علوم و تحقیقات بذر ایران
سال سوم/ شماره اول/ ۱۳۹۵ (۴۵ - ۳۳)

تاثیر تنش شوری ناشی از کلریدسدیم بر برخی ویژگی‌های رشدی و فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان بذر دو اکوتیپ کاسنی (*Cichorium intybus*)

کیمیا قناعتیان[۱]، حسین صادقی[۲*]

تاریخ دریافت: ۱۳۹۴/۸/۲۵ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۴/۱۰/۲۰

چکیده

به‌منظور بررسی اثر سطوح مختلف شوری بر جوانه‌زنی بذر، رشد اولیه و فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان دو اکوتیپ کاسنی (*Cichorium intybus*) پژوهشی به‌صورت آزمایش فاکتوریل بر پایه طرح کاملاً تصادفی با چهار تکرار در سال ۱۳۹۲ در آزمایشگاه دانشکده کشاورزی دانشگاه شیراز اجرا شد. تیمارهای آزمایشی شامل ترکیبی از پنج سطح مختلف تنش شوری (آب شهر (۰/۶۲ به عنوان شاهد)،۳، ۶، ۹ و ۱۲ دسی‌زیمنس بر متر) از نمک کلرید سدیم و دو اکوتیپ سیاه و سفید کاسنی بودند. نتایج نشان داد که تنش شوری و افزایش شدت آن درصد و سرعت جوانه‌زنی بذرها را در هر دو اکوتیپ کاهش داد. در هر دو اکوتیپ بیشترین جوانه‌زنی (۱۰۰ درصد) در محلول آب شهر و۳ دسی‌زیمنس بر متر و کمترین جوانه‌زنی (۳۷ درصد) در غلظت ۱۲ دسی‌زیمنس بر متر مشاهده شد. کمترین طول ریشه‌چه (۱۴/۲ میلی‌متر) و کمترین طول ساقه‌چه (۱۲/۴۵ میلی-متر) در بذرهایی دیده شد که تحت تیمار شوری ۱۲ دسی‌زیمنس بر متر قرار گرفته بودند. تأثیر تنش شوری بر میزان فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان نشان داد که با افزایش سطح تنش شوری میزان فعالیت آنزیم‌ها افزایش یافت. بیشترین فعالیت این آنزیم، ۵۰۲/۴۲ در واحد وزن تر مربوط به بذرهای با شوری ۱۲ دسی‌زیمنس بر متر و کمترین فعالیت آن (۳۰۱/۰۱ در واحد وزن تر) در تیمار شاهد مشاهده شد اما در اکوتیپ سیاه، آنزیم پراکسیداز با افزایش غلظت شوری از ۹ به ۱۲ دسی‌زیمنس بر متر کاهش یافت. همچنین تحمل به شوری در اکوتیپ سیاه با فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان به‌ویژه کاتالاز رابطه مثبتی داشت.

واژه‌های کلیدی: جوانه‌زنی بذر، طول ریشه‌چه، کاتالاز، کاسنی

۱- دانشجوی کارشناسی ارشد مهندسی منابع طبیعی و محیط زیست، دانشکده کشاورزی دانشگاه شیراز
۲- دانشیار مهندسی منابع طبیعی و محیط زیست، دانشکده کشاورزی دانشگاه شیراز
* نویسنده مسئول: sadeghih@shirazu.ac.ir

مقدمه

گسترش خاک‌های شور و از دست رفتن اراضی مستعد از مهم‌ترین مشکلاتی است که کشاورزی امروزه با آن روبرو شده است. بنابراین افزایش تقاضا و نیاز به فرآورده‌های گیاهان دارویی از یک سو و گسترش روزافزون زمین‌های شور از سوی دیگر، پژوهشگران را وادار به انجام پژوهش‌هایی در زمینه بررسی مقاومت گیاهان مختلف به شوری کرده است (Sadeghi and Khani, 2012). با توجه به نیاز روزافزون کشور به گیاهان دارویی، توسعه کشت گیاهان دارویی از اهمیت به‌سزایی برخوردار است. یکی از این گیاهان دارویی کاسنی با نام علمی *Cichorium intybus* L. گیاهی است علفی، دارای ساقه‌ای با ارتفاع نیم تا دو متر و ریشه‌ای قوی به رنگ قهوه‌ای که داخل آن شیرابه‌ای شیری رنگ وجود دارد. کاسنی دارای پراکندگی وسیعی در نواحی شمالی ایران، دامنه‌های کم ارتفاع البرز، آذربایجان، مناطق کوهستانی خراسان و نقاط دیگر کشور دارد (Mosaddegh *et al.*, 2012) که در بسیاری از این مناطق، شوری از مشکلات تولید گیاهان است.

با افزایش شوری خاک، فشار اسمزی افزایش یافته و گیاه برای جذب مقداری معین آب، باید انرژی حیاتی بیشتری صرف کند. یون‌های سدیم و کلر معمولاً شایع‌ترین یون‌های موجود در خاک‌ها و آب‌های شور هستند و هر دوی آنها می‌توانند اثرات مضری روی گیاهان داشته باشند، زیرا با افزایش فشار اسمزی محلول خاک، ضمن ایجاد سمیت یونی در گیاه، تعادل یون‌های مورد نیاز گیاه مانند پتاسیم را به‌هم می‌زنند (Sadeghi and Nazemosadat, 2011). در بررسی عکس‌العمل بین شوری و جوانه‌زنی، برخی از محققین از اثرات اسمزی به‌عنوان یک عامل مؤثر نام می‌برند (Rogers and Nobel, 1991). شوری با کاهش سنتز پروتئین و افزایش فعالیت آنزیم‌های هیدرولیزکننده آن و در مواردی با سنتز پروتئین‌های جدید و یا کاهش فعالیت آنزیم‌های پروتئولیتیک میزان پروتئین را در گیاه به‌ترتیب کاهش و یا افزایش می‌دهد (Dubey, 1999).

برومند و کوچکی (Broomand and Kocheki, 2005) در بررسی مقاومت به شوری در تعدادی از گراس‌های مرتعی ایران نشان داد که گونه‌های *Agropyron elongatum*، از مقاوم‌ترین گونه‌ها بوده که در ۲۰۰ میلی‌مولار کلریدسدیم نیز تولید ریشه‌چه نموده ولی افزایش شوری باعث کاهش تولید ریشه‌چه و ساقه‌چه در آن‌ها شده است. جاوید و همکاران (Javid *et al.*, 2011) در بررسی اثرات تنش شوری در دو گونه *Aeluropus littoralis* و *Puccinelia distance* نتیجه گرفتند که با افزایش زمان تنش، درصد پژمردگی افزایش یافته است. در پژوهشی اثر سطوح مختلف تنش شوری بر خاصیت آنتی‌اکسیدانی گیاه زنجبیل مورد بررسی قرار گرفت و مشخص شد که، با وجود اثر مضر شوری بر رشد رویشی زنجبیل، شوری ۴ دسی‌زیمنس بر متر سبب افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی نظیر کاتالاز نسبت به شاهد ولی شوری‌های ۶ و ۸ دسی‌زیمنس بر متر سبب کاهش فعالیت این آنزیم‌ها شد (Dehghani and Mostajeran, 2011). هدف از این پژوهش بررسی تأثیر غلظت‌های مختلف کلرید سدیم بر برخی ویژگی‌های رشدی و فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدان دو اکوتیپ کاسنی بود.

مواد و روش‌ها

این پژوهش در قالب آزمایش فاکتوریل بر پایه طرح کاملاً تصادفی با چهار تکرار در سال ۱۳۹۲ در آزمایشگاه بخش مدیریت مناطق بیابانی دانشکده کشاورزی دانشگاه شیراز اجرا شد. تیمارهای آزمایشی شامل ترکیبی از پنج سطح مختلف تنش شوری [آب شهر (۰/۶۲ به‌عنوان شاهد)، ۳، ۶، ۹ و ۱۲ دسی‌زیمنس بر متر] از نمک کلرید سدیم و دو اکوتیپ سیاه و سفید کاسنی بودند.

محلول‌ها از آب مقطر و نمک NaCl تهیه و با یک EC-meter پورتابل سطح آن‌ها کنترل شد. جهت ضدعفونی ابتدا پتری‌ها در آب و وایتکس قرار داده و سپس با الکل ضدعفونی شدند. بذرها از شرکت پاکان بذر اصفهان (تولیدی سال ۱۳۹۱) تهیه شد. به‌منظور اطمینان از عدم آلودگی سطحی قبل از کشت، بذرها به‌مدت دو دقیقه در محلول هیپوکلریت سدیم ۱۰ درصد ضدعفونی و سپس دو مرتبه با آب مقطر آبشویی شدند و در نور ۲۷۰ تا ۳۷۰ لوکس، رطوبت نسبی ۴۵ درصد قرار داده شد (Sadeghi and Khaef, 2011) و در مواقع لزوم با محلول اسمزی مربوطه تیمار شدند. در هر کدام از پتری‌ها ۲۰ عدد بذر بر روی دو عدد کاغذ صافی

واتمن شماره دو کاشته شد و با محلول‌های تهیه شده آبیاری شد. تعداد بذر جوانه‌زده به‌طور روزانه تا روز بیستم ثبت شده و پس از پایان آزمایش طول ساقه‌چه و ریشه‌چه اندازه‌گیری شد (Gao *et al.,* 2008).

در انتهای آزمون (پس از شمارش آخر) از هر تیمار تعداد ۱۰ دانهال به‌طور تصادفی انتخاب شد و طول ساقه‌چه و ریشه‌چه به‌وسیله خط‌کش با دقت یک میلی‌متر اندازه‌گیری شد و سپس میانگین طول ساقه‌چه و ریشه‌چه برای هر تیمار از هر تکرار ثبت شد (ISTA, 2002). دانهال‌های انتخاب شده برای اندازه‌گیری طول ساقه‌چه و ریشه‌چه درون پاکت-های کوچکی قرار داده شده و سپس در دستگاه آون با دمای ۷۰ درجه سانتی‌گراد به‌مدت ۲۴ ساعت قرار داده شدند و سپس وزن خشک دانهال‌ها با ترازوی دقیق و با دقت ۰/۰۰۰۱ گرم اندازه‌گیری شد (ISTA, 1995).

برای تعیین وزن گیاهچه ۱۰ عدد گیاهچه به‌طور تصادفی انتخاب و با استفاده از تراوزی دقیق دیجیتالی توزین شدند. درصد و سرعت جوانه‌زنی بر اساس روابط زیر (Pirasteh-Anosheh *et al*., 2011) تعیین شد.

$$G\% = \frac{GN}{N} \times 100 \qquad \text{(رابطه ۱)}$$

در این رابطه، G درصد جوانه‌زنی، GN تعداد بذر جوانه‌زده و N تعداد کل بذرهای کاشته شده بود.

$$GR = \sum \frac{N}{DN} \qquad \text{(رابطه ۲)}$$

در این رابطه GR سرعت جوانه‌زنی ،N تعداد بذرهای جوانه‌زده در یک روز و D تعداد روزها از زمان شروع جوانه‌زنی است. در ادامه این پژوهش آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان شامل کاتالاز، پراکسیداز، سوپراکسید دیسموتاز و آسکوربات-پراکسیداز به‌شرح زیر اندازه‌گیری شد.

تهیه عصاره برای سنجش فعالیت آنزیمی: برای سنجش فعالیت آنزیمی، ابتدا آنزیم‌ها از اندام هوایی گیاه در دمای صفر تا چهار درجه سانتی‌گراد استخراج شدند. به‌این منظور یک گرم بافت تر در یک هاون چینی محتوی سه میلی‌لیتر بافر فسفات ۵۰ میلی مولار با pH=۷/۲ که شامل اتیلن‌دی‌آمین‌تترااستیک‌اسید یک میلی‌مولار، فنیل‌متان-سولفونیل فلورید یک میلی‌مولار و پلی‌وینیل‌پیرولیدون یک درصد بود، ساییده شد. عصاره حاصل به‌مدت ۱۵ دقیقه در سانتریفوژ یخچال‌دار در۱۴۰۰۰ دور در دقیقه و دمای چهار درجه سانتی‌گراد قرار گرفت.

تعیین فعالیت آنزیم پراکسیداز و کاتالاز از روش چنک و میهلی (Chanc and Maehly, 1955)، سوپر اکسیداز دیسموتاز از روش بیوچامپ و فریدوویچ (Beauchamp and Fridovich, 1971) و اسکوربیک پراکسیداز از روش ناکانو و آسادا (Nakano and Asada, 1981) استفاده شد. سنجش فعالیت آنزیم کاتالاز با استفاده از محاسبه کاهش جذب H_2O_2 کاهش مقدار H_2O_2 در طول موج ۲۴۰ نانومتر و سنجش فعالیت آنزیم پراکسیداز با استفاده از گایاکول و اندازه‌گیری میزان جذب تتراگایاکول تشکیل شده از گایاکول در نتیجه فعالیت پراکسیداز، درطول موج ۴۷۰ نانومتر انجام شد. فعالیت آنزیم سوپراکسیددیسموتاز با استفاده از سنجش مهار احیای نوری نیتروبلوتترازولیوم در طول موج ۵۶۰ نانومتر انجام شد.

فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز: سنجش فعالیت این آنزیم با کمک آسکوربات انجام و در طول موج ۲۹۰ نانومتر محاسبه شد در این روش‌ها از دستگاه اسپکتروفتومتر (Biochrom Ltd, Biowave S2100, Cambridge,UK) استفاده شد. برای از بین بردن اثر تعداد در تجزیه وتحلیل داده ها تجزیهٔ کوواریانس انجام شد. داده‌ها با استفاده از برنامه SAS ver. 9.1 مورد تجزیه آماری قرار گرفت و میانگین‌ها با آزمون LSD مقایسه شد. برای رسم نمودار ها از نرم افزار Excel استفاده شد.

بحث و نتایج

الف. جوانه‌زنی بذر و رشد گیاهچه

نتایج نشان داد درصد جوانه‌زنی در اکوتیپ سفید و سیاه، با افزایش سطح شوری کاهش یافت، اما بین تیمارهای شوری آب شهر، ۳ و ۶ دسی‌زیمنس بر متر اختلاف معنی‌داری مشاهده نشد (شکل۱). بیشترین درصد جوانه‌زنی در تیمار شاهد (۱۰۰ درصد) بوده و کمترین درصد جوانه‌زنی (۳۷ درصد) در بذرهایی که تحت تیمار اسمزی ۱۲ دسی‌زیمنس بر متر قرار گرفته بودند، مشاهده شد.

شوری باعث افزایش فشار اسمزی محلول و کاهش جذب آب از طریق بذر می‌شود، از طرفی شوری زیاد باعث سمیت و

به‌هم خوردن تعادل یونی می‌شود که در فعل و انفعالات حیاتی بذر اثر می‌گذارد و باعث جلوگیری از جوانه‌زنی بذر می‌شود (Mehra *et al.*, 2003). صادقی و خانی (Sadeghi and Khani, 2012) کاهش درصد جوانه‌زنی با افزایش سطوح تنش شوری را گزارش کرده‌اند که با نتایج حاصل از این آزمایش مطابقت داشت. شوری با کاهش پتانسیل آب از طریق اثرات سمی یون‌هایی مثل سدیم و کلر جوانه‌زنی بذر را تحت تأثیر قرار می‌دهد (Tobe *et al.*, 2004).

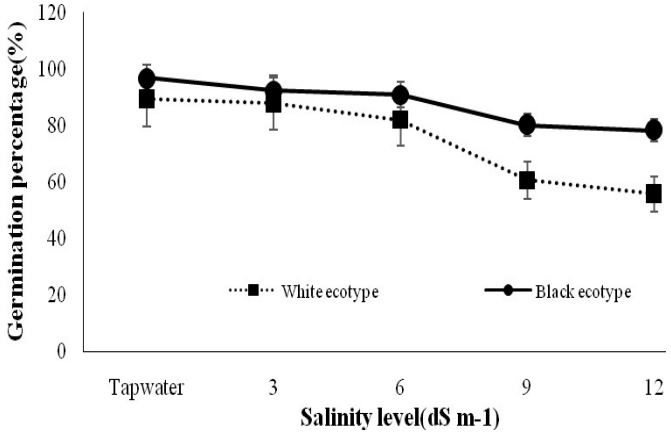
سرعت جوانه‌زنی نیز در هر دو اکوتیپ، با افزایش سطح شوری، کاهش یافت، بدون اینکه اختلاف معنی‌داری بین سطوح مختلف تنش وجود داشته باشد (شکل۲). المنصوری و همکاران (Almansouri *et al.*, 2001) با بررسی اثر شوری و تنش اسمزی بر جوانه‌زنی سه رقم گندم دوروم نتیجه گرفتند که تنش با شدت متوسط فقط باعث تأخیر در جوانه-زنی می‌شود، درحالی‌که غلظت‌های بالای کلرور سدیم درصد جوانه‌زنی نهایی را کاهش داد.

تنش شوری از طریق کاهش سرعت جذب آب در نتیجه اثر اسمزی و یا افزایش خروج یون‌ها با تغییر فعالیت‌های هورمونی و آنزیمی، سرعت جوانه‌زنی بذر را تحت تأثیر قرار می‌دهد (Huang and Redmann, 1995).

میانگین طول ریشه‌چه، در شرایط تنش نشان داد که در اکوتیپ سفید، بین سطوح شوری آب شهر و ۳ دسی‌زیمنس بر متر اختلاف معنی‌داری وجود داشت اما بین سایر سطوح اختلاف چندانی وجود نداشت. همچنین در اکوتیپ سیاه با افزایش سطح شوری، این روند کاهشی بدون وجود اختلاف معنی‌دار، وجود داشت. بین سطوح شوری ۶ و ۹ دسی‌زیمنس بر متر طول ریشه‌چه افزایش یافت (شکل۳)، علت این افزایش را می‌توان پاسخ گیاه به تنش دانست که گیاه جهت بقاء، سعی در افزایش اندام‌های زیرزمینی می‌نماید. بیشترین مقدار طول ریشه‌چه (۷۲/۹ میلی‌متر) مربوط به تیمار شاهد بود در حالی‌که کمترین طول ریشه‌چه (۱۴/۲ میلی‌متر) در بذرهایی دیده شد که تحت تیمار شوری ۱۲ دسی‌زیمنس بر متر قرار گرفته بودند.

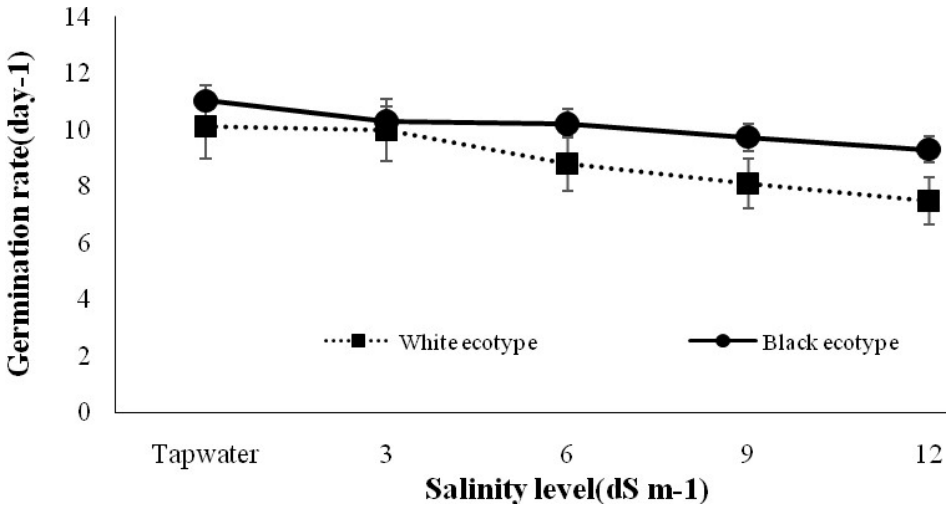
طول ساقه‌چه در اکوتیپ سیاه، با افزایش سطح تنش شوری، کاهش یافت که تنها در سطوح ۳ و ۶ دسی‌زیمنس بر متر، این اختلاف معنی‌دار شد. در اکوتیپ سفید، اختلاف معنی‌داری بین سطوح مختلف شوری مشاهده نشد (شکل۴). بیشترین طول ساقه‌چه (۴۱ میلی‌متر) مربوط به بذرهایی بود که تحت تیمار شاهد قرار داشتند در حالی‌که کمترین طول (۱۲/۴۵ میلی‌متر) در بذرهایی دیده شد که تحت تیمار شوری ۱۲ دسی‌زیمنس بر متر قرار گرفته بودند.

به‌طور معمول کاهش طول ریشه‌چه و ساقه‌چه در محلول کلرید سدیم به‌دلیل سمیت یون‌ها و اثر منفی آنها بر غشای سلول است. تنش شوری با کاهش جذب آب و با ایجاد اختلال در ترشح آنزیم‌هایی از جمله آمیلاز و لیپاز مانع از



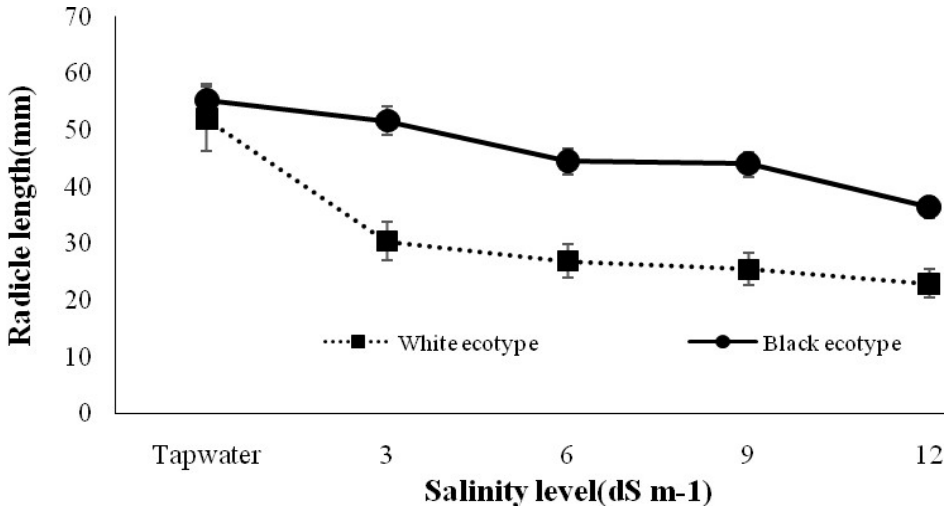
شکل ۱- تأثیر تنش شوری بر درصد جوانه‌زنی بذرهای دو اکوتیپ کاسنی. میانگین‌های با همپوشانی یکسان بر اساس خطای استاندارد تفاوت معنی‌داری ندارند

Figure 1. Effect of salinity stress on seed germination percentage of two chicory ecotypes. The means with the same overlap had no significant difference (±SE).



شکل ۲- تأثیر تنش شوری بر سرعت جوانه‌زنی بذرهای دو اکوتیپ کاسنی. میانگین‌های با همپوشانی یکسان بر اساس خطای استاندارد تفاوت معنی‌داری ندارند.

Figure 2. Effect of salinity stress on seed germination rate of two chicory ecotypes. The means with the same overlap had no significant difference (±SE).



شکل ۳- تأثیر تنش شوری بر طول ریشه‌چه بذرهای دو اکوتیپ کاسنی. میانگین‌های با همپوشانی یکسان بر اساس خطای استاندارد تفاوت معنی‌داری ندارند.

Figure 3. Effect of salinity stress on seed radicle length of two chicory ecotypes. The means with the same overlap had no significant difference (±SE).

تجزیه مواد اندوخته بذر شده و در نتیجه انرژی لازم جهت خروج ریشه‌چه و ساقه‌چه‌ها و رشد آنها فراهم نمی‌شود (Niu *et al.*, 1995). وزن گیاهچه در اکوتیپ سیاه، با افزایش غلظت شوری کاهش یافت و اختلاف معنی‌داری وجود داشت، در حالی‌که در اکوتیپ سفید بین سطوح مختلف شوری تفاوت معنی‌داری مشاهده نشد. وزن گیاهچه در اکوتیپ سفید، در سطوح ۳، ۶ و ۹ دسی‌زیمنس بر متر ثابت است (نمودار ۵). بیشترین وزن گیاهچه، ۰/۷۵ گرم مربوط به بذرهای شاهد و کمترین وزن، ۰/۰۵ گرم مربوط به بذرهایی بود که با شوری ۱۲ دسی‌زیمنس بر متر آبیاری شدند. این

نتایج با نتایج گزارش شده توسط (Sadeghi and Khani, 2012) بر روی گیاه یونجه (*Medicago sativa* L.) مطابقت دارد.

کاهش طول ریشه‌چه کلزا و گندم با افزایش پتانسیل آب توسط توکل‌افشاری و مجنون‌حسینی (Tavakkol-Afshari and Majnoun-Hosseini, 2002) نیز گزارش شده است، نامبردگان یکی از علل کاهش طول ساقه‌چه در شرایط تنش خشکی را کاهش یا عدم انتقال مواد غذایی از بافت‌های ذخیره‌ای بذر به جنین ذکر کرده‌اند.

ب. آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان

از تغییرات بیوشیمیایی مهمی که تحت تنش شوری اتفاق می‌افتد تولید انواع اکسیژن فعال مانند سوپر اکسید و پراکسیدهیدروژن و رادیکال هیدروکسیل است. برای مقابله با این عوامل، تولید آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان گیاه تغییر پیدا می‌کند. از مهم‌ترین آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان می‌توان به کاتالاز، پراکسیداز، سوپراکسیددیسموتاز اشاره کرد که طی تنش، میزان آنها افزایش پیدا می‌کند (Moon *et al.*, 1995).

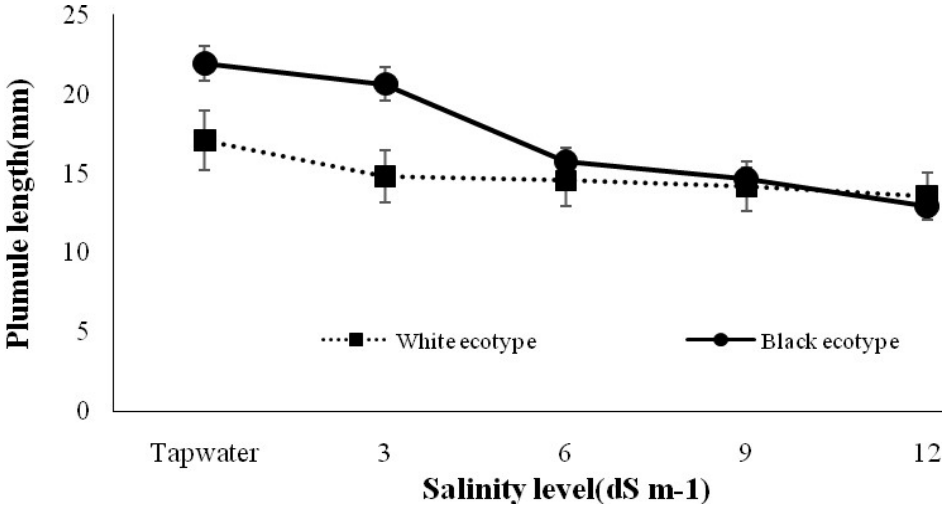
نتایج این بررسی در خصوص آنزیم کاتالاز نشان داد که درهر دو اکوتیپ با افزایش شوری از آب شهر تا سطح ۱۲ دسی‌زیمنس بر متر، میزان فعالیت آنزیم افزایش یافت که در اکوتیپ سفید بین سطح آب شهر تا ۳ دسی‌زیمنس بر متر و ۳ دسی‌زیمنس بر متر تا ۶ دسی‌زیمنس بر متر تفاوت معنی‌داری مشاهده نشد (شکل۶). میزان فعالیت آنزیم سوپراکسیددسیموتاز نیز در هر دو اکوتیپ، با افزایش شوری افزایش یافت (شکل۷). با افزایش میزان شوری، سیستم آنتی‌اکسیدان گیاه فعال شده و با افزایش فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز به‌عنوان اولین سد دفاعی در مقابل حمله رادیکال‌های اکسیژن، در مقابل خسارات ناشی از تنش شوری مقاومت می‌نماید (Mirmohammadi Maibody and Qara Yazy, 2002).

طبق نتایج به‌دست آمده، در اکوتیپ سفید با افزایش شوری از آب شهر تا غلظت ۱۲ دسی‌زیمنس بر متر آنزیم پراکسیداز بدون اختلاف معنی‌دار افزایش یافت. در اکوتیپ سیاه با افزایش شوری تا سطح ۶ دسی‌زیمنس بر متر، فعالیت آنزیم افزایش یافت و از سطح ۶ دسی‌زیمنس بر متر به ۹ دسی‌زیمنس بر متر این مقدار ثابت ماند و از سطح ۹ دسی‌زیمنس بر متر به ۱۲ دسی‌زیمنس بر متر فعالیت آنزیم کاهش یافت (شکل۸)، علت این تغییرات را می‌توان به نوع اکوتیپ و واکنش متفاوت آن در برابر سطوح بالای تنش در تولید آنزیم دانست. بیشترین میزان فعالیت آنزیم (۴۹/۱۷ در واحد وزن تر) مربوط به بذرهای با تیمار ۱۲ دسی‌زیمنس بر متر و کمترین میزان فعالیت آنزیم (۱۱/۵در واحد وزن تر) در تیمار شاهد در اکوتیپ سیاه دیده شد. شوری موجب افزایش میزان ترکیبات سمی تولید شده توسط رادیکال‌های آزاد اکسیژن در کلروپلاست، تخریب مولکول‌های کلروفیل و غشای کلروپلاست به‌وسیله پراکسیدهیدروژن می‌شود که در نهایت به افزایش پراکسیداسیون لیپیدها، آسیب به سلول و چربی غشا می‌شود. مقدار آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان به‌عنوان یک راهکار دفاعی در گیاه افزایش پیدا می‌کند. کاتالاز سبب می‌شود این مولکول‌ها به آب و اکسیژن تبدیل شود (Noctor and Foyer, 1998). چنانچه، با افزایش شدت تنش بر فعالیت آنتی‌اکسیدان‌ها افزوده شد به‌طوری‌که بیشترین میزان فعالیت این دو آنزیم در شوری ۱۵۰ میلی‌مولار مشاهده شده است.

شواهد زیادی مبنی بر افزایش و کاهش فعالیت آنزیم پراکسیداز توسط تنش شوری در چغندرقند (Bor *et al.*, 2003) و برنج (Dionisio-Sese and Tobita 1998) گزارش شده است، ولی شواهدی نیز مبنی بر کاهش فعالیت آنزیم پراکسیداز در شرایط تنش شوری وجود دارد (Demiral and Turkan, 2005). تغییر در فعالیت آنزیم پراکسیداز در سایر تنش‌ها نیز مشخص شده است.

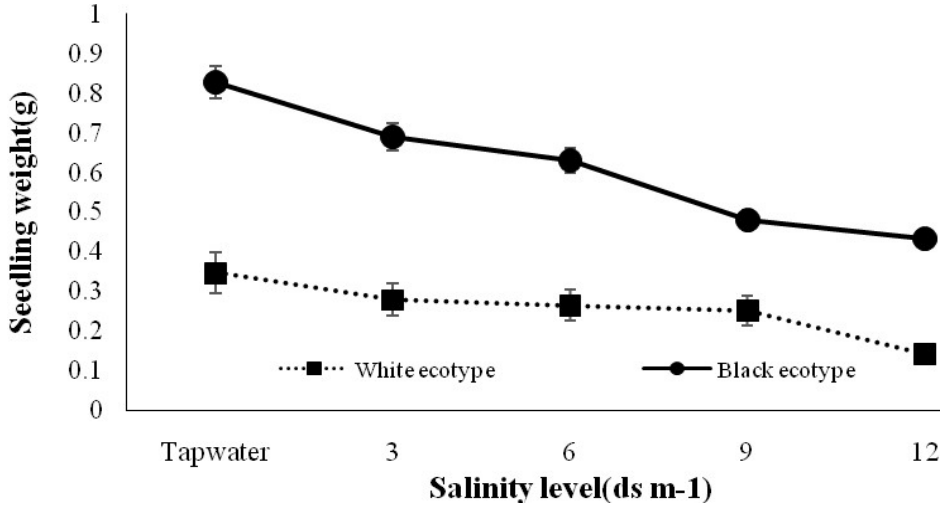
فعالیت آنزیم آسکوربیک پراکسیداز، با افزایش شوری در هر دو اکوتیپ افزایش یافت، که در اکوتیپ سفید این اختلاف ناچیز بود (شکل۹). بیشترین فعالیت این آنزیم، ۵۰۲/۴۲ در واحد وزن تر مربوط به بذرهای با شوری ۱۲ دسی‌زیمنس بر متر و کمترین فعالیت آن (۳۰۱/۰۱ در واحد وزن تر) در تیمار شاهد مشاهده شد. دهقانی و مستاجران (Dehghani and Mostajeran, 2011) با مطالعه روی گیاه زنجبیل گزارش دادند که فعالیت آنزیم کاتالاز روی ساقه و برگ در شرایط تنش شوری ۴ دسی‌زیمنس بر متر افزایش یافته و

در شوری ۶ دسی‌زیمنس بر متر و ۸ دسی‌زیمنس بر متر کاهش یافت. اسفندیاری و همکاران (Esfandiari *et al.*, 2007) با مطالعه روی گندم گزارش دادند که فعالیت آنزیم سوپراکسیداز در رقم سرداری با افزایش تنش شوری افزایش یافت و در رقم الوند درتمامی سطوح تنش، ثابت بود.



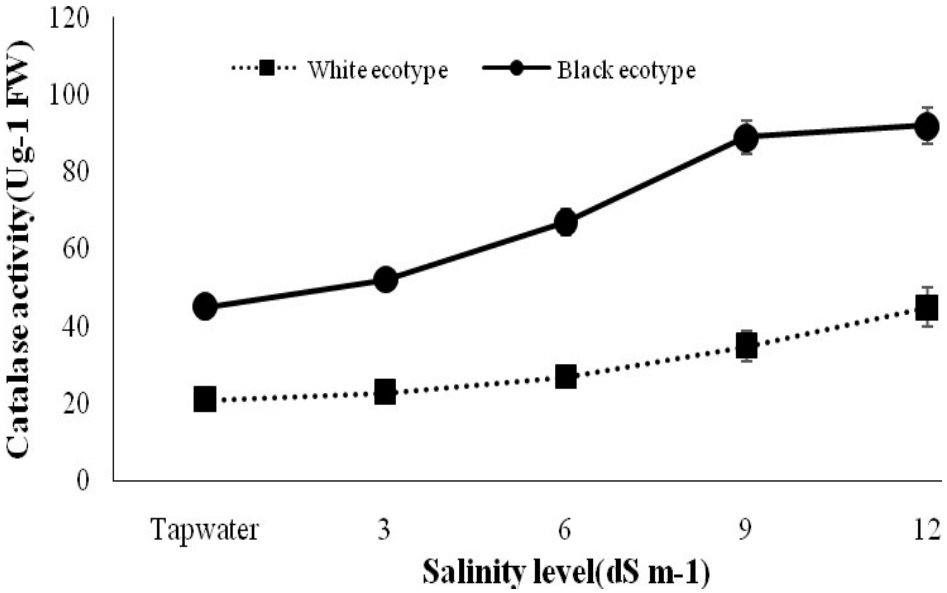
شکل ۴- تأثیر تنش شوری بر طول ساقه‌چه بذرهای دو اکوتیپ کاسنی. میانگین‌های با همپوشانی یکسان بر اساس خطای استاندارد تفاوت معنی‌داری ندارند.

Figure 4. Effect of salinity stress on seed plumule length of two chicory ecotypes. The means with the same overlap had no significant difference (±SE).



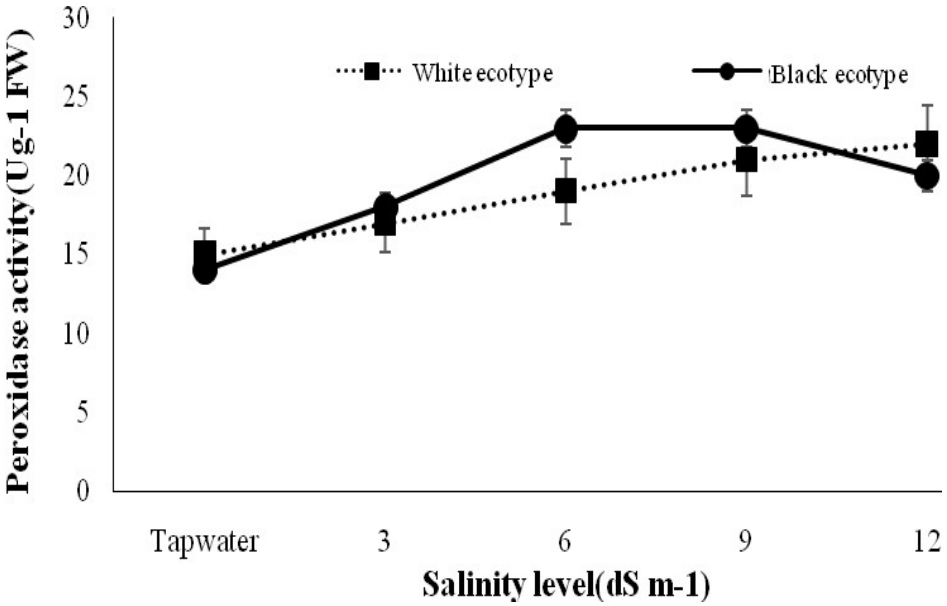
شکل ۵- تأثیر تنش شوری بر وزن گیاهچه بذرهای دو اکوتیپ کاسنی. میانگین‌های با همپوشانی یکسان بر اساس خطای استاندارد تفاوت معنی‌داری ندارند.

Figure 5. Effect of salinity stress on seedling weight of two chicory ecotypes. The means with the same overlap had no significant difference (±SE).



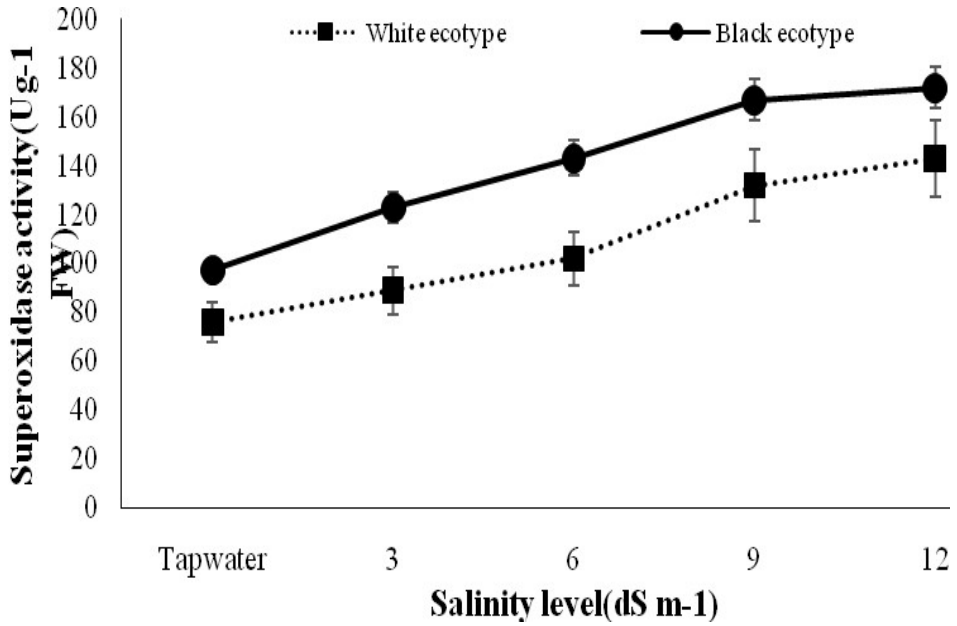
شکل ۶- تأثیر تنش شوری بر فعالیت آنزیم کاتالاز گیاهچه دو اکوتیپ کاسنی. میانگین‌های با همپوشانی یکسان بر اساس خطای استاندارد تفاوت معنی‌داری ندارند.

Figure 6. Effect of salinity stress on seedling catalase activity of two chicory ecotypes. The means with the same overlap had no significant difference (±SE).



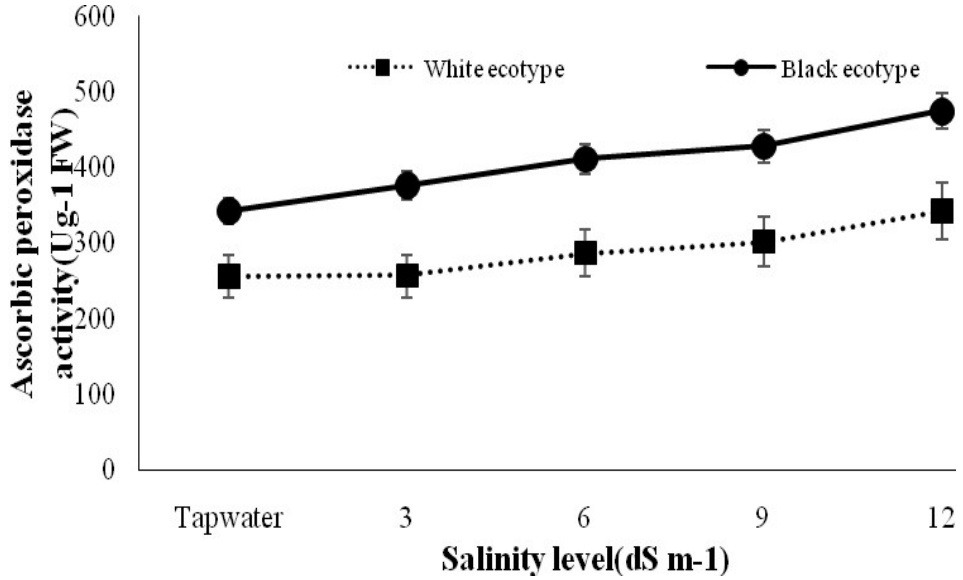
شکل ۷- تأثیر تنش شوری بر فعالیت آنزیم پراکسیداز گیاهچه دو اکوتیپ کاسنی. میانگین‌های با همپوشانی یکسان بر اساس خطای استاندارد تفاوت معنی‌داری ندارند.

Figure 7. Effect of salinity stress on seedling peroxidase activity of two chicory ecotypes. The means with the same overlap had no significant difference (±SE).



شکل ۸- تأثیر تنش شوری بر فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز گیاهچه دو اکوتیپ کاسنی. میانگین‌های با همپوشانی یکسان بر اساس خطای استاندارد تفاوت معنی‌داری ندارند.

Figure 8. Effect of salinity stress on seedling superoxide dismutase activity of two chicory ecotypes. The means with the same overlap had no significant difference (±SE).



شکل ۹- تأثیر تنش شوری بر فعالیت آنزیم اسکوربیک پراکسیداز گیاهچه دو اکوتیپ کاسنی. میانگین‌های با همپوشانی یکسان بر اساس خطای استاندارد تفاوت معنی‌داری ندارند.

Figure 9. Effect of salinity stress on seedling ascorbic peroxidase activity of two chicory ecotypes. The means with the same overlap had no significant difference (±SE).

جدول ۱- تجزیه واریانس صفات بذر کاسنی در سطوح مختلف شوری

Table 1. Analysis variance of chicory seed traits in salinity different levels

منابع تغییر Source of variance	درجه آزادی Degree of freedom	درصد جوانه‌زنی Germination percentage	سرعت جوانه‌زنی Germination rate	طول ساقه‌چه Shoot length	طول ریشه‌چه Radicle length	وزن خشک گیاهچه Seedling dry weight	وزن خشک ساقه‌چه Shoot dry weight	وزن خشک ریشه‌چه Root dry weight
اکوتیپ Ecotype	1	0.99*	0.01**	0.788*	0.894**	0.306*	0.001	0.006
سطوح تنش Stress levels	4	0.83*	0.004**	0.822*	0.74**	0.113*	0.004	0.003
اثر متقابل Interaction	4	0.24**	0.02**	0.02**	0.04*	0.126*	0.032	0.003
خطا Error	12	0.10	0.01	0.056	0.04	0.002	0.002	0.001
CV		11.8	13.6	14.5	15.46	13.42	15.16	12.58

**، * به‌ترتیب معنی‌دار در سطح احتمال ۱ و ۵ درصد

*Significant at ($P \leq 0.05$),**Significant at ($P \leq 0.01$)

نتیجه‌گیری

به‌طور کلی نتایج نشان داد که تنش شوری موجب کاهش سرعت و درصد جوانه‌زنی، طول ریشه‌چه و ساقه‌چه و وزن گیاهچه هر دو اکوتیپ کاسنی شد. اکوتیپ سفید بیشتر تحت تأثیر افزایش غلظت شوری قرار گرفت و کاهش بیشتری در جوانه‌زنی بذر و رشد گیاهچه تحت تأثیر تنش شوری داشت. با افزایش سطح تنش، میزان فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان در هر دو اکوتیپ افزایش یافت؛ که این افزایش، دراکوتیپ سیاه بیشتر مشاهده شد. این موضوع می‌تواند مؤید تأثیر آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان بر تحمل تنش شوری در این اکوتیپ باشد. آنزیم کاتالاز نسبت به سایر آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان، با افزایش غلظت شوری، افزایش بیشتری داشت؛ که تحمل به شوری با آنزیم کاتالاز رابطه بیشتری دارد. نتایج این پژوهش نشان داد که اکوتیپ سفید بیشتر تحت تأثیر افزایش غلظت شوری قرار گرفت و حساسیت بیشتری نسبت به افزایش سطح تنش شوری داشت. بنابراین می‌توان اکوتیپ سیاه را با توجه به تحمل بیشتر نسبت به تنش شوری در مناطقی با این شرایط شوری توصیه نمود.

منابع

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

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

Bor, M., Azdemir, F. and Turkan, 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 Research, 164: 77-84. **(Journal)**

Broomand-Rezazadeh, G. and Kucheki, A. 2005. Germination response of Ajowan, Fennel and Dill to osmotic potential of sodium chloride and polyethylene glycol 6000 in different temperature regimes. Iranian Journal of Agricultural Sciences, 3: 207-217. (In Persian) **(Journal)**

Chance, B. and Maehly, A.C. 1955. Assay of catalase and peroxidase methods in enzymology, 11: 764: 791. **(Handbook)**

Dehghani, I. and Mostajeran, A. 2011. Effect of salinity on vegetative growth, antioxidant and defensive enzymes in ginger (*Zingber officinale* Roscoe.).Journal of Medicinal Plants, 1: 1-11. (In Persian) **(Journal)**

Demiral, T. and 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. **(Journal)**

Dionisio-Sese, M.L. and Tobita, S. 1998. Antioxidant responses of rice seedlings to salinity stress. Plant Science, 35: 11-19. **(Journal)**

Dubey, R.S. 1999. Protein synthesis by plants under stressful conditions. *In*: Handbook of Plant and Crop Stress, ed. Pessarakli, M. pp. 153-167. New York. Marcel Dekker, USA. **(Book)**

Gao, S., Ouyang, C., Wang, S., Xu, Y., Tang, L. and Chen, F. 2008. Effect of salt stress on growth, antioxidant enzyme in phenylalanine amonia-lyase activities in *Jatropha curcas* L. seedlings. Plant, Soil and Environment, 9: 374–381. **(Journal)**

Huang, J. and Redmann, R.E .1995. Salt tolerance of *Hordeum* and *Brassica* species during germination and early seedling growth. Canadian Journal of Plant Science, 75: 815-819. **(Journal)**

International Seed Testing Association (ISTA). 1995. Handbook of Vigor test methods. International Seed Testing Association, Zurich, Switzerland. **(Handbook)**

International Seed Testing Association (ISTA). 2002. ISTA News Bulletin No. 124, Zurich, Switzerland. **(Handbook)**

Javid, M.G., Sorooshzadeh, A., Moradi, F., Modarres Sanavy, S., Allahdadi, I. 2011. The role of phytohormones in alleviating salt stress in crop plants. Australian Journal of Crop Science, 5: 726–734. **(Journal)**

Mehra, V., Tripathi, J. and Powell, A.A. 2003. Aerated hydration treatment improves the response of *Brassica juncea* and *Brassica campestris* seeds to stress during germination. Seed Science and Technology, 14: 57-70. **(Journal)**

Mirmohammadi Maibody, A.M. and Qara Yazy, B. 2002. Salt stress and physiological aspects of plant breeding. Publishing Centre, University of Technology. **(Book)**

Moon, A.A., Bouw, G., Prinsen, E., Van Montagu, M. and Straeten, D. 1995. Molecular and physiological responses to abscisic acid and salt in roots of salt-sensitive and salt-tolerant Indian Rice varieties. Plant Physiology, 107: 117-186. **(Journal)**

Mosaddegh, M., Naghibi, F., Moazzeni, H., Pirani, F. and Esmaeili, S. 2012. Ethnobotanical survey of herbal remedies traditionally used in Kohghiluyeh va Boyer Ahmad province of Iran. Journal of Ethnopharmacology, 141: 80–95. **(Journal)**

Nakano, Y. and Asada, K. 1981. Hydrogen peroxide is scavenged by ascorbate-specific peroxidase in spinach chloroplasts. Plant and Cell Physiology, 22: 867-880. **(Journal)**

Niu, X., Bressan, R.A., Hasegawa, P.M. and Pardo, J.M. 1995. Ionhomeostasia in NaCl stress environment. Plant Physiology, 109: 735-742. **(Journal)**

Noctor, G. and Foyer, C. 1998. Ascorbate and glutathione: keeping active oxygen under control. Annual Reviews of Plant Physiology and Plant Molecular Biology, 49: 249-279. **(Journal)**

Pirasteh Anoshe, H., Sadeghi, H. and Emam, Y. 2011. Chemical priming with urea and KNO_3 enhances maize hybrids (*Zea mays* L.) seed viability under abiotic stress. Journal of Crop Science and Biotechnology, 14: 289-295. **(Journal)**

Rogers, M.E. and Nobel, C.C. 1991. On establishment and growth of blansa clover. Australian Journal of Agricultural Research, 42: 847-857. **(Journal)**

Sadeghi, H. and Khaef, N. 2011. Priming-induced metabolic changes in three annual medic species improve germination and early growth under drought and salt stress conditions. Genetics and Plant Physiology, 1: 186-198. **(Journal)**

Sadeghi, H. and Khani, K. 2012. Effects of different drought and salinity stress levels on some morphological characteristics and proline content of annual burr medics *(M. polymorpha* L.). Iranian Journal of Dryland Reaearch, 1: 1-13. (In Persian) **(Journal)**

Sadeghi, H. and Nazemosadat, S. 2011. Effects of different levels of sodium chloride and photosynthetic photon flux density on some physiological traits in two wheat cultivars. African Journal of Agricultural Research, 29: 6326-6333. **(Journal)**

Tavakkol-Afshari, R. and Majnoun-Hossini, N. 2002. Responses of wheat and canola cultivars simulated drought conditions. Abstracts of International Conference on Environmentally Sustainable Agriculture for Dry Areas for 3rd Millennium. China. September 16-19, p: 24-25. **(Conference)**

Tobe, K., Li, X.M. and Omasa, K. 2004. Effects of five different salts on seed germination and seedling growth of *Haloxylonam modendron* (Chenopodiaceae). Seed Science Research, 14: 345-353. **(Journal)**

Evaluation of the effect of NaCl salt stress on some growth traits and antioxidant enzymes in two chicory (*Cichorium intybus*) seed ecotypes

Kimiya Ghanaatiyan[1], Hossein Sadeghi[2*]

Received: November 16, 2015 Accepted: January 10, 2016

Abstract

In order to evaluate the effect of salt stress on seed germination, early growth and antioxidant enzymes activity of Chicory ecotypes (*Cichorium intybus*) a factorial experiment was conducted based on completely randomized design with four replications at College of Agriculture, Shiraz University in 2013. The treatments were included five salinity levels [tap water (0.62), 3, 6, 9, 12 dS m^{-1}] of sodium chloride and chicory ecotypes (Black and White). The results showed that germination rate and germination percentage were decreased in both ecotypes with increment of salinity severity. In both ecotypes, the highest germination (100%) was observed in tap water and 3 dS m^{-1} and the lowest germination (37%) was obtained at 12 dS m^{-1}. The lowest root (14.2 mm) and shoot length (12.45mm) was obtained at 12 dS m^{-1} respectively. The effect of salt stress on antioxidant enzyme activity was significant, so that those were enhanced with increment of salt stress; however, increasing in salinity level from 9 to 12 dS m^{-1} was associated with reduction in peroxidase activity in Black ecotype. The results of this study revealed that the White species was more affected by increasing in salt concentration, so it had more sensitivity salt stress. The salt tolerance also had a positive relationship with the antioxidant enzymes activities in Black ecotype, especially for catalase.

Key words: Catalase; Chicory; Root length; Seed germination

1. MSc. Student, Department of Natural Resources and Environmental Engineering, College of Agriculture, Shiraz University, Shiraz, Iran.
2. Associate Professor, Department of Natural Resources and Environmental Engineering, College of Agriculture, Shiraz University, Shiraz, Iran.

*Corresponding author: Sadeghih@shirazu.ac.ir