نشریه پژوهشهای زراعی ایران
جلد ۱۴، شماره ۳، پاییز ۱۳۹۵، ص. ۴۸۳-۴۷۰

Iranian Journal of Field Crops Research
Vol. 14, No. 3, Fall. 2016, p. 470-483

اثر تنش شوری بر صفات فیزیولوژیک و فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانت نخود (*Cicer arietinum* L.) رقم آزاد

غلامرضا دره‌کی[۱*]- غلامرضا زمانی[۲]- محمدحسن سیاری[۳]

تاریخ دریافت: ۱۳۹۳/۱۱/۲۴
تاریخ پذیرش: ۱۳۹۴/۰۳/۱۶

چکیده

شوری یکی از مهم‌ترین تنش‌های غیرزنده‌ای است که باعث کاهش قابلیت تولید محصول و کاهش بهره‌وری گیاه در خاک‌های مناطق خشک و نیمه‌خشک می‌شود. در گیاهان زراعی، شوری ضمن تأثیر منفی بر عملکرد و اجزاء عملکرد، بسیاری فرآیندهای دخیل در رشدونمو گیاهان را تحت تأثیر قرار می‌دهد. این تحقیق با هدف مطالعه صفات فیزیولوژیک، فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانت و عملکرد نخود رقم آزاد تحت تأثیر سطوح مختلف شوری، در گلخانه تحقیقاتی دانشکده کشاورزی دانشگاه بیرجند در سال ۱۳۹۲ در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی با چهار تکرار انجام شد. تیمارهای شوری خاک شامل ۱، ۳، ۵، ۷ و ۹دسی‌زیمنس بر متر بود. نتایج تجزیه واریانس داده‌های این آزمایش نشان‌داد که سطوح مختلف شوری اثر معنی‌داری بر کلیه صفات اندازه‌گیری شده داشت. بر اساس نتایج این آزمایش شوری باعث افزایش اندکی در شاخص SPAD نخود شده و اثر منفی بر محتوای نسبی آب برگ، نشت الکترولیت‌ها و عملکرد دانه داشت. به‌طوری‌که بیش‌ترین سطح شوری این آزمایش موجب کاهش ۱۷/۷درصدی RWC، افزایش ۲۷/۷۵درصدی نشت الکترولیت‌ها و کاهش ۵۹/۸۳درصدی عملکرد دانه در بوته نسبت به شاهد شد. هم‌چنین شوری باعث افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانت نخود شد. نتایج نشان‌داد افزایش شوری از یک به هفت‌دسی‌زیمنس بر متر موجب افزایش ۶۳/۷۹درصدی فعالیت آنزیم کاتالاز (CAT) شد و در شوری ۹دسی‌زیمنس بر متر فعالیت کاتالاز کاهش یافت. فعالیت آنزیم سوپراُکسیددیسموتاز (SOD) تا شوری پنج دسی‌زیمنس بر متر به مقدار ۵۷/۲۲درصد افزایش یافت، در شوری هفت دسی‌زیمنس بر متر بدون تغییر ماند. در شوری ۹دسی‌زیمنس بر متر کاهش یافت. هم‌چنین بیش‌ترین سطح شوری باعث افزایش ۷۵/۹۵درصدی فعالیت آنزیم آسکوربات‌پراُکسیداز (APX) نسبت به شاهد شد. بیش‌ترین اثرات کاهنده شوری بر صفات اندازه‌گیری شده نخود در این آزمایش در محدوده شوری $7dSm^{-1}$ مشاهده شد.

واژه‌های کلیدی: شاخص کلروفیل، شوری خاک، کاتالاز، محتوای نسبی آب برگ، نشت الکترولیت‌ها

مقدمه

شوری یکی از مهم‌ترین تنش‌های غیرزنده‌ای است که باعث کاهش قابلیت تولید محصول و کاهش بهره‌وری گیاه در خاک‌های مناطق خشک و نیمه‌خشک می‌شود. از مشخصه‌های یک خاک شور، سطوح سمی کلریدها و سولفات‌های سدیم می‌باشد. عوامل مسبب تنش شوری ممکن است زمین شناسی، اقلیمی و هیدرولوژیکی در طبیت باشد (Ahmad *et al*., 2009). مساله شوری خاک در اثر آبیاری، زهکشی نامناسب، پیش‌روی دریا در مناطق ساحلی و تجمع نمک در نواحی بیابانی و نیمه‌بیابانی در حال افزایش است. شوری در بسیاری از مناطق کشاورزی دنیا خصوصاً در آب و هوای خشک و نیمه‌خشک، از عوامل مهم محدودکننده استقرار و تولید گیاهان زراعی به‌شمار می‌رود. برآوردها حاکی از آن است که بیش از ۸۰۰میلیون هکتار برابر با شش درصد زمین‌های جهان تحت تأثیر سطوح مختلف شوری بوده و حدود ۲۳درصد از اراضی تحت کشت با مشکل شوری مواجه هستند (FAO., 2011). ایران جزء مناطق خشک و نیمه‌خشک دنیا محسوب می‌شود. در این مناطق مقدار کم و پراکنده بودن نزولات جوی و تبخیر زیاد سبب تجمع املاح در لایه سطحی خاک می‌شود (Kafi *et al*., 2011). شوری باعث ایجاد محدودیت‌های تغذیه‌ای از طریق کاهش جذب فسفر، پتاسیم، نیترات و کلسیم، افزایش غلظت یونی درون سلولی و تنش اسمزی می‌گردد. در شرایط وقوع شوری، یون‌هایی مثل Na^+ و Cl^-، به داخل لایه‌های هیدراسیونی پروتئین‌ها نفوذ کرده، سبب اختلال در کار این پروتئین‌ها می‌گردند. سمیت یونی، تنش اسمزی و کمبود مواد مغذی که در شرایط وقوع شوری رخ می‌دهد، سبب به‌هم خوردن توازن متابولیکی و در پی آن تنش

۱- دانش‌آموخته کارشناسی‌ارشد شناسایی و مبارزه با علف‌های‌هرز دانشکده کشاورزی، دانشگاه بیرجند
۲- دانشیار دانشکده کشاورزی، دانشگاه بیرجند
۳- دانشیار دانشکده کشاورزی، دانشگاه بیرجند
(*- نویسنده مسئول: (Email: doraki_rg@yahoo.com

اکسیداتیو می‌گردند. شوری بر انتقال و تسهیم عناصر در اندام‌های مختلف گیاه تأثیر می‌گذارد که این امر سبب افت کیفیت در اندام‌های رویشی و زایشی می‌گردد (Turan and Sezan, 2001). تنش شوری مانع رشد ریشه و ساقه شده و در غلظت کم شوری با کاهش رشد و عملکرد و در غلظت‌های بالا با قرار گرفتن در معرض شوری برای مدت طولانی منجر به مرگ گیاه می‌شود (Munns, 2005). شوری بر جنبه‌های مختلف رشد اثر گذاشته و موجب کاهش و به تأخیر افتادن جوانه‌زنی، کاهش رشد اندام‌های هوایی و کاهش تولید ماده خشک می‌گردد (Munns and Tester, 2008). در گزارش Kafi *et al*., 2012 آمده است افزایش تنش شوری موجب کاهش معنی‌دار عدد SPAD در برگ کوشیا (*Kochia scoparia*) شد. این کاهش با افزایش تنش شوری از تیمار شاهد به $20 dSm^{-1}$ و $40 dSm^{-1}$ به‌ترتیب ۴۰ و ۵۲درصد بود. Arefian *et al*., 2012 گزارش کردند محتوای آب نسبی برگ (RWC) تمام ژنوتیپ‌های نخود (*Cicer arietinum* L.) در اثر تنش شوری کاهش داشت. Arzani, 2008 اظهار داشت که محتوای آب نسبی برگ از شاخص‌های مرتبط با فتوسنتز در گیاهان زراعی است که با عملکرد بالا ارتباط قوی داشت. نتایج مطالعات انجام شده در گندم (*Triticum aestivum*) و جو (*Hordeum vulgare*) توسط Munns *et al*., 2006 و Kafi *et al*., 2011 مشخص کردند با وجود این که در شرایط تنش شوری پتانسیل تورژسانس تغییر نکرده ولی محتوای آب نسبی کاهش یافت. درصد رطوبت نسبی بافت‌ها از مهم‌ترین مؤلفه‌هایی است که نشان‌دهنده وضعیت آبی گیاه می‌باشد. تنش شوری سبب تولید گونه‌های فعال اکسیژن می‌شود که نشت از غشاءهای سلولی را به‌دنبال خواهد داشت (Summart *et al*., 2010). پایداری غشاء از جمله خصوصیات فیزیولوژیک است که تحت تأثیر تنش‌های محیطی قرار می‌گیرد. تنش شوری باعث افزایش معنی‌دار درصد نشت الکترولیت‌ها از غشاءها در کلزا (*Brassica napus* L.) شد (Azari *et al*., 2012). Dehshiri *et al*. 2012 گزارش کردند که شوری باعث کاهش عملکرد دانه، محتوای آب نسبی برگ و افزایش نشت یونی غشاء، میزان کلروفیل کل برگ و فلورسنس کلروفیل برگ در کلزا شد. تنش شوری مانند دیگر تنش‌های محیطی باعث تجمع گونه‌های فعال اکسیژن مانند سوپراُکسید (O_2^-) و پراُکسید هیدروژن (H_2O_2) و رادیکال هیدروکسیل ($^{\cdot}OH$) در سلول و آسیب رساندن به لیپیدهای غشاء، پروتئین‌ها و اسیدهای نوکلئیک می‌شود (Becana *et al*., 1998; Noctor and Foyer, 1998). آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانت مهم‌ترین ترکیبات در سیستم‌های جاروب کردن اکسیژن‌های رادیکال آزاد (ROS) هستند. و اولین راه دفاعی در برابر صدمات اکسیژن‌های رادیکال آزاد هستند. در گیاهان عالی سیستم جاروب کردن اکسیژن‌های رادیکال آزاد از چندین آنزیم آنتی‌اکسیدانت تشکیل شده است که شامل گلوتاتیون پراُکسیداز، کاتالاز، سوپراُکسیددیسموتاز و آسکوربات‌پراُکسیداز می‌باشد. که می‌توانند رادیکال‌های اکسیژن فعال که در شرایط تنش تولید می‌شوند را از بین ببرند. آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانت از غشاءها در مقابل اثرات مخرب ROSها که در برابر تنش غیرزنده تولید می‌شود، محافظت می‌کنند و موجب مقاومت و پایداری گیاهان در برابر تنش‌هایی چون شوری می‌شوند (Tan *et al*., 2006; Mohammadkhani and Heidari, 2007). هم‌چنین گزارش شده که اثر شوری بر فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اُکسیدانت بر اساس ژنوتیپ گیاه، نوع نمک، غلظت نمک، مرحله رشد و شرایط محیطی تغییر می‌کند (Rezaei *et al*., 2006).

نخود گیاهی دو لپه، یکساله، متعلق به خانواده حبوبات Leguminosae می‌باشد. و با دارابودن سومین رتبه از نظر تولید در میان کل حبوبات، در آسیا، اروپا، استرالیا و شمال آمریکا کشت می‌شود (Roy *et al*., 2010). ایران با تولید بیش از ۲۰۰هزار تن عملکرد دانه، جایگاه هفتم در کشت این محصول را دارد. نخود زراعی به‌واسطه‌ی دارابودن میزان بالای پروتئین (۱۸ تا ۳۰درصد وزن خشک) نقش مهمی در برطرف کردن کمبود پروتئین دارد. درکشورهای در حال توسعه نخود مشابه با سایر حبوبات نقش مهمی در سیستم‌های کشت سنتی ایفا می‌کند. علاوه‌بَر اهمیت این گیاه به‌عنوان یک منبع مهم تغذیه برای انسان و دام، این گیاه به‌ویژه در مدیریت حاصلخیزی خاک به‌ویژه در مناطق خشک کمک نماید (Sharma and Jodha, 1982). با این وجود مشخص شده که شوری می‌تواند عملکرد و کیفیت محصول نخود را حتی در ارقام متحمل به شوری کاهش دهد (Asha Dhingra, 2007). Kafi *et al*., 2011 در مطالعه‌ای که جهت بررسی تأثیر تنش شوری بر متغیرهای فیزیولوژیک ارقام نخود انجام دادند گزارش کردند، افزایش میزان کلرید سدیم موجب افزایش غلظت کلروفیل a و b و کاروتنوئیدها در نخود شد. با این وجود، تنش شوری ناشی از کلرید سدیم تأثیر معنی‌داری بر نسبت کلروفیل a به کلروفیل b در ژنوتیپ‌های مختلف نداشت. Arefian *et al*., 2012 گزارش کردند، با افزایش شدت تنش، وزن تَر همه ژنوتیپ‌های نخود کاهش یافت و با افزایش مدت زمان تنش، شدت کاهش وزن، بیشتر نیز شد. بررسی فرآیندهای فیزیولوژیک و فعالیت‌های آنتی‌اکسیدانت در پاسخ به تنش جهت مدیریت گیاه زراعی در شرایط شوری از اهمیت ویژه‌ای برخوردار است. این تحقیق با هدف مطالعه تأثیر سطوح مختلف شوری بر برخی صفات فیزیولوژیک و فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانت و عملکرد نخود رقم آزاد، جهت کمک به توسعه کشت این گیاه در مواجه با شرایط شور انجام شد.

مواد و روش‌ها

این تحقیق در سال ۱۳۹۲ در گلخانه تحقیقاتی دانشکده

کشاورزی دانشگاه بیرجند، در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی با سطوح شوری ۱، ۳، ۵، ۷ و ۹دسی‌زیمنس بر متر، در چهار تکرار انجام شد. بافت خاک از نوع لومی شنی ، PH معادل ۸/۰۹، هدایت‌الکتریکی عصاره اشباع خاک برابر با یک دسی‌زیمنس بر متر و برای آبیاری از آب تصفیه شده با Ec < 350 µS/cm استفاده شد. برای اعمال شوری خاک ابتدا درصد رطوبت اشباع خاک در آزمایشگاه تعیین، و سپس درصد رطوبت ظرفیت زراعی به‌دست آمد و مقدار نمک لازم از منبع کلرید سدیم برای رسیدن به سطوح شوری از معادله ۱ تأمین شد (Stephen, 2008).

$$TDS\ (mg\ L^{-1}) = Ec\ (dS\ m^{-1}) \times 640 \qquad (۱)$$

بذر نخود رقم آزاد از ایستگاه تحقیقات کشاورزی شیروان تهیه و در هر گلدان تعداد هشت عدد بذر کشت و پس از تُنَک، چهار بوته باقی ماند. در طول مدت آزمایش آبیاری با توزین روزانه گلدان‌ها بر اساس درصد رطوبت ظرفیت زراعی با استفاده از آب تصفیه شده صورت گرفت. شرایط محیطی گلخانه در طول فصل رشد گیاهان کنترل شده و شامل طول روز ۱۶ و طول شب ۸ساعت، رطوبت نسبی در محدوده ۵۵ تا ۷۵درصد و دمای حدود ۲۵°C در روز و ۱۵°C در شب بود.

در اوایل گلدهی میزان سبزینگی[1] (شاخص کلروفیل) برگ‌ها با استفاده از دستگاه کلروفیل‌متر (SPAD- 502) اندازه‌گیری شد. برای انجام این کار در هر گلدان از سه بوته و در هر بوته از برگ انتهایی کامل و توسعه یافته سه برگچه اندازه‌گیری و میانگین[2] به‌دست آمده (۹عدد) ثبت گردید. برای اندازه‌گیری محتوای نسبی آب برگ نمونه‌برداری در اوایل گلدهی از آخرین برگ توسعه یافته انجام و بلافاصله وزن تَر نمونه‌ها با ترازوی دارای دقت ۰،۰۰۰۱ اندازه‌گیری شد. سپس نمونه‌ها به‌مدت ۲۴ساعت در آب‌مقطر قرار داده شد و پس از تمیزکردن با دستمال کاغذی وزن اشباع برگ‌ها اندازه‌گیری و این برگ‌ها به‌مدت ۲۴ساعت در دمای ۷۰درجه سانتی‌گراد در آون قرار گرفته و وزن خشک آن‌ها اندازه‌گیری شد. محتوای نسبی آب برگ بر اساس معادله ۲ محاسبه گردید (Ritchie and Nguyen 1990).

$$RWC = [(Fw - Dw) / (Sw - Dw)] \times ۱۰۰ \qquad (۲)$$

که در این رابطه Fw= وزن تَر برگ، Dw= وزن خشک برگ و Sw= وزن اشباع برگ می‌باشد. برای اندازه‌گیری نشت الکترولیت‌ها در اوایل گلدهی از آخرین برگ توسعه یافته تعداد پنج عدد پانچ تهیه و در ۲۵سی‌سی آب‌مقطر دی‌یونیزه قرار گرفت. نمونه‌ها به‌مدت سه ثانیه بهم زده شد و سپس EC آن با دستگاه ECمتر اندازه‌گیری شد. بعد از گذشت ۱۲ساعت مجدداً هدایت‌الکتریکی قرائت و میزان نشت الکترولیت‌ها گزارش گردید. برای اندازه‌گیری فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانت نمونه‌ها از آخرین برگ توسعه یافته در اوایل گلدهی تهیه و پس از انجماد در دمای ۸۰°C- نگهداری شد. برای اندازه‌گیری فعالیت آنزیم کاتالاز (CAT) و سوپراُکسیددیسموتاز (SOD) از روش Cakmak and Horst 1991 و برای سنجش فعالیت آنزیم آسکوربات‌پراُکسیداز (APX)، از روش Nakano and Asada, 1981 به شیوه اسپکتروفتومتری با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر مدل (CECil CE 3021) با کووت[3] کوارتزی انجام شد. هم‌چنین بعد از زرد شدن کامل، بوته‌ها غلاف‌ها برداشت و بعد از خشک شدن و رسیدن به رطوبت حدود ۱۲درصد وزن دانه در بوته اندازه‌گیری و میانگین بوته‌ها در هر گلدان گزارش شد. پس از پایان آزمایش و اطمینان از نرمال بودن داده‌ها، تجزیه و تحلیل آن‌ها با استفاده از نرم‌افزار آماری SAS (نسخه ۸) انجام، و مقایسه میانگین‌ها با آزمون LSD در سطح معنی‌داری پنج‌درصد انجام شد و اشکال با استفاده از نرم‌افزارExcel رسم گردید.

نتایج و بحث

شاخص SPAD

نتایج تجزیه واریانس داده‌های این آزمایش نشان‌داد که سطوح مختلف شوری اثر معنی‌داری (P<۰/۰۱) بر شاخص SPAD در گیاه نخود داشت (جدول ۱). و مقایسه میانگین شاخص SPAD گیاه نخود در سطوح مختلف شوری بیان‌گر آنست که با افزایش شوری شاخص SPAD در گیاه نخود افزایش اندکی یافت (شکل ۱).

بر اساس این نتایج کمترین شاخص SPAD در شوری یک دسی‌زیمنس بر متر و بیش‌ترین شاخص SPAD در شوری ۹دسی‌زیمنس بر متر بود. افزایش شوری از یک به ۹دسی‌زیمنس بر متر باعث افزایش ۵/۶۲واحدی (۱۰/۴۸درصدی) شاخص SPAD در نخود شد (شکل ۱) که این شاخص در نخود به‌ازای افزایش هر واحد شوری، به‌طور میانگین ۰/۷واحد (۱/۳۱درصد) افزایش یافته و بیش‌ترین اثرات مربوط به افزایش شوری از یک به سه دسی‌زیمنس بر متر به مقدار ۵/۸۲درصد بود. در سطوح بالای شوری این افزایش بسیار ناچیز بود.

مطالعات نشان می‌دهد، که نخود، سورگوم (*Sorghum bicolor* L. Moench) و گندم در مراحل رشد رویشی و اوایل رشد زایشی به شوری حساس بوده و در مرحله گلدهی دارای حساسیت کمتر و در مرحله پُرشدن دانه کمترین حساسیت به شوری را دارند (Bernstein *et al*., 1993; Francois *et al*., 1394). بر این اساس اندازه‌گیری خصوصیات فیزیولوژیک نخود در مراحلی از رشد که حساسیت بیشتری به شوری دارد، انجام شده است.

1- Chlorophyll Index (SPAD)
2- Average
3- Cuvet

جدول ۱- تجزیه واریانس صفات فیزیولوژیک گیاه نخود در سطوح متفاوت شوری
Table 1- Analysis of variance for Physiological traits in Chickpea at different levels of salinity

منابع تغییر S.O.V	درجه آزادی df	میانگین مربعات MS: شاخص SPAD SPAD index	محتوای نسبی آب برگ RWC	نشت الکترولیت ها Electrolyte leakage	عملکرد دانه Grain yield
بلوک Block	3	0.67 ^{ns}	^{ns} 4.26	2.28 ^{ns}	**0.099** ^{ns}
شوری Salinity	4	22.31 **	144.02 **	46.18 **	**5.59** **
خطا Error	12	1.33	6.04	3.32	**0.082**
ضریب تغییرات (درصد) C.V.		2.22	3.51	7.62	**7.13**

ns ، * و ** به‌ترتیب غیرمعنی‌دار و معنی‌دار در سطح احتمال پنج‌درصد و یک‌درصد
ns,* and **: Not significant, significant at 5% and 1% levels of probability, repectively.

Kafi *et al*., 2011 گزارش کردند، افزایش شوری موجب افزایش غلظت کلروفیل a و b و کاروتنوئیدها در نخود شد و بیش‌ترین غلظت رنگدانه کلروفیل a و b در تیمار شاهد و تنش شوری $^{-1}$۱۲dSm مربوط به ژنوتیپ MCC674 بود. Zibai *et al*., 2012 گزارش کردند شوری اثر معنی‌داری بر عدد SPAD در گلرنگ (*Carthamus tinctorius*) رقم گلدشت داشت. به‌طور ی‌که با کاربرد سطوح شوری ۸، ۱۶ و ۲۴دسی‌زیمنس بر متر، عدد SPAD به‌ترتیب ۰/۷، ۱/۷ و ۱۷درصد نسبت به شاهد کاهش نشان‌داد. و بین تیمار شاهد و سطوح شوری ۸ و ۱۶دسی‌زیمنس بر متر تفاوت معنی‌دار نبود. این به‌ویژه دلیلی بر پایداری میزان کلروفیل تا آستانه معینی از شوری باشد. در این آزمایش با افزایش شوری به‌طور محدودی شاخص SPAD در نخود افزایش یافت. در شرایط تنش شوری، گیاه برای مقابله با تنش سطح برگ خود را کاهش می‌دهد که باعث ضخیم شدن برگ‌ها، تجمع بیشتر کلروپلاست در واحد سطح برگ و افزایش محتوای کلروفیل برگ شده که نتیجه آن تیره‌شدن برگ و افزایش شاخص SPAD می‌شود (Misra *et al*., 1977). البته افزایش شاخص SPAD در شرایط تنش شوری بیشتر در گیاهان متحمل به شوری گزارش شده است.

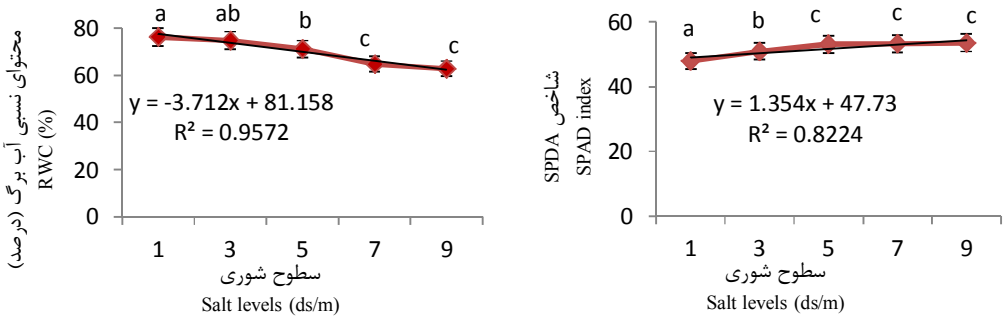
محتوای نسبی آب برگ (RWC)

نتایج تجزیه واریانس داده‌های این آزمایش نشان‌داد که سطوح مختلف شوری اثر معنی‌داری ($p<$۰/۰۱) بر درصد محتوای نسبی آب برگ در گیاه نخود داشت (جدول ۱). مقایسه میانگین درصد محتوای نسبی آب برگ گیاه نخود در سطوح مختلف شوری نشان‌داد که با افزایش شوری درصد محتوای نسبی آب برگ گیاه نخود کاهش یافت (شکل ۱).

بررسی نتایج مقایسات میانگین محتوای نسبی آب برگ گیاه نخود نشان‌داد که بیش‌ترین درصد محتوای نسبی آب برگ در شوری یک دسی‌زیمنس بر متر و کمترین درصد محتوای نسبی آب برگ در شوری ۹دسی‌زیمنس بر متر به مقدار ۶۲/۸۶درصد بود. با افزایش شوری در کلیه سطوح درصد محتوای نسبی آب برگ نخود کاهش یافته به‌طور ی‌که بیش‌ترین سطح شوری باعث کاهش ۱۷/۷درصدی در این شاخص نسبت به شاهد شد. که به‌ازای افزایش هر واحد شوری، این شاخص در نخود به‌طور میانگین ۲/۲۱درصد کاهش یافته و بیش‌ترین اثرات مربوط به افزایش شوری از پنج به هفت دسی‌زیمنس بر متر به مقدار ۸/۹۷درصد بود.

در مطالعه‌ای که Arefian *et al*., 2012 به‌منظور بررسی اثر تنش شوری بر خصوصیات مورفوفیزیولوژیک پنج ژنوتیپ مختلف نخود انجام دادند، گزارش کردند: در همه مراحل نمونه‌گیری میزان آب نسبی برگ تمام ژنوتیپ‌ها در اثر تنش شوری کاهش داشت؛ که با نتایج این آزمایش هم‌خوانی دارد. در گزارش آن‌ها آمده است در غلظت $^{-1}$۱۲dSm کمترین مقدار و بیش‌ترین میزان کاهش نسبت به شاهد در هفته دوم به‌ترتیب مربوط به ژنوتیپ‌های MCC544 (۱/۱۸برابر) و MCC806 (۱/۹۲برابر کاهش) بود. در هفته سوم و چهارم ژنوتیپ‌های MCC760 (۱/۸۵ و ۳/۱برابر کاهش) و MCC806 (۳/۴۱ و ۴/۶برابر کاهش) کمترین مقدار و بیش‌ترین میزان کاهش را داشتند. بنابراین ژنوتیپ‌های MCC760 و MCC544 (بر خلاف ژنوتیپ MCC806) با توانایی حفظ آب بیشتر در شرایط شوری و تبخیر کمتر، بیش‌ترین تحمل را به تنش شوری داشتند. نتایج بسیاری از تحقیقات نشان‌دهنده هم‌بستگی معنی‌دار بین تحمل به شوری و میزان آب نسبی (RWC) و پتانسیل آب گیاه می‌باشد (Sairam *et al*., 2002; Borzouei *et al*., 2012). هم‌چنین Stroeher *et al*., 1995 کاهش بیشتر میزان RWC را در کلزا نسبت به خردل (*Sinapis arvensis* L.) در اثر افزایش شوری گزارش کرده‌اند. بنابراین، همان‌طورکه Sinclair and Ludlow, 1985 نیز اعلام کردند، درصد رطوبت نسبی بافت‌ها از مهم‌ترین مؤلفه‌هایی است که نشان‌دهنده وضعیت آبی گیاه می‌باشد. آن‌ها

گزارش کردند تیمار شوری نیز بر RWC تأثیر معنـی‌داری داشـت و میانگین این صفت در شوری‌های ۱۰ و ۱۲دسی‌زیمنس بر متر کاهش معنی‌داری با شاهد نشـان‌داد. Kafi *et al*., 2012 گـزارش کردنـد، میزان محتوای نسبی آب برگ کوشیا با افزایش شوری تـا $20 dSm^{-1}$ کلرید سدیم بدون تغییر ثابت ماند و رسیدن سطح تنش به $40 dSm^{-1}$ موجب کاهش ۴/۴درصد در میزان محتوای نسبی آب برگ در کوشیا شد. محتوای آب نسبی برگ از شاخص‌های مـرتبط بـا فتوسـنتز در گیاهان زراعی است که با فتوسنتز و عملکرد بـالا ارتبـاط قـوی دارد. نتایج مطالعات انجام شده در گندم و جو توسط Munns *et al*., 2006 و در نخود توسط Kafi *et al*., 2011 مشـخص کردنـد، بـا وجـود این‌که در شرایط تنش شوری پتانسیل تورژسانس تغییر نکـرده ولـی محتوای آب نسبی کاهش یافت. البته در گیاهان مقـاوم بـه شـوری؛ آستانه کاهش محتوای نسبی آب برگ بسیار بالاتر از گیاهان حساس به شوری است.



شکل ۱- اثر سطوح مختلف شوری بر شاخص SPAD (سمت راست) و محتوای نسبی آب برگ (سمت چپ) در گیاه نخود

Figure 1- Effect of different levels of salinity on SPAD and RWC of Chickpea

(خطوط عمودی بالای هر ستون نشان‌دهنده خطای استاندارد از میانگین و حروف نتایج آزمون LSD (P<۰/۰۵) است)

Values are means of four replicates ± SE. and letters LSD test results (P<0.05)

نشت الکترولیت‌ها

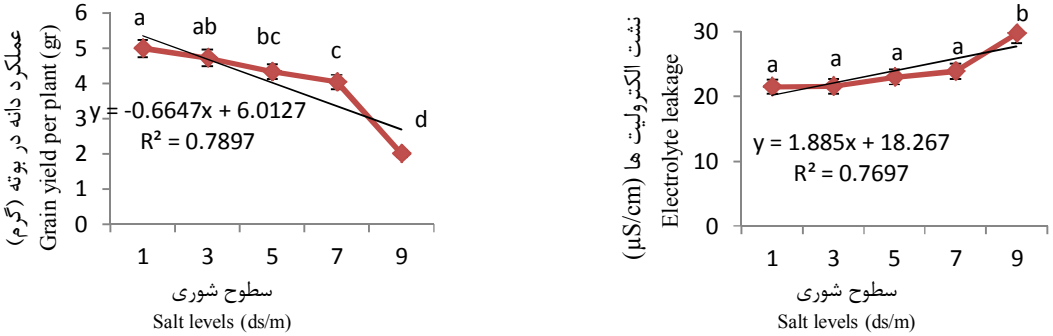
نتایج تجزیه واریانس داده‌های این آزمایش نشان‌داد که سـطوح مختلف شوری اثر معنی‌داری (p<۰/۰۱) بر نشت الکترولیت‌ها در گیاه نخود داشت (جدول ۱). نتایج مقایسه میانگین نشت الکترولیـت‌هـای گیاه نخود در سطوح مختلف شوری نشان‌داد که بـا افـزایش شـوری نشت الکترولیت‌ها در گیاه نخود افزایش یافـت (شـکل ۲). کمتـرین نشت الکترولیت‌ها در شوری یک دسی‌زیمنس بر متـر و بـیش‌تـرین نشت الکترولیت‌ها در شوری ۹دسی‌زیمنس برمتر بود. در کلیه سطوح شوری این شـاخص در نخـود افـزایش یافتـه بـه‌طـوری‌کـه شـوری ۹دسی‌زیمنس بر متر باعث افزایش ۲۷/۷۵درصدی نشت الکترولیت‌ها نسبت به شاهد شد (شکل ۲)، که به‌ازای افزایش هر واحد شوری این شاخص در نخود به‌طور میانگین ۳/۴۶درصد افزایش یافته و بیش‌ترین اثرات مربوط به افزایش شوری از هفت به ۹دسی‌زیمنس بـر متـر بـه مقدار ۱۹/۵۸درصد بود.

اثر آسیب وارده بر غشاء سیتوپلاسمی در اثر تنش باعث می‌شـود که محتویات سلول آن‌ها به بیرون تراوش کند، که مقدار این آسیب را می‌توان با اندازه‌گیری مقدار نشت یونی تعیین نمـود (Jabari *et al*., 2006). پایداری غشاء از جمله خصوصیات فیزیولوژیک است که تحت تأثیر تنش‌هـای محیطـی قـرار مـی‌گیـرد. افـزایش تجمـع پراُکسـید هیدروژن و پراُکسیداسیون لیپیدها در اثر شوری موجب کاهش پایداری غشاء در گیاهـان مـی‌گـردد (Farooq and Azam, 2006). تـنش شوری سبب تولید گونه‌های فعـال اکسـیژن مـی‌شـود کـه نشـت از غشاءهای سلولی را به‌دنبال خواهد داشت (Summart *et al*., 2010). افزایش نشت یونی غشاء وکاهش محتوای آب نسبی با افزایش سطح شـوری و در نتیجـه خشـکی فیزیولوژیـک حاصـل از آن در برخـی آزمایش‌ها روی ارقام آفتـابگردان (*Helianthus annuus*) گـزارش شـده اسـت (Shi and Sheng, 2004). Jome Bidokhti, 2014 گزارش کردند، نشت الکترولیت‌ها در نخود با افزایش شوری به‌صورت خطی افزایش داشت. به‌طوری‌که بیش‌ترین میزان نشت الکترولیت‌ها در بالاترین سطح شوری رخ داد. Azari *et al*., 2012 نیـز گـزارش کردند تنش شوری باعث افزایش معنی‌دار درصد نشت الکترولیت‌ها از غشاءها در کلـزا گونـه (*Brassica napus*) شـد. Dehshiri *et al*., 2012 بیان کردند شوری باعث کاهش عملکرد دانـه، محتـوای آب نسبی برگ و افزایش نشت یونی غشاء، میزان کلروفیل کل بـرگ و فلورسنس کلروفیل برگ در کلزا شد. این گزارشات بـا نتـایج حاصـل شده از این آزمایش همخوانی دارد. همچنـین Askary *et al*., 2013 گزارش کردند شوری بر میزان تراوش یونی غشاء در برگ ذرت (*Zea mays* L.) اثر معنی‌داری در سطح (p< ۰/۰۱) داشـت بـه‌طـور ی‌کـه

نشت یونی با افزایش شوری افزایش پیدا کرد و شاخص پایداری غشاء نیز تحت تأثیر شوری قرار گرفت. در این آزمایش بیش‌ترین میزان پایداری غشاء مربوط به کمترین سطح شوری بود و کمترین میزان پایداری غشاء در شرایط تنش شدید مشاهده گردید. پژوهش به عمل آمده توسط Jabar *et al*., 2006 بر روی گندم نشان‌داد ارقامی که نشت یونی کمتری دارند، به شوری متحمل‌ترند.

عملکرد دانه

نتایج تجزیه واریانس داده‌های این آزمایش نشان‌داد که سطوح مختلف شوری اثر معنی‌داری (P<۰/۰۱) بر عملکرد دانه در گیاه نخود داشت (جدول ۱). نتایج مقایسه میانگین عملکرد دانه در بوته گیاه نخود در سطوح مختلف شوری نشان‌داد، با افزایش شوری مقدار عملکرد دانه در بوته گیاه نخود کاهش یافت (شکل ۲).



شکل ۲ - اثر سطوح مختلف شوری بر نشت الکترولیت‌ها و عملکرد دانه در بوته در گیاه نخود

Figure 2- Effect of different levels of salinity on Electrolyte leakage and Grain yield per plant of Chickpea

(خطوط عمودی بالای هر ستون نشان‌دهنده خطای استاندارد از میانگین و حروف نتایج آزمون LSD، (p<۰/۰۵) است)

Values are means of four replicates ± SE. and letters LSD test results (P<0.05)

بر اساس نتایج این آزمایش بیش‌ترین مقدار عملکرد دانه در بوته نخود در شوری یک دسی‌زیمنس بر متر و کمترین مقدار عملکرد دانه در شوری ۹دسی‌زیمنس بر متر بود. بر اساس این نتایج در کلیه سطوح شوری عملکرد دانه نخود کاهش یافت. اگرچه افزایش شوری از یک تا هفت دسی‌زیمنس بر متر باعث کاهش اندکی در عملکرد دانه نخود شد، ولی شوری ۹دسی‌زیمنس بر متر باعث کاهش ۵۹/۸۳درصدی در عملکرد دانه نسبت به شاهد شد. که به‌ازای افزایش هر واحد شوری عملکرد دانه نخود به‌طور میانگین ۷/۴۷درصد کاهش یافته و بیش‌ترین اثرات مربوط به افزایش شوری از هفت به ۹دسی‌زیمنس بر متر به مقدار ۵۰/۴۹درصد بود. بنابر گزارش‌های اعلام شده تنش شوری باعث کاهش شاخص‌های رشد در گیاه نخود (Jome Bidokhti, 2014) ذرت (Momeni *et al*., 2012)، عدس (*Lens culinaris*) (Bandeoglu *et al*., 2004) و جو (*Hordeum vulgare*) (El-Tayeb, 2005) شده است. Sadikia and Rabihb, 2001 گزارش کردند تنش شوری باعث کاهش تعداد گل و غلاف در شش نوع ژنوتیپ نخود شد. دلیل اصلی این کاهش و کاهش تعداد و وزن دانه‌ها نیز کاهش در فتوسنتز، متابولیسم نیتروژن و متابولیسم کربن تحت شرایط تنش شوری گزارش شده است. در آزمایش Ahmad *et al*, 2005 بر روی شش واریته گندم نیز، شوری سبب کاهش معنی‌دار در تعداد کل سنبله‌ها شد. نتایج مطالعه دیگری در دو رقم جو نشان می‌دهد که با افزایش سطوح شوری، عملکرد و اجزای عملکرد به‌طور بسیار معنی‌داری کاهش یافت. Grattan and Grive, 1998 نیز در مطالعات خود گزارش کردند که عوامل مختلف ایجاد شده تحت تنش شوری باعث کاهش تعداد گل، تعداد غلاف ، تعداد تخمک‌های بارور شده و تولید بذور سالم و در نتیجه تعداد دانه در غلاف و وزن ۱۰۰۰دانه و در نهایت کاهش عملکرد شده است. نتایج این آزمایش مطابق با یافته‌های Sharma *et al*, 1984 می‌باشد. نتایج تحقیقات Francois *et al*, 1994 نشان‌داد که بیش‌ترین تأثیر شوری بر عملکرد دانه گندم از طریق تغییر در وزن ۱۰۰۰دانه بود. کاهش وزن ۱۰۰۰دانه به‌ویژه به‌علت کاهش طول پُرشدن دانه در تیمارهای تحت شوری و نیز به‌علت کاهش سنتز مواد گیاهی باشد (Francois *et al*., 1994). هم‌چنین تغییر مسیر اختصاص مواد فتوسنتزی به ریشه‌ها جهت مقابله با شوری نیز به‌ویژه دلیل دیگری بر کاهش وزن خشک دانه‌ها باشد. تأثیر تنش شوری بر وزن دانه‌ها، به زمان اعمال تنش و غلظت نمک در محیط رشد بستگی دارد، به‌طوری که اعمال تنش در مراحل اولیه نمو گیاه، به‌علت کوتاه‌شدن دوره پُرشدن دانه، تأثیر بیشتری بر کاهش وزن در هر دانه می‌گذارد.

فعالیت آنزیم کاتالاز (CAT)

نتایج تجزیه واریانس داده‌های این آزمایش نشان‌داد که سطوح

مختلف شوری اثر معنی‌داری (p<۰/۰۱) بر فعالیت آنزیم کاتالاز در گیاه نخود داشت (جدول ۲).

جدول ۲- تجزیه واریانس فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانت گیاه نخود در سطوح متفاوت شوری

Table 2- Analysis of variance for antioxidant enzymes activity in Chickpea at different levels of salinity

منابع تغییر S.O.V	درجه آزادی Df	میانگین مربعات MS: کاتالاز (CAT)	سوپراُکسیددیسموتاز (SOD)	آسکوربات‌پراُکسیداز (APX)
بلوک Block	3	12.64 ns	2.58 ns	16.47 ns
شوری Salinity	4	556.4 **	225.42 **	1014.78 **
خطا Error	12	24.8	5.16	19.97
ضریب تغییرات (درصد) C.V.		16.24	9.06	17.42

ns ، * و ** به‌ترتیب غیر معنی‌دار و معنی‌دار در سطح احتمال پنج‌درصد و یک‌درصد

ns,* and **: Not significant, significant at 5% and 1% levels of probability, repectively.

مقایسه میانگین فعالیت آنزیم کاتالاز در نخود در سطوح مختلف شوری نشان‌داد که با افزایش شوری فعالیت این آنزیم تا شوری ۷dSm^{-1} افزایش و در شوری ۹dSm^{-1} کاهش یافت (شکل ۳). به‌طوری‌که شوری هفت دسی‌زیمنس بر متر باعث افزایش ۶۳/۷۹درصدی در این شاخص نسبت به شاهد شد. که به‌ازای افزایش هر واحد شوری این شاخص در نخود به‌طور میانگین ۱۰/۶۳درصد افزایش یافته و بیش‌ترین اثرات مربوط به افزایش شوری از سه به پنج دسی‌زیمنس بر متر به مقدار ۳۳/۷۸درصد بود. نتایج این آزمایش با گزارش Esfandiari *et al*, 2010 در برگ خلر (*Lathyrus sativus*)، Rodriguez *et al*, 1999 در گوجه‌فرنگی (*Solanum lycopersicum*)، Habibollahi *et al*, 2012 در برنج (*Oryza sativa*)، Chamaani *et al*, 2012 در گندم و Momeni *et al*, 2012 در ذرت مشابهت دارد. با اعمال تنش شوری در گندم، بر میزان آنزیم کاتالاز تفاوت آماری معنی‌دار در سطح (p < ۰/۰۱) مشاهده شد. به‌طوری‌که میزان آنزیم کاتالاز در تنش شوری ۱۵۰میلی‌مولار نسبت به ۷۵میلی‌مولار ۲۵/۹درصد و نسبت به شاهد ۷۸/۸درصد افزایش یافت (Chamaani *et al*., 2012). Habibollahi *et al*, 2012 گزارش کردند که شوری باعث افزایش معنی‌دار فعالیت آنزیم کاتالاز در رقم زاینده‌رود برنج می‌شود، در حالی‌که تأثیری بر فعالیت این آنزیم در رقم خزر ندارد. Esfandiari *et al*, 2013 گزارش کردند، در ارقام کوهدشت، پیشتاز و MV17 گندم فعالیت آنزیم‌های آسکوربات پراُکسیداز و کاتالاز در شرایط تنش شوری نسبت به شاهد کاهش معنی‌داری نشان‌داد؛ اما در رقم ایزنگران بر اثر شوری فعالیت آسکوربات پراُکسیداز افزایش و فعالیت کاتالاز کاهش یافت که با کاهش فعالیت کاتالاز در نخود در این آزمایش در شوری بالا هم‌خوانی دارد.

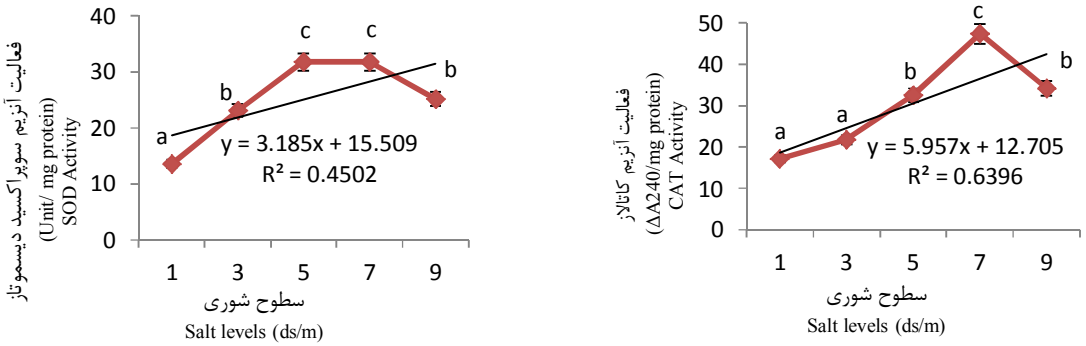
فعالیت آنزیم سوپراُکسیددیسموتاز (SOD)

نتایج تجزیه واریانس داده‌های این آزمایش نشان‌داد که سطوح مختلف شوری اثر معنی‌داری (p<۰/۰۱) بر فعالیت آنزیم سوپراُکسیددیسموتاز در گیاه نخود داشت (جدول ۲). مقایسه میانگین فعالیت آنزیم سوپراُکسیددیسموتاز نخود در سطوح مختلف شوری نشان‌داد که با افزایش شوری فعالیت این آنزیم تا شوری ۵dSm^{-1} افزایش، در شوری ۷dSm^{-1} بدون تغییر و در شوری ۹dSm^{-1} کاهش یافت (شکل ۳).

کمترین فعالیت آنزیم سوپراُکسیددیسموتاز در شوری یک دسی‌زیمنس بر متر و حداکثر فعالیت آنزیم در شوری پنج دسی‌زیمنس بر متر، باعث افزایش ۵۷/۲۷درصدی در این شاخص نسبت به شاهد شد. که به‌ازای افزایش هر واحد شوری فعالیت این آنزیم در نخود به‌طور میانگین ۱۴/۳۱درصد افزایش یافت. با افزایش شوری از پنج به هفت دسی‌زیمنس بر متر در فعالیت آنزیم تفاوتی مشاهده نشد و در شوری ۹دسی‌زیمنس بر متر فعالیت آنزیم سوپراُکسیددیسموتاز ۲۰/۶۹درصد نسبت به شوری ۷dSm^{-1} کاهش یافت.

این آنزیم توانایی تبدیل یون‌های سوپراُکسید را به اکسیژن و پراُکسید هیدروژن دارد. سوپراُکسیددیسموتاز به‌عنوان اولین خط دفاعی سوپراُکسید را تبدیل به پراُکسید هیدروژن می‌کند. این آنزیم در چرخه گِلی‌اکسالات فعال است (Douce *et al*., 2001). سم‌زُدایی پراُکسید هیدروژن به‌وسیله آسکوربات‌پراُکسیداز، تیورودوکسین‌پراُکسیداز، گلوتاتیون‌پراُکسیداز و کاتالاز تکمیل می‌شود (Mehlhorn *et al*., 1996). افزایش فعالیت این آنزیم در بسیاری از گیاهان گزارش شده است. نتایج این آزمایش با یافته‌های Chamaani *et al*, 2012 و Borzouei *et al*, 2012 درگندم، Gossett *et al*, 1994 و Rezaei *et al*, 2006 در پنبه (*Gossypium hirstitum*) و Esfandiari *et al*., 2013 در برگ خلر هم‌خوانی دارد. از طرفی با گزارش Demiral and Turkan,.

2005 که امکان کاهش فعالیت این آنزیم در شرایط شوری نیز وجود دارد هم مشابهت دارد. Borzouei *et al*, 2012 گزارش کردند تأثیر غلظت‌های مختلف نمک بر میزان فعالیت آنزیم مذکور افزایشی بود، به‌نحوی‌که حداکثر فعالیت آنزیم سوپراُکسیددیسموتاز در شوری ۱۲دسی زیمنس بر متر به‌دست آمد که این مقدار ۲۱/۰۶درصد بیشتر از شاهد بود. هم‌چنین آن‌ها گزارش کردند، عدم افزایش کافی در فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اُکسیدانت در رقم تجن منجر به کاهش توانائی گیاه جهت تحمل صدمات ناشی از تنش شوری می‌گردد. به‌نظر می‌رسد، این موضوع در مورد نخود هم رخ داده و با افزایش شوری روند افزایش فعالیت آنزیم‌ها اتفاق نیافته است.



شکل ۳ - اثر سطوح مختلف شوری بر فعالیت آنزیم کاتالاز و سوپراُکسیددیسموتاز در گیاه نخود

Figure 3- Effect of different levels of salinity on Enzyme activity CAT and SOD of Chickpea

(خطوط عمودی بالای هر ستون نشان‌دهنده خطای استاندارد از میانگین و حروف نتایج آزمون LSD، ($p<۰/۰۵$) است است)

Values are means of four replicates ± SE. and letters LSD test results ($P<0.05$)

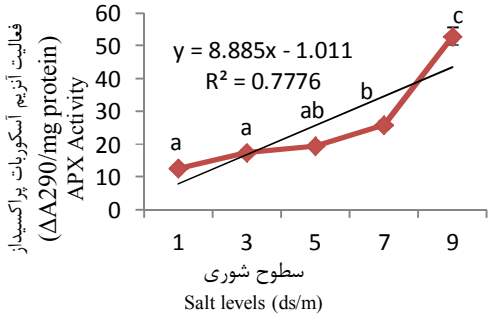
گزارش Chamaani *et al*, 2012 نشان‌داد با اعمال تنش شوری در گندم بر میزان فعالیت آنزیم سوپراُکسیددیسموتاز تفاوت آماری معنی‌دار در سطح ($p < ۰/۰۱$) مشاهده شد. به‌طور ی‌که آنزیم سوپراُکسیددیسموتاز در تنش شوری ۱۵۰میلی‌مولار نسبت به ۷۵میلی‌مولار ۳۵/۳درصد و نسبت به شاهد ۱۰۷/۲درصد افزایش یافت. نتایج نشان‌داد که فعالیت این آنزیم در شرایط تنش شوری نسبت به عدم اعمال تنش بیشتر می‌شود که دلیل آن عدم توانایی استفاده از آب به‌دلیل تنش شوری است. افزایش فعالیت آنزیم در مراحل اولیه دال بر این نظریه است که در اثر اعمال تنش محدودیت‌های غیر روزنه‌ای عامل اصلی کاهش فتوسنتز بوده و در نتیجه افزایش فعالیت در آنزیم SOD میزان رادیکال سوپراُکسید را در سطح پائین‌تری نگه داشته و موجب کاهش صدمات اکسیداتیو ایجاد شده ناشی از تنش شوری می‌گردد (Borzouei *et al*., 2012).

فعالیت آنزیم آسکوربات‌پراُکسیداز (APX)

نتایج تجزیه واریانس داده‌های این آزمایش نشان‌داد که سطوح مختلف شوری اثر معنی‌داری ($p<۰/۰۱$) بر فعالیت آنزیم آسکوربات‌پراُکسیداز در گیاه نخود داشت (جدول ۲). نتایج مقایسه میانگین فعالیت آنزیم آسکوربات‌پراُکسیداز نخود در سطوح مختلف شوری نشان‌داد که با افزایش شوری فعالیت آنزیم آسکوربات‌پراُکسیداز گیاه نخود افزایش یافت (شکل ۴). کمترین فعالیت این آنزیم در شوری یک دسی‌زیمنس بر متر و بیش‌ترین فعالیت آنزیم آسکوربات‌پراُکسیداز در شوری ۹دسی‌زیمنس بر متر بود. به‌طوری‌که شوری ۹دسی‌زیمنس بر متر باعث افزایش ۷۵/۹۵درصدی در این شاخص نسبت به شاهد شد. که به‌ازای افزایش هر واحد شوری این شاخص در نخود به‌طور میانگین ۹/۴۹درصد افزایش یافته و بیش‌ترین اثرات مربوط به افزایش شوری از هفت به ۹دسی‌زیمنس بر متر به مقدار ۵۱/۰۱درصد بود.

یکی از آنتی اکسیدآنت‌های آنزیمی مهم در گیاهان آسکوربات پراُکسیداز می‌باشد (Khan and Singh, 2008). وظیفه این آنزیم سم‌زُدایی H_2O_2 با کمک آسکوربیک‌اسید است (Tuteja and Gill, 2010). افزایش فعالیت آنزیم آسکوربات‌پراُکسیداز در شرایط تنش شوری در مطالعات متعددی گزارش شده است. نتایج این آزمایش با یافته‌های Demiral and Turkan, 2005 و Moradi and Abdelbaghi, 2007 در برنج، Bor *et al*, 2003 در چغندرقند (*Beta vulgaris*)، Han and Lee, 2005 در کاهو (*Lactuca sativa*) و Momeni *et al*, 2012 در ذرت مشابهت دارد. افزایش فعالیت این آنزیم در ژنوتیپ‌های متحمل آن‌ها را قادر می‌سازد تا خودشان را در برابر تنش اکسیداتیو محافظت نمایند. در حالی‌که در ژنوتیپ‌های حساس این افزایش ناچیز و تنها به‌صورت جزیی معنی‌دار بود (Rasoolnia *et al*., 2012). APXگرایش بسیار بالایی به H_2O_2 دارد (در حد میکرومولار)، لذا در مدیریت ROSهای ایجاد

شده، نقش محوری‌تری نسبت به CAT و SOD دارد (Tuteja and Gill, 2010). با افزایش فعالیت APX و در نتیجه فعال شدن چرخه آسکوربات–گلوتاتیون و جاروب‌کننده‌های پراُکسید هیدروژن و به‌دنبال آن با افزایش فعالیت CAT و سایر پراُکسیدازها با تنش اکسیداتیو مقابله می‌شود (Munns, 2005).



شکل ٤- اثر سطوح مختلف شوری بر فعالیت آنزیم آسکوربات‌پراُکسیداز درگیاه نخود

Figure 4- Effect of different levels of salinity on Enzyme activity APX of Chickpea

(خطوط عمودی بالای هر ستون نشان‌دهنده خطای استاندارد از میانگین و حروف نتایج آزمون LSD، (P<۰/۰۵) است)

Values are means of four replicates ± SE. and letters LSD test results (P<0.05)

نتیجه‌گیری

در مجموع با بررسی اثر سطوح مختلف شوری بر صفات اندازه‌گیری شده مشاهده گردید، شوری اثر قابل‌توجهی بر شاخص SPAD در نخود نداشت. ولی تنش شوری اثر منفی بر خصوصیات فیزیولوژیک گیاه نخود داشته و عملکرد دانه را کاهش داد. هم‌چنین موجب افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانت از قبیل کاتالاز (CAT)، سوپراُکسیددیسموتاز (SOD) و آسکوربات‌پراُکسیداز (APX) شد. مطالعه وضعیت فعالیت آنتی اکسیدانت‌ها بیان‌گر آن‌است که با افزایش شدت تنش این ترکیبات افزایش می‌یابند که به‌نظر می‌رسد، در مقابله با اثرات سوء شوری و حفظ تولید مؤثر باشند و کاهش فعالیت آن‌ها باعث تشدید اثرات تنش شوری در گیاه می‌شود. در مجموع با اعمال این سطوح از تنش شوری مشخص شد که نخود گیاهی نسبتاً حساس به شوری بوده و اثرات سوء اعمال تنش شوری بالاتر از هفت دسی‌زیمنس بر متر در نخود رقم آزاد قابل‌توجه بود.

References

1. Ahmad, M., Niazi, B. H., and Athar, M. 2005. Varietals differencese in agronomic performance of six wheat varieties grown under saline field environment. International Journal of Science and Technology 2(1): 49-57.
2. Ahmad, P., Jaleel, C., Azooz, M., and Gowher, N. 2009. Generation of ROS and non-enzymatic antioxidants during abiotic stress in plants. Botany Research International 2: 11-20.
3. Arefian, M., Vesal, S., Bagheri, A., and Ganjeali A. 2012. Evaluation of some morpho-physiological characteristics of Chickpea (*Cicer arietinum* L.) Under Salt Stress. 1th National Conference on Plant Stress (Abiotic), 31 Oct. - 1 Nov. 2012. University of Isfahan.
4. Arzani, A. 2008. Improving salinity tolerance in crop plants: biotechnology view. In vitro Cellular and Development Biology Plant 44(5): 373-383.
5. Asha Dhingra, H.R. 2007. Salinity mediated changes in yield and nutritive value of Chickpea (*Cicer arietinum* L.) seeds. indian journal of plant physiology 12(3): 271-275.
6. Askary, M., Maghsoudi Moud, A. A., and Saffari, V.R. 2013. Investigation of some physiological characteristics and grain yield of Corn (*Zea mays* L.) hybrids under salinity stress. Journal of Crop Production and Processing 9(3): 93-103. (In Persian with English Abstract).
7. Azari, A., Modares Sanavi, S. A. M., Askari, H., Ghanati, F., Naji, A. M., and Alizadeh B. 2012. Effect of salt stress on morphological and physiological traits of two species of rapeseed (*Brassica napus* and *B. rapa*). Iranian Journal of Crop Sciences 14(2): 121-135. (In Persian with English Abstract).
8. Bandeoglu, E., Egidogan, F., Yucel, M., and Avni Oktem, H. 2004. Antioxidant responses of shoots and roots of lentil to NaCl-salinity stress. Plant Growth Regulation 42: 69-77.
9. Becana, M., Moran, J. F., and Iturbe-Ormaetxe, I. 1998. Iron dependent oxygen free radical generation in plants subjected to environmental stress: toxicity and antioxidant protection. Plant and Soil 201: 137-147.

10. Bernstein, N., Silk, W. K., and Lauchli, A. L. 1993. Growth and development of sorghum leaves under conditions of NaCl stress. Planta 191: 433-439.
11. Bor, M., Özdemir, F., and 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.
12. Borzouei, A., Kafi, M., Khazaei, H., Khorasani, A., and Majdabadi, A. 2012. The Study of Physiological Characteristics and Enzyme Superoxide Dismutas Activity in Two Wheat (*Triticum aestivum* L.) Cultivars at Different Growth Stages under Irrigation Water Salinity. Iranian Journal of Field Crops Research 9(2): 190-201. (In Persian with English Abstract).
13. 13- Cakmak I., and Horst W.J. 1991. Effect of aluminum on lipid peroxidation, superoxide dismutase, catalase, and peroxidase activities in root tips of soybean (*Glycine max*). Physiologia Plantarum 83: 463–468.
14. Chamaani, F., Habibi, D., Khodabandeh, N., Davoodifard, M., and Asgharzadeh, A. 2012. Effects of salinity stress on growth and antioxidant enzyme activity of wheat inoculated with plant growth promoting bacteria (*Azotobacter chroocccum*, *Azospirillum lipoferum*, *Pseudomonase putida*) and humic acid. Journal of Agronomy and Plant Breeding 8(2): 39-55. (In Persian with English Abstract).
15. Dehshiri, A., Modares Sanavi, M., Rezai, H., and Shirani Rad A. 2012. Effect of elevated concentration of atomospheric carbon dioxide on some traits of three rapeseed (*Brassica napus* L.) varieties under saline conditions. Seed and Plant Production Journal 28(2): 35-52.
16. 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.
17. Douce, R., Bourguignon, J., Neuburger, M., and Rebeille, F. 2001. The glycin decarboxylase system a fascinating complex. Trends Plant Science 6: 167-176.
18. El-Tayeb, M.A. 2005. Response of barley grain to the interactive effect of salinity and salicylic acid. Plant Growth Regulation 42: 215-224.
19. Esfandiari, E., Abbasi, A., Enayati, W., and Mosavi, S.B. 2010. Different Behavior of Root and Leaf in Grass Pea Landraces in Response to Oxidative Stress Caused by Salinity. Sustainable Agriculture and Production Science 20(4): 65-75. (In Persian with English Abstract).
20. Esfandiari, E., Javadi, A., and Shokrpour, M. 2013. Evaluation of some of biochemical and physiological traits in wheat cultivars in response to salinity stress at seedling stage. Crops Improvement 15(1): 27-38. (In Persian with English Abstract).
21. FAO., 2011. Land and plant nutrition management service. Available on line at: http://www.fao.org/ag/agl/agll/spush. Accessed 25 November 2011.
22. Farooq, S., and Azam, F. 2006. The use of cell membrane stability (CMS) technique to screen for salt tolerant wheat varieties. Journal of Plant Physiology 163: 629-637.
23. Francois, L.E., Grieve, C.M., Mass, E.V., and Lesch, S.M. 1994. Time of salt stress affects growth and yield components of irrigated wheat. Agronomy Journal 86: 100-107.
24. Gossett, D.R., Millhollon, E.P., and Cran-Lucas, M. 1994. Antioxidant response to NaCl stress in salt-tolerant and saltsensitive cultivars of cotton. Crop Science 34: 706-714.
25. Grattan, D.R., and Grive, C.M. 1998. Salinity–mineral nutrient relations in horticultural crops. Scientia Horticulturae 78: 127-157.
26. Habibollahi, N., Mahdiyeh, M., and Amirjani, M.R. 2012. Effect of salt stress on growth, proline, antioxidant enzyme activity and photosystem II efficiency in salt-sensitive and-tolerant rice cultivars. Journal of Plant Biology 13: 85-96. (In Persian with English Abstract).
27. Han, H.S., and Lee, K.D. 2005. Plant growth promoting rhizobacteria effect on antioxidant status, photosynthesis, mineral uptake and growth of Lettuce under soil salinity. Research Journal of Agriculture and Biological Sciences 1 (3): 210-215.
28. Jabari, F., Ahmadi A., and Poustini, K. 2006. Relationships between anti-oxidant enzyme activates and chlorophyll content of different wheat cultivars. Journal of Agricultural Science 37(1): 307-316.
29. Jome Bidokhti, E. 2014. Invistigation on growth chatacteristics, grain yield and yield components of some varieties Chickpea (*Cicer arietinum* L.) under salinity strees. MSc Thesis in agronomy, Faculty of Agriculture University of Birjand (In Persian).
30. Kafi, M., Bagheri, A., Nabati, J., Zare Mehrjerdi, M., and Masomi, A. 2011. Effect of salinity on some physiological variables of 11 chickpea genotypes under hydroponic conditions. Journal of Science and Technology of Greenhouse Culture 4(1): 55-69. (In Persian with English Abstract).
31. Kafi, M., Nabati, J., Zare Mehrjerdi, M., Goldani, M., Khaninejad, S., Keshmiri, E., and Norooziyan, A. 2012. Effect of calcium and potassium on amelioration of negative effects of salinity on some physiological characteristics Kochia (*Kochia scoparia*). Environmental Stresses in Crop Sciences 5(2): 181-192. (In Persian with English Abstract).
32. Khan, N.A., and Singh, S. 2008. Abiotic stress and plant responses. I K International Publishing House, New Delhi, 312.

33. Mehlhorn, H., Lelandais, M., Korth, H.G. and Foyer, C.H. 1996. Ascorbate is the natural substrate for plant peroxidases. Federation of European Biochemical Societies 378, 203.206.
34. Misra, A.N., Sahl, S.M., Misra, M., Singh, P., Meera, T., Das, N., Har, M. and Sahu P. 1977. Sodium choloride induced changes in leaf groth, and pigmemt and protein contents in two rice cultivars. Biologia Plantarum 39: 257-262.
35. Mohammadkhani, N., and Heidari, R. 2007. Effects of drought stress on protective enzyme activities and lipid peroxidation in two maize cultivars. Pakistan Journal of Biological Sciences 10(21): 3835-3840.
36. Momeni, N., Arvin, M. J., Khagoei nejad, G. R., Daneshmand, F., and Keramat B. 2012. The effect of sodium chloride and salicylic acid on antioxidant defense system in maize (*Zea mays* L.). Iranian Journal of Plant Biology 14: 23-34
37. Moradi, F., and 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.
38. Munns, R. 2005. Genes and salt tolerance: bringing them together. New Phytologist 167(3): 645-663.
39. Munns, R., and Tester, M. 2008. Mechanism of salinity tolerance. The Annual Review of Plant Biology 59: 651-681.
40. Munns, R., James, R. A., and Lauchi, A. 2006. Approaches to increasing the salt tolerance of wheat and other cereals. Journal of Experimental Botany 57(5): 1025-1043.
41. Nakano, Y., and Asada, K. 1981. Hydrogen peroxide is scavenged by ascorbate-specific peroxidase in spinach chloroplasts. Plant cell physiology 22(1981): 867–880.
42. Noctor, G., and Foyer, C. 1998. Ascorbate and glutathione: Keeping active oxygen under control. Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology 49: 249-279.
43. Rasoolnia, A., Bi hamta, M. R., Peyghambari, A., Alizade, H., Takallo, S., and Kamalizade, M. 2012. Evaluation of leaf proteome pattern and antioxidant activity of barley under salinity stress. Iranian Journal of Field Science 43(2): 231-241. (In Persian).
44. Rezaei, M. A., Khavarinezhad, R. A., and Fahimi, H. 2006. Effect salinity natural soils on peroxidase activity of two cotton cultivars. Journal of Basic Science, University of Azad 62(1): 79-89. (In Persian with English Abstract).
45. Ritchie, S.W., and Nguyen, H. T. 1990. Leaf water content and gas exchange parameters of two wheat genotypes differing in drought resistance. Crop Science 30: 105-111.
46. RodriguezRosales, M.P., Kerkeb, L., Bueno, P., and Donaire, J. P. 1999. Changes induced by NaCl in lipid content and composition, lipoxygenase, plasma memberane H^+ ATPase and antioxidant enzyme activities of tomato (*Lycopersicon esculantum*, Mill) calli. Plant Science 143: 143-150.
47. Roy, F., Boye, J., and Simpson, B. 2010. Bioactive proteins and peptides in pulse crops: Pea, chickpea and lentil. Food Research International 43: 432-442.
48. Sadikia, M., and Rabihb, K. 2001. Selection of chickpea (*Cicer arietinum* L.) for yield and symbiotic nitrogen fixation ability under salt stress. Agronomy 21: 659-666.
49. Sairam, R.K., Rao K.V., and Srivastava, G.C. 2002. Differential response of wheat genotypes to long term salinity stress in relation to oxidative stress, antioxidant activity and osmolyte concentration. Plant Science 163: 1037-1046.
50. Sharma, D. and Jodha, N.S. 1982. Pulses Production in Semi-Arid Regions of India, Constraints and Opportunities. Economic and Political Weekly 17(51): A139-A148.
51. Sharma, K.D., Singh, N., and Bishnoi, N. R. 1984. Effect of chloride and sulfate salinity on flowering and yield attributes of ckickpea (*Cicer arietinum* L.). Indian Journal of Plant Physiology 36: 266-268.
52. Shi, D., and Sheng, Y. 2004. Effect of various salts alkaline mixed stress conditions on sunflower seedling and analysis of their stress factors. Environmental and Experimental Botany 54: 8-21.
53. Sinclair, T.R., and Ludlow, M. M. 1985. Who taught plants thermodynamics? The unfulfilled potential of plant water potential. Australian Journal Plant Physiology 133: 213-217.
54. Stephen, R.G. 2008. Irrigation water salinity and crop production. University of California, Davis, In Water Quality Planning Reference Sheet, 9.10, http://anrcatalog.ucdavis.edu, Publication 8066.
55. Stroeher, V.L., Boothe, J.G., and Good, A.G. 1995. Molecular cloning and expression of turgor responsive gene in Brassica napus. Plant Molcular Biology 27: 541-551.
56. Summart, J., Thanonkeo, P., Panichajakul, S., Prathepha, P., and Mc Manse, M. T. 2010. Effect of salt stress on growth, inorganic ion and proline accumulation in Thai aromatic rice, Kaho Dawk Mail 105, Callus Culture 9(2): 145- 152.
57. Tan, Y., Liang, Z.S., Hongbo, H.B., and Du, F. 2006. Effect of water deficits on the activity of anti-oxidative enzymes and osmoregulation among three different genotypes of Radix Astragali at graining stage. Colloids and Surfaces B: Biointerfaces 49: 60-65.
58. Turan, M., and Sezan, Y. 2001. Effect of salt stress on plant nutrition uptake.

59. Tuteja, N., and Gill, S. S. 2010. Reactive oxygen species and antioxidant machinery in abiotic stress tolerance in crop plants. Plant Physiology and Biochemistry 48: 909-930.
60. Zibai, S., Rahimi, A., and 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 5(2): 47-58. (In Persian with English Abstract).

Iranian Journal of Field Crops Research
Vol. 14, No. 3, Fall. 2016, p. 470-483

نشریه پژوهشهای زراعی ایران
جلد ۱۴، شماره ۳، پاییز ۱۳۹۵، ص. ۴۸۳-۴۷۰

Effect of Salt Stress on Physiological Traits and Antioxidant Enzymes Activity of Chickpea (*Cicer arietinum* L. cv. Azad)

Gh. R. Doraki[1]* - Gh. R. Zamani[2]- M. H. Sayyari[3]

Received: 13-02-2015
Accepted: 06-06-2015

Introduction

Salinity is an important abiotic stress that reduces the crop production potential and the efficiency of plants in arid and semi-arid regions. Soil salinity can be increased by irrigation, inappropriate drainage, sea advancement to coastal regions and the accumulation of salts in desert and semi-desert regions. Salinity is a limiting factor for plant growth because it limits the feeding of the plants through reducing the uptake of P, K, nitrate and Ca and increasing inter-cellular ion concentration and osmotic stress. In addition to its adverse impacts on the yield and yield components of crops, salinity affects most processes involved in the growth and development of the plants too.

Materials and Methods

The present study was conducted in research greenhouse of Department of Agriculture, Birjand University in 2013 on the basis of a Randomized Complete Block Design with four replications. The soil salinity treatments included five levels of 1, 3, 5, 7 and 9 dSm^{-1}. Soil texture was loam-sandy with the pH of 8.09 and EC of 1 $dS\ m^{-1}$. The irrigation water was filtered with EC < 350 $\mu S\ cm^{-1}$. The salinity was applied in accordance with soil saturation moisture percentage and field capacity moisture percentage. NaCl was used as the source of salinity. Irrigation was applied by daily weighing of pots in terms of field capacity moisture percentage. At early flowering stage, chlorophyll index (SPAD) of the leaves, leaf relative water content, electrolyte leakage and the activities of antioxidant enzymes catalase, superoxide dismutase, and ascorbate peroxidase were measured. After full yellowing the plants, grain yield per plant was recorded.

Results and Discussion

It was found that salinity level significantly influenced all measured traits. Salinity slightly increased SPAD index and adversely affected leaf relative water content (RWC), electrolytes leakage and grain yield, so that the highest level of salinity resulted in 17.7% lower RWC, 27.7% higher electrolytes leakage, and 59.8% lower grain yield per plant. Under salinity stress, plants reduce their leaf area to counteract the stress resulting in greater thickness of the leaves, the accumulation of more chloroplast per unit leaf area and the increase in leaf chlorophyll content. As a result, the leaves turn darker and SPAD index increases. Leaf relative water content is one of the photosynthesis-related indices in crops with is closely related to the yield. Membrane stability is a physiological trait that is influenced by environmental stresses. Higher accumulation of hydrogen peroxide and lipid peroxides due to salinity reduces membrane stability. Salinity stress causes the production of active oxygen species which is followed with the leakage of cellular membrane. One effect of salinity is on grain yield through changing 1000-grain weight. Lower 1000-grain weight can be associated with shorter grain filling period in salinity treatments and also with lower synthesis of assimilates. On the other hand, the changes in the pathway of assimilate partitioning to roots for counteracting the salinity can be another reason for lower dry weight of the grains. As well, salinity enhanced the activities of antioxidant enzymes in peas. It was revealed that the increase in salinity level from 1 to 7 $dS\ m^{-1}$ increased the activity of enzyme catalase (CAT) by 63.79% and further increase to 9 $dS\ m^{-1}$ resulted in the loss of its activity. The activity of enzyme superoxide dismutase (SOD) increased up to the salinity of 5 $dS\ m^{-1}$ (by 57.22%), did not change up to 7 $dS\ m^{-1}$ and decreased at 9 $dS\ m^{-1}$. The highest salinity levels as compared to control increased the activity of enzyme ascorbate peroxidase (APX). The highest effects of salinity on the measured traits of peas were observed at the level of 7 $dS\ m^{-1}$. As the first defense line, superoxide dismutase converts superoxide to hydrogen peroxide. This enzyme is capable of

1- MSc Graduated of Weed Science Faculty of Agriculture, University of Birjand
2- Associate Professor Faculty of Agriculture, University of Birjand
3- Associate Professor Faculty of Agriculture, University of Birjand
(*- Corresponding Author Email: doraki_rg@yahoo.com)

converting superoxide ions into oxygen and hydrogen peroxide and is active in Glyoxylate cycle. The detoxification of hydrogen superoxide is complemented with ascorbate peroxidase, thioredoxin peroxidase, glutathione peroxidase and catalase. Ascrobate peroxidase is an important enzymetic antioxidant in plants whose function is to detoxify H2O2 with ascorbic acid.

Conclusions

In total, the examination of the effect of different levels of salinity on the measured traits showed that salinity did not significantly affect SPAD index of peas. It had negative impacts on physiological traits and reduced grain yield. In addition, it increased the activity of antioxidant enzymes such as catalase (CAT), superoxide dismutase (SOD) and ascorbate peroxidase (APX) as salinity was intensified. A look at the status of the activities of antioxidants revealed that they were increased with salinity. It seems that this increase played a role in counteracting the adverse effects of salinity so that their decrease deteriorates the effects of salinity stress of plants. In total, the application of these levels of salinity indicated that peas are moderately sensitive plants to salinity, particularly salinity stress level of >7 dS m^{-1}.

Keywords: Catalase, Electrolyte leakage, RWC, Soil salinity, SPAD