تاثیر تنش شوری بر میزان فعالیت آنتی‌اکسیدان‌ها و رشد گیاهچه ژنوتیپ‌های گلرنگ

احسان شهبازی[1*] و پوراندخت گلکار[2]

1- استادیار گروه زراعت و اصلاح نباتات، دانشگاه کشاورزی و منابع طبیعی رامین، خوزستان، ایران
2- استادیار پژوهشکده زیست فناوری و مهندسی زیستی، دانشگاه صنعتی اصفهان، اصفهان، ایران
* مسئول مکاتبات؛ پست الکترونیک: eh.shahbazi@ramin.ac.ir

چکیده

به منظور ارزیابی اثر تنش شوری بر فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدان و رشد گیاهچه ژنوتیپ‌های گلرنگ آزمایشی به صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی در سه تکرار انجام شد. فاکتورهای آزمایشی شامل شش ژنوتیپ گلرنگ (اراک، اصفهان، خراسان، کوسه C111، AC-stirling و Saffire) و پنج سطح شوری شامل محلول 0 (شاهد)، 50 ، 100، 150 و 200 میلی مولار نمک طعام بود. نتایج آزمایش نشان داد که با افزایش شدت تنش شوری میزان فعالیت دو آنزیم آسکوربات پراکسیداز و سوپر اکسیددیسموتاز افزایش یافت اما در سطح شوری 200 میلی‌مولار نمک، فعالیت این آنزیم‌ها کاهش پیدا کرد. تحت تأثیر تنش شوری، بیشترین فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان سوپراکسید دیسموتاز و آسکوربات پراکسیداز در ژنوتیپ اصفهان و کمترین فعالیت این دو آنزیم در ژنوتیپ AC-Stirling مشاهده شد. برهمکنش تنش شوری و ژنوتیپ بر صفات گیاهچه‌ای گلرنگ معنی‌دار نبود اما ژنوتیپ‌های گلرنگ Saffire دارای بیشترین طول ساقه‌چه، وزن خشک ریشه‌چه و طول ریشه‌چه بر سایر ارقام برتری داشتند.

کلمات کلیدی: گلرنگ، سوپراکسیددیسموتاز، آسکوربات پراکسیداز، وزن خشک

مقدمه

تنش‌های محیطی در حقیقت عوامل محدود کننده رشد می‌باشند که باعث کاهش عملکرد گیاهان زراعی می‌شوند. از میان تنش‌های غیر زنده تنش حاصل از خشکی و شوری در سطح جهان گسترده‌تر بوده و به همین جهت بیشتر مورد مطالعه قرار گرفته‌اند، اگرچه در طبیعت اصولاً چند تنش با هم رخ می‌دهند و تفکیک آنها از یکدیگر مشکل است (31). حدود 20 درصد از اراضی زراعی و نزدیک 5 درصد از اراضی آبی جهان تحت تأثیر تنش شوری قرار دارند (32) و پیش بینی می‌شود تا سال 2050 بیش از 50 درصد از زمین‌های زراعی دنیا شور شوند (19). شوری بیش از حد به دلایل عمده‌ای از قبیل صرف انرژی بیشتر برای جذب آب از خاک در ناحیه ریشه و سازگاری‌های بیوشیمیائی برای بقاء در شرایط تنش باعث کاهش رشد گیاه می‌گردد. تنش شوری علاوه بر آثار ظاهری دارای آثار فیزیولوژیک بر رشد و متابولیسم گیاه نیز می‌باشد. به طور کلی شوری از سه طریق تنش اسمزی، سمیت عناصر و بهم زدن تعادل یونی موجب اختلال در فعالیت گیاه و در نتیجه کاهش رشد آن و عملکرد می‌شود (5). همچنین تنش شوری منجر به تولید گونه‌های اکسیژن فعال (ROS) در گیاهان می‌شود (18). بولخیا و همکاران(8) گزارش کردند که بیشترین خسارت ناشی از تنش‌های محیطی در گیاهان در ارتباط با خسارت اکسیداتیو در سطوح مختلف سلولی است. فعالیت گونه‌های اکسیژن فعال ممکن است سبب بروز صدماتی مانند

اکسیدشدن چربی‌های غشا، تغییر ساختمان پروتئین‌ها و اکسید شدن گروه‌های سولفیدریل، غیرفعال شدن آنزیم‌ها، تخریب کلروفیل، اکسیداسیون پروتئین و تخریب اسید نوکلئیک شود (11، 29).

تنش شوری سبب کاهش درصد جوانه‌زنی و رشد گیاهچه ارقام گلرنگ شد (12، 20). تنش شوری با تأثیر منفی بر فعالیت‌های آنزیمی گیاهچه گندم سبب اختلال در رشد گیاهچه گندم شد.

گیاهان برای مقابله با تنش اکسیداتیو ایجاد شده دارای سیستم دفاعی با کارائی بالا هستند که می‌تواند رادیکال‌های آزاد را از بین برده و یا خنثی کنند. این نظام دفاعی شامل مکانیسم‌های آنزیمی و غیرآنزیمی است. آنزیم‌های مهم آنتی اکسیدان شامل سوپر اکسیددیسموتاز، آسکوربات پراکسیداز، گلوتاتیون ردوکتاز و کاتالاز (CAT) و نظام غیر آنزیمی شامل متابولیت‌هایی مانند آسکوربیک اسید، گلوتاتیون، کاروتنوئید و ویتامین E می‌باشد (24). سوپراکسیددیسموتاز یکی از مهمترین سدهای دفاعی گیاه در برابر تنش اکسیداتیو می‌باشد و نقش اساسی و بارزی در مقابله با گونه‌های فعال اکسیژن دارد (29). سوپراکسیددیسموتاز باعث تنظیم میزان سوپراکسید و پراکسید هیدروژن که دو فرآورده چرخه هاپر-ویبر می‌باشند، می‌شود. همچنین آسیب‌های ناشی از رادیکال آزاد هیدروکسیل H که رادیکالی بسیار واکنش‌پذیر می‌باشد و موجب می‌شود تا صدمات اساسی به غشاء پروتئین‌ها وارد شود را کاهش می‌دهد (27). فعالیت این آنزیم در میتوکندری همراه با گلوتاتیون پراکسیداز باعث پیشگیری از اکسیدایش و تخریب غشاء میتوکندری می‌شود (4).

آسکوربات پراکسیداز نیز یکی از آنتی‌اکسیدان‌های اصلی در سمیت‌زدائی محیط سلول از آب اکسیژنه می‌باشد و به لحاظ تمایل زیاد که نسبت به آب اکسیژنه دارد، پراکسید هیدروژنی را که مورد مصرف کاتالاز قرار نمی‌گیرد خنثی می‌کند (14). فعالیت این آنزیم اولین بار در کلروپلاست و در چرخه گلوتاتیون آسکوربات شناخته شد (14، 25). تحقیقات مختلف نشان داده است که ارتباطی قوی بین تحمل به تنش‌های اکسیداتیو که به دلیل تنش‌های محیطی ایجاد می‌شود و افزایش در غلظت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان در گیاهان فتوسنتزکننده وجود دارد (4). تولید گونه‌های اکسیژن فعال و افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان در اثر تیمار شوری در گیاهان مختلف گزارش شده است (24 و 28). کوکا و همکاران (17) افزایش فعالیت آنزیم‌های سوپر اکسیددیسموتاز، کاتالاز و گلوتاتیون ردوکتاز را در اثر تیمار شوری در کنجد گزارش دادند. همچنین دای و همکاران (10) بیان نمودند که میزان سوپر اکسیددیسموتاز، کاتالاز و پراکسیداز در گیاهچه کلزا تحت شرایط شوری افزایش یافت. در یک بررسی توسط چای لین و کوی‌کا (9) بر روی برنج مشاهده شد که میزان فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان سوپر اکسیددیسموتاز، گلوتاتیون ردوکتاز، کاتالاز و پراکسیداز تحت تأثیر تنش شوری افزایش یافت. سایرام و همکاران (24) با مطالعه تنش شوری بر تغییرات آنتی‌اکسیدان‌های برگ دو ژنوتیپ متحمل و نیمه متحمل گندم دریافتند که شوری در تمام سطوح باعث افزایش فعالیت آنزیم‌های سوپر اکسیددیسموتاز، گلوتاتیون ردوکتاز و کاتالاز شده است. همچنین آنها دریافتند که میزان افزایش فعالیت این آنزیم‌ها در ژنوتیپ متحمل نسبت به ژنوتیپ نیمه متحمل بیشتر بوده است. شهبازی و همکاران (26) فعالیت آنتی اکسیدان‌های گلوتاتیون ردوکتاز، آسکوربات پراکسیداز و سوپر اکسیددیسموتاز را در مرحله گیاهچه‌ای روی ژنوتیپ‌های مختلف کلزا تحت تنش شوری مورد مطالعه قرار دادند. آنها گزارش کردند که در تنش شوری 200 میلی‌مولار نمک کلرید سدیم فعالیت آنتی اکسیدان‌های کاهش یافت. زیرا غلظت بالای نمک باعث تخریب ساختار پروتئینی آنزیم‌ها می‌شود. نتایج این تحقیقات نشان داد که شوری، دارای اثرات نامطلوبی بر رشد گیاهچه می‌باشد. گلرنگ (*Carthamus tinctorius* L.) گیاهی یک‌ساله و از خانواده مرکبان که به تنش‌های محیطی نظیر شوری و خشکی متحمل است. گیاهان خانواده مرکبان از جمله گلرنگ به تنش شوری در مرحله رشد گیاهچه حساس هستند (13، 16). این گیاه بومی قسمت‌هایی از آسیا، خاورمیانه و آفریقا است که امروزه بیشتر برای استخراج روغن از دانه آن کشت می‌شود (1). در این مطالعه تاثیر شوری بر میزان فعالیت آنتی‌اکسیدان‌ها و رشد

گیاهچه ژنوتیپ‌های مختلف گلرنگ در مرحله گیاهچه‌ای مورد بررسی قرار گرفت.

مواد و روش‌ها

برای بررسی واکنش ژنوتیپ‌های گلرنگ به تنش شوری در مرحله گیاهچه‌ای، آزمایشی به صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار در دانشگاه صنعتی اصفهان اجرا گردید. در این آزمایش 6 ژنوتیپ گلرنگ با نام‌های اراک، اصفهان، خراسان، کوسه C111، AC-stirling و Saffire به عنوان فاکتور اول و پنج سطح شوری شامل محلول 0 (شاهد)، 50 ، 100، 150 و 200 میلی مولار نمک طعام به عنوان فاکتور دوم در نظر گرفته شدند.10 بذر از هر ژنوتیپ در گلدان‌های به حجم دو لیتر حاوی ماسه (شسته شده) کشت گردید و با محلول غذایی هوگلند آبیاری می‌شد. تیمارهای شوری پس از جوانه‌زنی و استقرار گیاهچه‌ها به مدت 20 روز اعمال گردید و جهت اندازه‌گیری فعالیت آنزیم آنتی‌اکسیدان (آسکوربات پراکسیداز و سوپر اکسیددیسموتاز) از هر واحد آزمایشی 5 گیاهچه (قسمت هوایی) برداشت شد و از این گیاهچه‌ها عصاره‌های آنزیمی جهت بررسی فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانت استخراج شد (24).

فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز بر اساس روش ناکانو و آسادا (22) بررسی شد. به این منظور یک میلی‌لیتر بافر واکنش شامل 50 میلی‌مولار بافر فسفات سدیم با pH معادل 7، 50 میلی‌مولار اسکوربیک اسید، 0/1 میلی‌مولار EDTA، 1/2 میلی‌مولار آب اکسیژنه و 0/1 میلی‌لیتر عصاره آنزیمی یک دقیقه با هم ترکیب شد. کاهش جذب اسکوربات پراکسیداز در اثر فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر در طول موج 290 نانومتر در مدت یک دقیقه بررسی شد. جهت ارزیابی فعالیت آنزیم سوپر اکسیددیسموتاز از احیای نوری نیتروبلوتترازولیوم کلراید به روش بیچمپ و فرایدوویچ (7) استفاده شد. سه میلی‌لیتر مخلوط واکنش شامل فسفات سدیم 50 میلی‌مولار (با pH معادل 7/8)، محلول متیونین 10 میلی‌مولار، محلول نیتروبلوتترازولیوم کلراید 33 میکرومولار، محلول 0/1 میلی‌مولار EDTA، ریبوفلاوین 0/0033 میلی‌مولار و 30 میکرولیتر عصاره آنزیمی تهیه شد. پس از آن که مخلوط به هم زده شد، سل‌های اسپکتروفتومتری به مدت 10 دقیقه در زیر شش لامپ فلورسنت 15 وات به فاصله 30 سانتی‌متر قرار داده شد. با خاموش کردن لامپ واکنش متوقف و جذب مخلوط واکنش در 560 نانومتر خوانده شد. یک واحد فعالیت آنزیم سوپر اکسید دیسموتاز، مقدار آنزیمی در نظر گرفته می‌شود که می‌تواند به میزان 50 درصد مانع از احیای نوری نیتروبلوتترازولیوم کلراید گردد.

صفات گیاهچه ای شامل طول ریشه‌چه، طول ساقه‌چه، وزن خشک ریشه‌چه و وزن خشک ساقه‌چه از 5 نمونه دیگر هر گلدان اندازه‌گیری شد و میانگین نمونه ها در هر تکرار برای آزمایشات مقایسه میانگین استفاده شد. به منظور انجام تجزیه واریانس و مقایسات میانگین از آزمون LSD در سطح آماری پنج درصد و نرم‌افزار SPSS استفاده شد.

نتایج و بحث

فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان

نتایج تجزیه واریانس نشان داد که سطوح شوری، ژنوتیپ و برهمکنش این دو فاکتور تأثیر بسیار معنی‌داری بر میزان فعالیت آنزیم سوپر اکسیددیسموتاز داشت (جدول 1). شکل 1، نتایج مقایسه میانگین فعالیت آنزیم سوپر اکسیددیسموتاز تحت تیمارهای مختلف شوری در ژنوتیپ‌های مختلف گلرنگ را نشان داده است. با افزایش سطح شوری به50 میلی‌مولار نمک طعام، میزان فعالیت آنزیم سوپر اکسیددیسموتاز در همه ژنوتیپ‌ها نسبت به شاهد

افزایش یافت. بیشترین افزایش فعالیت آنزیم در ژنوتیپ اصفهان در مقایسه با شاهد (66%) و کمترین آن در ژنوتیپ خراسان (23%) مشاهده گردید (شکل 1). با افزایش سطح شوری از 50 به 100 میلی‌مولار نمک طعام میزان فعالیت آنزیم سوپر اکسیددیسموتاز در ژنوتیپ اصفهان افزایش پیدا کرد. ضمن اینکه این افزایش تا سطح 150 میلی‌مولار نمک ادامه داشت و بیشترین فعالیت سوپر اکسیددیسموتاز در ژنوتیپ اصفهان در سطح 150 میلی‌مولار نمک بدست آمد (99/16 جذب به ازای هر میلی‌گرم پروتئین). افزایش مقدار نمک از 150 به 200 میلی‌مولار باعث کاهش معنی‌دار فعالیت آنزیم سوپر اکسیددیسموتاز در ژنوتیپ اصفهان گردید. قابل ذکر است که در این ژنوتیپ میزان فعالیت آنزیم سوپر اکسیددیسموتاز در سطح شوری 200میلی‌مولار نسبت به شاهد افزایش معنی‌داری نشان داد هر چند که نسبت به سطح شوری 150 میلی‌مولار نمک طعام کاهش یافت (شکل 1). روند فعالیت آنزیم سوپر اکسیددیسموتاز برای ژنوتیپ‌های اراک، کوسهC111 و Saffire تقریباً شبیه ژنوتیپ اصفهان بود هر چند که میزان فعالیت این آنزیم در این ژنوتیپ‌ها نسبت به ژنوتیپ اصفهان کمتر بود. میزان فعالیت آنزیم سوپر اکسیددیسموتاز در ژنوتیپ AC-stirling بطور متوسط کمتر از سایر ژنوتیپ‌ها بود. بیشترین فعالیت این آنزیم در ژنوتیپ AC-stirling در سطح 100 میلی‌مولار نمک مشاهده شد (39 جذب به ازای هر میلی‌گرم پروتئین) که با سطح شوری 50 میلی‌مولار نمک اختلاف معنی‌دار نداشت (شکل 1). تحقیقات نشان داده که تغییرات در فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدان بسته به شدت و مدت تنش، ژنوتیپ گیاه، غلظت نمک و شرایط محیطی متفاوت باشند (14، 17). وایداناتان و همکاران (28) افزایش میزان فعالیت سوپر اکسیددیسموتاز را با افزایش شدت شوری در مطالعه خود بر روی برنج گزارش کردند. اشرف و علی (6) نیز با مطالعه تأثیر شوری بر روی ژنوتیپ‌های کلزا افزایش میزان فعالیت سوپر اکسیددیسموتاز را با افزایش شدت شوری گزارش کردند. سایر گزارشات نیز در هماهنگی با نتایج مطالعه حاضر حاکی از این است که فعالیت سوپر اکسیددیسموتاز تحت شرایط تنش شوری در ژنوتیپ‌های متحمل به شوری گیاهان زراعی افزایش یافته است (15، 23). در گیاه آفتابگردان، تنش ناشی از فلز کادمیوم در برگ‌ها منجر به افزایش معنی‌دار در فعالیت سوپر اکسیددیسموتاز، گلوتاتیون ردوکتاز و کاتالاز گردید (30).

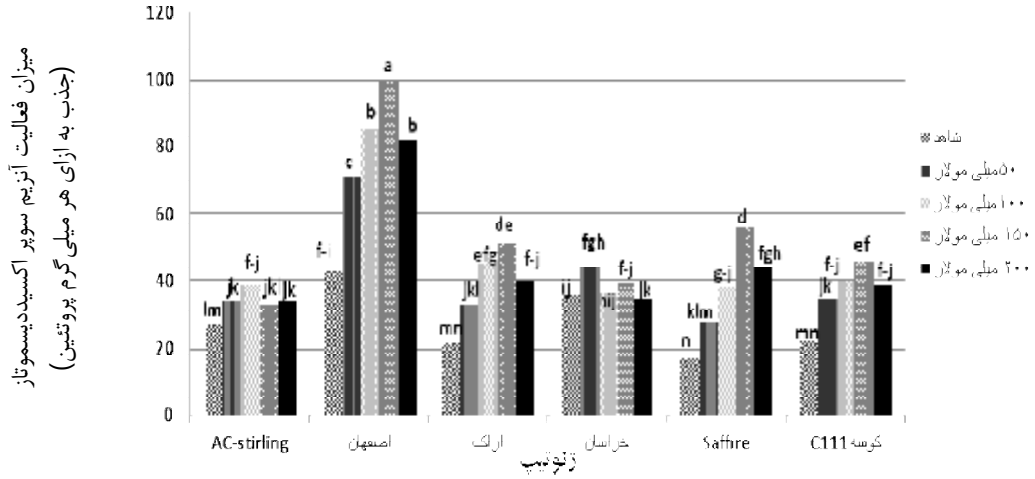
جدول 1- تجزیه واریانس میانگین مربعات تأثیر شوری و ژنوتیپ بر فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان و رشد گیاهچه گلرنگ

منبع تغییرات	درجه آزادی	میانگین مربعات					
		وزن خشک ریشه‌چه	فعالیت آنزیم سوپراکسید دسموتاز	فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز	طول ریشه‌چه	طول ساقچه	وزن خشک ساقه‌چه
ژنوتیپ	5	0/016**	3948/76**	1210/5**	13299**	4283**	0/088**
شوری	4	0/052**	1741/17**	1884/87**	50047**	19801**	0/373**
ژنوتیپ × شوری	20	0/0013ns	197/43**	238/86**	1181 ns	405/16ns	0/014 ns
اشتباه	60	0/0014	19/62	38/03	1247/29	298	0/011

ns، * و **: به ترتیب غیرمعنی‌دار و معنی‌دار در سطوح احتمال خطای آماری پنج و یک درصد

نتایج حاصل از تجزیه واریانس حاکی از تأثیر معنی‌دار سطوح شوری، ژنوتیپ و برهمکنش شوری و ژنوتیپ بر میزان فعالیت آنزیم اسکوربات پراکسیداز بود (جدول 1). مقایسه میانگین‌ها نشان داد که ژنوتیپ اصفهان با میزان91 جذب به ازای هر میلی‌گرم پروتئین دارای بیشترین و ژنوتیپ AC-stirling با 58 جذب به ازای هر میلی‌گرم پروتئین کمترین میزان فعالیت آسکوربات پراکسیداز را در شرایط نرمال داشتند (شکل 2). سطح شوری 50 میلی‌مولار نمک طعام موجب افزایش میزان فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز در تمام ژنوتیپ‌های مورد مطالعه گردید، اما روند افزایش در ژنوتیپ‌های مورد مطالعه متفاوت بود، به طوری که در این سطح شوری ژنوتیپ کوسه C111 با 38 درصد دارای بیشترین و ژنوتیپ Saffire با 7/7 درصد دارای کمترین افزایش فعالیت این آنزیم در

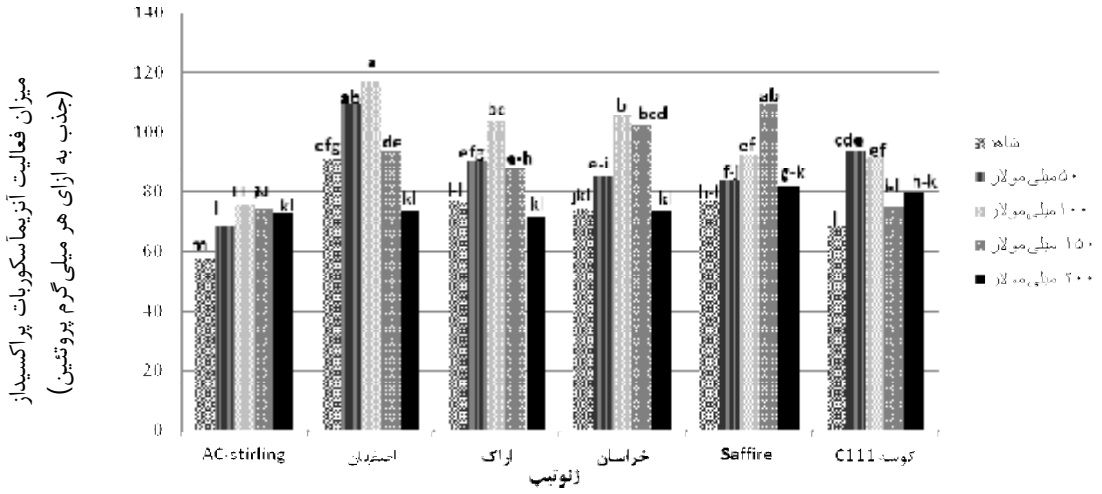
مقایسه با شاهد بودند. افزایش میزان شوری از 50 میلی‌مولار به 100 میلی‌مولار باعث افزایش معنی‌دار میزان فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز در ژنوتیپ‌های اراک و خراسان گردید، ضمن اینکه بیشترین فعالیت این آنزیم مربوط به ژنوتیپ اصفهان در شرایط تنش 100 میلی‌مولار نمک بود (شکل 2).



شکل 1 - میزان فعالیت آنزیم سوپر اکسیددیسموتاز در غلظت‌های مختلف نمک NaCl در ژنوتیپ‌های گلرنگ

میانگین‌هایی که حداقل دارای یک حرف مشترک هستند بر اساس آزمون $LSD_{\alpha=0.05}$ با هم اختلاف معنی‌داری ندارند.

افزودن 150 میلی‌مولار نمک طعام به محیط غذایی باعث کاهش معنی‌دار میزان فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز نسبت به سطح شوری 100 میلی‌مولار در ژنوتیپ‌های اصفهان ، اراک و کوسهC111 گردید (شکل 2) در حالی که افزودن 150 میلی‌مولار نمک طعام موجب افزایش معنی‌دار میزان آنزیم آسکوربات پراکسیداز در ژنوتیپ Saffire شد. در بین ژنوتیپ‌ها بیشترین فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز در این سطح شوری به این رقم اختصاص داشت. افزودن 200 میلی‌مولار نمک طعام به محیط غذایی باعث کاهش معنی‌دار میزان فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز نسبت به سطح شوری 150 میلی‌مولار در ژنوتیپ‌های اراک، Saffire، خراسان و اصفهان گردید. بطور متوسط میزان فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز در ژنوتیپ AC-stirling نسبت به سایر ژنوتیپ‌ها کمتر بود. با توجه به اینکه در محیط تنش شوری میزان فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز نسبت به شاهد افزایش معنی‌داری داشت (شکل 2)، با توجه به آستانه تحمل شوری ژنوتیپ‌های مورد استفاده، واکنش متفاوت در رابطه با فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز مشاهده شد. در مطالعه حاضر در سطح شوری 200میلی‌مولار نمک فعالیت آنتی‌اکسیدان آسکوربات پراکسیداز کاهش پیدا کرد که احتمالاً ناشی از آسیب‌پذیری اندام‌های درگیر در فعالیت آنتی‌اکسیدانی در اثر شوری بالا می‌باشد (24).

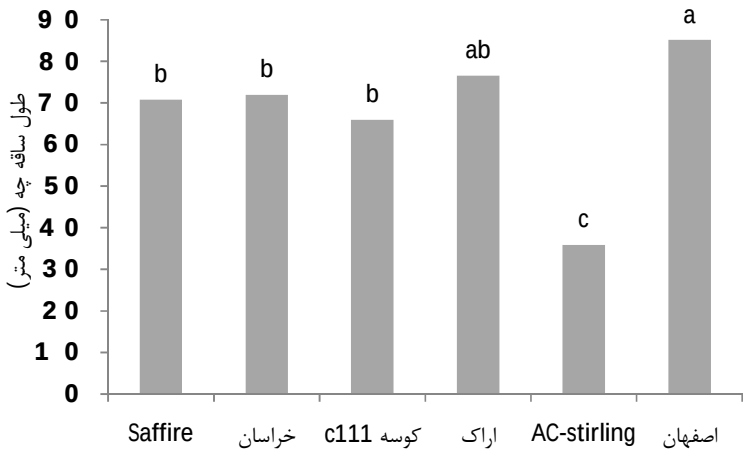


شکل 2- مقایسه میانگین میزان فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز در غلظت‌های مختلف نمک NaCl در ژنوتیپ‌های گلرنگ

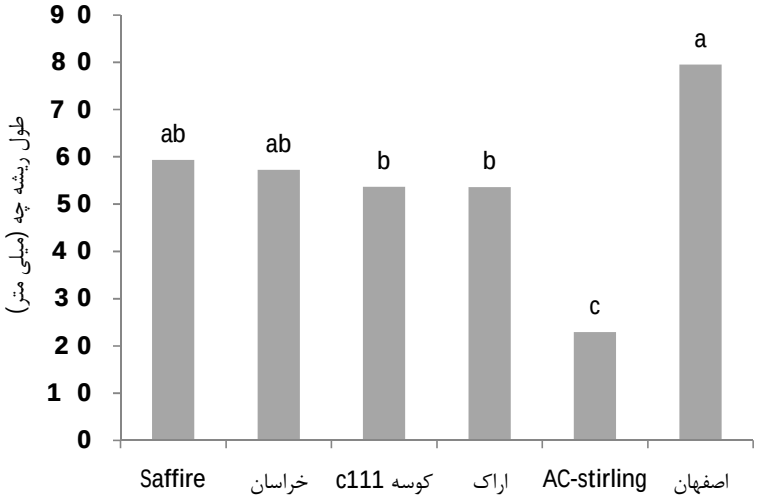
میانگین‌هایی که حداقل دارای یک حرف مشترک هستند بر اساس آزمون $LSD_{\alpha=0.05}$ با هم اختلاف معنی‌داری ندارند.

طول ریشه‌چه و طول ساقه‌چه

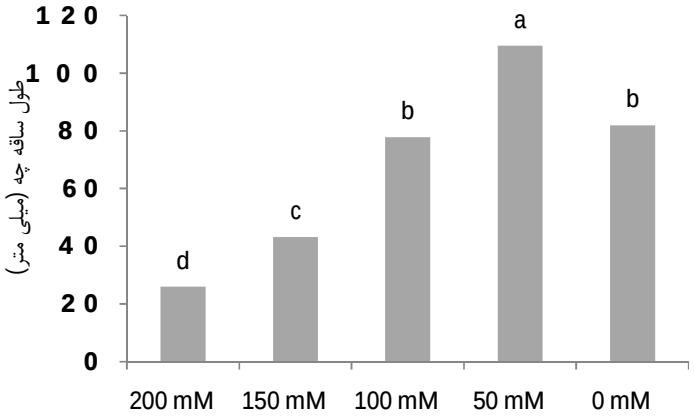
نتایج تجزیه واریانس نشان داد که بین ژنوتیپ‌های مورد مطالعه و سطوح مختلف شوری تفاوت معنی داری از نظر طول ریشه‌چه و طول ساقه‌چه وجود داشت در حالیکه برهمکنش ژنوتیپ و شوری بر این دو صفت معنی‌دار نبود (جدول 1). بر اساس شکل‌های 3 و 4، بیشترین مقدار طول ریشه‌چه و طول ساقه‌چه در ژنوتیپ اصفهان و کمترین آن در ژنوتیپ Ac-stirling مشاهده شد. ژنوتیپ اصفهان از نظر طول ریشه‌چه با ژنوتیپ‌های خراسان و Saffire و از نظر طول ساقه‌چه با ژنوتیپ اراک اختلاف معنی‌داری نداشت (شکل 3و 4). مقایسه میانگین سطوح مختلف شوری برای صفات طول رشه‌چه و طول ساقه‌چه نشان داد که افزایش شوری به 50 میلی‌مولار نمک باعث افزایش طول ساقه‌چه گردید ولی از نظر طول ریشه‌چه با تیمار شاهد اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد (شکل 5 و 6). افزایش بیش از 50 میلی‌مولار نمک باعث کاهش معنی‌دار این دو صفت شد (شکل 5 و 6). در مطالعه‌ای که اثر تنش شوری در مرحله گیاهچه‌ای گلرنگ مورد بررسی قرار گرفت، کاهش معنی‌دار طول ریشه‌چه با افزایش میزان شوری در این گیاه گزارش گردید (16). طول ریشه از صفات مهم در تحمل به تنش شوری می‌باشد زیرا برای جذب آب و مواد غذایی به صورت مستقیم با خاک در ارتباط است (13). کاهش طول ریشه در شرایط شور ناشی از کاهش پتانسیل آب در محیط ریشه که موجب کمبود آب، آثار سمیت یونی و کاهش جذب مواد غذایی توسط ریشه می‌شود، می‌باشد(16).



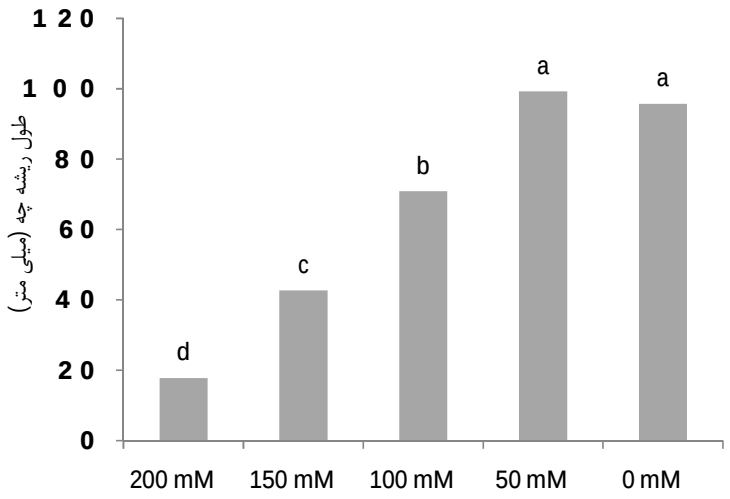
شکل 3- مقایسه میانگین طول ساقه‌چه ژنوتیپ‌های مختلف گلرنگ



شکل 4- مقایسه میانگین طول ریشه‌چه ژنوتیپ‌های مختلف گلرنگ



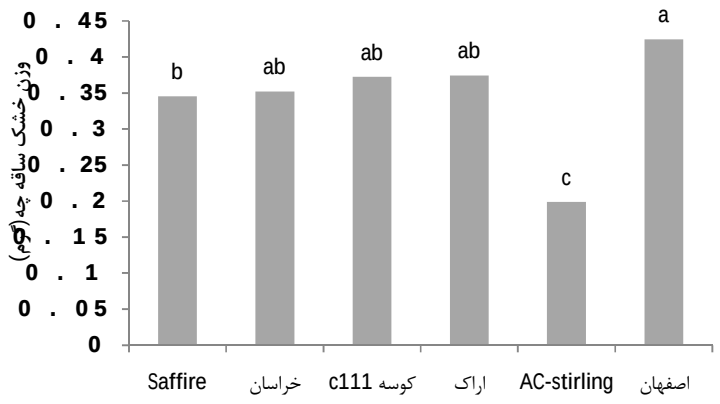
شکل5- مقایسه میانگین طول ساقه‌چه در سطوح مختلف شوری



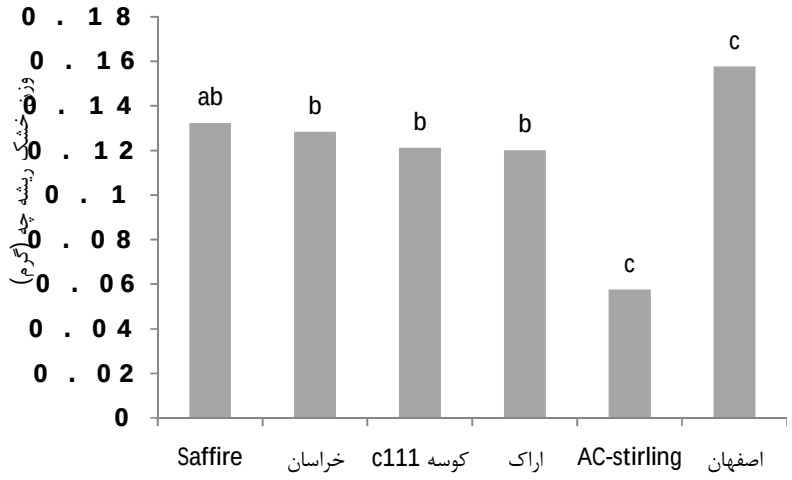
شکل 6- مقایسه میانگین طول ریشه‌چه در سطوح مختلف شوری

وزن خشک ریشه‌چه و ساقه‌چه

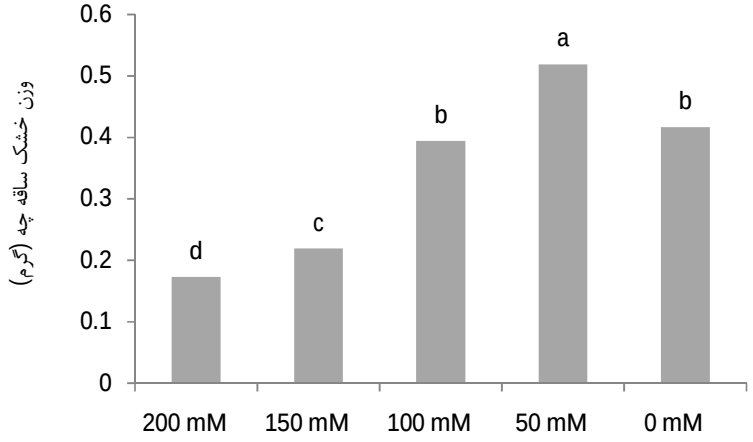
نتایج تجزیه واریانس حاکی از تأثیر معنی‌دار سطوح شوری و ژنوتیپ بر وزن خشک ریشه‌چه و ساقه‌چه بود. در حالی‌که برهمکنش ژنوتیپ و شوری بر این صفات معنی‌دار نبود (جدول 1). از نظر صفت وزن خشک ساقه‌چه ژنوتیپ اصفهان با وزن 424 میلی‌گرم بر بوته بیشترین وزن را دارا بود که با ژنوتیپ‌های اراک، کوسه C111 و خراسان تفاوت معنی‌دای نداشت و ژنوتیپ Ac-stirling دارای کمترین وزن (198 میلی‌گرم بر بوته) بود که با سایر ژنوتیپ‌ها اختلاف معنی‌داری نشان داد (شکل 7). با توجه به شکل 8 ژنوتیپ اصفهان دارای بیشترین وزن خشک ریشه‌چه (157 میلی‌گرم بر بوته) می‌باشد که با ژنوتیپ Saffire تفاوت معنی‌داری ندارد و ژنوتیپ Ac-stirling دارای کمترین وزن ریشه‌چه (57 میلی‌گرم بر بوته) بود. شکل 9 نشان می‌دهد که بیشترین مقدار وزن خشک ساقه‌چه در میان سطوح تنش شوری در سطح تنش شوری 50 میلی‌مولار و کمترین آن در سطح تنش شوری 200 میلی مولار مشاهده شد. وزن خشک ریشه‌چه در سطوح شوری صفر (شاهد) و 50 میلی مولار تفاوت آماری معنی‌داری نشان ندادند، در حالی که افزایش بیشتر نمک (سطوح 100، 150 و 200 میلی‌مولار نمک طعام) باعث کاهش معنی‌دار در وزن خشک ریشه‌چه گردید (شکل 14). مانز و همکاران (21) کاهش وزن خشک غلات را ناشی از سمیت یونی و عدم تعادل غذایی عنوان کردند که باعث کاهش جذب مواد غذایی توسط ریشه از خاک می‌شود. کایا و همکاران (16) گزارش نمودند تنش شوری سبب کاهش وزن خشک ریشه و اندام هوایی گلرنگ شد. ایشان تجمع یون سدیم و کلر در برگ و ریشه گلرنگ را عامل این کاهش رشد بیان نمودند.



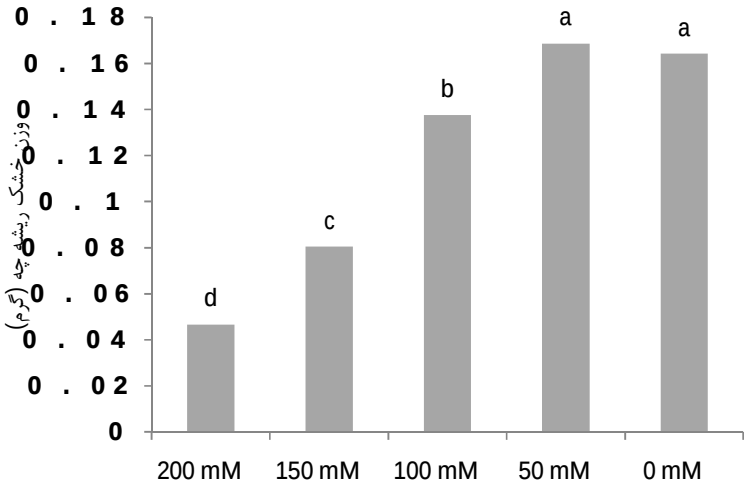
شکل 7- مقایسه میانگین وزن خشک ساقه‌چه ژنوتیپ‌های مختلف گلرنگ



شکل 8- مقایسه میانگین وزن خشک ریشه‌چه ژنوتیپ‌های مختلف گلرنگ



شکل 9- مقایسه میانگین وزن خشک ساقه‌چه گلرنگ در سطوح مختلف شوری



شکل 10- مقایسه میانگین وزن خشک ریشه‌چه گلرنگ در سطوح مختلف شوری

نتیجه‌گیری

نتایج تحقیق حاضر نشان داد ارقام اصفهان و Saffire از نظر صفاتی مانند طول ساقه‌چه، طول ریشه‌چه و وزن خشک ریشه‌چه بر سایر ارقام برتری داشتند. همچنین این دو رقم در شرایط تنش شوری میزان فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدانت بیشتری داشتند که می‌تواند در برنامه‌های اصلاحی گلرنگ برای تحمل تنش شوری مورد توجه قرار گیرد. پیشنهاد می‌شود در تحقیقات آینده میزان تحمل به تنش شوری این ارقام بر اساس شاخص‌های تحمل بر تنش بررسی شود.

منابع

1. **آلیاری، ه.، شکاری ف. و شکاری، ف.** 1379. دانه‌های روغنی، زراعت و فیزیولوژی. انتشارات عمیدی. 182 صفحه.

2. **گلکار، پ. و امیری پور م.** 1391. اصلاح گیاهان زراعی برای تحمل تنش خشکی، (ترجمه). انتشارات کنکاش، اصفهان، 421 صفحه.

3. **Almansouri, M., Kinet, J. M. and Lutts, S. 2001.** Effect of salt and osmotic stresses on germination in durum wheat (*Triticum durum* Desf.). Plant and Soil, 231: 243–254.

4. **Alscher, R., Donahue, J. and Cramer, C. 1997.** Reactive oxygen species and antioxidants: relationship in green cells. Physiologia Plantarum, 100: 224-233.

5. **Arzani, A. 2008.** Improving salinity tolerance in crop plants: a biotechnological view. In Vitro Cellular and Developmental Biology - Plant, 44: 373-383.

6. **Ashraf, M. and Ali, Q. 2008.** Relative membrane permeability and activities of some antioxidant enzymes as the key determinants of salt tolerance in canola (*Brassica napus* L.). Environmental and Experimental Botany, 63: 266-273.

7. **Beauchamp, C. and Fridovich, I. 1971.** Superoxide dismutase: improved assays and an assay applicable to acrylamide gels. Analytical Biochemistry, 44: 276-287.

8. **Bolkhia, O., Virolinen, E. and Fagerstedt, K. V. 2003.** Antioxidants oxidative damage and oxygen deprivation stress. Annals of Botany, 91: 179-194.

9. **Chi Lin, C. and Huei Kao, C. 2000**. Efeect of NaCl stress on H_2O_2 metabolism in rice leaves. Plant Growth Regulation, 30: 151-155.

10. **Dai, Q. L., Chen, C., Feng, B., Liu, T. T., Tian, X., Gong , Y. Y., Sun, Y. K., Wang, J. and Du, S. Z. 2009**. Effects of different NaCl concentration on the antioxidant enzymes in oilseed rape (*Brassica napus* L.) seedlings. Plant Growth Regulation, 59: 273-278.

11. **Gambarova, N. G. and Gins, M. S. 2008.** Characteristics of oxidative stress of plants with C_3 and C_4 photosynthesis during salinization. Russian Agricultural Sciences, 34:77-80.

12. **Ghazizade, M., Golkar, P. and Salehinejad, F. 2012.** Effect of Salinity Stress on Germination and Seedling characters in Safflower (*Carthamus tinctorius* L.) genotypes. Annals of Biological Research, 3 (1):114-118.

13. **Golkar, P. 2011.** Inheritance of salt tolerance in safflower (*Carthamus Tinctorius* L.). Advances in Environmental Biology, 5(11):3694-3699.

14. **Hafsi, C., Romero-Puertas, M., Gupta, D. K., del Río, L. A., Sandalio, L. M. and Abdelly , C. 2010.** Moderate salinity enhances the antioxidative response in the halophyte *Hordeum maritimum* L. under potassium deficiency. Environmental and Experimental Botany, 69: 129-136.

15. **Hoque, M., Okuma, E., Banu, M., Nakamura,Y., Shimoishi, Y. and Murata, Y. 2007**. Exogenous proline mitigates the detrimental effects of salt stress more than exogenous betaine by increasing antioxidant enzyme activities. Journal of Plant Physiology, 164: 553-561.

16. **Kaya, M. D., Ipek, A. and Ozturk , A. 2003**. Effects of different soil salinity levels on germination and seedling growth of safflower (*Carthamus tinctorius* L.). Turkish Journal of Agriculture and Forestry, 27: 221–227

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

18. **Mittler, R. 2002**. Oxidative stress, antioxidants and stresss tolerance. Trends in Plant Science, 7: 405-410.

19. **Mokhamed, A. M., Raldugina, G. N., Kholodova, V. P. and Koznetov, V. V. 2006**. Osmolyte accumulation in different rape genotypes under sodium chloride salinity. Russian Journal of Plant Physiology, 53: 649-655.

20. **Mostafavi, K. 2011.** An evaluation of safflower genotypes (*Carthamus tinctorius* L.), seed germination and seedling characters in salt stress conditions. African Journal of Agricultural Research, 6(7): 1667-1672.

21. **Munns, R., James, R. A. and Lauchli, A. 2006.** Approaches to increasing the salt tolerance of wheat and other cereals. Journal of Experimental Botany, 57: 1025-1043.

22. **Nakano, Y. and Asada, K. 1981.** Hydrogen peroxide is scavenged by ascorbat espesific peroxidase in spinach chloroplasts. Plant and Cell Physiology, 22: 867–880.

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

24. **Sairam R. K., Rao, K. V. and Srivastava, G. C. 2002**. Differential response of wheat genotypes to long term salinity stress in relation to oxidative stress, antioxidant activity and osmolive concentration. Plant Science, 163:1037-1046.

25. **Seckin, B., Turkan, I., Sekmen, A .H. and Ozfidan, C. 2010**. The role of antioxidant defense systems at differential salt tolerance of *Hordeum marinum* and *Hordeum vulgare* L., Environmental and Experimental Botany, 69: 76–85.

26. **Shahbazi, E., Arzani, A. and Saeidi, G. 2011**. Effects of NaCl treatments on seed germination on seed and antioxidant activity of canola (*Brassica napus* L.) cultivars. Bangladesh Journal of Botany, 41(1): 67-73.

27. **Sudhakar, C., Lakshmi, A. and Giridarakumar, S. 2001**. Changes in the antioxidant enzymes efficacy in two high yielding genotypes of mulberry (*Morus alba* L.) under NaCl salinity. Plant Science, 161: 613–619.

28. **Vaidyanathan, H., Sivakumar, P., Chakrabarty, R. and Thomas, G. 2003**. Scavenging of reactive oxygen species in NaCl-stressed rice (*Oryza sativa* L.) – differential response in salt-tolerant and sensitive varieties. Plant Science, 165: 1411-1418.

29. **Yan, P., Li, J. W. and Zeng, L. Y. 2006**. Effect of salt and drought stress on antioxidant enzymes activities and SOD isoenzymes of liquorice (*Glycyrrhiza uralensis* Fisch). Plant Growth Regulation,49: 157-165.

30. **Yannerelli, G. G., Gallego, S. M. and Tamaro, M. L. 2006**. Effect of UV-B radiation on the activity and isoforms of enzymes with peroxidase activity in sunflower cotyledons. Environmental and Experimental Botany, 56:174-181.

31. **Zamani, S., Nezami, M. T., Habibi, D. and Khorshidi, M. B. 2010**. Effect of quantitative and qualitative performance of four canola cultivars (*Brassica napus* L.) to salinity conditions. Advances in Environmental Biology, 4: 422-427.

32. **Zhu, J. K. 2001**. Over expression of a delta-pyrroline-5-carboxylate synthetase gene and analysis of tolerance to water and salt stress in transgnic rice. Trends in Plant Science, 6: 66-72.

Effects of Salt Stress on antioxidants activity and seedling traits of Safflower (*Carthamus tinctorius* L.) Genotypes

Shahbazi E[1], Golkar P[2]

1- Department of Agronomy and Plant Breeding, College of Agriculture, Ramin University of Agriculture and Natural Resources, Ahvaz, Iran
2- Institute of Biotechnology and Bioengineering, Isfahan University of Technology, Isfahan, Iran

Abstract

Salt stress is one of the major a biotic stresses especially in arid and semi-arid regions. This investigation was conducted to evaluate the effects of the salt stress on APX and SOD activities in safflower genotypes based in a factorial experiment as a randomized complete block design (CRD) with three replications. The experimental factors were six genotypes of safflower (Arak, Isfahan, Khorasan, C111, AC-stirling and Saffire) and five levels salt stress (0(control), 50, 100, 150 and 200Mm NaCl). There was a significant difference between genotypes in activity of SOD and APX enzymes under salt stress, with notable superiority of Isfahan genotype over other genotypes. Maximum activity of SOD was 99.16 uni/g Fw for Isfahan genotype under 150 Mm NaCl. In general, it seems that Isfahan genotype had more tolerance to salinity and AC-stirling was sensitive to salt stress. The results showed that Isfahan genotype had the greatest APX activity with 91unit/gFW while AC-stirling has the lowest content with 58unit/g FW at control treatment. The activity of both enzymes increased with salt stress, that this increase was dependent on genotype. APX and SOD activity decreased at the 200 Mm NaCl concentrations. The reason for declining in enzyme activity may be returned to enzyme protein damage by high salt stress or adaptation of plants to salt stress. Analysis of seedling traits showed that similar to antioxidants context, the genotypes of Isfahan and Ac-sterling had the most and the least values for all of the studied traits. The result showed that Isfahan genotype could be proposed for salt breeding programs in safflower.

Key words: Safflower, Salt stress, Superoxide Dismutase (SOD), Ascorbate Peroxidase (APX)