DOI: http://dx.doi.org/10.22092/ijrdr.2014.8074

فصلنامه علمی-پژوهشی تحقیقات مرتع و بیابان ایران

جلد ۲۱، شماره ۱، صفحه ۹۴-۸۳ (۱۳۹۳)

اثرات شوری بر رشد، فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان و انباشتگی ترکیبات معدنی در گیاه *Puccinellia distans*

زهرا سلیمان‌نژاد[۱]، احمد عبدل‌زاده[۲*] و حمیدرضا صادقی‌پور[۳]

۱- دانشجوی دکتری زیست‌شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه گلستان

۲*- نویسنده مسئول، دانشیار، گروه زیست‌شناسی، دانشگاه گلستان، گرگان، پست‌الکترونیک: *ah_ab99@yahoo.com*

۳- دانشیار، گروه زیست‌شناسی، دانشگاه گلستان، گرگان

تاریخ دریافت: ۹۰/۱۲/۹ تاریخ پذیرش: ۹۱/۳/۲۲

چکیده

گیاه *Puccinellia distans* گیاهی چند ساله مرتعی و مقاوم به شوری از تیره گندمیان می‌باشد. این پژوهش به‌منظور بررسی چگونگی اثر سطوح مختلف شوری، بر رشد، فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان و عناصر معدنی گیاه *Puccinellia distans* انجام شد. آزمایش بر پایه طرح کاملاً تصادفی با پنج تکرار در گلخانه به اجرا در آمد. شوری شامل سه سطح ۰، ۱۰۰ و ۲۰۰ میلی‌مولار کلرید سدیم بود. گیاهان قبل از رسیدن به مرحله زایشی برداشت شدند. نتایج آزمایش نشان داد که تیمارهای شوری منجر به کاهش صفات رشد شامل طول بخش هوایی و کل، وزن تر و وزن خشک، تعداد برگ و میزان آب نسبی گیاه گردید. شوری سبب افزایش میزان سدیم، کاهش میزان پتاسیم و همچنین کاهش نسبت پتاسیم به سدیم در بخش هوایی و ریشه شد. فعالیت آنزیم‌های کاتالاز و پلی‌فنل‌اکسیداز بخش هوایی در تیمار ۲۰۰ میلی‌مولار کلرید سدیم نسبت به شاهد کاهش یافتند، هرچند این تیمار شوری فعالیت آنزیم‌های کاتالاز، پراکسیداز محلول و دیواره‌ای و پلی‌فنل‌اکسیداز در ریشه و پراکسیداز دیواره‌ای در بخش‌هوایی را افزایش داد. شوری باعث افزایش کلروفیلa، کلروفیل کل و کاروتنوئیدها و کاهش میزان پراکسید هیدروژن شد، اما اثر معنی‌داری در میزان پراکسیداسیون لیپید بخش هوایی و ریشه گیاه نداشت. این نتایج نشان می‌دهد که تیمارهای شوری به‌رغم کاهش رشد و افزایش یون سدیم در گیاه *Puccinellia distans* منجر به تنش اکسیداتیو نشده است. احتمال دارد که کاهش میزان پتاسیم و نسبت پتاسیم به سدیم و کاهش میزان آب نسبی در کاهش رشد ناشی از شوری دخیل باشد.

واژه‌های کلیدی: انباشتگی عناصر معدنی، آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان، *Puccinellia distans*، شوری

مقدمه

تنش شوری احتمالاً اولین تنش شیمیایی است که موجودات زنده در طول تکامل با آن مواجه شده‌اند. شوری، بیش از ۸۰۰ میلیون هکتار از اراضی کشاورزی را تحت تأثیر قرار داده است که این میزان یا تحت تأثیر شوری هستند (۳۹۷ میلیون هکتار) و یا سمیت ناشی از شوری منجر به کاهش شدید بازده آنها شده است (۴۳۴ میلیون هکتار) (Fao, *2005*). کشور ما از نظر اقلیمی در منطقه خشک و نیمه‌خشک دنیا قرار دارد؛ از این‌رو شوری یکی از مشکلات عمده برای رشد رستنی‌های طبیعی در بسیاری از مناطق کشور ماست و در برخی نواحی زمین‌هایی با رستنی‌های کم و بسیار تنک و حتی فاقد رستنی را به وجود می‌آورد (جعفری، ۱۳۷۹). با وجود سال‌ها پژوهش در مورد سازوکارهای تحمل به شوری در گیاهان اختلاف‌نظر وجود دارد که دلالت بر دشواری متمایز کردن اثرات اسمزی ناشی از کاهش جذب آب و اثرات یون‌های سمی می‌باشد (Marschner, *1986* ;Greenwey & Munns, *1980*). یکی از اثرات اصلی تنش شوری، تنش اسمزی حاصل از آن است، زیرا شوری خاک در محیط ریشه، پتانسیل آب خاک را به شدت منفی می‌کند که باعث کاهش جذب آب

توسط گیاه می‌شود (Tester & Devenport, 2003). از طرف دیگر، در گیاهان تحت تأثیر تنش شوری، انباشتگی یون‌های سمی سدیم و کلر در آپوپلاست بهم‌خوردن توازن اسمزی و بار الکتریکی طرفین غشاهای زیستی را به دنبال دارد (Munns, *et al.*, 2002; Tester & Devenport, 2003) تنش شوری باعث می‌شود یون‌هایی مثل Na^+ و Cl^- به داخل لایه‌های آب‌دوست پروتئین‌ها نفوذ کرده و اختلال در کار این پروتئین‌ها را سبب شوند. همچنین، زیادی یون‌های سدیم و کلر موجب کاهش جذب یون‌های ضروری ازجمله پتاسیم، کلسیم، نیترات و آمونیم شده و نیز از فعالیت آنزیم‌ها کاسته و ساختار غشا را بر هم می‌زند (Lacan & Durand,1996 ;Greenwey & Munns, 1980; Marschner, 1995) این اثرات سبب کاهش فعالیت‌های متابولیکی گیاه ازجمله فتوسنتز شده و از رشد گیاهان در محیط‌های شور می‌کاهد (Greenwey & Munns, 1980; Marschner, 1995). سمیت ناشی از انباشتگی یون‌های سدیم و کلر، تنش اسمزی و کمبود عناصر معدنی ضروری که در تنش شوری رخ می‌دهد سبب به هم خوردن توازن متابولیکی و در پی آن تنش اکسیداتیو در گیاه می‌گردد. تنش اکسیداتیو در گیاهان در نتیجه ازدیاد انواع اکسیژن مولکولی فعال (ROS: Reactive Oxygen Species) به‌وجود می‌آید که اثرات زیان‌باری بر غشاهای زیستی، اسیدهای هسته‌ای و پروتئین‌ها دارند (Elkahoui *et al.*, 2005; Sairam *et al.*, 2005). افزایش رادیکال‌های فعال اکسیژن باعث می‌شود سازوکارهای متنوعی برای کاهش اثرات سمی تنش اکسیداتیو در گیاه فعال شود. در این شرایط ممکن است میزان آنتی‌اکسیدان‌ها و آنزیم‌های مهار کننده ROS افزایش یابد که می‌توانند تنش اکسیداتیو را خنثی نموده و یا تخفیف دهند. افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان به‌عنوان سریع‌ترین واحدهای مقابله کننده در برابر حمله اکسیژن‌های فعال در تنش شوری توسط محققان متعددی گزارش شده است (Parida & Das, 2005; Tester & Devenport, 2003 ; Dirk & Montago, 2002) بنابراین بررسی اثرات تنش شوری به کمک آنزیم‌ها، می‌تواند با سرعت بیشتری به شناسایی پایه‌های مقاوم یک گیاه منجر شود، زیرا رابطه‌ی قوی بین تحمل تنش‌های محیطی و میزان فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان در گیاهان وجود دارد.

گیاه *Puccinellia distans* ازجمله گیاهان علفی چندساله است که در شمال استان گلستان و بسیاری از نقاط دیگر کشور به طور طبیعی می‌روید. این گیاه یک گونه خوشخوراک با پروتئین خام ۱۴/۳۵ تا ۱۶/۰۵ درصد و قابلیت هضم ۵۰ درصد می‌باشد (حسینی، ۱۳۷۳) و با توجه به مقاومت شوری قابل توجه آن می‌تواند برای اصلاح مراتع شور و چرای دام مورد استفاده قرار بگیرد (Langlosi *et* et al., 2003 Alshammary *et al.*, 2004 وحسینی، ۱۳۷۳). به علاوه، این گیاه برخی اوقات به صورت طبیعی در کنار تالاب‌ها رشد نموده و غرقاب می‌شود و به نظر می‌رسد که به تنش غرقابی مقاوم است، هر چند که گزارش مستندی در ارتباط با اثر تنش غرقابی در این گیاه وجود ندارد. البته در حیطه اطلاعات ما گزارشی از چگونگی تحمل شوری در گیاه *Puccinellia distans* وجود ندارد. بندانی و عبدل‌زاده (۱۳۸۶) گزارش نمودند که شوری تا حد ۲۰۰ میلی‌مولار کلرید سدیم سبب انباشتگی یون سدیم و کاهش رشد گیاه *Puccinellia distans* شد. فرض ما در این پژوهش چنین بود که شوری سبب افزایش انباشتگی یون‌های سمی و کاهش یون‌های ضروری شده و از این طریق تنش اکسیداتیو را در گیاه افزایش می‌دهد که این امر کاهش رشد گیاه را به دنبال دارد. در این راستا، گیاه *Puccinellia distans* در تیمارهای مختلف شوری در گلخانه کاشته شده و با اندازه‌گیری عواملی مانند رشد، غلظت یون‌هایی نظیر سدیم، پتاسیم و فسفر و ارزیابی میزان فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان و رنگدانه‌ها سعی گردید تا درک بهتری از سازوکار تحمل این گیاه نسبت به شوری فراهم گردد.

مواد و روش‌ها

در این پژوهش از بذر گیاه *Puccinellia distance parl* (*jacq.*) که از مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی استان گلستان تهیه شده بود استفاده گردید. بذرها پس از

ضدعفونی در بیستم شهریورماه سال ۱۳۸۹ در گلخانه دانشکده علوم دانشگاه گلستان، داخل گلدان‌های پلاستیکی حاوی شن کشت گردیدند. آبیاری و تغذیه بوته‌ها تا مرحله سه‌برگی به وسیله محلول ۱/۲ هوگلند انجام شد و پس از رسیدن گیاهان به مرحله سه برگی، گیاهچه‌ها به محیط کشت هیدروپونیک انتقال داده شدند. به این منظور از تشت‌های پلاستیکی با گنجایش هفت لیتر استفاده گردید و در هر تشت ۴ گیاهچه قرار داده شد که با استفاده از پنبه تثبیت گردید. آزمایش به صورت بلوک کامل تصادفی و با پنج بار تکرار انجام شد. عامل شوری شامل سه سطح ۰، ۱۰۰ و ۲۰۰ میلی‌مولار کلرید سدیم بود. برای مشاهده اثرات شوری تیماردهی یک هفته پس از انتقال به محیط کشت هیدروپونیک آغاز شد. محلول غذایی مورد استفاده هوگلند بود که هر هفته تعویض گردید. اسیدیته محلول غذایی همه روزه به کمک اسید کلریدریک و سود روی شش تنظیم شد. در طول دوره آزمایش حداکثر و حداقل دمای روز و شب در گلخانه به‌ترتیب ۳۰ و ۱۸ درجه سانتی‌گراد و میانگین رطوبت نسبی ۷۴٪ بود. گیاهان پس از رسیدن به حداکثر رشد رویشی یعنی ۸۰ روز پس از کاشت، برای بررسی رشد و تجزیه بیوشیمیایی برداشت شدند.

برای استخراج عناصر سدیم، پتاسیم و فسفر ۵۰ میلی‌گرم از پودر حاصل از ریشه و بخش هوایی نمونه‌ها با ۱۰ میلی‌لیتر اسید نیتریک و سپس سه میلی‌لیتر اسید پرکلریک زیر هود حرارت داده شد تا محلول کاملاً شفافی به‌دست آید. برای اندازه‌گیری کاتیون‌های سدیم و پتاسیم از دستگاه فلیم‌فتومتر JENWAY استفاده شد. اندازه‌گیری فسفات با استفاده از روش Irving و McLaughlin (۱۹۹۰) انجام گردید.

برای اندازه‌گیری فعالیت آنزیم‌های کاتالاز، پراکسیداز محلول و دیواره‌ای و پلی‌فنل‌اکسیداز، عصاره آنزیمی بافت تر گیاهان با استفاده از بافر فسفات ۱۰۰ میلی‌مولار با اسیدیته ۶/۸ استخراج شد (Liu & Huang, 2000) فعالیت آنزیم‌ها از روش اسپکتروفتومتری و با دستگاه (ShimadzoUV-160) اندازه‌گیری شد. فعالیت آنزیم کاتالاز و پراکسیداز با استفاده از روش Kar و Mishra (۱۹۷۶) فعالیت آنزیم پلی‌فنل‌اکسیداز با روش Resende و همکاران (۲۰۰۲) انجام شد.

اندازه‌گیری مقدار مالون‌دی‌الدهید (MDA) به‌عنوان شاخص پراکسیداسیون لیپید بر طبق روش Du و Bramlage (۱۹۹۲) انجام گردید. برای سنجش میزان کلروفیل و کاروتنوئید از روش Lichtenthaler (۱۹۸۷) استفاده شد.

محاسبه داده‌ها و رسم نمودارها در نرم‌افزار Excel و SAS انجام شد. کلیه داده‌ها با تجزیه واریانس یک عاملی تجزیه گردیدند و مقایسه میانگین‌ها با آزمون دانکن انجام شد.

نتایج

تیمار ۱۰۰ میلی‌مولار شوری اثر معنی‌داری در طول بخش هوایی و کل، وزن تر بخش هوایی و وزن خشک بخش هوایی و کل و تعداد برگ گیاه نداشت، هرچند که افزایش شوری در ۲۰۰ میلی‌مولار کلرید سدیم منجر به کاهش معنی‌دار کلیه عوامل رشد به غیر از طول ریشه و تعداد پنجه شد. همچنین طول ریشه، بخش هوایی و کل گیاه، وزن تر ریشه، وزن خشک ریشه، بخش هوایی و کل گیاه بین تیمارهای ۱۰۰ و ۲۰۰ میلی‌مولار کلرید سدیم تفاوت معنی‌داری نداشت. به علاوه این‌که میزان آب نسبی گیاهان تحت شوری به صورت معنی‌داری کاهش یافت (جدول۱).

غلظت یون سدیم در گیاهان شاهد ناچیز بود. تیمارهای شوری باعث افزایش تدریجی و معنی‌دار میزان سدیم در بخش هوایی و ریشه گیاه گردیدند. میزان یون پتاسیم در ریشه نسبت به بخش هوایی گیاه کم بود. تیمارهای ۱۰۰ و ۲۰۰ میلی‌مولار کلرید سدیم، میزان پتاسیم و نسبت پتاسیم به سدیم را هم در ریشه و هم در بخش هوایی نسبت به تیمار شاهد به‌صورت معنی‌داری کاهش دادند، اما این عوامل بین تیمارهای ۱۰۰ و ۲۰۰ میلی‌مولار کلرید سدیم تفاوت معنی‌داری نداشتند. تأثیر تیمارهای شوری بر میزان فسفر

ریشه معنی‌دار نبود، ولی تیمار ۲۰۰ میلی‌مولار کلرید سدیم باعث افزایش معنی‌دار غلظت فسفر در بخش هوایی گیاه شد (شکل۱).

تیمارهای شوری باعث افزایش معنی‌دار فعالیت آنزیم کاتالاز در بخش هوایی گیاه شد، هرچند که افزایش شوری در محیط ریشه فعالیت این آنزیم را به صورت معنی‌داری کاهش داد (شکل۲ الف و ب).

فعالیت آنزیم گایاکول پراکسیداز محلول در ریشه حدود سه برابر بیشتر از بخش هوایی گیاه بود. تیمار ۲۰۰ میلی‌مولار کلرید سدیم منجر به افزایش معنی‌دار فعالیت آنزیم گایاکول پراکسیداز محلول در ریشه گردید، اما تیمارهای شوری تأثیر معنی‌داری در فعالیت این آنزیم در بخش هوایی نداشتند (شکل۲ پ و ت).

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

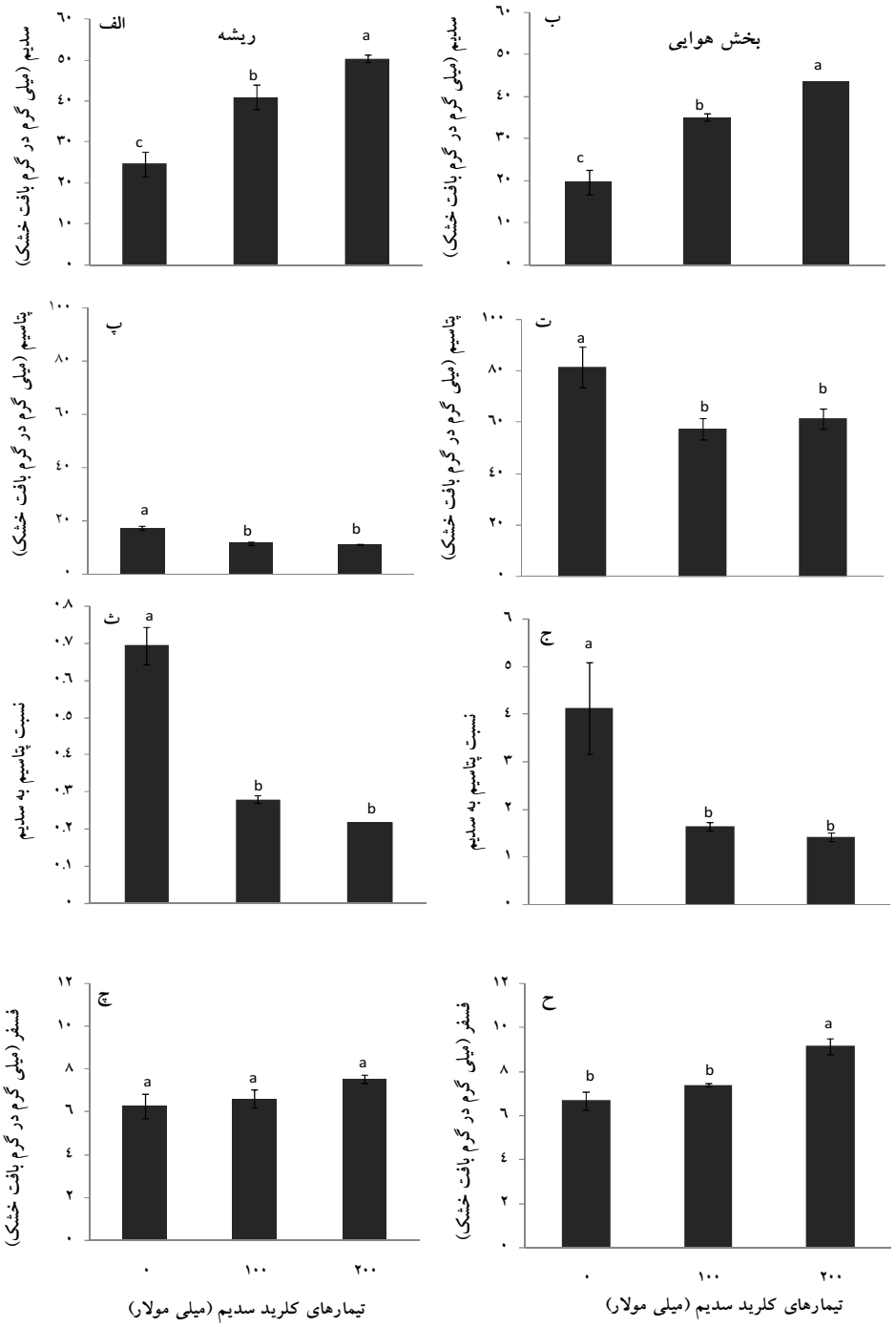
صفات رشد	سطوح شوری (میلی‌مولار کلرید سدیم)		
مورد بررسی	۰	۱۰۰	۲۰۰
طول ریشه (سانتی‌متر)	۲۷/۰۰±۱/۰۸[a]	۲۸/۴۲ ±۱/۶۰[a]	۲۵/۶۴ ±۱/۵۰[a]
طول بخش هوایی (سانتی‌متر)	۴۲/۹۳±۲/۳۶[a]	۳۸/۰۰ ±۱/۲۸[ab]	۳۳/۰۰ ±۱/۵۲[b]
طول کل (سانتی‌متر)	۷۰/۱۸±۲/۹۹[a]	۶۶/۱۸±۲/۶[ab]	۵۸/۸۱±۲/۷۸[b]
وزن تر ریشه (گرم)	۱۴/۹۸±۰/۴۶[a]	۱۲/۹۸±۰/۷۳[b]	۱۱/۱۷±۰/۶۹[b]
وزن تر بخش هوایی (گرم)	۳۱/۰۷±۲/۴۱[a]	۲۵/۷۲±۱/۵۹[a]	۱۹/۱۰±۱/۵۵[b]
وزن تر کل (گرم)	۴۶/۰۵±۲/۸۳[a]	۳۸/۷۱±۲/۱۳[b]	۳۰/۲۷±۲/۱۴[c]
وزن خشک ریشه (گرم)	۰/۷۹±۰/۰۲[a]	۰/۶۶±۰/۰۳[b]	۰/۵۶±۰/۰۳[b]
وزن خشک بخش هوایی (گرم)	۲/۹۲±۰/۱۹[a]	۲/۴۴±۰/۱۶[ab]	۲۰/۱۲±/۲۱[b]
وزن خشک کل (گرم)	۳/۷۱±۰/۲۰[a]	۳/۱۰±۰/۱۹[ab]	۲/۶۹±۰/۲۴[b]
درصد آب نسبی گیاه	۹۱/۸۶±۰/۰۸[a]	۹۱/۲۵±۰/۱۸[b]	۹۰/۷۷±۰/۱۶[c]
تعداد پنجه	۵۵/۷۵±۳/۴۴[a]	۵۹/۳۷±۳/۷۹[a]	۵۶/۰۰±۴/۴۵[a]
تعداد برگ	۱۹۸/۶۲±۸/۶۸[a]	۲۱۶/۳۷±۸/۳۴[a]	۱۶۵/۸۷±۱۱/۶۳[b]

خطای استاندارد ± میانگین با ۵ تکرار، میانگین‌های یک ردیف که حداقل دارای یک حرف مشترک باشند در سطح ۹۵٪ با آزمون دانکن با یکدیگر اختلاف معنی‌داری ندارند.

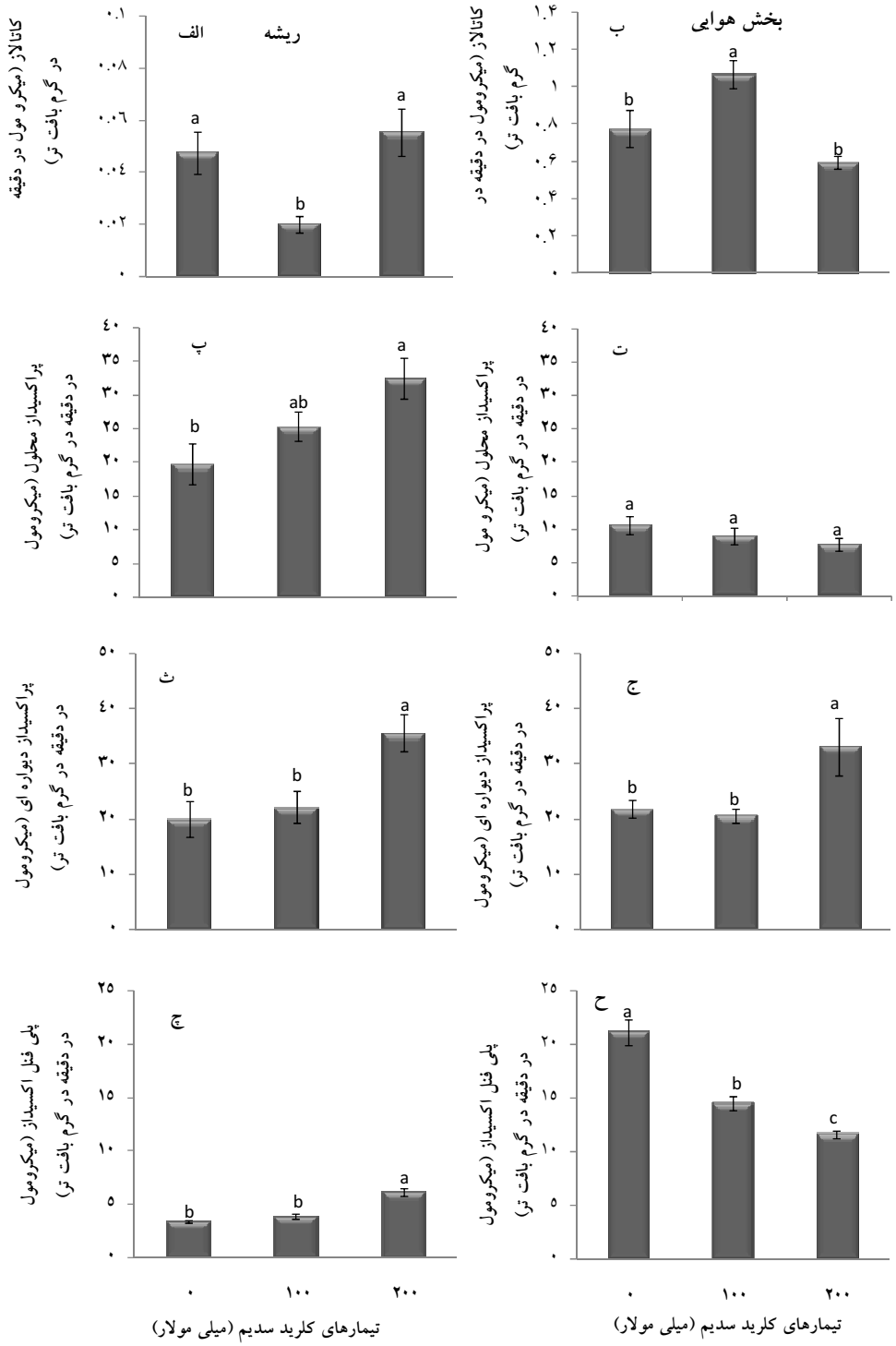
تیمار ۲۰۰ میلی‌مولار کلرید سدیم نسبت به شاهد باعث افزایش معنی‌دار فعالیت آنزیم گایاکول پراکسیداز دیواره‌ای در بخش هوایی و ریشه گیاه گردید، هرچند تیمار ۱۰۰ میلی‌مولار کلرید سدیم در فعالیت این آنزیم تأثیر معنی‌داری نداشت (شکل۲ ث و ج). تیمارهای شوری فعالیت آنزیم پلی فنل اکسیداز را در بخش هوایی به طور معنی‌داری کاهش دادند. بعکس در ریشه تیمار۲۰۰ میلی‌مولار کلرید سدیم منجر به افزایش معنی‌دار فعالیت این آنزیم شد (شکل۲ چ و ح). تیمارهای شوری منجر به کاهش میزان پراکسید هیدروژن در بخش هوایی و ریشه گیاهان شد (شکل۳ الف و ب). همچنین تیمارهای شوری در میزان پراکسیداسیون لیپید بخش هوایی و ریشه گیاه اثر معنی‌داری نداشت (شکل۳ پ و ت).

تیمارهای شوری سبب افزایش میزان کلروفیل a، کلروفیل کل و نسبت کلروفیل a به کلروفیلb گیاه، نسبت به تیمار صفر میلی‌مولار کلرید سدیم گردید. تیمارهای شوری اثر معنی‌داری در میزان کلروفیل b گیاه نداشتند. تیمار ۲۰۰ میلی‌مولار کلرید سدیم نسبت به تیمار صفر و ۱۰۰ میلی‌مولار کلرید سدیم به طور معنی‌داری میزان

کاروتنوئیدها را افزایش داد (شکل۴).



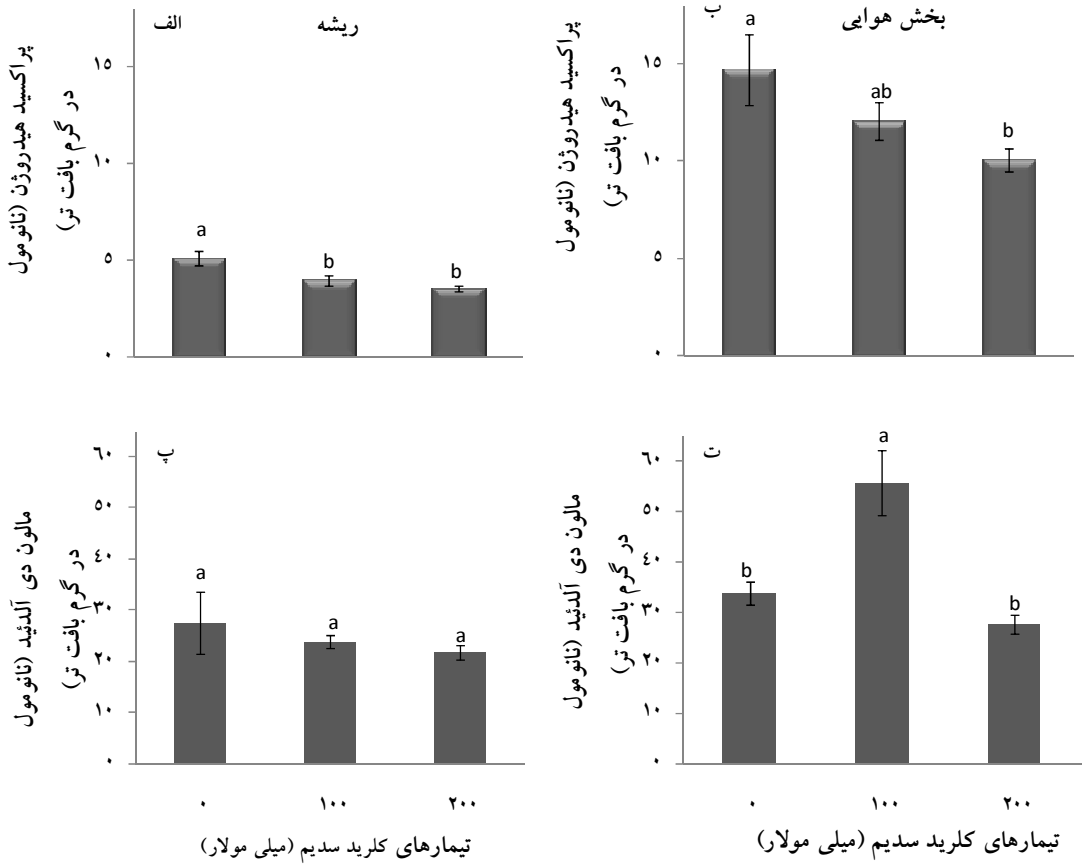
شکل ۱- مقایسه تأثیر تیمارهای شوری بر ترکیبات معدنی: الف و ب) میزان سدیم، پ و ت) میزان پتاسیم، ث و ج) نسبت پتاسیم به سدیم، چ و ح) میزان فسفر (میانگین‌هایی که حداقل دارای یک حرف مشترک باشند در سطح ۹۵٪ با آزمون دانکن با یکدیگر اختلاف معنی‌داری ندارند).



شکل ۲- مقایسه تأثیر تیمارهای شوری بر فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان: الف و ب) فعالیت آنزیم کاتالاز، پ و ت) فعالیت آنزیم پراکسیداز محلول، ث و ج) فعالیت آنزیم پراکسیداز دیواره‌ای، چ و ح) فعالیت آنزیم پلی فنل اکسیداز (میانگین‌هایی که حداقل دارای یک حرف مشترک باشند در سطح ۹۵٪ با آزمون دانکن با یکدیگر اختلاف معنی‌داری ندارند).

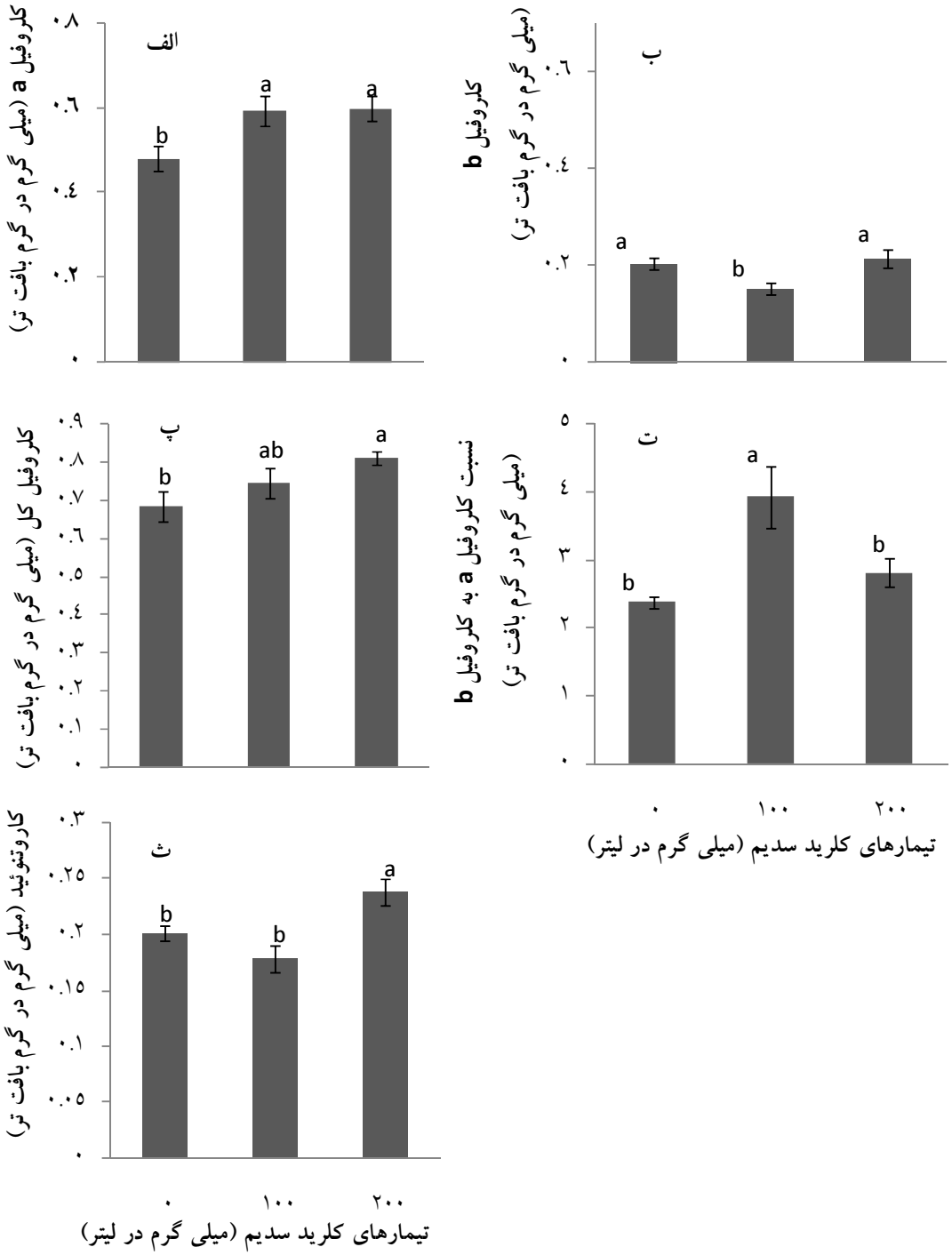
بحث

نتایج صفات رشد در دوره رویشی نشان داد که بالاترین وزن در تیمار صفر میلی‌مولار کلرید سدیم مشاهده شد، این نتیجه با نتایج حاصل از پژوهش Gulzar و همکاران (۲۰۰۵) در مورد گیاه هالوفیت *Sporobolus ioclados* مطابقت دارد. شوری سبب کاهش معنی‌دار وزن تر و خشک ریشه، بخش هوایی و کل و تعداد برگ‌های گیاه شد (جدول۱). در زیر دلایل این کاهش رشد بحث می‌گردد.



شکل ۳- مقایسه تأثیر تیمارهای شوری بر: الف و ب) میزان پراکسیدهیدروژن، پ و ت) میزان مالون دی آلدئید (میانگین‌هایی که حداقل دارای یک حرف مشترک باشند در سطح ۹۵٪ با آزمون دانکن با یکدیگر اختلاف معنی‌داری ندارند).

یکی از اثرات شوری کمبود آب در گیاه است که در نتیجه کاهش جذب آب به دلیل منفی‌تر شدن پتانسیل آب خاک ایجاد می‌گردد. این امر در کاهش درصد آب نسبی گیاه *Puccinellia distans* تحت شوری منعکس است. به علاوه این‌که کمبود آب در گیاه منجر به کاهش تورگر و اختلال در بزرگ شدن سلول‌ها می‌شود که ممکن است کاهش وزن و طول بخش هوایی گیاه را تحت شوری توجیه نماید. محققان متعددی کاهش جذب آب تحت تنش شوری را که به نوبه خود منجر به کاهش فشار تورگر و حجم سلول می‌شود، گزارش کرده‌اند (Poljakoff-Mayber et al., 1994, Munns, 1993) بنابراین به نظر می‌رسد که کمبود آب یکی از عوامل عمده کاهش رشد گیاه *Puccinellia distans* تحت شوری است.



شکل ۴- مقایسه تأثیر تیمارهای شوری بر میزان رنگدانه‌های فتوسنتزی: الف) میزان کلروفیل **a**، ب) میزان کلروفیل **b**، پ) میزان کلروفیل کل، ت) نسبت کلروفیل **a** به **b**، ث) میزان کاروتنوئید (میانگین‌هایی که حداقل دارای یک حرف مشترک باشند در سطح ۹۵٪ با آزمون دانکن با یکدیگر اختلاف معنی‌داری ندارند).

از اثرات دیگر شوری در گیاهان سمیت یون‌های سدیم و کلر است. افزایش کلرید سدیم در محیط کشت گیاه *Puccinellia distans* موجب افزایش یون سدیم در تمام پیکر گیاه گردید. محققان متعددی کاهش رشد گیاهان تحت شوری را ناشی از انباشتگی و سمیت یون‌های سدیم و کلر دانسته‌اند (Munns, 1993 ;Qasim *et al.*, 2003). یون‌هایی مثل Na^+ و Cl^-، به داخل لایه‌های آب‌دوست پروتئین‌ها نفوذ کرده و اختلال در کار این پروتئین‌ها را سبب می‌شوند. سطوح بالای سدیم و کلر اثرات سمی مستقیمی بر سیستم‌های غشایی و آنزیمی ایجاد می‌نماید (Anonymous,2000) همچنین شوری ممکن است سبب کمبود عناصر ضروری و عدم تعادل یونی در گیاهان شده و از این طریق کاهش رشد گیاهان را باعث گردد. در گیاه*Puccinellia distans* شوری باعث کاهش میزان پتاسیم و نسبت پتاسیم به سدیم شد که نتایج این پژوهش با نتایج (بندانی و همکاران، ۱۳۸۶) بر روی *Puccinellia distans* مطابقت دارد. تنش شوری از طریق سمیت ناشی از املاح سدیم و کلر و مداخله با جذب عناصر معدنی خصوصاً پتاسیم، گیاه را دچار کاهش رشد می‌کند (Tester & Devenport, 2003) در شرایط شور، جذب پتاسیم توسط سلول‌های ریشه در اثر رقابت با سدیم کاهش می‌یابد، به‌طوری‌که کاهش K^+ سبب کاهش فعالیت آنزیم‌ها، فتوسنتز، سنتز پروتئین و انتقال مواد می‌شود، که این امر ممکن است منجر به کاهش رشد گیاه گردیده باشد. در گیاه هالوفیت *Crithmum maritimum* در شوری ۲۰۰ میلی مولار به علت اختلال در مواد معدنی مانند پتاسیم، کلسیم و منیزیم رشد گیاه به طور قابل توجهی کاهش یافت (Ben Amor *et al.*, 2004). مقاومت در برابر تنش ثانویه متأثر از شوری در گیاه *Glycine falcata* نشان داد که دارای توانایی زیادی در نگهداری مقدار زیاد فسفر در تنش شوری است و در گیاه سویا نیز در حضور یون سدیم جذب فسفر تحریک گردید (بخشی خانیکی، ۱۳۸۳).

تنش شوری ممکن است منجر به تولید گونه‌های فعال اکسیژن (ROS) شده و از این طریق تنش را تشدید نماید. در نور و شوری بالا، عملکرد کوانتومی فتوسنتز کاهش می‌یابد و فعالیت فتوسیستم II کاهش یافته که منجر به تولید و تجمع ROS می‌شود (Orcutt & Nilson, 2000). گیاهان برای پالایش انواع اکسیژن فعال سازوکارهای آنزیمی و غیرآنزیمی را به کار می‌بندند که سازوکار آنزیمی آن شامل کاتالاز (CAT)، پراکسیدازها (POD)، آسکوربات پراکسیداز (APX)، سوپراکسید دیسموتاز (SOD)، گلوتاتیون ردوکتاز (GR) و سازوکار غیرآنزیمی آن شامل گلوتاتیون، آسکوربات و کاروتنوئید می‌باشد (Tiryakioglu *et al.*, 2006)

نتایج این آزمایش نشان داد که تیمار ۲۰۰ میلی‌مولار کلرید سدیم منجر به افزایش معنی‌دار فعالیت برخی آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان نظیر کاتالاز، پراکسیداز محلول و دیواره‌ای و پلی‌فنل‌اکسیداز ریشه و پراکسیداز دیواره‌ای بخش هوایی گردید. مطالعات متعددی همبستگی مثبت بین فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان و افزایش تنش شوری را نشان می‌دهند (Satyendra *et al.*, 1999). سازوکار اثر شوری در ارتباط با آنتی‌اکسیدان‌ها هنوز روشن نیست (Mohammad *et al.*, 1998)، ولی ممکن است براساس اثر Cl^- بر فتوسیستم دو (PSII) و یا اثر نسبت پتاسیم به سدیم در تمامیت غشا باشد (Wang *et al.*, 1998). به علاوه، شوری باعث کاهش میزان پراکسید هیدروژن در گیاه *Puccinellia distans* شده و هیچ‌گونه افزایشی در میزان پراکسیداسیون لیپید مشاهده نگردید. همچنین میزان کلروفیل‌ها و کاروتنوئید در گیاهان تحت شوری افزایش یافت (شکل۲، ۳ و ۴). این نتایج آشکار می‌سازد که افزایش یون سدیم، کمبود آب و کمبود یون پتاسیم در گیاه *Puccinellia distans* تحت شوری، احتمالاً تنش اکسیداتیوی ایجاد نکرده است. Ben Amor و همکاران (۲۰۰۴) در گیاه هالوفیت *Crithmum maritimum* گزارش کردند که در اثر افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان تحت تیمار شوری، میزان پراکسید هیدروژن و پراکسیداسیون لیپید افزایش معنی‌داری را نشان نداد. در تعداد زیادی از گیاهان ترانسژنیک مقاوم به شوری افزایش

بیان آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان تحت شوری گزارش شده است (Kolodyazhnaya *et al.*, 2009; Eyidogan & Oz, 2007) در گیاه نخود کبوتری نشان دادند که فعالیت آسکوربات پراکسیداز و پراکسیداز، همزمان با افزایش پراکسید هیدروژن، برای سمیت‌زدایی آن در ۲۰۰ میلی‌مولار کلرید سدیم به بیشترین سطح رسید. افزایش فعالیت آنزیم کاتالاز تحت تنش شوری در گیاهان نشان‌دهنده ارتباط سطح این آنزیم و تحمل شوری است (Mittova *et al.*,2003; Parida & Das, 2005; Lee *et al.*, 2001) در گیاه هالوفیت *Carpobrotus edulis* افزایش شوری تا ۴ گرم در لیتر میزان کلروفیل را افزایش داد (دلنواز هاشملویان و همکاران، ۱۳۸۹). Wang و Nil (۲۰۰۰) گزارش کردند که تحت تنش شوری میزان کلروفیل برگ در گیاه تاج خروس افزایش می‌یابد. همچنین شوری باعث افزایش مقدار کلروفیل در چغندرقند گردید (Dadkhah & Griffiths, *2004)* به نظر می‌رسد گیاه *Puccinellia distans* در بخش‌بندی یون‌های سمی و جلوگیری از انباشته شدن آنها در بافت‌های حساس موفق بوده است.

نتایج این مطالعه نشان داد که شوری منجر به کاهش رشد گیاه *Puccinellia distans* گردید، که این کاهش رشد را می‌توان به سمیت یونی، کاهش نسبت پتاسیم به سدیم و کمبود آب در گیاه نسبت داد، اما گیاه بدون هیچ‌گونه علائم آسیب قادر به زنده ماندن بود. بنابراین به نظر می‌رسد افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان و عدم وجود تنش اکسیداتیو که در کاهش میزان پراکسید هیدروژن و عدم تغییر پراکسیداسیون لیپید منعکس است، در تحمل شوری این گیاه تأثیر داشته باشد.

سپاسگزاری

بدین‌وسیله از مسئولان محترم معاونت پژوهشی دانشگاه گلستان برای فراهم آوردن بودجه پژوهشی (برای دانشجوی کارشناسی ارشد زهرا سلیمان‌نژاد) سپاسگزاری می‌شود. همچنین نویسندگان بر خود لازم می‌دانند از زحمات آقای پویان مهربان و زهرا کیانی برای مساعدت در کارهای آزمایشگاهی تشکر نمایند.

منابع مورد استفاده

-بخشی خانیکی، غ.، ۱۳۸۳. هالوفیت‌ها. انتشارات دانشگاه پیام نور، ۳۰۵ صفحه.

-بندانی، م. و عبدل‌زاده، ا.، ۱۳۸۶. اثر تغذیه سیلیکون در تحمل به شوری گیاه پوکسینلیا دیستنس. علوم کشاورزی و منابع طبیعی، ۱۴ (۳): ۹-۱.

-جعفری، م.، ۱۳۷۳. سیمای شوری و شورروی‌ها. انتشارات موسسه تحقیقات جنگل‌ها و مراتع.

-حسینی، ع.، ۱۳۷۳. بررسی اتکولوژی پوکسینلیا دیستنس در رویشگاه‌های شور و قلیایی شمال منطقه گرگان. پایان‌نامه کارشناسی ارشد، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی گرگان.

-دلنواز هاشم‌لویان، ب. عطائی عظیمی، ع.، نصیری سمنانی، ش.، ۱۳۸۹. مقایسه اثر نمک (NaCl) بر روی شاخص‌های فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی رشد گیاه انجیر ترش (carpobrotus) در کشت مایع و خاک. علوم زیستی دانشگاه آزاد اسلامی واحد زنجان، ۴ (۱): ۴۱-۳۳.

-Alshammary, S.F., Qian, Y.L. and Wallner, S.J., 2004. Growth response of four turfgrass species to salinity. Agricultural Water Managemet, 66: 97-111.

-Anonymous., 2000. Anonymous, The NSW Salinity Strategy, Department of Land and Water Conservation, Sydney, NSW

-Ben Amor N., Ben Hamed K., Debez A., Grignon, C. and Abdelly, C., 2004. Physiological and antioxidant responses of the perennial halophyte *Crithmum maritimum* to salinity. Plant science.

-Chen, L.M., Lin, C.C.and Kao, C.H., 2000. Copper toxicity in rice seedlings: changes in antioxidative enzyme activities, H_2O_2 level, and cell wall peroxidase activity in roots. Science, 41: 99- 103.

-Dadkhah, A. and Griffiths, H., 2004. Stomatal and nonstomatal components to inhibition of photosynthesis in leaves of sugar beet plants under salt stress. Iran agricultural research, 23: 35-50.

-Dirk, I. and Montago, M.V., 2002. Oxidative stress in plants. Taylor & Fransis. Du, Z. and Bramlage, W.J., 1992. Modified thiobarbituric acid assay for measuring lipid oxidation in sugar-rich plant tissue extracts. Journal of Agricultural and Food

Condon (Tony), A.G. Lindsay, P.M. Lagudah, S.E. Schachtman, P.D. and Hare, A.R., 2002. Avenues for increasing salt tolerance crap sand the role of physiology based selection traits. Plant and Soil, 247: 93-105.

-Orcutt, D. M. and Nilson, T., 2000. The physiology of plant under stress: soil and biotic factors. John Wiley and Sons, Inc. NY.

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

-Poljakoff- Mayber, A., Somers, G.F., Werker, E. and Gallegher, J.I., 1994. Seeds of *Kosteletzkyo Virginica* (Malvaceae), their structure, germination and salt tolerance. American Journal of Botany, 81: 54-59.

-Qasim, M., Ashraf, M., Ashraf, M.Y., Rehman, S.U. and Rha, E.S., 2003. Salt-induset changes in two canola cultivars differing in salt tolerance. Biological Plantarum, 46(4): 629-632.

-Resende, M. L. V., Nojosa, G. B. A., Cavalcanti, L. S., Aguilar, M. A. G., Silva, L. H. C. P., Perez, J. O., Andrade, G. C. G., Carvalho, G. A. and Castro, R. M., 2002. Induction of resistance in cocoa against *Crinipellis perniciosa* and *Verticillium dahliae* by acibenzolar-*S*-methyl (ASM). Plant Pathology, 51: 621-628.

-Sairam, R.K., Srivastava, S., Agarwal, S. and Meena, R.C., 2005. Differences in antioxidant activity in response to salinity stress in tolerant and susceptible wheat genotypes**.** Plantarum Plantarum, 49: 85- 91.

-Gulzar, S., Ajmal khan, M., Ungar, I.A. and Liu,X., 2005. Influence of salinity on growth and osmotic relations of *Sporobolus ioclados*. Pak. Journal of Botany, 37(1): 119-129.

-Satyendra, N.R., Stephan, W.B., Gossett, D.R. and Lucas, M.C., 1999. Antioxidant Response to Salt Stress During Fiber Development in Cotton Ovules. The Journal of Cotton Science 3:11-18.

-Tester, M. and Davenport, R., 2003. Na^+ tolerance Na^+ transport in higher plants. Annals of Botany, 91: 503 – 527.

-Tiryakioglu, M., Eker, S., Ozkutlu, F., Husted, S. and Cakmak, I., 2006. Antioxidant defense system and cadmium uptake in barley genotypes differing in cadmium tolerance. Journal of Trace Elements in Medicine and Biology, 20: 181-189.

-Wang, L.J., Liu, Y.L., Ma, K., Wang, J.Z. and Liu, X.N., Adv. 1998. Effect of NaCl treatment on free radical metabolism of fig. (*Ficus carica* L.) Calli. Advances in Horticultre, 2: 235-241.

-Wang, Y. and Nil, N., 2000. Changes in chlorophyll, ribulose biphosphate carboxylase–oxygenase, glycine betaine content, photosynthesis and transpiration in *Amaranthus tricolor* leaves during salt stress. Horticulture Science of Biotechnology, 75: 623 – 627.

Chemistry, 40: 1566-1570.

-Elkahoui, S., Hernandez, J. A., Abdelly, C. and Limam, F., 2005. Effects of salt on lipid peroxidation and antioxidant enzyme activities of *Catharanthus roseus* suspension cells. Plant Science, 168(3): 607–613.

-Eyidogan, F. and Oz, M.T., 2007. Effect of salinity on antioxidant responses of chickpea seedlings. Acta Physiologiae Plantarum, 29: 485–493.

-Fao.,2005. Food and Agriculture Organization of the United Nation (FAO). http://apps.fao.org.

-Greenwey, H. and Munns, R., 1980. Mechanism of salt tolerance in nonhalophytes. Annual Review of Plant Physiology, 31: 149-190.

-Irving, G.C.J. and McLaughlin, M.J., 1990. A rapid and simple test for phosphorus in Olsen and Bray No. 1 extracts of soil. Communication in Soil Science Plant Analysis, 21: 2245-2255.

-Kar, M. and Mishra, D., 1976. Catalase, Peroxidase and polyphenolxidase activities during rice leaf senescence. Plant Phsiology, 57: 315- 319.

-Kolodyazhnaya, Y.S., Kutsokon, N.K., Levenko, B.A., Syutikova, O.S., Rakhmetov, D.B. and Kochetov, A.V., 2009. Transgenic plants tolerant to abiotic stresses. Cytology and Genetics, 43(2):132–149.

-Lacan, D. and Durand, M., 1996. Na^+-K^+ exchange at the xylem / symplast boundary. Plant Physiology, 110: 705-711.

-Langlosi, E., Bonis, A. and Bouzille, J.B., 2003. Sediment and plant dynamics in saltmarshes pioneer xone: *Puccinellia* as a key species. Estuarine, Coastal and Shelf Science, 56: 239-249.

-Lee, D.H., Kim, Y.S. and Lee, C.B., 2001. The inductive responses of the antioxidant enzymes by salt stress in the rice (*Oryza sativa* L.). Journal of Plant Physiology, 158: 737-745.

-Lichtenthaler, H.K., 1987. Chlorophylls and carotenoids; pigments of photosynthetic membranes. Methods in Enzymology, 148: 350-382.

-Liu, X. and Huang, B., 2000. Heat stress injury in relation to membrane lipid peroxidation in creeping. Crop Science, 40: 503- 510.

-Marschner, H., 1995. Mineral nutrition of higher plants. Academic Press London.

-Mittova, V., Tal, M., Volokita, M. and Guy, M., 2003. Up-regulation of the leaf mitochondrial and peroxisomal antioxidative systems in response to salt-induced oxidative stress in the wild salt-tolerant tomato species *Lycopersicon pennellii*. Plant Cell & Environment, 26: 845–856.

-Mohammad, B., Kinet, J.M. and Lutts, s., 1998. Salt stress effects on roots and leaves of *Atriplex halimus* L. and their corresponding callus cultures. Plant science, 137: 131- 142.

-Munns, R., 1993. Physiological processes limiting plant growth in saline soil some dogmas and hypotheses. Plant Cell & Environment, 16: 15-24.

-Munns, R., Husain, S. Rivelli, R.A. James, A.R.

Effects of salinity on growth, antioxidant enzymes activity and ions accumulation in *Puccinellia distans* (jacq.) parl.

Z. Soleimannejad[1] , A. Abdolzadeh [2*] and H.R. Sadeghipour[3]
1- PhD Student, Department of Biology, Faculty of Science, Golestan University, Gorgan, Iran
2-* Corresponding Author, Associate Professor, Department of Biology Golestan University, Email: a.abdolzadeh@gu.ac.ir
3- Associate Professor, Department of Biology, Faculty of Science, Golestan University, Gorgan, Iran,

Received: 28/2/2012 Accepted: 11/6/2012

Abstract
Puccinellia distans is a perennial, salt tolerant forage species that belongs to *Poaceae* family. The main objective of the present study was to evaluate the effect of different levels of salinity on growth, antioxidant enzymes activity and mineral accumulation in *Puccinellia distans*. The experiment was conducted based on a completely randomized design with five replications in green house. Salinity levels included 0, 100 and 200 mM NaCl. Plants were harvested before reproductive stage. The results indicated that salinity imposed significant reduction in growth of plants including shoot and total length, fresh and dry weight, leaf number and relative water content. Concentration of Na^+ decreased and concentration of K^+ and K^+/Na^+ ratio increased due to salinity in both shoots and roots. The activity of catalase and polyphenol oxidase decreased in shoots of plants treated with 200 mM NaCl compared to control, however, the activity of catalase, cell wall and soluble peroxidase, and polyphenol oxidase in roots and cell wall peroxidase in shoots of plants indicated significant increase due to the same salt treatment. Salt treatments led to increase of chlorophyll a, total chlorophyll and carotenoids contents and the amount of hydrogen peroxide. However, no significant change was observed in the amount of lipid peroxidation in roots and shoots. The results indicated that in spite of growth retardation and Na^+ accumulation, salt treatments did not induce oxidative stress in *Puccienellia distans*. The reduction of K^+ concentration, K^+/Na^+ ratio and relative water content may cause decrease of plant growth.

Keywords: accumulation of minerals, antioxidant enzymes, *Puccienellia distans*, salinity