

ارزیابی تحمل به شوری دو رقم گلرنگ با استفاده از رابطه‌های یونی و شاخص‌های بیوشیمیایی

سیدعبدالرضا کاظمینی^{۱*}، افشین زمانی^۲، اعظم معتضدیان^۳ و احسان شاکری^۴

۱. دانشیار دانشکده کشاورزی، دانشگاه شیراز، ایران

۲،۳ و ۴. دانشجوی کارشناسی ارشد و دانشجویان دکتری بخش زراعت و اصلاح نباتات، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شیراز، ایران

(تاریخ دریافت: ۹۵/۱۱/۱۲ - تاریخ پذیرش: ۹۶/۰۳/۰۱)

چکیده

به منظور ارزیابی تحمل به شوری دو رقم گلرنگ (*Carthamus tinctorius* L.) و شناسایی مهم‌ترین شاخص‌های مؤثر بر تحمل به شوری، آزمایش گلخانه‌ای به صورت فاکتوریل در قالب طرح پایه کامل تصادفی با دو عامل شوری آب آبیاری در چهار سطح (۲، ۴، ۸ و ۱۲ دسی‌زیمنس بر متر) و رقم‌های گلرنگ (صفت و زنده‌رود) در چهار تکرار انجام شد. با افزایش شوری از ۲ به ۴، ۸ و ۱۲ دسی‌زیمنس بر متر، وزن خشک بوته رقم صفت به میزان ۱۳، ۳۰ و ۵۸ درصد کاهش یافت در حالی که این میزان در رقم زنده‌رود به ترتیب ۹، ۲۸ و ۴۰ درصد بود. رقم زنده‌رود در همه سطوح شوری بیشترین میزان سبزینه (کلروفیل) b.a، شاخص سبزیگی و فعالیت آنزیم‌های پراکسیداز و سوپراکسید دیسموتاز را به خود اختصاص داد. درصد افزایش سدیم ریشه و شاخساره (ساقه و برگ)، پرولین و مالون دی‌آلدئید در رقم صفت بیشتر از رقم زنده‌رود بود. نتایج رگرسیون نشان داد، وزن خشک بوته با غلظت سدیم برگ، سدیم ریشه و پرولین همبستگی منفی و معنی‌دار داشته و با نسبت پتاسیم به سدیم، فعالیت آنزیم‌های پراکسیداز و سوپراکسید دیسموتاز و سبزینه a همبستگی مثبت و معنی‌دار نشان داد. به‌طور کلی غلظت سدیم ریشه و شاخساره (ساقه و برگ) و فعالیت پاداکسنده (آنتی‌اکسیدانت) های پراکسیداز و سوپراکسید دیسموتاز می‌توانند به‌عنوان شاخص‌های کارآمد در شناسایی رقم‌های متحمل گلرنگ استفاده شوند.

واژه‌های کلیدی: پاداکسنده، پرولین، نسبت پتاسیم به سدیم، وزن خشک بوته.

Evaluation of salinity tolerance in two safflower cultivars using ions relations and biochemical traits

S. Abdolreza Kazemeini^{1*}, Afshin Zamani², Azam Motazedian² and Ehsan Shakeri⁴

1. Associate Professor of College of Agriculture, Shiraz University, Iran

2,3 and 4. M.Sc Student, and Ph.D. Students, Crop Production and Plant Breeding Department, College of Agriculture, Shiraz University, Iran

(Received: January 31, 2017- Accepted: May 22, 2017)

ABSTRACT

To investigate salinity tolerance in two safflower cultivars and identify the most important traits affecting salinity tolerance in safflower cultivars (*Carthamus tinctorius* L.), a greenhouse experiment was conducted as factorial arrangement based on completely randomized design with four replications. Treatments were irrigation water salinity (2, 4, 8 and 12 dS/m) and safflower cultivars (Sofeh and Zendeherud). Plant dry weight in Sofeh cultivar decreased 13, 30 and 58% respectively, while, plant dry weight of Zendeherud cultivar reduced 9, 28 and 40% under salinity levels. The higher concentration of chlorophyll a, b, SPAD, peroxidase and superoxide dismutase activity was found in Zendeherud cultivar under all salinity levels. Enhancement of Na⁺ concentration in shoot and root, proline and malondialdehyde was greater in Sofeh cultivar compared to Zendeherud cultivar. Linear regression analysis revealed significant and negative relationship between plant dry weight with Na⁺ concentration in leaf and root and proline content. Plant dry weight was significantly and positively associated with K⁺/Na⁺ ratio, peroxidase, superoxide dismutase and chlorophyll a. In general, it was concluded that Na⁺ concentration in root, shoot (stem + leaf), peroxidase and superoxide dismutase activity can be used as reliable indicators in identifying salinity tolerant cultivars of safflower.

Keywords: Antioxidant, K⁺/Na⁺ ratio, Plant dry weight, Proline.

* Corresponding author E-mail: kazemin@shirazu.ac.ir

مقدمه

گلرنگ در بین گیاهان زراعی دانه روغنی به‌عنوان یک گیاه نیمه متحمل به تنش شوری معرفی شده است (Maas, 1985) و در قسمت عمده‌ای از مناطق مرکزی ایران که تنش شوری چالش عمده تولید محصول به شمار می‌رود برای سال‌های متمادی کشت و کار شده است (Yeilaghi et al., 2012). افزایش جمعیت جهان و نیاز روزافزون بشر به تولید مواد غذایی باعث شده است که منابع آب مورد استفاده برای کشاورزی به‌ویژه در مناطق خشک و نیمه‌خشک روز به روز محدودتر و به دنبال آن، کیفیت آب‌های مورد نیاز برای تولید محصولات کشاورزی نیز کاهش یابد (Ashraf & Foolad, 2013).

تجمع ترکیب‌های سازگارکننده‌ای مانند پرولین در سیتوپلاسم از معمول‌ترین واکنش‌های گیاهان در رویارویی با تنش شوری است که به‌عنوان یکی از مهم‌ترین عامل‌های تنظیم‌کننده اسمزی و همچنین حفاظت‌کننده آنزیم‌های سیتوسولی عمل می‌کند. پرولین می‌تواند به‌عنوان منبع کربن و نیتروژن در بافت‌های گیاهی، عامل ثبات غشای یاخته‌ای و در نهایت نیز برای پاک‌سازی رادیکال‌های آزاد به کار رود (Arzani & Ashraf, 2016). تولید گونه‌های فعال اکسیژن (ROS) مانند رادیکال‌های سوپراکسیداز (O_2^-)، اکسیژن منفرد (O_1^-)، رادیکال‌های هیدروکسیل (OH^-) و تشکیل H_2O_2 در زمان رویارویی گیاه با تنش شوری نیز که باعث آسیب به غشا و ساختارهای یاخته‌ای و همچنین تجزیه سبزینه (کلروفیل) در گیاه و در نتیجه جلوگیری از رشد بهینه گیاه است (Gao et al., 2008) از مهم‌ترین تغییرات فیزیولوژیکی و سوخت‌وسازی (متابولیکی) ناشی از تنش شوری است (Hafsi et al., 2010). یکی از ترکیب‌هایی که تحت تأثیر آسیب و زیان و پراکسیده شدن غشا یاخته‌ای آزاد می‌شود مالون دی‌آلدئید است که بررسی غلظت آن در بافت گیاهی می‌تواند به‌عنوان معیاری برای آسیب و زیان غشا یاخته‌ای استفاده شود (Abdul-Jaleel et al., 2007). واکنش گیاه به تولید گونه‌های فعال اکسیژن خنثی کردن فعالیت آن‌ها با آنزیم‌های پاداکسنده (آنتی‌اکسیدان) مانند کاتالاز، پراکسیداز و

سوپراکسید دیسموتاز است که در واقع این ترکیب‌ها بر پایه شدت تنش وارد شده در اندام‌های مختلف گیاهی و در زمان‌های متفاوتی پس از بروز تنش به‌عنوان عامل از بین بردن گونه‌های فعال اکسیژن عمل می‌کنند (Hu et al., 2012). نداشتن تعادل یونی و در پی آن بروز مسمومیت در گیاه در نتیجه غلظت بیش‌ازحد یون‌هایی مانند سدیم و کلر نیز از دیگر اثرگذاری‌های تنش شوری است. در واقع به دلیل رقابت در جذب یون‌ها، به‌احتمال افزایش جذب سدیم موجب کاهش جذب پتاسیم و کلسیم خواهد شد که نتیجه آن می‌تواند اختلال در ساخت (سنتز) پروتئین‌های گیاهی و در نهایت کاهش رشد و سوخت‌وساز (متابولیسم) گیاه باشد (Coskun et al., 2013). در نتایج پژوهش Gengmao et al., (2015) و Vijayalakshmi et al. (2016) مشخص شد، تحمل گلرنگ در سطوح پایین تنش شوری (۵۰ میلی‌مولار) از راه افزایش فعالیت پاداکسنده‌ها بود. همچنین در نتایج پژوهش Gengmao et al. (2015) کاهش نسبت پتاسیم به سدیم و سبزینه a و سبزینه b در همه سطوح تنش شوری نسبت به شرایط نبود تنش مشاهده شد درحالی‌که غلظت کاروتنوئید تنها در زمان اعمال بیشترین سطح تنش شوری (۱۵۰ میلی‌مولار) کاهش یافت. در همین زمینه Rahimi et al. (2012) و Javadipour et al. (2013) افزایش میزان پرولین را به‌عنوان مهم‌ترین سازوکار تحمل به شوری در گلرنگ رقم گلدشت پیشنهاد کردند. این در حالی است که Sheidaei et al. (2010) و Vijayalakshmi et al. (2016) تجمع پرولین را بیشتر به آسیب دیدن گیاه در رویارویی با تنش شوری نسبت دادند و ارتباطی بین تحمل به تنش شوری و تجمع پرولین در رقم‌های گلرنگ مشاهده نکردند. در نتایج پژوهش دیگری نیز تحمل بیشتر گلرنگ رقم پدیده در شرایط شوری به تجزیه کمتر رنگدانه‌های گیاهی شامل سبزینه و کاروتنوئیدها نسبت داده شد (Javadipour et al., 2013). Karimi et al. (2014) و Yeilaghi et al. (2015) در نتایج بررسی‌های خود بیان کردند، تحمل رقم‌های گلرنگ به تنش شوری به دلیل توانایی آن‌ها در حفظ غلظت بالای عنصرهای پتاسیم و کلسیم در

به‌عنوان نیاز آبشویی در نظر گرفته شد. در پایان آزمایش، میانگین ارتفاع چهار بوته در هر گلدان به‌عنوان ارتفاع بوته هر واحد آزمایشی منظور شد. همچنین شاخص سبزینگی با استفاده از دستگاه سبزینه‌متر دستی (SPAD-502) ثبت شد. برای اندازه‌گیری وزن خشک گیاه، نمونه‌ها به مدت ۴۸ ساعت در دمای ۷۰ درجه سلسیوس در آون خشک و سپس وزن آن‌ها با ترازوی دیجیتال اندازه‌گیری شد. برای اندازه‌گیری میزان فعالیت آنزیم‌های کاتالاز، پراکسیداز و سوپراکسید دیسموتاز به ترتیب از روش‌های Britton *et al.* (1955) و Dehindsa *et al.* (1981) و Bowler *et al.* (1991) استفاده شد. برای اندازه‌گیری کاتالاز، ۵۰ میکرولیتر از عصاره استخراج با ۱ میلی‌لیتر محلول اندازه‌گیری کاتالاز که شامل ۱۰۰ میلی‌لیتر بافر فسفات پتاسیم (pH=۷/۱۵) و ۱۲۸/۵ میکرولیتر پراکسید هیدروژن (H_2O_2) بود مخلوط شد. سپس جذب آن در طول موج ۲۴۰ نانومتر به مدت یک دقیقه با دستگاه طیف‌سنج نوری (اسپکتوفتومتر) خوانده شد. یک واحد آنزیمی کاتالاز برابر با تجزیه ۱ میلی‌مولار پراکسید هیدروژن (H_2O_2) در یک دقیقه است. اندازه‌گیری پراکسیداز بر پایه میزان اکسید شدن گاباکول توسط این آنزیم انجام می‌شود. فعالیت پراکسیداز با تغییر رنگ محلول از نارنجی به قرمز مشخص می‌شود. در این روش ۳۳ میکرولیتر عصاره استخراج با ۱ میلی‌لیتر از محلول پراکسیداز که شامل ۱۳ میلی‌مولار گاباکول، ۵ میلی‌مولار پراکسید هیدروژن (H_2O_2) و ۵۰ میلی‌مولار بافر فسفات پتاسیم است مخلوط شده و به مدت یک دقیقه با فاصله‌های ده ثانیه در طول موج ۴۷۰ نانومتر جذب آن خوانده می‌شود. برای اندازه‌گیری سوپراکسید دیسموتاز، ۱ میلی‌لیتر مخلوط واکنش حاوی ۵۰ میلی‌مولار بافر فسفات پتاسیم (pH=۷/۱۵)، ۰/۱ میلی‌مولار EDTA، ۱۳ میلی‌مولار متیونین، ۷۵ میکرومولار نیتروبلو تترازولیوم (NBT)، ۲ میکرومولار ریبوفلاوین و ۵۰ میکرو لیتر عصاره آنزیمی استخراج استفاده شد. آخرین جزء افزوده شده به مخلوط واکنش ریبوفلاوین بود و با قرار دادن کیووت‌های^۱

بافت‌های گیاهی بود. به‌رغم انجام برخی بررسی‌ها در زمینه ارزیابی سازوکارهای احتمالی تحمل به تنش شوری در بعضی از رقم‌های گلرنگ، به نظر می‌رسد، این مسئله تا به حال در همه رقم‌های گلرنگ مورد کشت در ایران از جمله رقم‌های صغه و زنده‌رود بررسی نشده است. همچنین با توجه به افزایش روزافزون تهدید تنش شوری در تولید محصولات زراعی، شناخت و درک سازوکارهای مرتبط با تحمل به شوری به‌منظور شناسایی رقم‌های متحمل گیاه گلرنگ ضروری به نظر می‌رسد، لذا این پژوهش به‌منظور شناسایی مهم‌ترین شاخص‌های مرتبط با تحمل به تنش شوری در رقم‌های گلرنگ زنده‌رود و صغه انجام گرفت.

مواد و روش‌ها

این پژوهش در سال ۱۳۹۴ در گلخانه تحقیقاتی بخش زراعت دانشکده کشاورزی دانشگاه شیراز به‌صورت فاکتوریل در قالب طرح پایه کامل تصادفی با چهار تکرار انجام شد. عامل‌ها شامل دو رقم گلرنگ (صغه و زنده‌رود)، که رقم زنده‌رود نتیجه خالص‌سازی رقم صغه است) و سطوح شوری ۲، ۴، ۸ و ۱۲ دسی زیمنس بر متر بود که از ترکیب نسبت‌های مختلف آب شور دریاچه مهارلو (دریاچه نمک) با آب شهری به دست آمد (جدول ۱). اعمال تنش شوری از مرحله استقرار گیاهچه‌ها (چهار برگی) تا پایان مرحله رشد رویشی انجام شد. شمار ده عدد بذر گلرنگ در تاریخ ۱۳۹۴/۱۰/۲۰ پس از تعیین قوه نامیه (حدود ۹۵ درصد) در گلدان‌هایی با قطر دهانه ۲۱ سانتی‌متر و ارتفاع ۱۸ سانتی‌متر پر شده از خاک مزرعه (جدول ۲) کشت شدند و در طول مدت آزمایش گیاهچه‌ها در چند مرحله تنک شده و در نهایت چهار گیاهچه در هر گلدان نگه داشته شد. همچنین در طول مدت آزمایش، دور و حجم آبیاری بر پایه ظرفیت زراعی خاک گلدان‌ها محاسبه و آبیاری انجام شد. با توجه به اینکه احتمال تجمع نمک در گلدان‌ها وجود داشت زه‌کش‌هایی در ته گلدان‌ها ایجاد و میزان آب قابل استفاده برای جلوگیری از تجمع نمک محاسبه شد. بنابراین در هر آبیاری میزان ۱۵ درصد آب اضافی

استاندارد پرولین در دستگاه طیف‌سنج نوری در طول موج ۵۲۰ نانومتر استفاده شد. برای رسم منحنی استاندارد پرولین از غلظت‌های ۰، ۱۲/۵، ۲۵، ۵۰ و ۱۰۰ میکرومولار (μM) از ال - پرولین استفاده کرده و از تولون به‌عنوان شاهد (سطح ۰) استفاده شد. با توجه به مقادیر جذب نوری و غلظت‌های محلول ذخیره پرولین منحنی استاندارد رسم شد. با توجه به مقادیر جذب نوری و غلظت‌های محلول ذخیره، منحنی استاندارد رسم شد. برای محاسبه پرولین از رابطه زیر استفاده شد.

$$\text{Proline } (\mu\text{M g}^{-1} \text{ Fresh WT.}) = M \times T \times W / 115.5 \times 1000$$

که در آن M: عدد خوانده شده با دستگاه طیف‌سنج نوری، T: حجم تولون مورد استفاده و W: وزن نمونه برگ مورد استفاده بود. غلظت سبزینه بر پایه روش Lichtenthaler (1978) اندازه‌گیری شد. با این روش ۰/۲۵ گرم برگ گلرنگ در هاون چینی حاوی ۵ میلی‌لیتر استون ۸۰ درصد کامل همگن شد. پس از آن محلول به‌دست‌آمده را درون کیووت ریخته و با دستگاه طیف‌سنج نوری در طول موج‌های ۶۶۲ و ۶۴۵ و ۴۷۰ خوانده شد و با استفاده از رابطه‌های زیر میزان سبزینه a، سبزینه b و کاروتنوئید محاسبه شد.

$$\begin{aligned} \text{Chl } a \text{ (mg/g FW)} &= (11.24 A_{662} - 2.04 A_{645}) \\ \text{Chl } b \text{ (mg/g FW)} &= (20.13 A_{645} - 4.19 A_{662}) \\ \text{Car}_{(x+c)} \text{ (mg/g FW)} &= [(1000 A_{470} - 1.09 \text{Chl } a - 63.14 \text{Chl } b) / 214] \end{aligned}$$

اندازه‌گیری غلظت مالون‌دی‌آلدئید با استفاده از روش Heath & Packer (1968) انجام شد. بدین منظور ۰/۲۵ گرم برگ گلرنگ در هاون چینی حاوی ۵ میلی‌لیتر تری‌کلرواستیک اسید (TCA) ۰/۱ درصد سائیده شد. عصاره به‌دست‌آمده به مدت ۵ دقیقه در ۱۰۰۰۰g سانتی‌فریوژ شد. در مرحله بعد ۲۵۰ میکرو-لیتر از محلول رویی به‌دست‌آمده از سانتی‌فریوژ را با ۱ میلی‌لیتر محلول مالون‌دی‌آلدئید که حاوی تری-کلرواستیک اسید ۲۰ درصد و تیو باربیتوریک اسید (TBA) ۰/۵ درصد بود، مخلوط شد. مخلوط به‌دست‌آمده به مدت ۳۰ دقیقه در دمای ۹۵ درجه سلسیوس در حمام بن‌ماری گرما داده شد. سپس

مربوط به نمونه‌ها در زیر منبع نوری (دو عدد لامپ فلورسنت ۱۵ وات) به مدت ۱۵ دقیقه، واکنش مورد نظر انجام شد. در پایان کار، کیووت‌ها با پوشش پارچه‌ای سیاه پوشانده شدند. یک کیووت بدون عصاره آنزیمی به‌عنوان شاهد و کیووت دیگر حاوی کمپلکس واکنش کامل اما نور ندیده به‌عنوان شاهد در نظر گرفته شدند. با دستگاه طیف‌سنج نوری، میزان جذب هر نمونه در طول موج ۵۶۰ نانومتر خوانده شد و یک واحد فعالیت آنزیم معادل با کمیتی از آن تعریف شد که توان کاهش در میزان تولید ۵۰ درصد نیتروبلو ترازولیوم را داشته باشد. فعالیت ویژه آنزیمی به‌صورت واحد به ازای ۱ میلی‌گرم پروتئین بر دقیقه نمونه گزارش شد. تعیین غلظت پرولین در بافت برگ بر پایه روش Bates (1973) انجام شد. بر پایه این روش ۰/۵ گرم نمونه برگ در نیتروژن مایع کامل ساپیده شد، آنگاه ۲ میلی‌لیتر بافر فسفات پتاسیم به آن اضافه و درون هاون چینی به‌طور کامل همگن (هموژنیزه) شد. مخلوط به‌دست‌آمده به مدت ۱۵- دقیقه با دور ۱۳۰۰۰ سانتریفیوژ شد و سپس بخش (فاز) بالایی برای خواندن میزان پرولین جدا شد. برای تهیه محلول ناین هیدرین در آغاز ۱۶ میلی‌لیتر فسفریک اسید با آب مقطر به حجم ۴۰ میلی‌لیتر رسانده شد. میزان ۲/۵ گرم ناین‌هیدرین با ۶۰ میلی‌لیتر اسیداستیک مخلوط و به محلول پیشین اضافه شد و با استفاده از همزن ناین هیدرین کامل حل شد. ۱ میلی‌لیتر عصاره برگ، ۱ میلی‌لیتر اسید استیک و ۱ میلی‌لیتر ناین هیدرین را به هر لوله آزمایش اضافه کرده، سپس نمونه‌ها به مدت یک ساعت در حمام بن‌ماری در دمای ۹۰ درجه سلسیوس قرار داده و بی‌درنگ پس از خارج کردن از حمام به مدت چند دقیقه در حمام یخ قرار داده شد. پس از این مرحله به هر لوله آزمایش ۸ میلی‌لیتر تولون اضافه کرده و نمونه‌ها با همزن به مدت ۲۰-۱۵ ثانیه به هم زده شده تا به‌طور کامل یکنواخت شوند. سپس لوله‌ها برای مدتی در محیط آزمایشگاه قرار داده شد. در این مدت درون لوله آزمایش ۲ بخش رویی و زیرین به‌طور کامل از هم قابل تشخیص شده و از بخش رویی برای تعیین غلظت پرولین با توجه به منحنی

ترتیب ۹، ۱۹ و ۲۶ درصد کاهش یافت (جدول ۳). که با نتایج دیگر پژوهش‌ها همخوانی دارد (Gorji et al., 2015؛ Sheidaei et al., 2010)؛ در گیاهان زراعی در شرایط تنش شوری، نبود آماس (تورژسانس) مناسب یاخته و تخصیص بیشتر مواد ساخت‌شده برای رویارویی با تنش، کوتاه شدن دوره رشد گیاه و نیز سازوکارهای فرار از تنش همگی می‌توانند بازدارنده توسعه عادی یاخته‌ها و در نتیجه کاهش شاخص‌های مختلف گیاه از جمله ارتفاع بوته شوند (Lacerda et al., 2005). از نگاه دیگر تشکیل زودهنگام واکوئل برای تشکیل یاخته‌های اپیدرمی برای رویارویی با شرایط شوری باعث کاهش سطح، حجم و میزان سیتوپلاسم یاخته‌ها خواهد شد که نتیجه این تغییرات جذب کندتر یون‌ها و ساخت کمتر ترکیب‌های مورد نیاز رشد گیاه خواهد بود (Gorji et al., 2015).

وزن خشک گیاه

وزن خشک بوته گلرنگ در سطوح ۴، ۸ و ۱۲ دسی-زیمنس بر متر در مقایسه با تیمار شاهد به ترتیب به میزان ۱۱، ۲۹ و ۴۹ درصد کاهش یافت (جدول ۳). به نظر می‌رسد تنش شوری باعث کاهش جذب آب خواهد شد که نتیجه آن کاهش ساخت پروتئین، تخریب، انتقال یون و در نهایت کاهش میزان محصول خواهد بود (Arzani & Ashraf, 2016). همچنین یکی دیگر از اثرگذاری‌های زیانبار شوری بر میزان رشد و کاهش سطح نورساخت (فتوسنتز) کننده گیاه و انتقال و مصرف بخشی از مواد تولیدشده برای تنظیم پتانسیل اسمزی خواهد بود که در نتیجه ماده خشک تولیدی کاهش خواهد یافت (Vijayalakshmi et al., 2016). در نتایج پژوهش‌های پیشین نیز کاهش وزن خشک گلرنگ در رویارویی با تنش شوری گزارش شده است (Salem et al., 2014 و Gengmao et al., 2015). نتایج بررسی‌ها نشان داد، رقم گلرنگ صنف در همه سطوح شوری همواره وزن خشک کمتری نسبت به زنده رود داشته، به صورتی که در سطوح ۴، ۸ و ۱۲ دسی-زیمنس بر متر وزن خشک به ترتیب ۱۳، ۳۰ و ۵۸ درصد کاهش یافت درحالی‌که این میزان در

بی‌درنگ در یخ سرد شده و دوباره مخلوط به مدت ده دقیقه در ۱۰۰۰g سانتریفیوژ شد. شدت جذب این محلول با استفاده از طیف‌سنج نوری در طول موج ۵۳۲ نانومتر خوانده شد. جذب دیگر رنگیزه‌های غیر-اختصاصی در ۶۰۰ نانومتر تعیین و از میزان به‌دست‌آمده کسر شد. از رابطه زیر برای محاسبه میزان مالون‌دی‌آلدئید استفاده شد.

$$MDA(\mu\text{molg}^{-1}\text{DW}) = (((A532 - A600) \times W) / 116) \times 1000$$

A532 و A600 = جذب خوانده‌شده با طیف‌سنج نوری در طول موج‌های ۵۳۲ و ۶۰۰ نانومتر و W نشان‌دهنده وزن نمونه برگ است. عنصرهای سدیم و پتاسیم ریشه و شاخساره به روش نورسنج شعله‌ای (Flame photometer)، کلسیم و منیزیم با استفاده از دستگاه جذب اتمی و فسفر نیز با روش Olsen et al. (1954) اندازه‌گیری شدند. برای اندازه‌گیری میزان سدیم، پتاسیم کلسیم و منیزیم، در آغاز برگ، ساقه و ریشه به‌طور جداگانه در آون کامل خشک و آسیاب شدند. سپس از هر نمونه، ۰/۵ گرم جدا و در بوته چینی به مدت چند ساعت و در دمای بسیار بالا (حدود ۵۰۰ درجه سلسیوس) قرار داده تا خاکستر آن‌ها به‌طور کامل سفید شد. پس از سرد شدن نمونه‌ها، به هرکدام ۵ میلی‌لیتر اسیدکلریدریک ۲ نرمال اضافه و به‌کلی مخلوط شد. پس از عبور از کاغذ صافی، حجم نهایی با آب مقطر در حال جوشیدن به ۵۰ میلی‌لیتر رسانده شد. غلظت سدیم و پتاسیم با استفاده از دستگاه نورسنج شعله‌ای و غلظت عنصرهای کلسیم و منیزیم با استفاده از دستگاه جذب اتمی اندازه‌گیری شدند. در نهایت داده‌ها توسط نرم‌افزار آماری SAS9.1 تجزیه و تحلیل شده و مقایسه میانگین‌ها نیز به روش حداقل تفاوت معنی‌دار (LSD) در سطح احتمال ۵ درصد انجام گرفت.

نتایج و بحث

ارتفاع بوته

اعمال سطوح شوری ۸ و ۱۲ دسی-زیمنس بر متر باعث کاهش معنی‌دار ارتفاع بوته شد و در شوری‌های ۴، ۸ و ۱۲ دسی-زیمنس بر متر نسبت به تیمار شاهد به

همه سطوح تنش میزان سبزینه a و عدد سبزینه متر بیشتری را نشان داد (شکل‌های ۲ و ۳). روند کاهش شاخص سبزینه در رویارویی با شوری نیز همسان با کاهش غلظت سبزینه‌های a و b بود، به طوری که همبستگی معنی‌داری بین غلظت سبزینه کل و شاخص سبزینه در همه سطوح مشاهده شد (Wu *et al.*, 2015) ($R^2=0.96$) در نتایج بررسی‌های خود بیان کردند، میزان سبزینه در شرایط تنش شوری می‌تواند به‌عنوان معیار مناسبی برای ارزیابی میزان مقاومت گیاهان به تنش شوری استفاده شود.

آنزیم‌های پاداکسنده

واکنش فعالیت آنزیم کاتالاز به سطوح تنش شوری روند متفاوتی داشت به صورتی که فعالیت این آنزیم در سطح شوری ۴ دسی‌زیمنس نسبت به تیمار شاهد کاهش ۱۲ درصدی را نشان داد (جدول ۳). کاهش فعالیت آنزیم کاتالاز در شرایط شوری پیش از این نیز در نتایج پژوهش‌های دیگری گزارش شده است (Farhoudi, 2011 و Gengmao *et al.*, 2015). برخی از پژوهشگران کاهش فعالیت کاتالاز را ناشی از غیر فعال‌سازی سریع آن در رویارویی با شوری دانسته‌اند (Fidalgo *et al.*, 2004). با افزایش شوری از سطح ۴ به ۸ دسی‌زیمنس بر متر، افزایش معنی‌دار و ۴۷ درصدی فعالیت آنزیم کاتالاز مشاهده شد که البته سطح ۸ دسی‌زیمنس بر متر تفاوت معنی‌داری با سطح ۱۲ نشان نداد (جدول ۳). فعالیت آنزیم پراکسیداز در سطوح شوری ۸ و ۱۲ دسی‌زیمنس نسبت به شاهد افزایش ۴۴ و ۷۲ درصدی نشان داد (جدول ۳). بیشترین فعالیت آنزیم پراکسیداز در رقم زنده‌رود و در سطح شوری ۱۲ دسی‌زیمنس مشاهده شد. همچنین این رقم در همه سطوح تنش میزان فعالیت پراکسیداز بیشتری را در مقایسه با رقم صفا نشان داد (شکل ۴). پراکسیداز مجموعه‌ای از آنزیم‌های چرخه آسکورات-گلوتاتیون ردکتاز است که با حذف آب‌اکسیژنه، آن را به آب تبدیل می‌کند، لذا بسیاری از پژوهشگران این آنزیم را به‌عنوان یکی از عامل‌های کلیدی در جهت حفاظت گیاهان در رویارویی با تنش شوری معرفی کرده‌اند (Meloni *et al.*, 2003). به‌بیان‌دیگر آنزیم

رقم زنده‌رود ۹، ۲۸ و ۴۰ درصد بود (شکل ۱). لذا با توجه به این نتایج بر پایه درصد کاهش وزن خشک بوته می‌توان رقم صفا را در شرایط تنش شوری نسبت به رقم زنده‌رود حساس‌تر دانست. تنوع وزن خشک رقم‌های گلرنگ در شرایط شوری پیش از این نیز در پژوهش‌های دیگری نشان داده شده است (Gorji *et al.*, 2015 و Vijayalakshmi *et al.*, 2016). این پژوهشگران در نتایج بررسی‌های خود بیان کردند، اختلاف عملکرد و اجزای عملکرد رقم‌ها در شرایط غیر تنش و همچنین شرایط تنش می‌تواند به دلیل ظرفیت ژنتیکی تولیدی رقم‌های مختلف باشد.

رنگدانه‌های نورساختی و شاخص سبزینه (SPAD)

کاهش معنی‌دار غلظت سبزینه a ، b و شاخص سبزینه در سطوح بالای شوری ۸ و ۱۲ دسی‌زیمنس بر متر در مقایسه با تیمار شاهد مشاهده شد (جدول ۳). به نظر می‌رسد تنش شوری با ایجاد گونه‌های فعال اکسیژن مانند رادیکال‌های سوپراکسیداز (O_2^-)، اکسیژن منفرد (O_1^-)، رادیکال‌های هیدروکسیل (OH^-) و نیز افزایش پرولین و یا تغییر مسیر زیست‌ساختی (بیوسنتزی) سبزینه به سمت زیست‌ساخت آلفاتوکوفرول منجر به آسیب و زیان و یا کاهش سبزینه شود (Kaya *et al.*, 2001). تأثیر منفی تنش شوری بر غلظت سبزینه‌های گیاهی پیش از این نیز در گیاهانی مانند گلرنگ، Siddiqi & Ashraf (2008) و Zibaei *et al.*, Gengmao *et al.*, 2015؛ Bazrafshan & Ehsanzadeh *et al.*, 2012)، کجند (Tavakoli *et al.*, 2016) گزارش شده است. کاهش معنی‌دار غلظت کاروتنوئید تنها در سطح شوری ۱۲ دسی‌زیمنس بر متر مشاهده شد (جدول ۳) که خود بیانگر پایداری میزان رنگدانه‌های گیاهی تا حد معینی از شوری است (Kaya *et al.*, 2001). کاهش نیافتن غلظت کاروتنوئید در سطوح پایین‌تر تنش شوری با نتایج بررسی‌های Gengmao *et al.* (2015) همخوانی دارد. رقم‌های گلرنگ از نظر غلظت سبزینه a و شاخص سبزینه واکنش متفاوتی به شوری نشان دادند. رقم زنده‌رود نسبت به صفا در

(Narendra, 2010). به طور کلی می‌توان بیان داشت، با توجه به نتایج این پژوهش نقش آنزیم کاتالاز در مقایسه با دو آنزیم دیگر در تحمل به شوری کمتر بود. نتایج دیگری مبنی بر نقش مؤثرتر آنزیم‌های پراکسیداز و سوپراکسید دیسموتاز در مقایسه با آنزیم کاتالاز در تحمل به شوری گیاه کلزا (Ashraf & Ali, 2008) و گلرنگ (Gengmao *et al.*, 2015) و (Vijayalakshmi *et al.*, 2016) نیز گزارش شده است. در این پژوهش رابطه مثبت و معنی‌داری بین فعالیت پراکسیداز ($R^2=0.95$) و سوپراکسید دیسموتاز ($R^2=0.96$) با وزن خشک بوته مشاهده شد که این مطلب نشان‌دهنده اهمیت این دو آنزیم در القای تحمل به تنش شوری در گیاه گلرنگ است.

پراکسیداز نقش مهمی در کاهش فعالیت رادیکال‌های آزاد اکسیژن ناشی از تنش شوری، تجمع یون سدیم در برگ گیاهان زراعی و حتی کاهش آسیب و زیان غشای یاخته‌ای دارد (Agrawal *et al.*, 2005). فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز نیز به‌طور معنی‌داری تحت تأثیر شوری و رقم قرار گرفت. رقم زنده‌رود در همه سطوح تنش میزان فعالیت بیشتر این آنزیم را نشان داد (شکل ۵). یکی از مؤثرترین پاداکننده‌های درون‌یاخته‌ای سوپر اکسید دیسموتاز است (Gill & Tuteja, 2010). بسیاری از پژوهشگران این آنزیم را قوی‌ترین پاداکننده شناخته شده می‌دانند که می‌تواند بسیاری از گونه‌های گیاهی را در برابر رادیکال‌های اکسیژن حفظ کرده و سبب تحمل گیاه در برابر بسیاری از تنش‌های محیطی شود (Sarvajeet &

جدول ۱. برخی از ویژگی‌های شیمیایی آب مورد استفاده در آزمایش

Table 1. Some chemical properties of the experimental water

Irrigation water salinity (dS/m)	pH	Some cations and anions in water used in the experiment (meq/L)						
		Na ⁺	K ⁺	Cl ⁻	Ca ²⁺	Mg ²⁺	HCO ₃ ⁻	CO ₃ ²⁻
2	7.36	12.1	0.18	21.05	3.15	2.76	0.008	-
4	7.22	25.25	0.31	43.01	5.98	7.71	0.018	-
8	7.10	52.81	0.48	86.30	12.21	13.04	0.031	-
12	7.00	97.2	0.63	127.11	20.63	18.56	0.052	0.0005

جدول ۲. برخی از ویژگی‌های فیزیکوشیمیایی خاک مورد استفاده در آزمایش

Table 2. Some physicochemical properties of the experimental soil

EC (dS/m)	pH	Organic Matter (%)	Fe (mg/kg)	Zn (mg/kg)	Mn (mg/kg)	Cu (mg/kg)	N (%)	P (mg/kg)	K (mg/kg)	Texture
0.47	7.14	0.78	5.5	2.35	4.52	2.27	0.12	17	450	Silty clay

2012؛ نقل از (Ashraf & Foolad, 2007)، نتایج بسیاری از پژوهش‌ها عکس این مطلب را نشان داده‌اند (Ashraf & Harris, 2004؛ Lacerda *et al.*, 2005). به‌رغم نقش بسیار مهم پرولین در حفظ فشار آماس یاخته و در پی آن ادامه رشد آن و همچنین به‌عنوان منبع مهم ذخیره کربن و نیتروژن در هنگام تنش شوری، تجمع این ماده در زمان بروز تنش انرژی سوخت‌وسازی زیادی نیاز دارد، به‌طوری‌که به ازای هر واحد تجمع پرولین حدود ۴۰ واحد ATP استفاده خواهد شد، همچنین ساخت این ماده نیاز به اختصاص کربن بیشتری در ساختار مواد آلی دارد (Munns & Tester, 2008)، لذا به نظر می‌رسد در بسیاری از

پرولین

اعمال تنش شوری باعث افزایش معنی‌دار غلظت پرولین شد، به‌طوری‌که میزان آن در سطوح شوری ۴، ۸ و ۱۲ دسی‌زیمنس نسبت به شاهد افزایش ۲۲، ۶۸ و ۸۱ درصدی را نشان داد (جدول ۳). گرچه غلظت پرولین در رقم صفه بیشتر از رقم زنده‌رود بود، ولی تفاوت معنی‌داری بین رقم‌ها مشاهده نشد (جدول ۳). با توجه به منابع موجود هنوز نقش پرولین در تحمل به شوری گیاهان مختلف به‌درستی مشخص نیست. درحالی‌که برخی از پژوهشگران همبستگی مثبت و معنی‌دار محتوای پرولین و تحمل به شوری را در نتایج بررسی‌های خود گزارش کرده‌اند (Rahimi *et al.*,

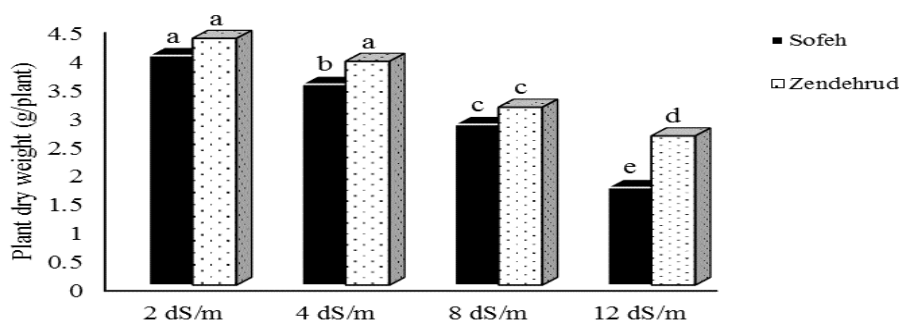
موارد ساخت پرولین در نتیجه افزایش شوری باعث کاهش رشد گیاه خواهد شد.

جدول ۳. تجزیه واریانس و مقایسه میانگین اثر ساده سطوح مختلف تنش شوری و رقم بر ویژگی‌های رشدی و برخی صفات فیزیولوژیک و بیوشیمیایی گلرنگ

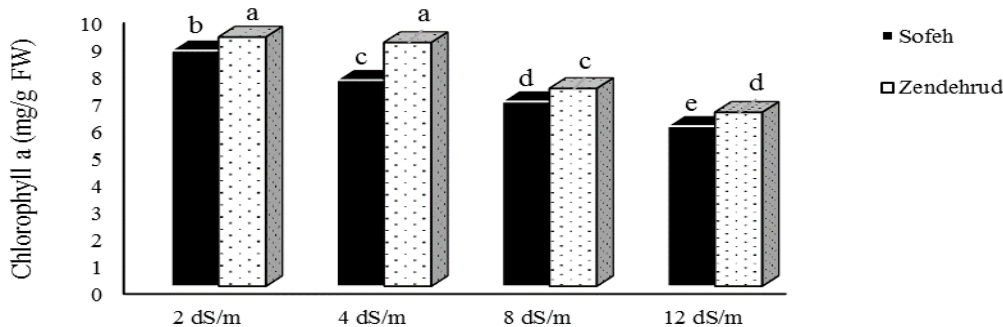
Table 3. Analysis of variance and mean comparison of main effect of salinity levels and cultivar on growth traits and some physiological and biochemical traits of safflower

Traits/Treatments	Plant height (cm)	Plant dry weight (g)	Chlorophyll a (mg/g FW)	Chlorophyll b (mg/g FW)	Carotenoid (mg/gFW)	SPAD	Catalase (Unit/mg protein)	Peroxidase (Unit/mg protein)	Superoxide dismutase (Unit/mg protein)	Proline ($\mu\text{mol/g FW}$)	Malondialdehyde ($\mu\text{mol/g DW}$)
Salinity levels (dS/m)											
2	53.78a	4.15a	8.95a	4.38a	1.44a	55.95a	7.51b	0.32c	66.75c	0.9d	0.04c
4	50.11a	3.70b	8.30a	4.03a	1.30a	52.60a	6.61b	0.38c	77.45c	1.1c	0.06c
8	43.37b	2.95c	7.06b	2.25b	1.24a	45.36b	9.73a	0.46b	92.50b	1.51b	0.12b
12	38.52c	2.10d	6.16b	1.74b	0.8b	39.50c	9.11a	0.55a	108.75a	1.63a	0.15a
LSD (5%)	4.76	0.41	1.12	0.8	0.34	4.65	2.18	0.06	11.16	0.04	0.021
Cultivars											
Zendebrud	49.31a	3.48a	7.98a	3.48a	1.59a	50.55a	8.39a	0.46a	90.63a	1.56a	0.07b
Sofeh	48.12a	2.92b	7.16b	2.07b	1.25a	46.15b	8.09a	0.40b	81.25b	1.61a	0.11a
LSD (5%)	5.36	0.21	0.51	1.01	0.44	4.12	2.25	0.04	8.1	0.08	0.02
Salinity (S)	**	**	**	*	*	**	*	**	**	**	**
Cultivar (C)	ns	**	*	**	ns	**	ns	**	**	ns	**
S \times C	ns	**	**	ns	ns	**	ns	**	**	ns	**

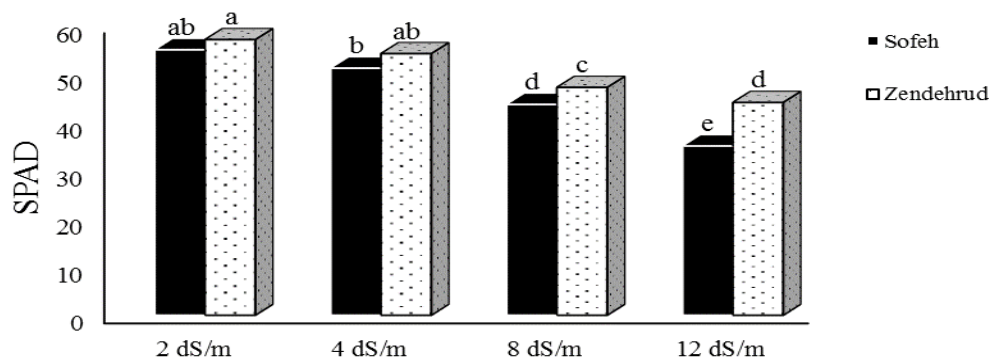
ns: non-significant, * and **, significant at 5% and 1% probability levels, respectively.



شکل ۱- وزن خشک بوته ارقام گلرنگ تحت اثر سطوح مختلف تنش شوری
Fig 1- Plant dry weight of safflower cultivars under different salinity levels

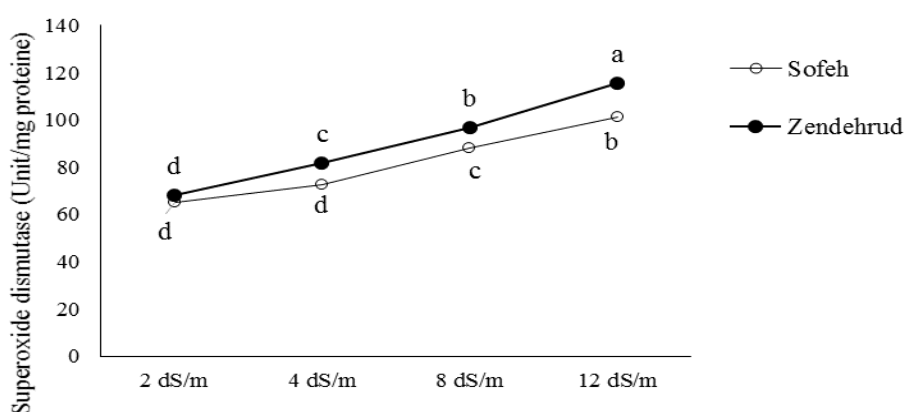


شکل ۲- غلظت کلروفیل a ارقام گلرنگ تحت اثر سطوح مختلف تنش شوری
Fig 2- Chlorophyll (a) contents of safflower cultivars under different salinity levels



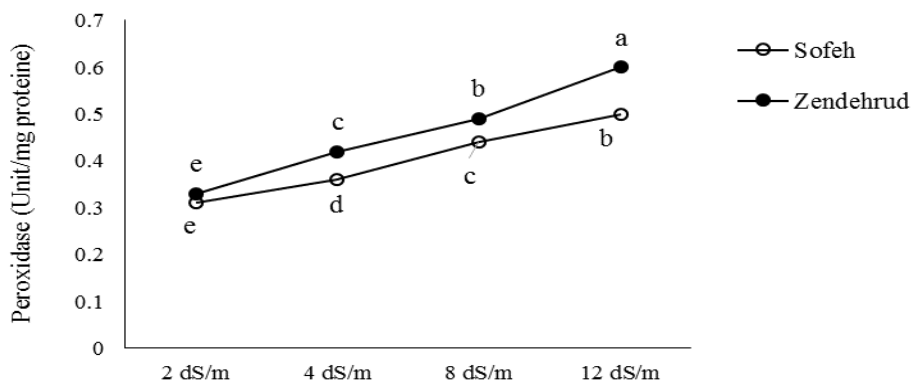
شکل ۳- شاخص سبزینگی ارقام گلرنگ تحت اثر سطوح مختلف تنش شوری

Fig 3- SPAD index of safflower cultivars under different salinity levels



شکل ۴- فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز ارقام گلرنگ تحت اثر سطوح مختلف تنش شوری

Fig 4- Superoxide dismutase activity of safflower cultivars under different salinity levels



شکل ۵- فعالیت آنزیم پراکسیداز ارقام گلرنگ تحت اثر سطوح مختلف تنش شوری

Fig 5- Peroxidase activity of safflower cultivars under different salinity levels

گیاه منجر به کاهش رشد گیاه گردیده است. به بیان دیگر به نظر می‌رسد تجمع پرولین در رقم‌های مورد بررسی این پژوهش نوعی واکنش به تنش اسمزی ناشی از تنش شوری است. این مطلب پیش از این در نتایج پژوهش Sheidai *et al.* (2012) و

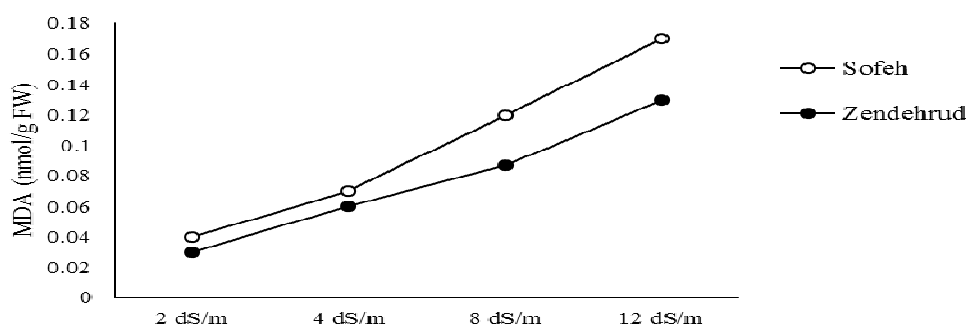
این مسئله با توجه به همبستگی منفی و معنی‌دار غلظت پرولین و وزن خشک بوته ($r=-0.96$) در این تحقیق نیز به طرز آشکاری قابل مشاهده است، در نتیجه می‌توان اظهار کرد تجمع پرولین در رقم‌های مورد بررسی همراه با افزایش هزینه سوخت‌وسازی،

گلرنگ (Vijayalakshmi *et al.*, 2016) گزارش شده است. در این پژوهش آسیب و زیان غشای یاخته‌ای به افزایش تجمع یون سدیم و همچنین افزایش رادیکال-های آزاد در یاخته‌های گیاهی نسبت داده شده است. در این پژوهش رقم زنده‌رود بیشترین غلظت سدیم و همچنین کمترین وزن خشک را در سطوح مختلف تنش شوری داشت. در کل بیان شده است میزان بیشتر مالون دی‌آلدئید که ناشی از آسیب و زیان و تجزیه چربی‌های غشای یاخته‌ای است، می‌تواند به‌عنوان یک معیار مناسب برای بررسی واکنش گونه-های گیاهی به تنش شوری استفاده شود (Garriga *et al.*, 2015).

Rahimi *et al.* (2013) که به‌منظور بررسی واکنش رقم‌های گلرنگ به شوری انجام شده است نیز گزارش شده است.

مالون دی‌آلدئید

غلظت مالون دی‌آلدئید برگ به‌طور معنی‌داری تحت تأثیر تنش شوری قرار گرفت (جدول ۳). بیشترین غلظت مالون دی‌آلدئید در سطح شوری ۱۲ دسی-زیمنس در رقم صفا مشاهده شد (شکل ۶) که این مطلب بیانگر آسیب و زیان بیشتر غشای یاخته‌ای در این رقم تحت تأثیر شوری است. افزایش غلظت مالون دی‌آلدئید در نتیجه بروز تنش شوری و همچنین کمتر بودن میزان آن در رقم‌های متحمل پیش از این نیز در



شکل ۶- غلظت مالون دی‌آلدئید ارقام گلرنگ تحت اثر سطوح مختلف تنش شوری
Fig 6- Malondialdehyde content of safflower cultivars under different salinity levels

رقم صفا در شوری ۸ و ۱۲ دسی‌زیمنس بر متر نسبت به سطح ۴ دسی‌زیمنس بر متر به ترتیب کاهش ۶۳، ۷۸، ۵۰ و ۷۰ درصدی نشان داد، درحالی‌که این کاهش در برگ و ریشه رقم زنده‌رود به ترتیب ۵۸، ۷۲، ۲۹ و ۵۳ درصد بود (جدول ۴). افزایش غلظت سدیم اندام‌های هوایی در گلرنگ در نتیجه اعمال تنش شوری پیش از این نیز توسط Karimi *et al.* (2014) (2015) Yeilaghi *et al.* و Gengmao *et al.* (2015) *al.* در نتایج بررسی‌های آن‌ها گزارش شده است. با اعمال تنش شوری نسبت پتاسیم به سدیم نیز در همه اندام‌های گیاه کاهش یافت (جدول ۴). همبستگی منفی و معنی‌دار غلظت سدیم برگ ($r = -0.97$) و ریشه ($r = -0.98$) و در مقابل همبستگی مثبت و معنی‌دار پتاسیم برگ ($r = 0.96$) و ریشه ($r = 0.85$) با

غلظت عنصرها در گیاه

نتایج مقایسه میانگین داده‌ها در مورد نتیجه تیمارها بر غلظت عنصرها در اندام‌های مختلف گیاه در جدول‌های ۴ و ۵ نشان داده شده است. در مورد سدیم، در سطح شوری ۱۲ دسی‌زیمنس بر متر، رقم صفا میزان بیشتری از غلظت یون سدیم در همه اندام‌ها را داشت درحالی‌که در همین سطح شوری، غلظت این یون، در همه اندام‌های رقم زنده‌رود غلظت کمتری داشت (جدول ۴).

با افزایش سطح شوری میزان پتاسیم کاهش چشمگیری داشت به‌طوری‌که میزان پتاسیم مربوط به سطح شوری ۱۲ دسی‌زیمنس بر متر کمترین و میزان پتاسیم تیمار شاهد بیشترین میزان را نشان داد (جدول ۴). نسبت پتاسیم به سدیم در برگ و ریشه

وزن خشک بوته در این پژوهش نیز بیانگر اهمیت بالای این عناصر به عنوان یکی از مؤثرترین ابزار به

جدول ۴. غلظت عنصرهای سدیم، پتاسیم و نسبت پتاسیم به سدیم در برگ، ساقه و ریشه رقم‌های گلرنگ در شرایط تنش

شوری

Table 4. The concentrations of Na⁺, K⁺ and the K⁺/Na⁺ ratio in the leaf, stem and root of safflower cultivars under salinity stress

Cultivars	Salinity levels (dS/m)	Na ⁺ (mg/g DW)			K ⁺ (mg/g DW)			K ⁺ /Na ⁺ ratio		
		Leaf	Stem	Root	Leaf	Stem	Root	Leaf	Stem	Root
Sofeh	2	5.29 ^d	3.03 ^e	11.29 ^d	4.66 ^c	3.77 ^a	6.61 ^a	0.88 ^b	1.24 ^a	0.59 ^b
	4	6.65 ^d	3.78 ^d	20.09 ^c	4.53 ^c	2.93 ^b	5.99 ^b	0.68 ^c	0.78 ^c	0.30 ^d
	8	16.67 ^b	4.72 ^d	33.87 ^b	4.23 ^e	2.41 ^c	5.11 ^b	0.25 ^e	0.51 ^d	0.15 ^e
	12	24.25 ^a	5.77 ^b	47.19 ^a	3.71 ^f	1.27 ^d	4.44 ^c	0.15 ^f	0.22 ^f	0.09 ^f
Zendebrud	2	5.23 ^d	3.82 ^e	11.17 ^d	5.21 ^a	4.01 ^a	7.8 ^a	0.99 ^a	1.05 ^b	0.70 ^a
	4	5.48 ^d	4.42 ^d	19.09 ^c	4.93 ^b	3.26 ^b	7.21 ^a	0.90 ^b	0.74 ^c	0.38 ^c
	8	11.73 ^c	5.26 ^c	25.85 ^c	4.34 ^d	3.12 ^b	6.87 ^a	0.37 ^d	0.59 ^d	0.27 ^d
	12	16.21 ^b	6.73 ^a	34.51 ^b	4.10 ^e	2.43 ^c	6.23 ^b	0.25 ^e	0.36 ^e	0.18 ^e
LSD (5%)	-	3.75	0.41	6.92	0.19	0.27	1.44	0.08	0.11	0.05

گلرنگ پیشنهاد کردند. واکنش یون کلسیم در رویارویی با تنش شوری در ریشه و شاخساره روند همسانی را نشان نداد (جدول ۵). غلظت کلسیم در برگ و ساقه در هر دو رقم کاهش معنی‌داری را نشان داد. البته کاهش معنی‌دار غلظت کلسیم برگ در رقم زنده‌رود تنها در سطح شوری ۱۲ دسی‌زیمنس بر متر مشاهده شد در حالی که این کاهش در برگ رقم صفا در سطح شوری ۸ دسی‌زیمنس بر متر مشاهده شد (جدول ۵). غلظت کلسیم ریشه هر دو رقم در رویارویی با تنش شوری به‌ویژه در سطوح شوری ۸ و ۱۲ دسی‌زیمنس بر متر افزایش معنی‌داری را نشان داد. البته در رقم زنده‌رود غلظت کلسیم در همه اندام‌ها و در همه سطوح شوری بیشتر از رقم صفا بود (جدول ۵).

Gengmao *et al.* (2015) در نتایج بررسی‌های خود افزایش معنی‌دار غلظت کلسیم در ریشه گلرنگ را در نتیجه اعمال تنش شوری مشاهده کردند. این محققان بیان کردند ذخیره بیشتر کلسیم در ریشه گیاه در شرایط شوری می‌تواند به‌عنوان یکی از مهم‌ترین عامل‌ها برای کاهش تجمع سدیم در ریشه و افزایش تجمع یون پتاسیم در ساقه توجه شود که نتیجه آن جذب و انتقال انتخابی بیشتر پتاسیم در مقابل سدیم خواهد بود. این مطلب با توجه به همبستگی منفی و معنی‌دار غلظت سدیم و کلسیم ($r=-0.82$) و همبستگی مثبت و معنی‌دار پتاسیم و کلسیم ($r=0.88$)

میزان پتاسیم در تحمل به شوری گیاهان زراعی اهمیت ویژه‌ای دارد. به علت ویژگی ناهمسازی (آنتاگونیستی) سدیم و پتاسیم با افزایش شوری میزان پتاسیم ریشه کاهش می‌یابد. (2015) Gengmao *et al.* و (2015) Yeilaghi *et al.* نیز در گیاه گلرنگ به نتایج همسانی دست یافتند.

بنا بر بررسی‌های انجام شده در سطح بالای شوری، نژادگان (ژنوتیپ)‌های حساس در مقایسه با نژادگان متحمل غلظت سدیم بیشتر و کاهش غلظت پتاسیم شدیدتری دارد (Arzani & Ashraf, 2016) که با نتایج این پژوهش همخوانی دارد. گزارش شده است کاهش پتاسیم در رویارویی با تنش شوری به دلیل تجمع یون‌های سمی مانند سدیم و کلر است. نسبت سدیم به پتاسیم می‌تواند به‌عنوان شاخص ارزشمند در رابطه با تأثیر متناقض سدیم و پتاسیم در گیاه مطرح باشد. این نسبت در بافت گیاه به‌عنوان شاخص سمیت سدیم به‌کار می‌رود، زیرا پژوهشگران بر این باورند، حضور سدیم باعث اختلاف در فعالیت آنزیم‌های وابسته به یون پتاسیم می‌شود (Munns & Tester, 2008).

Karimi *et al.* (2014) و Yeilaghi *et al.* (2015)

در نتایج پژوهش‌های خود ارزیابی غلظت سدیم در برگ و نسبت پتاسیم به سدیم را به‌عنوان مهم‌ترین شاخص به جهت شناسایی رقم‌های متحمل و حساس

به روشنی قابل مشاهده بود (جدول ۶).
 اهمیت کلسیم به عنوان یکی از مهم ترین
 عامل های کاهش دهنده سدیم در پژوهش های
 Munns & Tester,) پیشین نیز به اثبات رسیده است (2008, Karimi et al.).

جدول ۵. غلظت عنصرهای کلسیم، منیزیم و فسفر در برگ، ساقه و ریشه رقم های گلرنگ در شرایط تنش شوری
 Table 5. The concentrations of Ca²⁺, Mg²⁺ and P in the leaf, stem and root of safflower cultivars under salinity stress

Cultivars	Salinity levels (dS/m)	Ca ²⁺ (mg/g DW)			Mg ²⁺ (mg/g DW)			P (mg/g DW)		
		Leaf	Stem	Root	Leaf	Stem	Root	Leaf	Stem	Root
Sofeh	2	13.98b	8.14b	1.94c	15.46b	10.34b	3.88b	2.51b	1.87b	1.46b
	4	9.26bc	3.54d	2.1b	14.20b	9.40b	3.26b	1.91c	1.32c	0.85c
	8	5.77d	1.51e	2.82b	9.69bc	6.58c	2.13c	1.34c	0.86cd	0.61d
	12	2.33e	1.06e	3.29b	8.64bc	5.65c	1.33d	0.71cd	0.39d	0.29de
Zendebrud	2	19.91a	11.46a	2.54b	24.49a	15.98a	6.12a	3.66a	2.78a	2.12a
	4	17.18a	6.07c	2.59b	16.89b	11.05b	3.86b	1.93b	1.34c	0.96c
	8	14.59ab	2.09d	4.96a	12.17bc	8.09c	2.67c	1.62c	1.06c	0.73c
	12	11.38b	1.23e	5.01a	11.21bc	7.19c	1.84c	0.91cd	0.53cd	0.37d
LSD (5%)	-	3.29	1.91	1.29	4.16	2.44	0.96	0.58	0.44	0.30

با منیزیم رقابت می کند. به این ترتیب که مکان های
 اتصال در غشای یاخته های ریشه در مقایسه با کلسیم،
 گرایش کمتری را به منیزیم دارند. در این پژوهش در
 شرایط شور میزان منیزیم ریشه کاهش یافت
 در حالی که میزان کلسیم افزایش یافت (r=-0.60)
 (جدول ۶) که به نظر می رسد این واکنش به خاطر
 تأثیر رقابتی منیزیم با کلسیم است. به طور کلی غلظت
 فسفر در رقم زنده رود در همه سطوح شوری و در
 ریشه و شاخساره بیشتر از رقم صفا بود (جدول ۵). در
 این پژوهش همبستگی معنی داری بین غلظت فسفر
 برگ (r=0.88)، ساقه (r=0.89) و ریشه (r=0.91) با
 وزن خشک بوته مشاهده شد (جدول ۶).

غلظت عنصرهای منیزیم و فسفر هر دو رقم در
 ریشه و شاخساره کاهش معنی داری را در شرایط
 شوری نشان داد. غلظت این عنصرها در همه اندام ها
 در رقم زنده رود بیش از رقم صفا بود (جدول ۵).
 کاهش غلظت منیزیم در شرایط شور در گیاه گلرنگ
 با نتایج Sheidai et al. (2010) همخوانی دارد. اعمال
 تنش شوری باعث کاهش غلظت فسفر موجود در
 برگ، ساقه و ریشه هر دو رقم مورد بررسی شد
 (جدول ۵). Ahmad & Ashraf (2000) در نتایج
 بررسی های خود کاهش غلظت فسفر در گیاه پنبه در
 شرایط تنش شوری را گزارش کردند. تأیید شده است
 که در زمان جذب عنصرها توسط گیاه، کلسیم به شدت

جدول ۶. ضریب های ساده همبستگی بین وزن خشک بوته و غلظت عنصرها در برگ، ساقه و ریشه گلرنگ

Table 6. Simple correlation coefficients between plant dry weight and ions concentrations in leaf, stem and root of safflower

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15
1	1														
2	-0.97**	1													
3	-0.78*	0.76*	1												
4	-0.98**	0.97**	0.80*	1											
5	0.96**	-0.91**	-0.69 ^{ns}	-0.92**	1										
6	0.96**	-0.93**	-0.70 ^{ns}	-0.97**	0.91**	1									
7	0.85**	-0.83*	-0.39 ^{ns}	-0.83*	0.87**	0.90**	1								
8	0.85**	-0.82*	-0.49 ^{ns}	-0.81*	0.88**	0.89**	0.99**	1							
9	0.86**	-0.77*	-0.73*	-0.85**	0.89**	0.83**	0.75*	0.76*	1						
10	-0.51 ^{ns}	0.48 ^{ns}	0.85**	0.50 ^{ns}	-0.48 ^{ns}	-0.34 ^{ns}	-0.04 ^{ns}	-0.06 ^{ns}	-0.57 ^{ns}	1					
11	0.86**	-0.78*	-0.59 ^{ns}	-0.83*	0.93**	0.83**	0.84**	0.84**	0.94**	-0.41 ^{ns}	1				
12	0.87**	-0.80*	-0.62 ^{ns}	-0.84**	0.94**	0.84**	0.84**	0.84**	0.96**	-0.43 ^{ns}	0.99**	1			
13	0.91**	-0.83*	-0.70*	-0.88**	0.95**	0.88**	0.82*	0.83*	0.95**	-0.60*	0.98**	0.99**	1		
14	0.88**	-0.81*	-0.76*	-0.89**	0.91**	0.89**	0.77*	0.77*	0.95**	-0.52 ^{ns}	0.94**	0.95**	0.98**	1	
15	0.89**	-0.80*	-0.78*	-0.88**	0.90**	0.87**	0.76*	0.78*	0.96**	-0.53 ^{ns}	0.94**	0.95**	0.98**	0.99**	1
16	0.91**	-0.76*	-0.74*	-0.86**	0.88**	0.88**	0.79*	0.75*	0.97**	-0.50 ^{ns}	0.93**	0.94**	0.97**	0.99**	0.99**

1: Plant dry weight, 2: Leaf Na, 3: Stem Na, 4: Root Na, 5: Leaf K, 6: Stem K, 7: Root K, 8: Leaf Ca, 9: Stem Ca, 10: Root Ca, 11: Leaf Mg, 12: Stem Mg, 13: Root Mg, 14: Leaf P, 15: Stem P, 16: Root P.

ریشه، میزان بیشتر فعالیت آنزیم‌های پراکسیداز و سوپراکسیددیسموتاز و میزان کمتر پرولین محلول برگ‌گی در مقایسه با رقم صافه بود. لذا با توجه به نتایج به‌دست‌آمده، به نظر می‌رسد غلظت سدیم و پتاسیم و نسبت آن‌ها در ریشه و برگ و همچنین میزان فعالیت آنزیم‌های پاداکسندگی پراکسیداز و سوپراکسید دیسموتاز می‌توانند به‌عنوان مهم‌ترین و کارآمدترین شاخص‌ها به جهت تمایز رقم‌های حساس و متحمل گیاه گلرنگ به تنش شوری مورد توجه قرار بگیرند. همچنین با توجه به افزایش تجمع پرولین در رویارویی با تنش شوری در رقم‌های حساس و متحمل، می‌توان بیان داشت این فرایند نوعی واکنش در برابر آسیب‌های ناشی از تنش شوری بوده و دست‌کم در رقم‌های مورد بررسی در این پژوهش ارتباطی به تحمل به تنش ندارد.

لذا به نظر می‌رسد فسفر به‌عنوان یکی از مهم‌ترین عنصرهای دخیل در فعل‌وانفعال‌های مختلف گیاهی بتواند نقش مهمی در تحمل بیشتر گیاه در رویارویی با شرایط تنش ایفا کند. در کل به نظر می‌رسد تا به حال پژوهش‌های اندکی در زمینه تأثیر تنش شوری بر غلظت عنصرهای منیزیم و فسفر انجام شده است، لذا انجام پژوهش‌های تکمیلی در شرایط مختلف به‌منظور واکنش این عنصرها به تنش شوری به نظر می‌رسد.

نتیجه‌گیری کلی

این پژوهش برای نخستین بار مهم‌ترین شاخص‌های معرفی‌شده مرتبط با تحمل به تنش شوری در دو رقم از جدیدترین رقم‌های معرفی‌شده گلرنگ در ایران را بررسی کرده است. در این پژوهش رقم زنده‌رود (متحمل به شوری) دارای غلظت بیشتر یون پتاسیم، نسبت بیشتر پتاسیم به سدیم در اندام‌های هوایی و

REFERENCES

1. Abdul-Jaleel, C., Gopi, R., Sankar, B., Manivannam, P., Kishorekumar, A., Sridharan, R. & Panneerselvan, R. (2007). Studies on germination, seedling vigour, lipid peroxidation and prolinemetabolism in *Catharanthus roseus* seedlings under salt stress. *South African Journal of Botany*, 73, 190-195.
2. Agrawal, S., Sairam, R.K., Srivasta, G.C., Tyagi, A. & Meena, R.C. (2005). Role of ABA, salicylic acid, calcium and hydrogen peroxide on antioxidant enzymes induction in wheat seedling. *Plant Science*, 169, 559-570.
3. Arzani, A. & Ashraf, M. (2016). Smart Engineering of Genetic Resources for Enhanced Salinity Tolerance in Crop Plants. *Critical Review in Plant Science*. 35(3): 146-189.
4. Ashraf, M. & Ahmad, S. (2000). Influence of sodium chloride on ion accumulation, yield components and fiber characteristics in salt-tolerant and salt-sensitive lines of cotton (*Gossypium hirsutum* L.). *Field Crops Research* 66, 115-127.
5. Ashraf, M. & Harris, P.J.C. (2004). Potential biochemical indicators of salinity tolerance in plants. *Plant Science*, 166, 3-16.
6. Ashraf, M. & 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. Ashraf, M. & Foolad, M.R. (2007). Roles of Glycine Betaine and Proline in Improving Plant Abiotic Stress Resistance. *Environmental and Experimental Botany*, 59, 206-216.
8. Ashraf, M., & Foolad, M. R. (2013). Crop breeding for salt tolerance in the era of molecular markers and marker-assisted selection. *Plant Breed.* 132: 10-20.
9. Bates, L., Waldren, R. & Teare, I. (1973). Rapid determination of free proline for water-stress studies. *Plant and soil*, 39: 205-207.
10. Bazrafshan A.H. & Ehsanzadeh, P. (2014). Growth, photosynthesis and ion balance of sesame (*Sesamum indicum*L.) genotypes in response to NaCl concentration in hydroponic solutions. *Photosynthetica*, 52(1), 134-147.
11. Bowler, C., Slooten, L., Vandenbranden, S., De Rycke, R., Botterman, J., Sybesma, C., Van Montagu, M., Inzé, D. (1991). Manganese superoxide dismutase can reduce cellular damage mediated by oxygen radicals in transgenic plants. *The EMBO Journal*. 10(7), 1723-1732.
12. Britton, C. & Mehley, A. (1955). Assay of catalase and peroxidase. *Methods in Enzymology* 775. 1223
13. Coskun, D., Britto, D.T., Jean, Y.K., Kabir, I., Tolay, I., Torun, A.A. & Kronzucker, J. (2013). K⁺

- Efflux and retention in response to NaCl stress do not predict salt tolerance in contrasting genotypes of Rice (*Oryza sativa* L.). *PLOS ONE*, 8(2), 1-16.
14. Dehindsa, R.S., Dehindsa, P.P. & Thorpe, T.A. (1981). Leaf Senescence: Correlated with Increased Levels of Membrane Permeability and Lipid Peroxidation, and Decreased Levels of Superoxide Dismutase and Catalase. *Journal of Experimental Botany*, 32(1), 93-101.
 15. Farhoudi, R. (2011). Evolution effect of salt stress on growth, antioxidant enzymes activity and malondealdehyd concentration of Canola varieties. *Iranian Journal of Field Crops Research*, 9(1), 123-130. (In Farsi)
 16. 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, 185-192.
 17. Gao, S., Ouyang, C., Wang, S., Xu, Y., Tang, L. & Chen, F. (2008). Effects of salt stress on growth, antioxidant enzyme and phenylalanine and phenylalanine ammonia-lyase activities in *Jatropha curcas* L. seedlings. *Plant, Soil and Environment*, 54, 374-81.
 18. Garriga, M., Munoz, C.A., Caligari, P.D.S. & Retamales, J.B. (2015). Effect of salt stress on genotypes of commercial (*Fragaria x ananassa*) and chilean strawberry (*F. chiloensis*). *Scientia Horticulture*, 195, 37-47.
 19. Gengmao, Z., Yu, H., Xing, S., Shihui, L., Quanmei, S. & Changhai, W. (2015). Salinity Stress Increases Secondary Metabolites and Enzyme Activity in Safflower. *Industrial Crops and Production*, 64, 175-181.
 20. Gill, S. S. & Tuteja, N. (2010). Reactive oxygen species and antioxidant machinery in abiotic stress tolerance in crop plants. *Plant Physiology and Biochemistry*, 48, 909-930.
 21. Gorgi, M., Zahedi, M. & Eshghizadeh, H.R. (2015). Relationship between responses of Safflower genotypes to salinity at germination and vegetative growth stages. *Journal of Crop Production and Processing*, 4(14), 147-158. (In Farsi)
 22. Hafsi, C., Romero-Puertas, M.C., Gupta, D.K., Del-Rio, L.A., Sandalio, L.M. & Abdely, C. (2010). Moderate salinity enhances the antioxidative response in the halophyte *Hordeum maritimum* L. under potassium deficiency. *Environmental and Experimental Botany*, 60, 129-136.
 23. Heath, R.L. & Packer, L. (1968). Photoperoxidation in isolated chloroplasts. I. Kinetics and stoichiometry of fatty acid peroxidation. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 125, 189-198.
 24. Hu, L., Li, H., Pang, H. & Fu, J. (2012). Responses of antioxidant gene, protein and enzymes to salinity stress in two genotypes of perennial ryegrass (*Lolium perenne*) differing in salt tolerance. *Journal of Plant Physiology*, 169, 146-156.
 25. Javadipour, Z., Movahhedi Dehnavi, M. & Balouchi, H.R. (2013). Changes in the rate of proline, soluble sugars, glycinebetaine and protein content in leaves of six spring safflower (*Carthamus tinctorius* L.) under salinity stress. *Journal of Plant Process and Function*, 1(2), 13-24. (In Farsi)
 26. Javadipour, Z., Movahhedi Dehnavi, M. & Balouchi, H.R. (2013). Evaluation of photosynthesis parameters, chlorophyll content and fluorescence of safflower cultivars under saline condition. *Electronic Journal of Crop Production*, 6(2), 35-56. (In Farsi)
 27. Karimi, S., Arzani, A. & Saeidi, G. (2014). Differential response of ion and osmolyte accumulation to salinity stress in salt-tolerant and salt-sensitive seedlings of safflower (*Carthamus tinctorius* L.). *Research on Crops*, 15, 802-809.
 28. Kaya, C., Higgs, D. & Kirnak, H. (2001). The effects of high salinity (NaCl) and supplementary phosphorus and potassium on physiology and nutrition development of spinach. *Journal of Plant Physiology*, 27, 47-59.
 29. Lacerda, C. F., Cambraia, J., Oliva, M.A. & Ruiz, H.A. (2005). Changes in growth and in solute concentrations in sorghum leaves and roots during salt stress recovery. *Environmental and Experimental Botany*, 54, 69-76.
 30. Lichtenthaler, H.K. (1987). Chlorophyll and carotenoids: pigments of photosynthetic biomembranes. *Meth. Enzym*, 148, 331-382.
 31. Mass, E.V. (1985). Crop tolerance to sprinkling water. *Plant and Soil*, 89, 273-284.
 32. 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. *Brazilian Journal of Plant Physiology*, 15 (2), 12-21
 33. Munns, R. & Tester, M. (2008). Mechanisms of Salinity Tolerance. *Annual Review of Plant Biology*, 59, 651-681.
 34. Olsen, S. R. C., Cole, V., Watanabe, F.S. & Dean, L.A. (1954). Estimation of available phosphorus in soil by extraction with sodium bicarbonate. USDA. Circ.939. U. S. Gov Print. Office, Washington, D. C.

35. Rahimi, A., Dashti, H. & Zibai, S. (2012). Effects of seed priming on some physiological traits of safflower (*Carthamus tinctorius* L., cv. Goldasht) under salinity stress. *Journal of Crop Production and Processing*, 2(3), 1-15. (In Farsi)
36. Salem, N., Msaada, K., Dhifi, W., Limam, F. & Marzouk, B. (2014). Effect of salinity on plant growth and biological activities of *Carthamus tinctorius* L. extracts at two flowering stages. *Acta Physiologiae Plantarum*, 36, 433-445.
37. Sarvajeet, S. G. & Narendra, T. (2010). Reactive oxygen species and antioxidant machinery in a biotic stress tolerance in crop plants. *Plant Physiology and Biochemistry*, 3, 1-22.
38. Sheidaie S., Zahedi, M. & Mirmohammadi Meibodi, A.M. (2010). Effect of salinity on dry matter accumulation and ion distribution of safflower genotypes. *Iranian Journal of Field Crop Science*, 4, 811-819. (In Farsi).
39. Siddiqi, E.H. & Ashraf, M. (2008). Can leaf water relation parameters be used as selection criteria for salt tolerance in safflower (*Carthamus tinctorius* L.). *Pakistan Journal of Botany*, 40, 221-228.
40. Tavakoli, F., Vazan, S., Sorkheh, K. and Shakeri, E. (2016). Effect of salinity stress on some physiological traits and electrophoresis pattern of leaf proteins of two Barley genotypes. *Journal of Crop Production and Processing*, 6(19), 191-201. (In Farsi)
41. Wu, H., Shabala, L., Zhou, M., Stefano, G., Pandolfi, C., Mancuso, S., & Shabala, S. (2015). Developing and validating a high-throughput assay for salinity tissue tolerance in wheat and barley. *Planta* 242, 847-857.
42. Vijayalakshmi, T., Vijayakumar, A.S., Kiranmai, K., Nareshkumar, A. & Sudhakar, C. (2016). Salt stress induced modulations in growth, compatible solutes and antioxidant enzymes response in two cultivars of safflower (*Carthamus tinctorius* L. cultivar TSF1 and cultivar SM differing in salt tolerance. *American Journal of Plant Sciences*. 7, 1802-1819.
43. Yeilaghi, H., Arzani, A., Ghaderian, M., Fotovat, R., Feizi, M. & Pourdad, S.S. (2012). Effect of salinity on seed oil content and fatty acid composition of safflower (*Carthamus tinctorius* L.) genotypes. *Food Chemistry*, 130, 618-625.
44. Yeilaghi, H., Arzani, A., Ghaderian, M. (2015). Evaluating the contribution of ionic and agronomic components toward salinity tolerance in safflower. *Agronomy Journal*, 107 (6), 2205-2212.
45. Zibaei, S., Rahimi, A. & Dashti, H. (2012). Effects of seed priming on growth, chlorophyll content, relative water content and dry matter distribution of Safflower (*Carthamus tinctorius*, cv. Gholdasht) under salinity stress. *Journal of Crop Production and Processing*, 2(5), 47-58. (In Farsi)