furthermore, it seems that because of the strongly regulation of Na⁺ and K⁺ transport from root to shoot their contents are regulated tightly in shoots.

Keywords: *Aeluropus lagopoides*, salinity tolerance, osmolyte, proline, glycine betaine