مجله علوم گیاهان زراعی ایران
دوره ۴۲، شماره ۲، ۱۳۹۰ (۳۷۱-۳۵۹)

بررسی فعالیت برخی آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانت و پراکسیداسیون چربی‌ها در برگ پرچم ارقام حساس و متحمل گندم (*Triticum aestivum* L.) به تنش شوری

افراسیاب راهنما[1]*، کاظم پوستینی[2]، رضا توکل افشاری[3] و عبدالرحمن رسول‌نیا[4]
۱، دانشجوی دکتری پردیس کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه تهران و استادیار دانشکده کشاورزی دانشگاه شهید چمران اهواز، ۲، ۳، ۴، استادان و کارشناس ارشد پردیس کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه تهران
(تاریخ دریافت: ۸۹/۵/۱۱ - تاریخ تصویب: ۸۹/۱۱/۲۷)

چکیده

درک واکنش‌های فیزیولوژیک مرتبط با تنش شوری می‌تواند به شناسایی عوامل مؤثر در تحمل شوری و شناخت رهیافت‌های اساسی برای ثبات عملکرد در شرایط تنش و نیز انتخاب ارقام متحمل به شوری گندم کمک نماید. به همین منظور اثرات تنش شوری بر خصوصیات فیزیولوژیک مؤثر بر عملکرد دانه و صفات مرتبط با تحمل شوری در ارقام گندم در سال ۱۳۸۶در دانشکده کشاورزی دانشگاه تهران مورد ارزیابی قرار گرفت. شش رقم گندم با تحمل شوری متفاوت (روشن، کویر، کارچیا، گاسپارد، شیراز و قدس) در یک آزمایش گلدانی به صورت آزمایش فاکتوریل در قالب طرح پایه کاملاً تصادفی در سه تکرار تحت سه سطح شوری (صفر، ۱۰۰ و ۲۰۰ میلی‌مولار کلرید سدیم) قرار گرفتند. تنش شوری سبب کاهش عملکرد دانه، عملکرد بیولوژیک، محتوی کلروفیل و فعالیت آنزیم کاتالاز شد، در حالی‌که افزایش فعالیت آنتی‌اکسیدانت‌های پراکسیداز، آسکوربات پراکسیداز، گلوتاتیون ریداکتاز و محتوی مالون دی‌آلدهاید را به دنبال داشت. واکنش ارقام در شرایط تنش شوری با یکدیگر متفاوت بود و عملکرد دانه ارقام متحمل روشن، کویر و کارچیا در شرایط تنش کاهش کمتری نشان داد. با افزایش سطوح شوری، محتوی مالون‌دی‌آلدهاید و همچنین فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانت برگ پرچم به جز کاتالاز افزایش یافت. ارقام روشن، کارچیا و کویر بیشترین فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانت و کمترین محتوی مالون‌دی‌آلدهاید و دو رقم قدس و شیراز کمترین فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانت و بیشترین محتوی مالون‌دی‌آلدهاید را نشان دادند. بالا بودن فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانت در ارقام متحمل همراه با پائین بودن میزان تولید مالون‌دی‌آلدهاید در این ارقام، به احتمال زیاد نشان‌دهندهٔ ظرفیت بالاتر این ارقام جهت حذف گونه‌های فعال اکسیژن تولیدی و ثبات عملکرد بالاتر در مقایسه با ارقام حساس به شوری بود. با توجه به ضریب همبستگی منفی و معنی‌دار عملکرد دانه با محتوی مالون‌دی‌آلدهاید به نظر می‌رسد این صفت نقش مهمی در کاهش عملکرد داشته باشد.

واژه‌های کلیدی: پراکسیداسیون چربی، تنش شوری، گندم، آنتی‌اکسیدانت، عملکرد دانه.

* نویسنده مسئول: افراسیاب راهنما تلفن: ۰۹۱۲-۵۶۳۳۴۲۲ E-mail: afrahnama@yahoo.com

مقدمه

شوری در ایران و بسیاری از مناطق خشک و نیمه خشک جهان به عنوان یک مشکل اساسی و عامل محدود کنندهٔ رشد، کیفیت و عملکرد گیاهان زراعی محسوب می‌شود. در بسیاری از مناطق خشک و نیمه خشک جهان، افزایش تحمل شوری به منظور تولید پایدار محصول امری ضروری است و می‌تواند منجر به ثبات عملکرد در خاک‌های شور گردد (Munns et al., 2006). گندم گیاهی زراعی است که در مناطق وسیعی از جهان سازگاری دارد و از نظر سطح زیر کشت و میزان تولید مهم‌ترین گیاه زراعی دنیا محسوب می‌شود (Satorre & Slafer, 1999). از نظر تحمل شوری گندم گیاهی نیمه متحمل است و وقتی شوری خاک به حدود ۱۰۰ میلی‌مولار NaCl (معادل ۸ دسی‌زیمنس بر متر) برسد، عملکرد آن کاهش خواهد یافت (Munns et al., 2006).

تنش‌های غیرزنده نظیر تنش شوری، تولید و تجمع گونه‌های فعال اکسیژن را القاء می‌کنند که در غلظت‌های بالا برای سلول زیان آور هستند. تولید این ترکیبات نظیر رادیکال سوپراکسید (O_2^-)، پراکسید هیدروژن (H_2O_2) و رادیکال هیدروکسیل ($OH^\bullet$) باعث پراکسیداسیون چربی‌ها، غیرفعال شدن آنزیم‌ها، خسارت به اسیدهای نوکلئیک و تخریب غشاهای سلول می‌شود (McDonald, 1999; Bailly, 2004). پراکسیداسیون لیپیدهای غشاء توسط گونه های فعال اکسیژن منجر به خسارت به غشاها، افزایش نفوذ پذیری غشاء و کاهش شاخص پایداری غشاء می‌گردد (Dhindsa, 1991). مالون‌دی‌آلدهاید (MDA) در اثر پراکسیداسیون غشای سلولی تولید می‌شود (Stewart & Bewley, 1980). تغییر در پراکسیداسیون لیپیدها به عنوان یک شاخص مهم جهت تعیین میزان خسارت اکسیداتیو در موجودات زنده محسوب می‌گردد و منجر به کاهش یکپارچگی غشاء در موجودات زنده تحت شرایط تنش می‌گردد (Borsani et al., 2001; Del Rio et al., 2006). به نظر می‌رسد دلیل اصلی خسارت شدید به غشای سلولی تولید رادیکال‌های سوپراکسید، پراکسید هیدروژن و رادیکال هیدروکسیل باشد که در نهایت منجر به پراکسیداسیون لیپیدهای غشای سلولی می‌گردد (Scandalias, 1993). نتایجی نیز مبنی بر تجمع MDA در گیاه در شرایط تنش شوری وجود دارد و مقادیر بیشتری از آن در ارقام حساس در مقایسه با ارقام متحمل به شوری مشاهده شده است (Sairam et al., 2002). گونه‌های فعال اکسیژن همچنین سبب افزایش تجزیه کلروفیل می‌شوند (Sairam et al., 2002)، که در نهایت منجر به کاهش شاخص پایداری کلروفیل می‌گردد.

آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانت نظیر کاتالاز (CAT)، پراکسیداز (POD)، آسکوربات پراکسیداز (APX)، سوپراکسید دیسموتاز (SOD) و گلوتاتیون ریداکتاز (GR) باعث حذف و غیر فعال شدن گونه های فعال اکسیژن می‌شوند (McDonald, 1999; Bailly, 2004). آنزیم‌های CAT، POD و APX باعث حذف و کاهش خسارت پراکسید هیدروژن می‌شوند (McDonald, 1999). آنزیم GR نیز یکی از آنزیم‌های مسیر گلوتاتیون-آسکوربات است که با مصرف NADPH به عنوان دهنده الکترون باعث احیاء گلوتاتیون می‌شود (Noctor & Foyer, 1998). چرخه گلوتاتیون آسکوربات دارای یک نقش مهم در ایجاد سیستم دفاعی در برابر تنش اکسیداتیو می‌باشد و افزایش فعالیت آنزیم‌های آن در شرایط تنش سبب حداقل شدن اثرات تنش اکسیداتیو می‌شود (Khanna-Chopra & Selote, 2007). APX و GR نقشی کلیدی در احیاء پراکسیدهیدروژن به آب از طریق مسیر هالیول-آسادا ایفاء می‌کنند (Noctor & Foyer, 1998). نتایج بسیاری از تحقیقات نیز نشان می‌دهد که فعالیت این آنزیم‌ها در برگ های ارقام حساس و متحمل به شوری بسیاری از گونه‌های گیاهی افزایش می‌یابد (Demiral &Turkan, 2005; Bor et al., 2003)، اگرچه این افزایش فعالیت آنزیمی در ارقام متحمل به شوری بیشتر از ارقام حساس گزارش شده است (Moradi et al., 2007; Shalata et al., 2001).

هدف از انجام این تحقیق بررسی فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانت CAT، POD، APX، GR و نیز تغییر محتوی کلروفیل و پراکسیداسیون چربی‌ها در برگ تعدادی از ارقام گندم با درجه متفاوتی از تحمل شوری و ارتباط بین این پارامترها با تحمل شوری و ثبات

عملکرد در شرایط تنش می‌باشد.

مواد و روش‌ها

نحوه کاشت و شرایط آزمایش

این تحقیق در سال ۱۳۸۶ به صورت یک آزمایش گلدانی در گلخانه تحقیقاتی دانشکده کشاورزی دانشگاه تهران انجام شد. تیمارها به صورت فاکتوریل و آزمایش در قالب طرح پایه کاملاً تصادفی در سه تکرار اجرا گردید. فاکتورها شامل سطوح شوری (صفر، ۱۰۰ و ۲۰۰ میلی‌مولار کلرید سدیم) و شش رقم گندم نان با میزان تحمل شوری متفاوت (ارقام روشن، کویر و کارچیا به عنوان ارقام متحمل و گاسپارد، شیراز و قدس به عنوان ارقام حساس) (Sairam et al., 2002; Poustini & Siosemardeh, 2004) در نظر گرفته شد. به منظور تهیه محلول‌های تیمار شوری از نمک کلریدسدیم آزمایشگاهی (شرکت مرک آلمان) استفاده گردید. بذرهای سالم، هم اندازه و هم وزن پس از ضدعفونی توسط قارچ‌کش بنومیل با غلظت ۲ در هزار در گلدان‌های (۲۵ سانتی متر قطر) حاوی مخلوطی از پرلایت، کوکوپیت و ورمیکولایت (با نسبت ۳:۳:۱) در اوایل ماه آذر کشت شدند. هر واحد آزمایشی شامل ۱۰ عدد گلدان با قطر دهانه ۲۵ و ارتفاع ۲۰ سانتی‌متر بود. یک هفته پس از کاشت و جوانه زنی بذرها، گلدان‌ها با نصف غلظت نهایی محلول غذایی هوگلند آبیاری شده و یک هفته بعد، از محلول کامل استفاده شد. تقریباً ۲۰ روز پس از کاشت بذرها، گلدان‌ها به منظور بهاره سازی ارقام به خارج از گلخانه منتقل شدند و به مدت چهار هفته در معرض درجه حرارت‌های پایین تا حدود ۱۰- درجه سانتی‌گراد قرار گرفتند. پس از انتقال مجدد گلدان‌ها به گلخانه و استقرار گیاهان تعداد بوته‌ها با عملیات تنک کردن به چهار عدد برای عملکرد دانه و پنج عدد برای سایر صفات مورد بررسی در هر گلدان کاهش یافت. گیاهان در درجه حرارت گلخانه (۲±۲۵ درجه سانتی‌گراد در روز و ۲±۱۵ درجه سانتی‌گراد در شب) و نور طبیعی روز همراه نور تکمیلی با تناوب نوری (۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲ ساعت تاریکی) و تشعشع فعال فتوسنتزی حدود ۱۱۰۰-۱۰۰۰ میکرومول فوتون بر متر مربع در ثانیه نگهداری شدند.

نحوه اعمال سطوح تیمار شوری

دو سطح شوری ۱۰۰ و ۲۰۰ میلی‌مولار کلرید سدیم اعمال گردید. گیاهان شاهد با غلظت نهایی محلول هوگلند آبیاری شدند. برای اعمال شوری، ۲۵ میلی‌مولار کلرید سدیم دو مرتبه در هر روز (۹ صبح و ۵ بعدازظهر) مورد استفاده قرار گرفت تا به غلظت نهایی ۱۰۰ و ۲۰۰ میلی‌مولار برسد. به این صورت که در هر مرحله آبیاری، ۲۵ میلی‌مولار کلرید سدیم به غلظت محلول قبلی اضافه گردید و در نهایت آبیاری با غلظت نهایی محلول صورت گرفت. پس از حصول غلظت نهایی سطوح شوری، به منظور جلوگیری از اثرات ناشی از کمبود کلسیم در شرایط شوری، کلرید کلسیم نیز به غلظت ۸ و ۱۲ میلی‌مولار به ترتیب در سطوح ۱۰۰ و ۲۰۰ میلی‌مولار شوری اضافه شد. سطوح تیمار شوری نیز به مدت ۷۰ روز تداوم یافت. پس از دستیابی به غلظت نهایی شوری، به منظور برآورد تغییرات شوری، هدایت الکتریکی محلول زهکش هر گلدان دو مرتبه در هفته با استفاده از دستگاه اندازه‌گیری هدایت الکتریکی (Weilheim Inolab Germany) اندازه‌گیری شد و هدایت الکتریکی بستر کاشت با اضافه نمودن آب خالص یا محلول نمک به میزان مطلوب در حدود ۱۰-۸ دسی زیمنس بر متر برای سطح شوری ۱۰۰ میلی‌مولار و حدود ۱۸-۱۶ دسی‌زیمنس بر متر برای سطح شوری ۲۰۰ میلی‌مولار حفظ گردید.

اندازه‌گیری صفات

با توجه به اهمیت برگ پرچم در مرحله پر شدن دانه، اندازه‌گیری‌ها روی برگ پرچم صورت گرفت. به منظور اندازه‌گیری غلظت یون برگ پرچم، ۲۰ روز پس از دستیابی به غلظت نهایی شوری، ۱۰ بوته از هر واحد آزمایشی برداشت شد. بوته ها به مدت ۴۸ ساعت در درجه حرارت ۷۰ درجه سانتی‌گراد خشک شد و پهنک برگ پرچم با استفاده از روش اسید کلریدریک ۲ نرمال برای تجزیه سدیم و پتاسیم مورد استفاده قرار گرفت. اندازه‌گیری یون‌ها با استفاده از دستگاه فلیم فتومتر (CARL ZEISS PF) انجام شد.

محتوی کلروفیل بر اساس روش Arnon (1949) اندازه‌گیری شد. ابتدا یک گرم نمونه تازه برگ پرچم را در هاون چینی با ۵ میلی‌لیتر استون ۸۰درصد درصد

کاملاً ساییده و پس از صاف کردن آن حجم نهایی عصاره استخراج شده به ۱۰ میلی‌لیتر افزایش یافت. یک میلی‌لیتر از این عصاره به ۹ میلی‌لیتر استون اضافه شد تا حجم آن به ۱۰ میلی‌لیتر برسد. سپس میزان جذب عصاره نهایی در طول موج‌های ۶۴۵ نانومتر (کلروفیل a) و ۶۶۳ نانومتر (کلروفیلb) توسط دستگاه اسپکتروفتومتر (Shimadzu UV160A) قرائت شد. میزان کل کلروفیل بر حسب میلی‌گرم در گرم وزن تر برگ با استفاده از معادله زیر محاسبه شد (Ashraf et al., 1994):

= میلی‌گرم کلروفیل a و b درهر گرم وزن تر

(W×۱۰۰۰)/V× ((جذب در ۶۴۵ نانومتر)

× ۸/۰۲ +(جذب در ۶۴۵ نانومتر)×۲۰/۲)

که در رابطه بالا V حجم نهایی نمونه استخراج شده و W وزن تر نمونه برگ است.

به منظور تعیین پراکسیداسیون چربی‌ها و فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانت نیز از برگ پرچم گیاهان استفاده شد. برگ‌های پرچم را پس از نمونه گیری در فویل آلومینیومی پیچیده و بلافاصله به آزمایشگاه منتقل شدند و در هاون چینی با استفاده از نیتروژن مایع کاملاً پودر شدند. نمونه‌ها تا زمان اندازه‌گیری در فریزر و در دمای ۸۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند. میزان جذب برای این صفات نیز با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر انجام شد.

به منظور برآورد میزان پراکسیداسیون چربی‌ها میزان تولید مالون دی‌آلدهاید براساس روش Heath & Packer (1968) اندازه‌گیری شد. ابتدا ۰/۵ گرم برگ پرچم توسط ۴ میلی‌لیتر محلول تری کلرواستیک اسید ۱ درصد در هاون چینی کاملاً هموژنیزه شد. مخلوط حاصل به مدت ۱۵دقیقه در ۱۲۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفیوژ شد و ۲ میلی‌لیتر از محلول روشناور آن جمع‌آوری شد. به این محلول، ۴ میلی‌لیتر محلول ۵ درصد تیوباریتوریک اسید (TBA) حاوی ۲۰ درصد تری کلرواستیک اسید (TCA) اضافه شد. مخلوط ابتدا به مدت ۳۰ دقیقه در حمام آب گرم در دمای ۹۵ درجه سانتی‌گراد و سپس بلافاصله در حمام آب یخ قرار داده شد تا کاملاً سرد شود. مخلوط به مدت ۱۰ دقیقه در ۱۰۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفیوژ شد و محلول روشناور آن جمع‌آوری شد. میزان جذب محلول در طول موج ۵۳۲ نانومتر قرائت شد و پس از کسر میزان جذب در طول موج ۶۰۰ نانومتر با استفاده از ضریب خاموشی (ε=155 $mM^{-1}cm^{-1}$) میزان مالون دی‌آلدهاید محاسبه شد و برحسب میکرومول در گرم ماده تر برگ گزارش شد.

سنجش فعالیت آنزیم کاتالاز به روش Aebi (1984) اندازه‌گیری شد. ابتدا ۰/۵ گرم برگ پرچم توسط ۵ میلی‌لیتر بافر ۵۰ میلی‌مولار فسفات سدیم (pH=7.0) حاوی ۲ میلی‌مولار EDTA در هاون چینی کاملاً هموژنیزه شد. محلول به مدت ۱۵ دقیقه در ۱۰۰۰۰ دور در دقیقه در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد سانتریفیوژ شد و محلول روشناور برای اندازه‌گیری فعالیت آنزیم استفاده شد. مخلوط واکنش شامل ۲/۵ میلی‌لیتر بافر فسفات ۵۰ میلی‌مولار (pH=7.0)، ۵۰ میکرولیتر از عصاره استخراج شده و ۱۵ میلی‌مولار پراکسید هیدروژن در هنگام اندازه‌گیری تغییرات جذب بود. کاهش جذب در طول موج۲۴۰ نانومتر به مدت ۶۰ ثانیه قرائت شد. میزان پراکسیدهیدروژن تجزیه شده با استفاده از ضریب خاموشی (ε = 39.4 $mM^{-1}cm^{-1}$) محاسبه شد.

سنجش فعالیت آنزیم پراکسیداز همانند آنزیم کاتالاز بود و به روش Chance & Maehly (1955) اندازه‌گیری شد. مخلوط واکنش شامل ۲/۵ میلی‌لیتر بافر فسفات ۵۰ میلی‌مولار (pH=7.0)، ۱۰ میلی‌مولار گویاکول، ۱۵ میلی‌مولار پراکسیدهیدروژن و ۵۰ میکرولیتر عصاره استخراج شده بود. پس از اضافه کردن ترکیبات به عصاره، افزایش جذب در طول موج ۴۷۰ نانومتر به مدت ۲ دقیقه قرائت شد. میزان تتراگویاکول تشکیل شده با استفاده از ضریب خاموشی (ε=26.6 $mM^{-1}cm^{-1}$) محاسبه شد.

فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز به روش Nakano & Asada (1981) اندازه‌گیری شد. ابتدا ۰/۵ گرم برگ پرچم توسط ۵ میلی‌لیتر بافر فسفات پتاسیم ۵۰ میلی‌مولار (pH=7.0) حاوی ۱ میلی‌مولار EDTA، ۱ درصد PVP (w/w)، ۰/۱ درصد Tritox x-100 و ۵ میلی‌مولار آسکوربات در هاون چینی هموژنیزه شد. محلول حاصل به مدت ۱۵ دقیقه در ۱۰۰۰۰ دور در دقیقه در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد سانتریفیوژ شد. از محلول روشناور برای اندازه‌گیری فعالیت آنزیم استفاده

شد. مخلوط واکنش حاوی بافر فسفات پتاسیم ۵۰ میلی‌مولار (pH=7.0)، ۵ میلی‌مولار آسکوربات، ۱ میلی‌مولار پراکسید هیدروژن و ۵۰ میکرولیتر از عصاره استخراج شده بود. پس از اضافه کردن عصاره بلافاصله میزان کاهش جذب مخلوط واکنش در طول موج ۲۹۰ نانومتر به مدت ۳۰ ثانیه قرائت شد. میزان آسکوربات اکسیدشده با استفاده از ضریب خاموشی (ε=6.22 $mM^{-1}cm^{-1}$) محاسبه شد.

فعالیت آنزیم گلوتاتیون ریداکتاز به روش Smith et al. (1988) اندازه‌گیری شد. مخلوط واکنش شامل بافر فسفات پتاسیم ۱۰۰ میلی‌مولار (pH=7.5)، ۵ میلی‌مولار گلوتاتیون اکسیدشده (GSSG)، ۱۵میلی‌مولار NADPH و ۵۰ میکرولیتر عصاره استخراج شده بود. کاهش جذب در طول موج ۳۴۰ نانومتر به مدت ۲ دقیقه قرائت شد. میزان NADPH مصرف شده با استفاده از ضریب خاموشی (ε =6.22 $mM^{-1}cm^{-1}$) محاسبه شد.

در پایان فصل رشد و پس از رسیدگی فیزیولوژیکی دانه‌ها نیز ۲۰ بوته از هر واحد آزمایشی برداشت شده و عملکرد دانه و ماده خشک اندام هوایی اندازه‌گیری شد. برای تجزیه واریانس و مقایسات میانگین داده‌ها به روش LSD و از نرم‌افزار SAS نسخه ۹/۱ استفاده گردید. ضرایب همبستگی نیز با استفاده از نرم‌افزار SPSS نسخه ۱۵ محاسبه شدند.

نتایج و بحث

عملکرد دانه

نتایج تجزیه واریانس و مقایسه میانگین حاصل از اثرات تنش شوری نشان داد که در سطح شوری ۲۰۰ میلی‌مولار عملکرد دانه همه ارقام به‌طور معنی‌داری کاهش یافت (جدول ۱ و ۲). مقایسه میانگین ارقام در سطوح مختلف شوری نیز نشان داد که در شوری ۱۰۰ میلی‌مولار عملکرد دانه بجز در رقم حساس قدس (۱۸درصد کاهش) در سایر ارقام تغییر معنی‌داری در مقایسه با شاهد نشان نداد، ولی در شوری ۲۰۰ میلی‌مولار عملکرد دانه همه ارقام به‌طور چشمگیری تحت تأثیر تنش شوری قرار گرفت، به گونه‌ای که میزان کاهش عملکرد دانه ارقام حساس گاسپارد، قدس و شیراز به ترتیب برابر با ۴۱ درصد، ۵۳ درصد و ۷۸ درصد بود (شکل۱-الف). همبستگی منفی و معنی‌داری بین عملکرد دانه و میزان تجمع Na^+ در برگ‌ها (r=-۰/۸۳۱**) مشاهده شد (جدول ۳). همبستگی منفی بین تجمع Na^+ و تحمل شوری از لحاظ عملکرد دانه در این تحقیق، قبلاً در گندم (Poustini & Siosemardeh, 2004) نیز مورد تأیید قرار گرفته است. غلظت‌های بالای Na^+ می‌تواند سبب پیری زودرس برگ و کاهش فعالیت فتوسنتزی گردد و در نهایت میزان آسیمیلاسیون کربن و عملکرد دانه را کاهش دهد (Husain et al., 2004).

محتوی کلروفیل

نتایج مقایسه میانگین اثرات تنش شوری نشان داد که در سطح شوری ۲۰۰ میلی‌مولار محتوی کل کلروفیل برگ پرچم همه ارقام به جز روشن و کارچیا در مقایسه با شاهد به‌طور معنی‌داری کاهش یافت (جدول۲). کاهش محتوی کلروفیل در مدت زمان طولانی پس از شوری در سایر مطالعات نیز گزارش شده است (Misra, & Gupta, 2005; Meloni et al., 2003).

در سطح شوری ۱۰۰ میلی‌مولار ژنوتیپ‌های دارای تجمع پایین‌تر Na^+، مقادیر بالاتری از کلروفیل را نسبت به سایر ژنوتیپ‌ها حفظ کردند، در حالی که در سطح شوری ۲۰۰ میلی‌مولار محتوی کلروفیل به طور معنی‌داری کاهش یافت و این کاهش در ارقام حساس به شوری قدس و شیراز نسبت به سایر ارقام شدیدتر و به ترتیب ۳۷درصد و ۳۲درصد بود (شکل۲-الف). کاهش محتوی کلروفیل در ارقام حساس نشان‌دهنده تولید مقادیر زیاد گونه‌های فعال اکسیژن در این ارقام و در نتیجه افزایش میزان تجزیه کلروفیل می‌باشد (Sairam et al., 2002). نتایجی نیز مبنی بر کاهش بیشتر محتوی کلروفیل در ارقام حساس به شوری نیز وجود دارد (Sairam et al., 2002). ضرایب همبستگی منفی و معنی‌دار بین میزان کلروفیل و غلظت Na^+ (r=-۰/۲۷۷*) نقش منفی سمیت یونی در کاهش محتوی کلروفیل و در نتیجه خسارت به دستگاه فتوسنتز را نشان می‌دهد.

در شرایط تنش کاهش فعالیت فتوسنتزی ناشی از کاهش محتوی کلروفیل به‌طور مستقیم مرتبط با کاهش متابولیسم کربن و عملکرد می‌باشد (Meloni et al., 2003). اگرچه در این تحقیق بین محتوی کلروفیل و

عملکرد دانه همبستگی معنی‌داری یافت نشد، ولی محتوی کلروفیل با عملکرد وزن خشک (r=۰/۳۱۰*) همبستگی مثبت و معنی‌داری نشان داد. به نظر می‌رسد تحت شرایط شوری تخریب و تجزیه کلروفیل و کاهش رطوبت بافت‌ها عامل اصلی کاهش رشد باشد، زیرا کاهش فعالیت آنزیم‌های دخیل در تثبیت کربن فقط در سطوح بالای شوری مشاهده گردیده است (Harinasut et al., 2000). پیشنهاد شده که کاهش کلروفیل در شرایط تنش یک جنبه سازگاری داشته باشد و با کاهش جذب نور خورشید سبب کاهش تولید رادیکال‌های آزاد اکسیژن شود (Zhang & Kirkham, 1996).

محتوی مالون دی آلدهاید

نتایج مقایسه میانگین اثرات تنش شوری نشان داد که با افزایش شوری میزان تولید MDA نیز به‌طور بسیار معنی‌داری افزایش یافت (جدول۲). افزایش تولید MDA در شرایط تنش شوری در سایر مطالعات نیز گزارش شده است (Demiral & Turkan, 2005; Dionisio-Sese &Tobita, 1998). در شرایط تنش نیز میزان افزایش محتوی MDA در در ارقام حساس به شوری قدس، شیراز، بیشتر از ارقام متحمل بود (شکل۲-ب). نتایجی نیز مبنی بر تجمع مقادیر بالاتری از MDA در ارقام حساس در مقایسه با ارقام متحمل به شوری وجود

جدول ۱- جدول تجزیه واریانس صفات عملکرد، محتوی کلروفیل، فعالیت آنتی‌اکسیدانت‌ها و محتوی مالون دی‌آلدهاید شش رقم گندم در سه سطح شوری

	میانگین مربعات										
	غلظت سدیم	غلظت پتاسیم	نسبت سدیم/پتاسیم	عملکرد دانه	وزن خشک اندام هوایی	محتوی کل کلروفیل	محتوی مالون دی آلدهاید	فعالیت کاتالاز	فعالیت پراکسیداز	فعالیت آسکوربات پراکسیداز	فعالیت گلوتاتیون ریداکتاز
رقم	۷/۰۸**	۱۱/۱۵**	۲/۵۹۶ n.s	۰/۱۵**	۱/۲۴**	۰/۸۱۳**	۱۱**	۳۲۴۹**	۳/۴۸**	۰/۱۴۳**	۱۲۳۹**
شوری	۱۳۴۷/۶**	۹۸/۴**	۱۹۳۲/۶**	۲/۶۹**	۱۵/۴**	۰/۲۸۶**	۱۹/۲۶**	۱۳۰۸۴**	۲/۸۸**	۰/۱۵۴**	۶۰۳**
شوری × رقم	۵/۳۹**	۲/۴۴۶n.s	۱/۶۳۲*	۰/۰۴*	۰/۰۵۸*	۰/۰۲۲n.s	۰/۹۱۶**	۲۲۲*	۰/۲۲**	۰/۰۰۷۵**	۱۸۵**
خطا	۱/۵	۲/۰۵۹	۱/۵۷۳	۰/۰۱۶	۰/۰۱۹	۰/۰۲۷	۰/۱	۸۹/۸	۰/۰۵۱۴	۰/۰۰۱۷	۹/۱۳

* و **: معنی‌دار در سطح احتمال ۵ و ۱ درصد؛ n.s: عدم اختلاف معنی‌دار.

جدول ۲- مقایسه میانگین عملکرد، محتوی کلروفیل، فعالیت آنتی‌اکسیدانت‌ها و محتوی مالون دی‌آلدهاید شش رقم گندم در سه سطح شوری

	میانگین‌ها										
	غلظت سدیم	غلظت پتاسیم	نسبت سدیم/پتاسیم	عملکرد دانه	وزن خشک اندام هوایی	محتوی کل کلروفیل	محتوی مالون دی آلدهاید	فعالیت کاتالاز	فعالیت پراکسیداز	فعالیت آسکوربات پراکسیداز	فعالیت گلوتاتیون ریداکتاز
ارقام گندم	میلی‌گرم بر گرم وزن خشک	میلی‌گرم بر گرم وزن خشک	نسبت	گرم در بوته	گرم در بوته	میلی گرم بر گرم وزن تر	نانومول بر گرم وزن تر	میکرومول پراکسید هیدروژن بر دقیقه در میلی گرم پروتئین	میکرومول تترا گایاکول بر دقیقه در گرم پروتئین	میکرو مول آسکوربات بر دقیقه در گرم پروتئین	میکرومول NADPH بر دقیقه درگرم پروتئین
روشن	۱/۹۴۶ b	۱۹/۹۲ a	۳۸/۴۷ a	۱/۱۳ bc	۲/۸۹ b	۲/۰۷۲d	۱۴/۷۹b	۲۴۱a	a۴/۹۹	۱/۱۲a	a۹۹
کویر	۲/۶۵۴ a	۱۸/۵۵ ab	۳۳/۴۸ ab	۱/۰۷ c	۲/۳۵ c	۲/۰۶۴d	۱۱/۲۵d	۱۹۶b	b۴	۰/۹۰۱b	b۸۳
کارچیا	۱/۸۵۲ b	۱۶/۷۵ dc	۳۸/۹۳ a	۰/۹۲ e	۲/۶۸ b	۲/۷۸۸a	۱۳/۶۲c	۱۸۰c	c۳/۴۶	۰/۷۸۶c	cd۷۳
گاسپارد	۱/۸۷۱b	۱۶/۵۵ dc	۲۲/۳۱ b	۱/۲۶ a	۳/۴۱a	۲/۵۶۲b	۱۴/۰۲c	۱۹۴bc	b۳/۹۹	۰/۸۳۵bc	d۶۷/۸
شیراز	۲/۶۵۸ a	۱۶/۲۵ dc	۳۱/۳۹ ab	۰/۹۵ de	۲/۶۹ b	۲/۰۸۳d	۱۵/۶a	۱۴۲d	b۳/۸۸	۰/۸۶۳b	bc۷۸
قدس	۲/۶۶۱ a	۱۵/۹۷ d	۳۹/۰۳ a	۱/۰۵ dc	۲/۳ c	۲/۳۲۴c	۱۵/۷۴a	۱۹۴bc	d۲/۹۱	۰/۶۴d	e۵۵/۱
تیمار شوری											
شاهد	۰/۲۰۰ c	۱۶/۴۲ b	۸۸ a	۱/۳a	۳/۴۷a	۲/۴۳۵a	۱۱/۸c	a۲۳۵	c۳/۳۸	۰/۷۳۶c	bV۱/۶
۱۰۰ میلی‌مولار	۱/۵۵۴ b	۱۶/۹ b	۱۲/۶ b	۱/۲۸a	۲/۹۵b	۲/۴۸۲a	۱۴/۰۹b	b۱۹۵	b۴/۱۴	۰/۹b	a۸۱/۵
۲۰۰ میلی‌مولار	۴/۶۷ a	۱۸/۷۱ a	۳/۸۵ c	۰/۶۷۵b	۱/۸c	۲/۹۷۲b	۱۵/۲۶a	c۱۵۹	a۴/۵۳	۱/۰۴۲a	a۸۴/۷

* برای هر صفت میانگین‌های دارای حرف مشترک بر اساس از آزمون LSD در سطح احتمال ۵ درصد اختلاف معنی‌دار ندارند.

دارد (Sairam et al., 2002).

افزایش محتوی MDA در شرایط تنش شوری و بالا بودن مقادیر آن در ارقام حساس نشان‌دهنده تولید مقادیر زیادی از گونه‌های فعال اکسیژن در این ارقام می‌باشد. پائین بودن میزان تولید MDA در ارقام متحمل به شوری کویر و کارچیا نشان‌دهنده مقاومت بهتر این ارقام در برابر گونه‌های فعال اکسیژن است و به عبارتی تولید کمتر MDA در این ارقام می‌تواند به علت جذب کمتر نور خورشید، مصرف انرژی جذب شده در فرایند فتوسنتز و غیرفعال شدن گونه‌های فعال اکسیژن به وسیله سیستم آنتی‌اکسیدانتی گیاه باشد.

از آنجایی که پراکسیداسیون چربی‌های غشاء بیان‌کننده میزان خسارت اکسیداتیو می‌باشد (Zhang & Kirkham, 1996) و در نهایت منجر به کاهش یکپارچگی غشاء می گردد (Smirnoff, 1993)، لذا اغلب از این ویژگی به عنوان یک شاخص جهت بیان میزان افزایش خسارت اکسیداتیو استفاده می‌شود (Demiral & Turkan, 2005). ضرایب همبستگی مثبت و معنی‌دار بین میزان MDA و غلظت یون Na^+ (r=۰/۵۷۴**) نقش مهم سمیت یونی Na^+ جهت تولید MDA را نشان می‌دهد (جدول ۳). به طور کلی تولید گونه‌های فعال اکسیژن و به دنبال آن پراکسیداسیون چربی‌ها و تولید MDA تحت کنترل عوامل متعدد محیطی و درونی گیاه است. همچنین میزان تولید MDA تحت تأثیر کارایی سیستم آنتی‌اکسیدانتی گیاه در حذف گونه‌های فعال اکسیژن است، که بالاتر بودن توانایی این سیستم باعث کاهش تولید MDA خواهد شد.

فعالیت آنزیم کاتالاز

نتایج تجزیه واریانس و مقایسه میانگین اثرات تنش شوری نشان داد که فعالیت آنزیم کاتالاز ارقام به‌طور معنی‌داری با افزایش شوری کاهش یافت (جدول‌های ۱ و ۲) (شکل۲-ج). سیستم آنتی‌اکسیدانتی گیاه با حذف گونه‌های فعال اکسیژن موجب کاهش خسارت‌های ناشی از آنها می‌شود. آنزیم کاتالاز به‌طور مستقیم باعث تجزیه پراکسید هیدروژن می‌شود (Jiang & Huang, 2001). کاهش مشاهده شده در فعالیت این آنزیم منطبق با نتایج سایر تحقیقات است که غیرفعال‌سازی شدید آنزیم کاتالاز را توسط شوری نشان می‌دهد (Fidalgo et al., 2004; Lee et al., 2001). کاهش فعالیت این آنزیم توسط سایر تنش‌های محیطی نظیر تنش سرما (Kubo et al., 1999)، شوک حرارتی (Dat et al., 1998) و خشکی (Moran et al., 1994) نیز مشخص شده است. اگرچه نتایجی مبنی بر افزایش فعالیت آنزیم کاتالاز در شرایط تنش شوری وجود دارد (Demiral &Turkan, 2005; Bor et al., 2003).

کاهش فعالیت کاتالاز در این تحقیق ممکن است ناشی از جلوگیری از سنتز آنزیم جدید باشد (Fidalgo et al., 2004). دلایلی نیز مبنی بر کاهش فعالیت این آنزیم در شرایط تنش به دلیل حساسیت این آنزیم نسبت به نور می‌باشد که در مقابل نور سریعاً غیر فعال می‌شود و بنابراین فعالیت آنزیم در شرایط تنش کاهش می‌یابد (Dat et al., 1998). با توجه به کاهش فعالیت آنزیم کاتالاز این ارقام در شرایط شوری، به نظر می‌رسد که این آنزیم نقش مهم و کلیدی در تجزیه پراکسیدهیدروژن نداشته است و احتمالاً تجزیه پراکسید هیدروژن توسط سایر آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانت صورت گرفته باشد.

فعالیت آنزیم پراکسیداز

نتایج تجزیه واریانس و مقایسه میانگین اثرات تنش شوری نشان داد که میزان فعالیت آنزیم پراکسیداز برگ پرچم ارقام با افزایش سطوح شوری به طور معنی‌داری افزایش یافت (جدول‌های ۱ و ۲) (شکل ۲-د). آنزیم پراکسیداز با استفاده از مواد فنولیک به عنوان دهنده الکترون باعث تجزیه پراکسید هیدروژن می‌شود (Asada, 1994). از آنجایی که تجمع پراکسید هیدروژن ناشی از واکنش سوپراکسید دیسموتاز نیاز به فعالیت ترکیبی دو آنزیم پراکسیداز و کاتالاز به منظور حفاظت سلول‌های گیاهی خواهد داشت، لذا این دو آنزیم نقش مهمی را در حذف پراکسید هیدروژن ایفاء می‌نمایند. شواهد زیادی مبنی بر افزایش و کاهش فعالیت آنزیم پراکسیداز در شرایط تنش وجود دارد و اگرچه افزایش فعالیت آنزیم پراکسیداز توسط تنش شوری در چغندرقند (Bor et al., 2003) و برنج (Dionisio-Sese & Tobita, 1998; Demiral & Turkan, 2005) گزارش شده است، ولی شواهدی نیز مبنی بر کاهش فعالیت آنزیم پراکسیداز در شرایط تنش شوری وجود دارد

(Demiral & Turkan, 2005). تغییر در فعالیت آنزیم پراکسیداز در سایر تنش‌ها نیز مشخص گردیده است.

از فعالیت بالاتر این آنزیم در برگ‌های ارقام متحمل به شوری در شرایط تنش چنین استنتاج می‌شود که ارقام متحمل دارای ظرفیت بالاتری برای تجزیه پراکسید هیدروژن تولیدی ناشی از فعالیت سوپراکسید دیسموتاز می‌باشند و افزایش فعالیت این آنزیم در شرایط تنش بخصوص در ارقام روشن، کارچیا، کویر و کارچیا که دارای تولید کمتر MDA بودند نشان‌دهنده اهمیت این آنزیم در تجزیه پراکسید هیدروژن تولیدی در این ارقام می‌باشد. به نظر می‌رسد کاهش شدید محتوی پروتئین‌های محلول برگ در اثر شوری سبب کاهش پروتئین‌های تیلاکوئید و سیکل کالوین بخصوص آنزیم رابیسکو و برخی از آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانت می‌شود (Scandalias et al., 1993).

فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز

نتایج تجزیه واریانس و مقایسه میانگین اثرات تنش شوری نشان داد که با افزایش سطوح شوری میزان فعالیت این آنزیم نیز افزایش یافت (جدول‌های ۱ و ۲) (شکل ۲-و). آنزیم آسکوربات پراکسیداز در چرخه گلوتاتیون- آسکوربات با استفاده از آسکوربات به عنوان دهنده الکترون باعث تجزیه پراکسید هیدروژن می‌شود (Moore & Roberts, 1998). افزایش فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز در شرایط تنش شوری در مطالعات متعددی نیز گزارش شده است (Moradi et al., 2007; Demiral & Turkan, 2005). شواهد زیادی مبنی بر افزایش و کاهش فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز در شرایط تنش وجود دارد و همانند آنزیم پراکسیداز اگرچه افزایش فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز توسط تنش شوری در چغندرقند (Bor et al., 2003)، برنج (Demiral & Turkan, 2005) گزارش شده است، ولی شواهدی نیز مبنی بر کاهش فعالیت این آنزیم در شرایط شوری وجود دارد (Demiral & Turkan, 2005). افزایش فعالیت این آنزیم در ارقام متحمل آن‌ها را قادر می سازد تا در برابر تنش اکسیداتیو مقاومت کنند، در حالی‌که در ارقام حساس این افزایش ناچیز بود (شکل ۲-و).

افزایش فعالیت این آنزیم در ارقام متحمل به شوری (Moradi et al., 2007; Shalata et al., 2001) و کاهش (Moradi et al., 2007; Shalata et al., 2001)، یا عدم تغییر (Demiral & Turkan, 2005) فعالیت آن در ارقام حساس نیز گزارش گردیده است. در شرایط تنش شوری فعالیت پایین این آنزیم همراه با تولید بالای MDA در ارقام حساس قدس و شیراز نشان می‌دهد که فعالیت پایین این آنزیم باعث افزایش خسارت ناشی از پراکسیدهیدروژن و در نتیجه افزایش تولید MDA در این ارقام شده است. شواهدی نیز مبنی بر تولید MDA کمتر در ارقام مقاوم در شرایط تنش شوری همراه با فعالیت بالاتر آنزیم آسکوربات پراکسیداز وجود دارد (Demiral & Turkan, 2005).

فعالیت گلوتاتیون ریداکتاز

نتایج تجزیه واریانس و مقایسه میانگین اثرات تنش شوری نشان داد که میزان فعالیت آنزیم گلوتاتیون ریداکتاز برگ پرچم ارقام با افزایش سطوح شوری به طور معنی‌داری افزایش یافت (جدول‌های ۱ و ۲) (شکل ۲-هـ). با توجه به افزایش فعالیت این آنزیم در شرایط تنش خشکی و شوری و نقش آن در احیاء گلوتاتیون، این آنزیم به احتمال زیاد یکی از آنزیم‌های مهم در گیاه است که افزایش فعالیت آن سبب افزایش مقاومت گیاه در برابر تنش اکسیداتیو خواهد شد.

گزارش شده است که افزایش فعالیت آنزیم گلوتاتیون ریداکتاز مرتبط با تحمل شوری می‌باشد (Bor et al., 2003). به هر حال در این تحقیق به نظر می رسد کاهش فعالیت این آنزیم در ارقام حساس به شوری به علت افزایش تولید گونه‌های فعال اکسیژن و غیرفعال شدن آنزیم‌ها براثر واکنش با آنها باشد این مورد توسط سایر محققان نیز مورد تأکید قرار گرفته است (Dat et al., 1998). با این تفاسیر از آنجایی که کاهش فعالیت این آنزیم منجر به افزایش حساسیت به شوری می گردد، لذا کاهش بیشتر فعالیت این آنزیم در ارقام حساس گاسپارد، شیراز و قدس ممکن است سبب حساسیت بیشتر این ارقام در برابر تنش گردد. مشخص شده است که گونه‌های فعال اکسیژن سبب افزایش تجزیه کلروفیل می‌شوند (Sairam et al., 2002) و وجود همبستگی منفی و معنی‌دار بین میزان فعالیت آنزیم گلوتاتیون و محتوی کلروفیل برگ پرچم (r=-۰/۵۲۴**) نشان‌دهنده افزایش خسارت ناشی از گونه های فعال

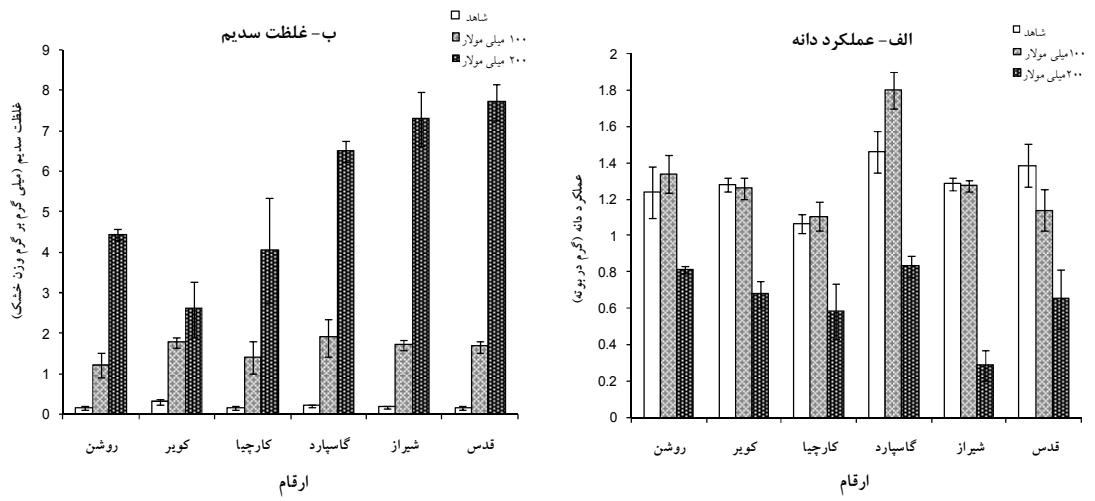
اکسیژن به محتوی کلروفیل و در نتیجه دستگاه فتوسنتزی گیاه است (جدول ۳).

چرخه گلوتاتیون آسکوربات نقش مهمی در ایجاد سیستم دفاعی در برابر تنش اکسیداتیو دارد و افزایش فعالیت آنزیم‌های آن باعث کاهش اثرات تنش اکسیداتیو می‌شود و برعکس کاهش فعالیت آنزیم‌های آن باعث افزایش خسارت‌های تنش اکسیداتیو می‌شود (Khanna-Chopra & Selote, 2007). کاهش فعالیت این آنزیم‌ها در شرایط تنش به علت افزایش تولید گونه‌های فعال اکسیژن و غیرفعال شدن آنزیم‌ها براثر واکنش با آنها است (Dat et al., 1998). نتایج حاصل از فعالیت این آنزیم‌ها نشان می‌دهد که حفاظت در برابر خسارت اکسیداتیو توسط سطوح بالایی از آنتی‌اکسیدانت‌ها و نیز وجود یک چرخه فعال آسکوربات گلوتاتیون ممکن است نقش مهمی در افزایش تحمل شوری در گندم داشته باشد.

جدول ۳- ضرایب همبستگی بین میانگین فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانتی با سایر صفات فیزیولوژیک شش رقم گندم در سه سطح شوری

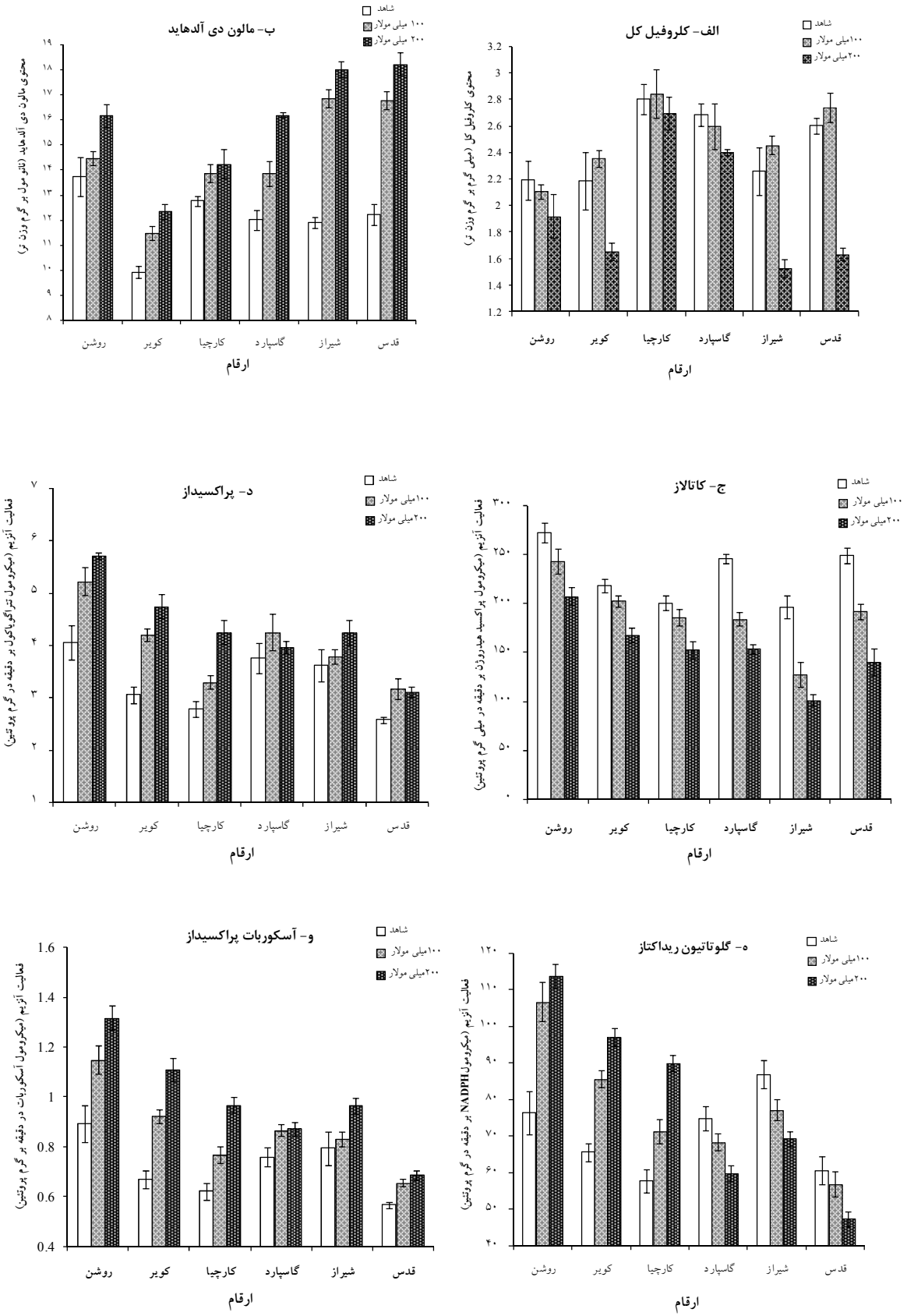
ردیف	صفات	۱	۲	۳	۴	۵	۶	۷	۸	۹	۱۰	۱۱
۱	سدیم	۱										
۲	پتاسیم	-۰/۵۳۶**	۱									
۳	سدیم/پتاسیم	-۰/۷۹۸**	۰/۱۲۳	۱								
۴	عملکرد دانه	-۰/۸۳۱**	۰/۵۹۲**	۰/۶۰۶**	۱							
۵	وزن خشک اندام هوایی	-۰/۷۹۹**	۰/۴۶۳**	۰/۷۳۱**	۰/۸۴۳**	۱						
۶	محتوی کل کلروفیل	-۰/۲۷۷*	۰/۱۰۷	۰/۱۸۵	۰/۲۲۰	۰/۳۱۰*	۱					
۷	محتوی مالون دی آلدهاید	۰/۵۷۴**	-۰/۱۱۶	-۰/۵۶۱**	-۰/۳۰۸**	-۰/۳۰۸*	-۰/۲۵۱*	۱				
۸	کاتالاز	-۰/۷۰۰**	۰/۴۷۴**	۰/۷۰۵**	۰/۷۳۶**	۰/۶۹۲**	۰/۰۳۴	-۰/۴۲۷**	۱			
۹	پراکسیداز	۰/۲۷۹*	۰/۲۷۴*	-۰/۴۰۲**	-۰/۱۰۴	-۰/۱۶۷	-۰/۵۳۷**	۰/۰۰۴	۰/۰۵۴	۱		
۱۰	آسکوربات پراکسیداز	۰/۳۵۰**	۰/۲۱۸	-۰/۴۵۰**	-۰/۱۹۲	-۰/۲۵۰*	-۰/۵۹۸**	-۰/۰۱۵	-۰/۰۳	۰/۹۸۲**	۱	
۱۱	گلوتاتیون ریداکتاز	۰/۱۷۶	۰/۲۷۸*	-۰/۳۰۴*	-۰/۰۷۳	-۰/۱۴۴	-۰/۵۲۴**	-۰/۱۶۵	۰/۱۰۱	۰/۹۳۳**	۰/۹۴۴**	۱

* و **: به ترتیب معنی‌دار در سطح احتمال ۵ و ۱ درصد؛ n.s: عدم اختلاف معنی‌دار.



شکل ۱- اثر سطوح شوری بر عملکرد دانه (الف) و غلظت سدیم برگ پرچم (ب) در شش رقم گندم و سطوح مختلف شوری

خطوط عمودی نشان‌دهندهٔ مقادیر خطای استاندارد در سطح ۵ درصد است.



شکل ۲- تغییرات محتوی کل کلروفیل (الف)، محتوی مالون دی آلدهاید (ب)، فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانت کاتالاز (ج)، پراکسیداز (د)، آسکوربات پراکسیداز (و) و گلوتاتیون ریداکتاز (هـ) در شش رقم گندم و سطوح شوری. خطوط عمودی نشان‌دهندهٔ مقادیر خطای استاندارد در سطح ۵ درصد است.

به نظر می‌رسد ضرایب همبستگی منفی و مثبت معنی‌دار بین غلظت یون Na^+ با میزان فعالیت آنزیم‌های کاتالاز (r=-۰/۷۰۰**)، پراکسیداز (r=۰/۲۷۹*) و آسکوربات پراکسیداز (r=۰/۳۵۰**) نشان‌دهندهٔ نقش مهم سمیت یونی در کاهش و افزایش فعالیت این آنزیم‌ها باشد (جدول ۳). همانطور که قبلاً نیز مشخص گردیده است در سطوح شوری بالا و تجمع یون Na^+، اثرات ویژه یون Na^+ بیشتر از اثرات اسمزی تنش شوری می‌باشد (Munns & Tester, 2008).

تنش شوری سبب کاهش شدید هدایت روزنه‌ای گردید (نتایج نشان داده نشده است) و با توجه به نتایج حاصل از فعالیت آنتی‌اکسیدانت‌ها و محتوی مالون دی‌آلدهاید می‌توان گفت که تنش شوری می‌تواند از طریق بسته شدن روزنه‌ها سبب کاهش جذب دی‌اکسیدکربن گردد و این امر منجر به تحریک تشکیل گونه‌های فعال اکسیژن نظیر سوپراکسید، پراکسید هیدروژن و رادیکال‌های هیدروژن می‌گردد و در نتیجه سبب افزایش پراکسیداسیون چربی‌ها و خسارت به غشاءها می‌گردد.

به طور کلی می‌توان گفت که حذف و سمیت زدایی گونه‌های فعال اکسیژن یک بخش مهم تحمل شوری می‌باشد. بررسی‌های انجام شده نیز فعالیت بالاتر آنتی‌اکسیدانت‌ها را در ارقام متحمل نسبت به ارقام حساس و وحشی نشان می‌دهد و سهم مکانیزم‌های حذف‌کننده آنزیمی و غیرآنزیمی ROS در ارقام حساس و متحمل به شوری متفاوت می‌باشد.

نتیجه‌گیری کلی و پیشنهادات

با توجه به نتایج حاصل از این تحقیق چنین استنباط می‌شود که ارقام روشن، کارچیا و کویر با میزان کمتر پراکسیداسیون چربی‌ها (به صورت محتوی پایین تری از مالون دی‌آلدهاید) همراه با فعالیت بالاتر آنتی‌اکسیدانت‌ها در شرایط تنش شوری، دارای ظرفیت بالاتری جهت حذف گونه‌های فعال اکسیژن تولیدی و ثبات عملکرد بهتری در مقایسه با ارقام حساس می‌باشند. همچنین با توجه به اینکه افزایش فعالیت آنتی‌اکسیدانت‌ها بیان‌کنندهٔ افزایش حذف گونه‌های فعال اکسیژن می‌باشد، لذا اغلب از این ویژگی به عنوان یک شاخص قابل اعتماد جهت بیان افزایش تحمل شوری استفاده می‌شود.

در انتها پیشنهاد می‌شود که جهت شناخت و بررسی کامل‌تر سیستم آنتی‌اکسیدانتی گیاه گندم و نحوه عمل آن در شرایط تنش شوری، آیزوزایم‌های مختلف آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانت و تغییرات فعالیت هریک از آن‌ها و نیز محتوی سایر متابولیت‌های آنتی‌اکسیدانت مانند آسکوربیک اسید و گلوتاتیون مورد ارزیابی قرار گیرد.

سپاسگزاری

از زحمات و مشاورت‌های ارزنده پروفسور رنا مانز (Rana Munns) در مؤسسه تحقیقات علمی و صنعتی کشورهای مشترک المنافع (CSIRO) در کشور استرالیا- کنبرا تشکر و قدردانی می‌گردد.

REFERENCES

1. Aebi, H. (1984). Catalase in vitro. *Methods in Enzymology*, 105, 121–126.
2. Arnon, D. J. (1949). Copper enzymes in isolated chloroplasts. *Plant Physiology*, 24, 1–15.
3. Asada, K. (1994). Production and action of active oxygen species in photosynthetic tissues. In: Foyer C. & Mullineaux P.M. (eds), *Causes of photooxidative stress and amelioration of defense systems in plants*. CRC Press, Boca Raton, London, pp, 77–100.
4. Ashraf, M. Y., Azmi, A. R., Khan, A. H. & Ala, S. A. (1994). Effect of water stress on total phenols, peroxidase activity and chlorophyll content in wheat. *Acta physiologia Plantarum*, 16, 185–191.
5. Bailly, C. (2004). Active oxygen species and antioxidants in seed biology. *Seed Science Research*, 14, 93–107.
6. Bor, M., Özdemir, F. & Türkan, I. (2003). The effect of salt stress on lipid peroxidation and antioxidants in leaves of sugar beet *Beta vulgaris* L. and wild beet *Beta maritima* L. *Plant Science*, 164, 77–84.
7. Borsani, O., Diaz, P., Agius, M. F., Valpuesta, V. & Monza, J. (2001b). Water stress generates an oxidative stress through the induction of a specific Cu/Zn superoxide dismutase in *Lotus corniculatus* leaves. *Plant Science*, 161, 757–763.
8. Chance, B. & Maehly, A. C. (1955). Assay of catalases and peroxidase. *Methods Enzymol*, 2, 764–775.
9. Dat, J. F., Lopez–Delgado, H., Foyer, C. H. & Scott, I. M. (1998). Parallel changes in H_2O_2 and catalase

during thermo tolerance induced by salicylic acid or heat acclimation in mustard seedlings. *Plant Physiology*, 116, 1351–1357.
10. Del Rio, L. A., Sandalio, L. M., Corpas, F. J., Palma, J. M. & Barroso, J. B. (2006). Reactive oxygen species and reactive nitrogen species in peroxisomes. production, scavenging, and role in cell signaling. *Plant Physiology*, 141, 330–335.
11. Demiral, T. & Turkan, I. (2005). Comparative lipid peroxidation, antioxidant defense systems and proline content in roots of two rice cultivars differing in salt tolerance. *Environmental and Experimental Botany*, 53, 247–257.
12. Dhindsa, R. S. (1991). Drought stress, Enzymes of Glutation Metabolism, Oxidation Injury, and Protein Synthesis in *Turtula ruralis*. *Plant Physiology*, 95, 648–651.
13. Dionisio-Sese, M. L. & Tobita, S. (1998). Antioxidant responses of rice seedlings to salinity stress. *Plant Science (Limerick)*, 11135, 11–19.
14. Fidalgo, F., Santos, A., Santos, I. & Salema, R. (2004). Effects of long–term salt stress on antioxidant defence systems, leaf water relations and chloroplast ultrastructure of potato plants. *Annals of Applied Biology*, 145(2), 185–192.
15. Harinasut, P., Srisunak, S. & Pituk, S. (2000). Mechanism of adaptation to increasing of salinity of Molbery (*Morus Alba*). *Science Asia*, 26, 207–214.
16. Heath, R. L. & Packer, I. (1968). Photoperoxidant in isolated chloroplast. I. Kinetics and stochiometry of fatty acid peroxidation. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 125, 189–198.
17. Husain, S., Caemmerer, S. Von, & Munns, R. (2004). Control of salt transport from roots to shoots of wheat in saline soil. *Functional Plant Biology*, 31, 1115–1126.
18. Jiang, Y. & Huang, B. (2001). Drought and Heat Stress Injury to Two Cool-Season Turf grasses in Relation to Antioxidant Metabolism and Lipid Peroxidation. *Crop Science*, 41, 436–442.
19. Khanna-Chopra, R. & Selote D. S. (2007). Acclimation to drought stress generates oxidative stress tolerance in drought-resistant than -susceptible wheat cultivar under field conditions. *Environmental and Experimental Botany*, 60, 276–283.
20. Kubo, A., Aono, M., Nakajima, N., Saji, H., Tanaka, K. & Kondo, N. (1999). Differential responses in activity of antioxidant enzymes to different environmental stresses in *Arabidopsis thaliana*. *Journal of Plant Research*, 112, 279–290.
21. Lee, D. H., Kim, Y. S. & 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.
22. McDonald, M. B. (1999). Seed deterioration: physiology, repair, and assessment. *Seed Science and Technology*, 27(11), 177–237.
23. Meloni, D. A., Oliva, M. A., Martinez, C. A. & Cambraia, J. (2003). Photosynthesis and activity of superoxide dismutase, peroxidase and glutathione reductase in cotton under salt stress. *Environmental and Experimental Botany*, 49, 69–76.
24. Misra, N. & Gupta, A. K. (2005). Effect of salt stress on proline metabolism in two high yielding genotypes of green gram. *Plant Science*, 169, 331–339.
25. Moradi, F. & Abdelbaghi, M. I. (2007). Responses of photosynthesis, chlorophyll fluorescence and ROS-scavenging systems to salt stress during seedling and reproductive stages in rice. *Annals of Botany*, 99, 1161–1173.
26. Moran, J. F., Becana, M. I., Iturbe-Ormaetxe, S., Frechilla, R., Klucas, V. & Aparicio-Tejo, P. (1994). Drought induces oxidative stress in pea plants. *Planta*, 194, 346–352.
27. Moore, K. & Roberts, L. J. (1998). Measurement of lipid peroxidation. *Free Radic Res*, 28, 659–71.
28. Munns, R., James, R. A. & Lauchli, A. (2006). Approaches to increasing the salt tolerance of wheat and other cereals. *Journal of Experimental Botany*, 57, 1025–1043.
29. Munns, R. & Tester, M. (2008). Mechanisms of Salinity Tolerance. *Annual Review of Plant Biology*, 59, 651–81.
30. Nakano, Y. & Asada, K. (1981). Hydrogen peroxide is scavenged by ascorbate specific peroxidase in spinach chloroplasts. *Plant and cell physiology*, 22 (5), 867–880.
31. Noctor, G. & Foyer, C. (1998). Ascorbate and glutathione: keeping active oxygen under control. *Annual Reviews of Plant Physiology and Plant Molecular Biology*, 49, 249–279.
32. Poustini, K. & Siosemardeh, A. (2004) Ion distribution in wheat cultivars in response to salinity stress. *Field Crops Research*, 85, 125–133.
33. Sairam, R. K., Veerabhadra Rao, K. & Srivastava, G. C. (2002). Differential response of wheat genotypes to long term salinity stress in relation to oxidative stress, antioxidant activity and osmolyte concentration. *Plant Science*, 163, 1037–1046.
34. Satorre, E. H. & Slafer, G. A. (1999). *Wheat: Ecology and physiology of yield determination*. The

Haworth Press, New York, p: 503.
35. Scandalias, J. G. (1993). Oxygen stress and superoxide dismutase. *Plant Physiology*, 101, 7–12.
36. Shalata, A., Mittova, V., Volokita, M., Guy, M. & Tal, M. (2001). Response of the cultivated tomato and its wild salt-tolerant relative *Lycopersicon pennellii* to salt-dependent oxidative stress: the root antioxidative system. *Physiologia Plantarum*, 112, 487–494.
37. Smirnoff, N. (1993). The role of active oxygen in the response of plants to water deficit and desiccation. *New Phytologist*, 125(1), 27–58.
38. Smith, I. K., Vierheller, T. V. & Thorne, C. A. (1988). Assay of Glutathione reductase in crude tissue homogenates using 5, 5'-Dithiobis (2-nitrobenzoic Acid). *Analytical Biochemistry*, 175, 408–413.
39. Stewart, R. C. R. & Bewley, D. (1980). Lipid peroxidation associted with accelerated aging of soybean Axes. *Plant physiology*, 62, 245–248.
40. Zhang, J. & Kirkham, M. B. (1996). Antioxidant responses to drought in sunflower and sorghum seedlings. *New Phytologist*, 132, 361–373.