

اثر شوری آب آبیاری بر برخی شاخص‌های فیزیولوژیک و زیست‌شیمیایی ورد

چینی (Old Blush (*Rosa chinensis* Jacq.) رقم

Effect of Saline Water Irrigation on Some Physiological and Biochemical Features of *Rosa chinensis* 'Old Blush'

آرزو شقاقی، محمدمهدی جوکار*، ابوالفضل علیرضالو و محمد امید قلعه محمدی

چکیده

ورد چینی (*Rosa chinensis*) یکی از مهم‌ترین گونه‌های ورد کشت شده در فضای سبز شهری می‌باشد. مسئله شوری و بیش‌بود کلرید سدیم در آب و خاک یکی از اصلی‌ترین دشواری‌های پیش روی گسترش فضاهای سبز شهری در بیشتر مناطق کشور می‌باشد. بنابراین در این پژوهش تأثیر تنش شوری ناشی از کلرید سدیم بر برخی ویژگی‌های فیزیولوژیک و زیست‌شیمیایی ورد چینی رقم اولد بلاش در قالب طرح به‌طورکامل تصادفی در گلخانه مورد بررسی قرار گرفت. گیاهان با آب آبیاری معمولی (به عنوان شاهد) و آب شور ۴، ۸ و ۱۲ دسی‌زیمنس برمتر به مدت ۴۰ روز تیمار شدند. سپس شاخص‌های فیزیولوژیک شامل مقدار آب نسبی برگ‌ها، مقدار رنگدانه‌های کلروفیل (a, b و کل) و کارتنوئیدها و هم‌چنین میزان فعالیت آنزیم‌های سوپراکسیددیسموتاز، کاتالاز و گایاکول‌پراکسیداز و مقدار فنول در برگ گیاهان تنش یافته مورد بررسی قرار گرفت. نتایج نشان داد که مقدار آب نسبی برگ در اثر تنش شوری کاهش یافت. هم‌چنین مقدار رنگدانه‌های کلروفیل و کارتنوئید برگ گیاهان تنش یافته نیز با تنش شوری کاهش یافت. از سوی دیگر تنش شوری موجب افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی هم‌چون کاتالاز، سوپراکسیددیسموتاز و گایاکول‌پراکسیداز شد. مقدار فنول برگ‌های گیاهان تنش یافته نیز هم‌سو با آنزیم‌های دخیل در تنش اکسیداتیو، با افزایش سطح تنش، افزایش یافت. واژه‌های کلیدی: کاتالاز، سوپراکسید دسیموتاز، گایاکول پراکسیداز، تنش اکسیداتیو، مقدار کلروفیل، مقدار فنول.

مقدمه

ورد چینی با نام علمی *Rosa chinensis* Jacq. از خانواده وردسانان و بومی چین است. در ایران بیشتر به‌عنوان ورد مینیاتوری شناخته می‌شود. این گیاه در اواخر قرن هیجدهم میلادی به اروپا معرفی و منتقل شد. وردهای چینی یکی از مهم‌ترین گونه‌های ورد و از اجداد وردهای دورگه زیر کشت امروز هستند. آن‌ها به‌دلیل تنوع رنگ گل، گلدهی مداوم و هم‌چنین مقاومت خوب به آفت و بیماری‌ها به‌صورت گسترده در فضای سبز مورد کشت و کار قرار می‌گیرند. رقم اولد بلاش^۳ این گونه با قابلیت گلدهی مداوم در سال یکی از رقم‌های مهم این گونه در فضای سبز می‌باشد (۲۳). افزون بر جنبه زینتی، برخی رقم‌های وردهای چینی به‌دلیل داشتن ترکیب‌های مؤثره و

تاریخ پذیرش: ۹۷/۷/۲۲

۱- تاریخ دریافت: ۹۷/۱/۲۶

۲- به‌ترتیب دانشجوی کارشناسی ارشد گروه علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه ارومیه، ارومیه، ایران؛ استادیار گروه علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی، واحد کرمانشاه، دانشگاه آزاد اسلامی، کرمانشاه، ایران؛ استادیار گروه علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه ارومیه، ارومیه، ایران؛ دانشجوی دکتری گروه علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه تهران، کرج، ایران.
* نویسنده مسئول، پست الکترونیک: (mjowk@iauksh.ac.ir).

۳- Old Blush

متابولیت‌های ثانویه در تولید فراورده‌های دارویی، اسانس‌ها و ترکیب‌های ضد میکروبی مورد استفاده قرار می‌گیرند (۱۵).

شوری یکی از مهمترین عوامل محیطی محدود کننده کشاورزی و گسترش کشت محصولات کشاورزی و همچنین گسترش فضای سبز در مناطق خشک و نیمه خشک دنیا از جمله ایران می‌باشد. بر اساس گزارش فائو در سال ۲۰۰۰ حدود ۲۰٪ زمین‌های قابل کشت جهان زیر تأثیر تنش شوری بوده است (۲۲). وسعت این‌گونه زمین‌ها در ایران ۱۵٪ از کل زمین‌های قابل کشت برآورده شده، که حدود ۲۵ میلیون هکتار را دربر می‌گیرد (۳۹). در سال‌های اخیر در ایران مساله شوری زمین‌های شهری، گسترش فضای سبز شهری را نیز به دلیل کاهش مقدار بارندگی متأثر نموده و بر اهمیت استفاده از آب‌های بازیافتی و امکان کشت در زمین‌های شور و یا آب‌های با هدایت الکتریکی زیاد افزوده است.

پژوهش‌های مختلفی به بررسی اثر شوری بر گل‌های ورد پرداخته‌اند. برخی محققین همچون Wahome و همکاران (۵۸)، Niu و Rodrigus (۴۰) و Niu و همکاران (۴۱) به بررسی استفاده از پایه‌های مختلف بر تحمل گل‌های ورد به شوری، Carbera and Perdomo (۱۳) و Carbera و همکاران (۱۲) به بررسی تأثیر شوری بر عملکرد گل‌های ورد گلخانه‌ای (بیشتر با هدف استفاده از آب بازیافتی)، Cai و همکاران (۱۴) و Soundararajan و همکاران (۵۵) به مطالعه تأثیر تنش شوری بر گل‌های ورد باغچه‌ای مختلف پرداخته‌اند و همچنین، Hura و همکاران (۲۶) تأثیر تنش شوری را در گونه‌های وحشی ورد مورد بررسی قرار داده‌اند.

به‌طور کلی گل‌های ورد به شوری بالای ۳ دسی‌زیمنس بر متر حساس هستند و برخی رقم‌های مقاوم تنها تا ۳/۵ دسی‌زیمنس بر متر را بدون کاهش رشد و عملکرد تحمل می‌کنند (۱۳). تأثیر شوری بیشتر از راه فشار اسمزی و تنش ناشی از یون‌های خاص (همچون سدیم و کلر) و یا تنش اکسیداتیو می‌باشد (۴۷). همچنین گزارش شده است که وردها به سمیت یون‌های سدیم و کلر حتی در غلظت‌های پایین نیز حساس هستند (۱۲). بررسی‌ها نشان داده‌اند که تنش شوری بر جنبه‌های مختلف ریخت‌شناسی، فیزیولوژیکی و زیست‌شیمیایی گیاهان اثر می‌گذارد (۱۱). از جمله اثرهای شوری بر ویژگی‌های ریخت‌شناسی گیاهان زیر تنش، می‌توان به کاهش و توقف رشد، زرد شدن و سوختن برگ‌ها، کاهش در تولید محصول و در نهایت از بین رفتن گیاه اشاره کرد (۷). در این خصوص Niu و همکاران (۴۳) با اعمال تنش شوری بر شش رقم از وردهای باغچه‌ای بلینداز دریم، کرفری پینک^۲، کالدول پینک^۳، فولکسینگر^۴، کویتنس^۵ و وینتر سانسست^۶ و دریافتند که وزن خشک و تر گیاه و رشد شاخساره‌ها با افزایش سطح شوری کاهش می‌یابد. همچنین در پژوهشی دیگر روی شش رقم ورد دورگه باغچه‌ای Cai و همکاران (۱۴) مشاهده نمودند که با افزایش سطح تنش شوری در رقم‌های دفیری^۷، کالدول^۸، رادراز^۹، نیو دان^{۱۰}، ماریه پاولی^{۱۱}، کرفری دیلایت^{۱۲} و پینک^{۱۳}، افزون بر کاهش سرعت رشد گیاهان، مقدار عملکرد و تعداد گل نیز کاهش می‌یابد. در پژوهشی دیگر روی دو پایه ورد *R. chinensis* و *R. rubiginosa* که به منظور بررسی سازوکار مقاومت به شوری انجام شد، Wahome و همکاران (۵۸) بعد از گذشت دو ماه از شروع تیمار شوری نشانه‌های خسارت را روی برگ گیاهان تنش یافته مشاهده نمودند. افزایش آسیب برگ‌ها با کاهش رشد ساقه‌های آن‌ها همراه بود که با افزایش سطح تنش شوری رشد ساقه‌ها نیز متوقف شد. آن‌ها همچنین مشاهده نمودند برگ‌های قدیمی‌تر پایینی، نسبت به برگ‌های جوان بالایی و برگ‌ها نسبت به ساقه تجمع سدیم بیشتری را نشان دادند. در پژوهشی، Hura و همکاران (۲۶)

| | | |
|----------------------|--------------------|--------------------|
| Caldwell Pink -۳ | Carefree Beauty -۲ | Belinda's Dream -۱ |
| Winter Sunset -۶ | Quietness -۵ | Folksinger -۴ |
| RADrazz -۹ | Caldwell -۸ | The Fairy -۷ |
| Carefree Delight -۱۲ | Marie Pavie -۱۱ | New Dawn -۱۰ |

گزارش کردند که سطح خسارت به برگ‌های *Rosa rubiginosa* در گیاهان زیر تنش شوری، نسبت مستقیمی با افزایش مقدار شوری داشت و تنش ناشی از نمک کلرید سدیم موجب بروز کلروز و خسارت به بافت برگ می‌شود. یکی از تغییرهای فیزیولوژیک که شوری در گیاهان ایجاد می‌کند تغییر در مقدار نسبی آب برگ (RWC) می‌باشد. در شرایط تنش شوری یاخته‌های گیاه برای حفظ توان اسمزی برای جذب آب، به تجمع نمک یا ساخت ترکیب‌هایی آلی مانند قندها و اسیدهای آمینه می‌پردازند و در این شرایط مقدار نسبی آب برگ بر اثر افزایش غلظت نمک به شدت کاهش می‌یابد (۲). در سال ۲۰۰۷، Niu و همکاران (۴۲) مشاهده نمودند که تنش شوری ناشی از کلرید سدیم روی رشد وردهای دورگه (*R. hybrida*) تاثیر منفی داشته و ضمن کاهش مقدار نسبی آب در برگ‌های گیاهان تنش یافته، از فعالیت‌های فتوسنتزی برگ آن‌ها می‌کاهد. بررسی اثر تنش شوری کلرید سدیم روی ورد دورگه رقم راک فایر^۲ توسط Soundararajan و همکاران (۵۵) پرداخته و آنها دریافتند که با افزایش مقدار تنش شوری، مقدار فتوسنتز و مقدار کلروفیل کل در برگ‌ها کم می‌شود. آن‌ها دلیل این امر را تخریب کلروفیل‌ها در اثر بیش بود عنصرهای سدیم و کلر در یاخته‌های برگ بیان کردند. نتیجه‌های به‌دست آمده از پژوهش Cai و همکاران (۱۴) روی شش رقم ورد باغچه‌ای نیز نشان دهنده افزایش تجمع عنصرهای کلر و سدیم در برگ‌های گیاهان زیر تنش شوری بوده است.

شوری با تغییر در فعالیت آنزیم‌ها، تخریب و یا تبدیل ترکیب‌های درون یاخته‌ای و یا تولید برخی ترکیب‌های مضر، بر روابط زیست‌شیمیایی گیاهان تاثیر می‌گذارد (۷). به‌طور کلی تنش شوری بر مقدار قندهای محلول، اسیدهای چرب و پروتئین‌ها تأثیر منفی دارد، اما در برخی گیاهان سطح آمینواسیدها به‌ویژه پرولین را افزایش می‌دهد (۴۹). یکی از تغییرهای زیست‌شیمیایی که در تنش‌های محیطی از جمله تنش شوری در پاسخ به تنش رخ می‌دهد، تولید انواع گونه‌های فعال اکسیژن^۳ (ROS) هم‌چون رادیکال‌های سوپراکسید (O^-)، رادیکال‌های هیدروکسیل (OH^-) و پراکسید هیدروژن (H_2O_2) است (۶)، که می‌توانند باعث تخریب چربی‌ها، پروتئین‌ها و اسیدهای نوکلئیک شوند (۳). گیاهان برای مقابله با رادیکال‌های فعال اکسیژن دارای سیستم دفاعی آنتی‌اکسیدان هستند که شامل دو سازوکار دفاعی آنتی‌اکسیدان آنزیمی و آنتی‌اکسیدان غیر آنزیمی می‌باشند (۲۱). افزایش ساخت ترکیب‌های پروتئینی هم‌چون پرولین و گلیسین بتائین نمونه‌ای از سیستم‌های دفاعی آنتی‌اکسیدانی غیر آنزیمی گیاهان هستند (۹، ۱۰). ساخت و فعال نمودن آنزیم‌هایی هم‌چون سوپراکسیددیسموتاز^۴ (SOD)، کاتالاز^۵ (CAT)، پراکسیداز^۶ (POX)، آسکوربات پراکسیداز، گلوکاتیون پراکسیداز و آنزیم‌های دخیل در چرخه آسکوربات-گلوکاتیون هم‌چون (آسکوربات پراکسیداز و گلوکاتیون رداکتاز) از جمله سازوکارهای دخیل در سیستم دفاعی آنزیمی آنتی‌اکسیدانی می‌باشند (۹). سازوکارهای بیان شده در گیاهان مختلف به‌طور گسترده مورد بررسی قرار گرفته‌اند و یافته‌های آن‌ها نشانگر افزایش فعالیت آنزیم‌های مختلف آنتی‌اکسیدانی هم‌چون سوپراکسید دیسموتاز، کاتالاز و انواع پراکسیداز در برگ گیاهان زیر تنش شوری می‌باشد (۲۴، ۲۵، ۳۳، ۳۴، ۳۶).

در خصوص گیاه ورد مطالعه سازوکارهای بیان شده کمتر مورد توجه قرار گرفته و به‌ویژه این بررسی‌ها در گونه چینی که از اجداد بسیاری از رقم‌های تجاری کنونی هست (۲۳)، کمتر مطالعه شده است. از پژوهش‌های صورت گرفته می‌توان به بررسی Soundararajan و همکاران (۵۵) روی ورد دورگه رقم راک فایر اشاره نمود. آن‌ها دریافتند که افزایش مقدار ROS ها در برگ گیاهان رشد یافته در محیط درون شیشه‌ای زیر تنش شوری موجب افزایش فعالیت آنزیم‌هایی مانند کاتالاز، سوپراکسید دیسموتاز، گایاکول پراکسیداز و آسکوربات پراکسیداز می‌شود. در پژوهشی دیگر، Ali و همکاران (۵) تأثیر تنش شوری را روی گل محمدی بررسی نمودند و دریافتند

۳- Reactive Oxygen Species
۶- Peroxidase

۲- *Rosa hybrida* 'Rock Fire'
۵- Catalase

۱- Relative water content
۴- Superoxide dismutase

که مقدار فعالیت آنزیم‌های کاتالاز، سوپراکسید دیموستاز و گایاکول پراکسیداز (GPX) در گیاهان زیر تنش افزایش می‌یابد.

با توجه به این‌که در بررسی‌های صورت گرفته، توجه اندکی به تأثیر تنش شوری بر سازوکارهای زیست‌شیمیایی مقاومت به تنش‌های اکسیداتیو ناشی از تنش شوری به‌ویژه در گونه‌های چینی ورد شده است و با توجه به این‌که بررسی‌های این‌گونه می‌تواند به به‌نژادگران و مهندسين زیستی کمک قابل توجهی به منظور بهبود مقاومت گونه‌های مختلف ورد به تنش شوری نماید، در این پژوهش اثرهای تنش شوری روی برخی ویژگی‌های فیزیولوژیک و زیست‌شیمیایی ورد چینی رقم اولدبلاش مورد بررسی قرار گرفت تا به درک بیشتر سازوکار مقاومت این گیاه (به عنوان یکی از مهمترین گیاهان فضای سبز) به تنش شوری کمک نماید.

مواد و روش‌ها

ماده‌های گیاهی

در این پژوهش از گیاهان دوساله ورد چینی (*Rosa chinensis* Jacq.)، رقم اولدبلاش پرورش یافته در فضای آزاد یکی از نهالستان‌های معتبر شهرستان ارومیه در فصل بهار استفاده شد. گیاهان مذکور به منظور استقرار کامل و رشد یک ماه پیش از آزمایش در گلدان‌های ۱۰ لیتری کاشته شده و در فضای باز قرار داده شدند. بستر کشت مورد استفاده در این آزمایش خاک متداول مورد استفاده توسط نهالستان با ویژگی‌های فیزیکی و شیمیایی مشخص بود (جدول ۱). گیاهان استقرار یافته دو هفته قبل از تیمار، به درون گلخانه با شرایط محیطی متوسط دمای بیشینه 26 ± 2 درجه سلسیوس، دمای کمینه 19 ± 2 درجه سلسیوس، رطوبت نسبی 45 ± 5 ٪ و شدت نور ۴۲ میکرومول بر متر مربع بر ثانیه منتقل گردیدند.

جدول ۱- مشخصات فیزیکی و شیمیایی خاک مورد استفاده جهت کشت ورد رقم اولدبلاش.

Table 1. Physical and chemical properties of the soil used for 'Old Blush' rose cultivation.

| شوری | پی‌اچ | آهک | نیتروژن کل | فسفر | پتاسیم | رس | سیلت | ماسه | بافت خاک |
|------------------------|-------|------|------------|-------|--------|------|------|------|--------------|
| EC | pH | TNV | N total | P | K | Clay | Silt | Sand | Soil texture |
| (dS m^{-1}) | | (%) | (%) | (ppm) | (ppm) | (%) | (%) | (%) | |
| 2.16 | 7.32 | 10.4 | 1.3 | 26.3 | 34.5 | 22 | 24 | 54 | لومی شنی |

اعمال تنش شوری

گیاهان استقرار یافته توسط آب آبیاری متداول فضای سبز (مورد استفاده در نهالستان - جدول ۲) به عنوان تیمار شاهد و با آب شور به غلظت‌های ۴، ۸ و ۱۲ دسی‌زیمنس بر متر برای اعمال تنش شوری آبیاری گردیدند. آب مورد استفاده برای آبیاری توسط نمک کلرید سدیم (شرکت مرک، آلمان) شور گردید. برای جلوگیری از ورود تنش شدید به گیاهان، آب حاوی نمک به مرور به گیاهان داده شد تا گیاهان به سطح تنش مشخص شده برای هر تیمار برسند. تیمار شوری (آبیاری با آب شور در غلظت مورد نظر) به فاصله‌ی هر ۴ روز یک بار و به مدت ۴۰ روز انجام گردید. برای جلوگیری از تجمع نمک، گلدان‌ها پس از سه دور آبیاری با آب حاوی نمک، توسط آب متداول فضای سبز مورد استفاده در تیمار شاهد آبخوبی شدند.

جدول ۲- ویژگی‌های شیمیایی آب مورد استفاده برای آبیاری، آبشویی، تیمار شاهد و تهیه آب شور جهت تیمارهای شوری.

Table 2. Chemical properties of the used water for irrigation, leaching, control treatment and saline water preparation for salinity treatments.

| نسبت جذب سدیم | سدیم | منیزیم | کلسیم | سولفات | کلر | بی کربنات | پی‌اچ | هدایت الکتریکی (شوری) |
|---------------|--------------------------|--------------------------|--------------------------|---------------------------------------|--------------------------|--|-------|--------------------------|
| SAR | Na (mg l ⁻¹) | Mg (mg l ⁻¹) | Ca (mg l ⁻¹) | SO ₄ (mg l ⁻¹) | Cl (mg l ⁻¹) | HCO ₃ (mg l ⁻¹) | pH | EC (dS m ⁻¹) |
| 8.1 | 31 | 42.6 | 221 | 4.38 | 89.6 | 84.8 | 6.98 | 0.8 |

شاخص‌های مورد بررسی

در این پژوهش شاخص‌های مختلف فیزیولوژیک و زیست‌شیمیایی در گیاهان زیر تنش به شرح زیر مورد بررسی قرار گرفت.

الف) شاخص‌های فیزیولوژیک

مقدار نسبی آب برگ

به منظور تعیین محتوی نسبی آب برگ از روش Kaya و همکاران (۲۸) استفاده شد. بدین منظور برای اندازه‌گیری مقدار نسبی آب برگ، چهار قطعه (دیسک مانند) به قطر ۶ میلی‌متر از برگ گیاهان ورد از هر تیمار تهیه و پس از وزن کردن، درون پتری دیش حاوی آب مقطر قرار داده شدند تا یاخته‌های برگ به حالت آماس درآیند. پس از گذشت شش ساعت، نمونه‌ها توسط کاغذ صافی خشک شدند و بی‌درنگ وزن و پس از آن در آون با دمای ۴۷ درجه سلسیوس به مدت ۷۰ ساعت نگهداری شده تا خشک شدند. بعد از خشک شدن وزن آن‌ها دوباره اندازه‌گیری و مقدار آب نسبی برگ‌ها مطابق رابطه زیر محاسبه گردید (۲۸).

$$RWC (\%) = [(FW - DW) / TW - DW] \times 100$$

RWC: مقدار نسبی آب برگ (%)

FW: وزن تر برگ (گرم)

DW: وزن خشک قطعه‌های برگ (گرم)

TW: وزن قطعه‌های برگ در حالت آماس (گرم)

مقدار سبزینه و کارتنوئید برگ

مقدار کلروفیل برگ‌ها توسط روش Chookhampaeng (۱۷) اندازه‌گیری گردید. بدین منظور مقدار نیم گرم از برگ گیاهان تیمار شده، با استفاده از نیتروژن مایع در هاون چینی خرد شد. سپس ۲۰ میلی‌لیتر استون ۸۰٪ به نمونه افزوده و پس از آمیختن در دستگاه سانتریفیوژ با سرعت ۶۰۰۰ دور در دقیقه به مدت ۱۰ دقیقه قرار داده شد. پس از جداکردن عصاره رونشین حاصل از سانتریفیوژ مقدار جذب در طول موج‌های ۶۶۳ نانومتر (برای کلروفیل a)، ۶۴۵ نانومتر (برای کلروفیل b) و ۴۷۰ نانومتر (برای کارتنوئید) به وسیله اسپکتروفتومتر (مدل Beck Man Du 530) خوانده شد. سپس مقدار کلروفیل کل، a و b بر حسب میلی‌گرم بر گرم وزن تر نمونه با استفاده از روابط ذیل محاسبه گردید (۱۷). همچنین مقدار کارتنوئیدهای برگ طبق رابطه Lichtenthaler (۱۹۷۸) محاسبه گردید (۳۳).

$$Chl a (mg g^{-1}FW) = (12.7 \times A_{663} - 2.69 \times A_{645}) V / 1000 W$$

$$Chl b (mg g^{-1}FW) = (22.9 \times A_{645} - 4.69 \times A_{663}) V / 1000 W$$

$$Chl_{total} (mg g^{-1}FW) = Chl a + Chl b$$

$$Car (mg g^{-1}FW) = (1000 A_{470} - 1.8 Chl a - 85.02 Chl b) / 198$$

ب) شاخص‌های زیست‌شیمیایی**استخراج عصاره آنزیمی و اندازه‌گیری فعالیت آنزیم‌ها**

برای اندازه‌گیری فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی کاتالاز، گایاکول پراکسیداز و سوپر اکسید دیسموتاز، ابتدا عصاره آنزیمی استخراج گردید. در این روش ابتدا از برگ‌های گیاهان مورد آزمایش نمونه برداری شد. نمونه‌ها بی‌درنگ پس از برداشت در فریزر در دمای -80°C درجه سلسیوس نگه‌داری شدند. سپس نمونه‌ها در نیتروژن مایع منجمد و در هاون چینی پودر شدند. میزان 0.1 گرم از نمونه پودر شده به کمک یک میلی لیتر بافر فسفات پتاسیم 100 میلی مولار با $\text{pH} = 7.8$ حاوی $EDTA$ 0.1 میلی مولار و PVP (پلی وینیل پیرولیدون) 1% روی یخ همگن گردید. سپس عصاره حاصل از هر نمونه در دمای 4°C درجه سلسیوس به مدت 30 دقیقه با استفاده از سرعت 14000 دور در دقیقه سانتریفیوژ شد. محلول روشن‌شده حاصل در ویال‌های سترون جمع آوری گردید و به عنوان عصاره‌های گیاهی برای اندازه‌گیری مقدار فعالیت آنزیمی استفاده شد (56). تمامی مراحل استخراج برای اندازه‌گیری میزان فعالیت آنزیم روی یخ انجام شد.

مقدار فعالیت آنزیم کاتالاز (CAT)

فعالیت آنزیم کاتالاز بر اساس روش Aebi (۴) و با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر (مدل Beck Man Du 530) اندازه‌گیری گردید. در این روش ابتدا بافر فسفات سدیم با $\text{pH} = 7$ آماده و 3 میلی‌لیتر از آن را به 40 میکرولیتر از عصاره آنزیمی گیاه که پیشتر آماده شده بود، افزودیم. سپس با افزودن 10 میکرولیتر آب اکسیژنه 16% ، مقدار فعالیت آنزیم کاتالاز موجود در عصاره آنزیمی در طول موج 240 نانومتر در مدت زمان یک دقیقه خوانده شد (۴).

مقدار فعالیت آنزیم گایاکول پراکسیداز (GPX)

برای سنجش آنزیم گایاکول پراکسیداز (GPX) از روش Plewa و همکاران (۴۸) استفاده گردید. بدین منظور سه میلی لیتر از بافر فسفات 50 میلی مولار با $\text{pH} = 7$ را با سه میکرولیتر محلول گایاکول 200 میلی مولار و 100 میکرولیتر عصاره آنزیمی داخل کووت مخلوط کرده و سپس 10 میکرولیتر پراکسید هیدروژن 30% به آن افزوده شد. سپس مقدار جذب در طول موج 470 نانومتر به مدت 4 دقیقه توسط دستگاه اسپکتروفتومتر اندازه‌گیری گردید (۴۸).

مقدار فعالیت سوپر اکسید دیسموتاز (SOD)

به منظور اندازه‌گیری فعالیت آنزیم سوپر اکسید دیسموتاز از روش Abd El-Aziz و همکاران (۳) استفاده گردید. برای این منظور مقدار 3 میلی لیتر محلول واکنش (بافر فسفات پتاسیم 50 میلی مولار با $\text{pH} = 7.8$)، 100 میکرولیتر بافر استخراج (متیونین 13 میلی مولار، نیترو بلوتترازولیوم 75 میلی مولار، ریپوفلاوین 20 میکرومولار و 0.1 میکرومولار EDTA) و 100 میکرولیتر از عصاره آنزیم باهم مخلوط و مورد استفاده قرار گرفت. با قرار دادن لوله‌ها زیر نور لامپ فلورسانس 15 وات در فاصله 30 سانتی‌متری و به مدت 15 دقیقه واکنش آنزیمی آغاز گردید. پس از 15 دقیقه، لوله‌ها با فویل آلومینیومی پوشانده و لامپ‌ها خاموش شد. به کمک دستگاه اسپکتروفتومتر، اعداد تغییر جذب نمونه‌ها در طول موج 560 نانومتر ثبت و سپس مطابق با فرمول زیر مقدار فعالیت این آنزیم محاسبه گردید (۳).

$$(U\ g^{-1}\ FW) = [(A_{560}\ \text{Control} - A_{560}\ \text{Sample}) / A_{560}\ \text{Control}] \times 100$$

که در آن $A_{560}\ \text{Control}$ و $A_{560}\ \text{Sample}$ به ترتیب مقادیر جذب نور محلول شاهد و نمونه مورد بررسی در طول موج 560 نانومتر می‌باشد.

مقدار فنول کل

مقدار ماده‌های فنولی گیاهان تنش یافته با روش Folin Ciocalteu پیشنهادی Meyers و همکاران (۳۷) و با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر اندازه‌گیری گردید. بدین منظور ابتدا مقدار ۰/۱ گرم برگ جوان و به‌طور کامل گسترش یافته در ۵ میلی‌لیتر اتانول به‌طور کامل پودر گردید. سپس عصاره اتانولی استخراج شده با ۱۲۵ میکرولیتر معرف فولین (۱۰٪) مخلوط و بعد از آن که پنج دقیقه در دمای ۳۵ درجه سلسیوس قرار گرفت، ۱۰۰ میکرولیتر محلول ۷٪ بیکربنات سدیم به آن افزوده شد. مقدار جذب آمیخته واکنش، پس از ۱۲۰ دقیقه نگهداری در شرایط بدون نور در طول موج ۷۲۵ نانومتر با دستگاه اسپکتروفتومتر خوانده شد (۲۷).

واکاوی آماری

این آزمایش در قالب طرح به‌طور کامل تصادفی با سه تکرار در گیاهان گلدانی که در هوای آزاد قرار داده شده بودند، انجام شد. برای واکاوی داده‌ها از نرم‌افزارهای Minitab 16 استفاده و مقایسه میانگین داده‌ها توسط آزمون چند دامنه‌ای دانکن (در سطح احتمال ۵٪) صورت پذیرفت.

نتایج

مقدار آب نسبی برگ

با افزایش سطح تنش شوری، مقدار آب نسبی برگ‌های گیاهان تیمار شده کاهش یافت به طوری که بیشترین مقدار آب نسبی برگ در ورد چینی در تیمار شاهد و کمترین آن در تیمار تنش شوری به مقدار ۱۲ دسی زیمنس بر متر گزارش گردید (شکل ۱). کاهش مقدار آب نسبی برگ در سطح تنش ۱۲ دسی زیمنس بر متر اختلاف معنی‌داری با شاهد داشت.

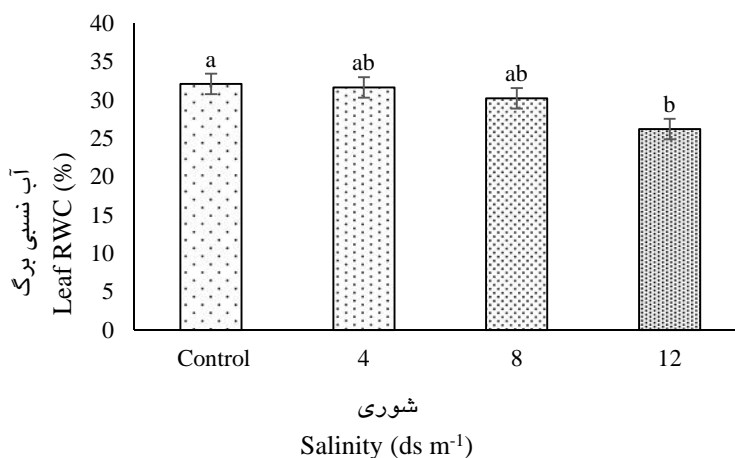


Fig. 1. Effect of different salinity levels on leaf relative water content (RWC) in *R. chinensis* 'Old Blush'. Means with the same letters are not significantly different at 5% probability level using Duncan Multiple Range Test.

شکل ۱- تاثیر سطوح متفاوت شوری بر مقدار آب نسبی برگ در ورد چینی رقم اولد بلاش. میانگین‌های دارای حرف‌های مشترک، بدون تفاوت معنی‌دار در سطح احتمال ۵٪ با استفاده از آزمون چند دامنه‌ای دانکن هستند.

مقدار کلروفیل و کارتنوئید

شوری آب آبیاری به‌طور معنی‌داری بر مقدار رنگدانه‌های برگ گیاهان تنش یافته تأثیر گذاشت. با افزایش سطح شوری مقدار کلروفیل برگ کاهش یافت به طوری که بیشترین مقدار کلروفیل کل در تیمار شاهد (بدون تنش) و کمترین آن در تیمار تنش شوری ۱۲ دسی زیمنس بر متر مشاهده گردید. این درحالی است که درخصوص مقدار کلروفیل بین سطوح ۴ و ۸ دسی زیمنس بر متر در سطح ۵٪ اختلاف معنی‌داری مشاهده نگردید (جدول ۳). مقدار کلروفیل a و b نیز تغییرهای مشابهی داشتند اما نتیجه‌های این پژوهش بیانگر حساسیت بیشتر کلروفیل a به تنش

شوری در مقایسه با کلروفیل b بود به طوری که با کمترین مقدار تنش اعمال شده (۴ دسی زیمنس بر متر)، مقدار کلروفیل a به طور معنی داری کاهش یافت. همچنین، مقدار کارتنوئید در برگ‌های ورد چینی با افزایش سطح تنش شوری اعمال شده، کاهش یافت. این کاهش به طوری بود که در بیشترین سطح تنش اعمال شده، مقدار کارتنوئید برگ تا حدود یک سوم کاهش یافت. در این رقم از ورد، مقدار رنگدانه کارتنوئید در مقایسه با کلروفیل بیشتر زیر تأثیر تنش شوری قرار گرفت و کاهش بیشتری یافت (جدول ۳).

جدول ۳- تغییرهای مقدار کلروفیل کل، a، b و همچنین کاروتنوئید در برگ ورد چینی رقم اولدبلاش زیر تنش شوری.

Table 3. Changes in total chlorophyll, chlorophyll a, chlorophyll b, and carotenoid content in leaves of *R. chinensis* 'Old Blush' under salinity stress.

| سطح شوری Salinity level (dS m ⁻¹) | کلروفیل کل Total chlorophyll (mg g ⁻¹ FW) | کلروفیل a Chlorophyll a (mg g ⁻¹ FW) | کلروفیل b Chlorophyll b (mg g ⁻¹ FW) | کارتنوئیدها Carotenoids (mg g ⁻¹ FW) |
|---|--|---|---|--|
| 0.8 (Control) | 5.125a [†] | 3.006a | 2.119a | 5.15a |
| 4 | 3.912ab | 2.245b | 1.667ab | 4.58a |
| 8 | 3.709 ab | 2.088b | 1.621ab | 3.32ab |
| 12 | 3.258b | 2.041b | 1.217b | 1.77b |

[†] Means with the same letters are not significantly different at 5% probability level using Duncan Multiple Range Test.

[†] میانگین‌های دارای حرف‌های مشترک، بدون تفاوت معنی دار در سطح احتمال ۵٪ با استفاده از آزمون چند دامنه ای دانکن هستند.

شاخص های زیست‌شیمیایی مورد بررسی

فعالیت آنزیم کاتالاز

اثر تیمارهای شوری روی مقدار فعالیت آنزیم کاتالاز برگ ورد چینی رقم اولدبلاش در سطح ۵٪ معنی دار بود. با افزایش سطح تنش شوری مقدار فعالیت آنزیم کاتالاز به عنوان یک شکارکننده رادیکال‌های آزاد در برگ ورد چینی افزایش یافت. بیشترین مقدار فعالیت آنزیم کاتالاز در تیمار شوری ۱۲ دسی زیمنس بر متر و کمترین آن در تیمار بدون تنش مشاهده گردید. این در حالی بود که بین مقدار فعالیت این آنزیم در بین سطح‌های مختلف تنش، اختلاف معنی داری مشاهده نشد (شکل ۲).

فعالیت آنزیم سوپر اکسید دیسموتاز

تنش شوری بر مقدار فعالیت سوپراکسید دیسموتاز برگ‌های ورد چینی رقم اولدبلاش در سطح ۱٪ تأثیر معنی داری داشت. با افزایش سطح تنش شوری مقدار فعالیت آنزیم سوپر اکسید دیسموتاز در برگ‌های ورد چینی افزایش یافت به طوری که بیشترین و کمترین مقدار فعالیت این آنزیم به ترتیب در تیمارهای شوری ۱۲ دسی زیمنس بر متر و تیمار شاهد مشاهده گردید. این در حالی بود که این افزایش تا سطح شوری ۱۲ دسی زیمنس بر متر معنی دار نبود (شکل ۲).

فعالیت آنزیم گایاکول پراکسیداز

نتیجه‌ها نشان داد که تنش شوری در سطح ۱٪ بر مقدار فعالیت آنزیم گایاکول پراکسیداز در برگ‌های ورد چینی رقم اولدبلاش تأثیر معنی داری دارد. به طور کلی مقدار فعالیت آنزیم گایاکول پراکسیداز با افزایش سطح شوری افزایش یافت اما این افزایش در سطح تنش شوری ۸ دسی زیمنس بر متر به مقدار بیشینه خود رسید و پس از آن

تا حدودی از فعالیت این آنزیم کاسته شد. کاهش فعالیت این آنزیم در سطح تنش شوری ۱۲ دسی زیمنس بر متر اختلاف معنی‌داری در سطح ۵٪ با مقدار فعالیت آن در سطح تنش شوری ۸ دسی زیمنس بر متر نداشت (شکل ۲).

مقدار فنول کل

مقدار فنول کل در برگ‌های ورد تنش یافته با کلرید سدیم در سطح احتمال ۵٪ زیر تأثیر قرار گرفت. با اعمال تنش شوری مقدار فنول کل برگ افزایش یافت. این افزایش تا سطح شوری ۸ دسی زیمنس بر متر روند افزایشی و پس از آن کاهش یافت. مقدار افزایش در سطح شوری ۴ دسی زیمنس بر متر با تیمار شاهد اختلاف معنی‌داری نداشت. همچنین مقدار کاهش فنول کل با افزایش مقدار تنش از ۸ دسی زیمنس بر متر به ۱۲ دسی زیمنس بر متر اختلاف معنی‌داری با سطح تنش قبلی نداشت (شکل ۲).

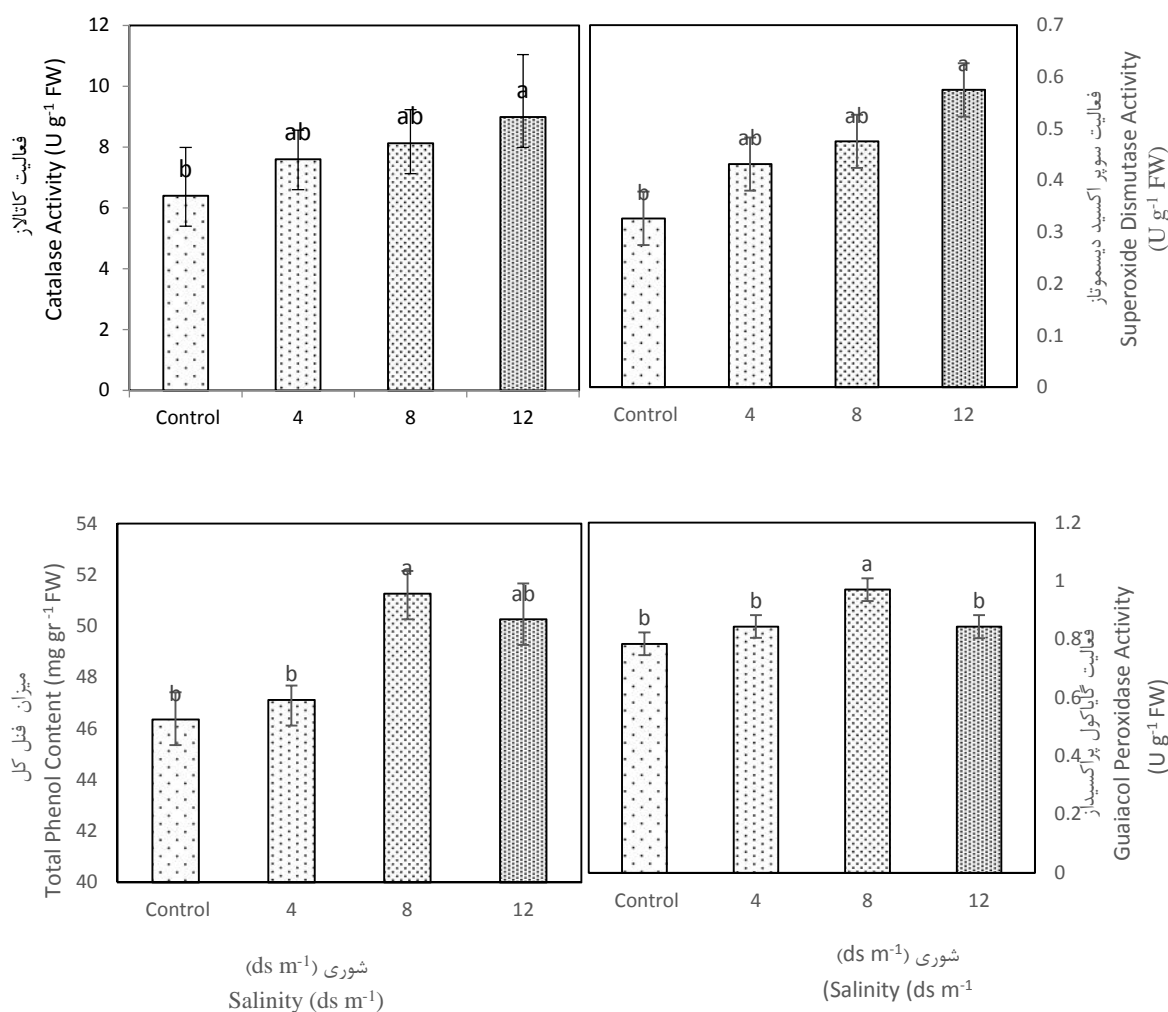


Fig. 2. Effect of different salinity levels on total phenol content and catalase, SOD, and GPX activities in leaves of *Rosa chiniens* 'Old Blush'. Means with the same letters are not significantly different at 5% probability level using Duncan multiple range test.

شکل ۲- تأثیر سطوح مختلف تنش شوری بر مقدار فعالیت آنزیم کاتالاز، سوپر اکسید دیسموتاز، گایاکول پراکسیداز و همچنین مقدار فنول کل در برگ‌های ورد چینی رقم اولد بلاش. میانگین‌های دارای حرف‌های مشترک بدون تفاوت معنی‌دار در سطح احتمال ۵٪ با استفاده از آزمون چند دامنه‌ای دانکن هستند.

بحث

کاهش مقدار نسبی آب برگ به مفهوم کاهش مقدار آب گیاه است. این امر می‌تواند منجر به بسته شدن روزنه‌ها شود که در دراز مدت برای گیاه زیانبار است، زیرا دی‌اکسیدکربن لازم برای نورساخت فراهم نمی‌شود. بنابراین کاهش هدایت روزنه‌ای از موارد مهمی است که در جریان تنش شوری موجب کاهش نورساخت می‌شود. نتیجه‌های دیگر پژوهشگران نیز گویای کاهش مقدار نسبی آب برگ در گیاهان مختلف در شرایط تنش شوری است (۱، ۱۶، ۱۸، ۲۰، ۲۴). همچنین بررسی‌ها نشان داده است که شوری بر کارایی و نفوذپذیری غشا پلاسمایی و دیواره یاخته‌ای نیز تاثیر منفی گذاشته و ورود و خروج یون‌ها به یاخته را مختل و سبب سخت شدن دیواره یاخته‌ای و در نتیجه کاهش هدایت آب از غشا پلاسمایی می‌گردد (۴۵). در شرایط تنش شوری، با افزایش نمک در محیط پیرامون ریشه مقدار جذب آب توسط ریشه کاهش می‌یابد و به همین علت در چنین شرایطی مقدار نسبی آب برگ بر اثر افزایش غلظت نمک به شدت کاهش می‌یابد (۵۲). در مطالعه‌ای Niu و همکاران (۴۲) در سال ۲۰۰۷ به بررسی تأثیر تنش شوری بر شش رقم ورد در محیط کنترل شده پرداختند. آن‌ها دریافتند که با افزایش مقدار شوری در بستر کشت، مقدار رشد و عملکرد رقم‌های بلینداز دریم، کرفری پینک، کالدول پینک، فولکسینگر، کویتنس و وینتر سانسست به شکل قابل توجهی کاهش پیدا کرده و همچنین مقدار آب نسبی و عملکرد فتوسنتزی آن‌ها نیز به شدت کاهش می‌یابد. در پژوهشی، Ali و همکاران (۵) مشاهده نمودند که تنش شوری موجب کاهش محتوای نسبی آب برگ ورد محمدی رقم تریگینتی پتال می‌گردد. همچنین در بررسی دیگر روی گونه وحشی اروپایی ورد (*R. rubiginosa*) که از جنوب لهستان به‌دست آمده بود، Hura و همکاران (۲۶) دریافتند که تنش شوری موجب کاهش محتوای آب برگ می‌گردد. اگرچه تنش شوری موجب افت شدید مقدار آب برگ در گونه روبیگینوزا^۲ گردید، اما بین سطح‌های مختلف تنش اختلاف معنی‌دار نبود. نتیجه‌های پژوهش حاضر با گزارش‌های پژوهشگرانی که در بالا اشاره شد، در خصوص کاهش مقدار نسبی آب در اثر تنش شوری مطابقت دارد و نتیجه‌ها نشان می‌دهد که با افزایش تنش شوری مقدار نسبی آب برگ ورد چینی رقم اولدبلاش کاهش بیشتری نسبت به مقدار آب نسبی برگ گیاهان کنترل پیدا می‌کند، اگرچه اختلاف معنی‌داری بین سطوح مختلف تنش مشاهده نمی‌گردد.

پژوهش‌های پیشین صورت گرفته در خصوص تنش شوری، کاهش مقدار رنگدانه‌های فتوسنتزی و به‌ویژه کلروفیل را گزارش نموده‌اند. در خصوص گیاهان ورد، پژوهش‌های صورت گرفته نیز موید کاهش رنگدانه‌های دخیل در فتوسنتز می‌باشند. در پژوهشی که Carbera و همکاران (۱۲) روی رقم‌های مختلف ورد گلخانه‌ای انجام دادند، مشخص شد که تنش شوری ناشی از کلرید سدیم موجب کاهش رشد، کاهش عملکرد و همچنین کاهش مقدار کلروفیل برگ‌ها می‌شود. در پژوهشی بر روی *Hura Rosa rubiginosa* و همکاران (۲۶) دریافتند که تنش شوری موجب زرد شدن برگ‌های ورد تنش یافته می‌گردد. در پژوهش خود روی ورد محمدی رقم تریگینتی پتال، Ali و همکاران (۵) دریافتند که تنش شوری موجب کاهش مقدار رنگدانه کلروفیل در برگ گیاهان تنش یافته می‌گردد. آن‌ها همچنین مشاهده نمودند که با افزایش مقدار شوری آب آبیاری، مقدار رنگدانه کلروفیل کاهش بیشتری می‌یابد. از سوی دیگر Cai و همکاران (۱۴) در مطالعه شش رقم ورد دفری، کالدول، رادراز، نیو دان، ماریه پاوی و کرفری دیلایت مشاهده نمودند که مقدار کارایی فتوشیمیایی فتوسیستم دو با اعمال تنش شوری و افزایش مقدار آن، در همه رقم‌ها کاهش یافت. این درحالی بود که در بین رقم‌های مورد مطالعه، از نظر مقاومت به تنش شوری تفاوت‌های چشمگیری مشاهده گردید. همچنین در بررسی‌های دیگر گزارش گردیده است که در نتیجه تنش شوری از مقدار فتوسنتز گیاهان به دلایل مختلف همچون کاهش مقدار کلروفیل، افزایش فلورسانس کلروفیل، بسته شدن روزنه‌ها (۷)، کاهش فعالیت کربوکسیلازی و همچنین فعالیت زیاد آنزیم کلروفیل‌لاز کاسته می‌شود (۳). برخی پژوهشگران

دیگر، کاهش مقدار رنگدانه کلروفیل را در اثر شوری ناشی از اثر بازدارندگی یون‌های تجمع یافته در کلروپلاست دانسته‌اند (۱۹). برخی پژوهش‌های دیگر کاهش کلروفیل در اثر تنش شوری را به دلیل افزایش رادیکال‌های آزاد اکسیژن در کلروپلاست‌ها و در نتیجه آسیب غشای کلروپلاستی و از دست دادن قابلیت زندگی کلروپلاست بیان کرده‌اند (۵۹). Khan و همکاران (۲۹) کاهش در رنگدانه‌های فتوسنتزی گیاهان زیر شرایط شوری را به طور عمده به دلیل جلوگیری از زیست‌ساخت کلروفیل و یا تجزیه آن بیان کرده‌اند.

در مطالعه‌ای بر روی ورد دورگه رقم راک فایر زیر شرایط تنش شوری Soundararajan و همکاران (۵۵) دریافته‌اند که با تنش شوری کلرید سدیم مقدار رنگدانه‌های دخیل در فتوسنتز برگ همچون کلروفیل و کاروتنوئید کاهش می‌یابد. یافته‌های پژوهش حاضر با نتایج آن‌ها در این خصوص همخوانی دارد. لازم به بیان است که نقش اصلی کاروتنوئیدها خاموش سازی مستقیم کلروفیل و جلوگیری از تولید اکسیژن یک تایی و در نهایت جلوگیری از آسیب ناشی از تنش اکسیداتیو می‌باشد. در واقع کاروتنوئیدها از راه فروکش کردن سریع وضعیت برانگیخته کلروفیل، حفاظت نوری را انجام می‌دهند. در شرایط تنش مقدار کاروتنوئیدها کاهش می‌یابد و آن‌ها نمی‌توانند نقش حفاظتی خود را به درستی انجام دهند. کاهش مقدار کاروتنوئیدی می‌تواند به دلیل اکسید شدن آن‌ها توسط اکسیژن فعال و تخریب ساختار آن‌ها باشد (۴۵). نتیجه‌های این پژوهش در خصوص کاهش رنگدانه‌های کلروپلاستی همچون کلروفیل و کاروتنوئیدها نشان دهنده کاهش مقدار کلروفیل و کاروتنوئید برگ‌ها با افزایش تنش شوری می‌باشد که با یافته‌های پژوهش‌های پیشین در خصوص گونه‌ها و رقم‌های مختلف ورد همخوانی دارد.

گونه‌های فعال اکسیژن از مهمترین عامل‌های آسیب رسان به فرایند فتوسنتز در شرایط تنش‌های محیطی از جمله تنش شوری است (۳۰). گیاهان برای کاهش دادن تأثیر زیانبار گونه‌های فعال اکسیژن، سازوکارهای متفاوتی دارند که از جمله آن‌ها می‌توان به سامانه دفاعی آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی اشاره کرد. آنزیم‌هایی مانند سوپر اکسید دیسموتاز، کاتالاز، پراکسیداز، آسکوربات پراکسیداز و گلوتاتیون ردوکتاز از آنزیم‌های مهم این سامانه در گیاهان هستند. آنزیم پراکسیداز با استفاده از ماده‌های فنولیک به عنوان دهنده الکترون باعث تجزیه پراکسید هیدروژن می‌شود (۶). از آن جایی که انباشت پراکسید هیدروژن ناشی از واکنش سوپرپراکسید دیسموتاز به فعالیت ترکیبی دو آنزیم پراکسیداز و کاتالاز به منظور حفاظت یاخته‌های گیاهی نیاز خواهد داشت، بنابراین این دو آنزیم نقش مهمی را در حذف پراکسید هیدروژن ایفاء می‌نمایند. شواهد زیادی مبنی بر افزایش و کاهش فعالیت آنزیم پراکسیداز در شرایط تنش وجود دارد (۱۱، ۱۷). اگرچه سوپرپراکسید دیسموتاز در خط مقدم دفاع علیه گونه‌های فعال اکسیژن عمل می‌کند و باعث حذف و غیرفعال شدن گونه‌های فعال می‌شود (۱۱، ۳۲، ۳۶). تنش شوری در درون یاخته سبب تبدیل رادیکال سوپرپراکسید (O_2^{*2}) به پراکسید هیدروژن (H_2O_2) شده که این امر مانع فعالیت چرخه کلون و در نهایت بازداشت فرآیند قندسازی در گیاهان می‌شود. بنابراین بالا رفتن فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان همانند کاتالاز و سوپرپراکسید دیسموتاز از اثرهای سوء تشکیل پراکسید هیدروژن بر فرآیند قندسازی در کلروپلاست جلوگیری می‌کند (۵۳). تنش شوری موجب افزایش تولید آنیون‌های مخرب از جمله آنیون‌های سوپرپراکسید در میتوکندری یاخته و خسارت اکسیداتیو می‌شود. در چنین شرایطی، فعالیت آنزیم سوپرپراکسید دیسموتاز به عنوان یک آنزیم از بین برنده یون سوپرپراکسید افزایش می‌یابد (۳۸). تنش‌های غیرزنده مانند تنش شوری تولید و انباشت گونه‌های فعال اکسیژن را برمی‌انگیزد که در غلظت‌های بالا برای یاخته زیان‌آور هستند. تولید این ترکیب‌ها باعث پراکسیداسیون چربی‌ها، غیرفعال شدن آنزیم‌ها، خسارت به اسیدهای نوکلئیک و تخریب غشاهای یاخته می‌شود (۱۰). این گونه‌های فعال، همچنین سبب افزایش تجزیه کلروفیل و کاهش محتوای کلروفیل برگ می‌شوند (۱۰، ۵۲). بنابراین به نظر می‌رسد بین افزایش مقدار فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی و کاهش تخریب رنگدانه‌های کلروپلاستی یک همبستگی مثبت وجود داشته باشد و افزایش فعالیت این گونه آنزیم‌ها از تخریب رنگدانه‌ها جلوگیری می‌کند. از آن‌جا که آنزیم سوپرپراکسید دیسموتاز باعث مهار رادیکال‌های سوپرپراکسید می‌شود، بنابراین با افزایش مقدار رادیکال‌های

سوپراکسید در یاخته‌های زیر تنش شوری، فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز نیز افزایش می‌یابد (۴۴). در پژوهشی که Soundararajan و همکاران (۵۵) در محیط درون شیشه‌ای روی ورد دورگه رقم راک فایر انجام دادند، دریافتند که تنش شوری با کلرید سدیم باعث افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی هم‌چون سوپراکسید دیسموتاز، کاتالاز و آسکوربیت پراکسیداز در ورد دورگه می‌شود. نتیجه‌های حاصل از پژوهش حاضر نیز با یافته‌های آن‌ها در این خصوص همسو می‌باشد.

فنول‌های گیاهی متابولیت‌های ثانویه گیاهی هستند که در شرایط مطلوب محیطی از مسیر شیکمیک اسید و از متابولیسم فنیل پروپانوید^۲ سنتز می‌شوند ولی تنش‌های محیطی مختلف، مقدار آن‌ها را در یاخته‌ها تغییر می‌دهند (۵۷). ترکیب‌های فنولی دارای خاصیت آنتی‌اکسیدانی هستند که با جمع‌آوری و احیای گونه‌های فعال اکسیژن از اکسیداسیون مولکول‌های حیاتی یاخته پیشگیری کرده و با مهار و کاهش اتواکسیداسیون لیپیدها و خاموش کردن اکسیژن رادیکالی مانع بروز تنش اکسیداتیو در یاخته‌های گیاه می‌شوند (۳۱، ۴۴، ۴۹، ۵۰). بنابراین افزایش مقدار فنول‌ها در بافت گیاهی زیر تنش یکی از راه‌های مقاومت نسبت به افزایش تنش و استرس اکسیداتیو می‌باشد. نتیجه‌های این پژوهش نیز با یافته‌های پژوهش‌های پیشین در این خصوص مطابقت داشت و نشان داد که با افزایش تنش شوری مقدار فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی و هم‌چنین مقدار فنولی گیاه افزایش می‌یابد.

نتیجه گیری

نتیجه‌های بررسی صورت گرفته روی ورد چینی رقم اولدبلاش نشان داد که تنش شوری کلرید سدیم از نظر فیزیولوژیکی موجب کاهش آب برگ و رنگدانه‌های دخیل در فتوسنتز گیاهان تنش یافته می‌گردد. در این خصوص، مقدار کاهش در شاخص‌های فیزیولوژیکی مورد مطالعه تا سطح شوری ۱۲ دسی زیمنس بر متر معنی‌دار نبود. از سوی دیگر تنش شوری در ورد چینی رقم اولدبلاش موجب فعالت‌تر شدن سازوکارهای بیوشیمیایی مقابله با تنش شوری به عنوان یک تنش اکسیداتیو گردید. از آن جمله می‌توان به افزایش فعالیت آنزیم‌های دخیل در مقابله با رادیکال‌های آزاد که موجب افزایش مقاومت گیاه به تنش شوری می‌گردند (هم‌چون سوپراکسید دیسموتاز، کاتالاز و گایاکول پراکسیداز) اشاره نمود. اعمال و افزایش تنش شوری، سازوکار دیگر مقابله با تنش اکسیداتیو که افزایش سوبسترای گونه‌های فعال اکسیژن از راه افزایش مقدار تولید فنول‌ها است را نیز فعال‌تر گرداند. افزایش گونه‌های فعال اکسیژن و سوبسترای آن در حین تنش نشان دهنده توانایی پاسخ مناسب این رقم از ورد به تنش شوری (تا سطح ۸ دسی‌زیمنس بر متر) می‌باشد. نتیجه‌های بخش فیزیولوژیکی (مقاومت به کاهش معنی‌دار آب برگ و رنگدانه‌های دخیل در فتوسنتز تا سطح شوری ۱۲ دسی‌زیمنس بر متر) و زیست‌شیمیایی (افزایش معنی‌دار فعالیت آنزیم‌های دخیل در مقابله با رادیکال‌های آزاد و مقدار سوبسترای گونه‌های فعال اکسیژن تا سطح شوری ۸ دسی‌زیمنس بر متر) نشان‌دهنده پتانسیل مناسب این رقم از ورد برای برنامه‌های به‌نژادی و دورگه‌گیری می‌باشد. هم‌چنین از سوی دیگر تأیید کننده امکان گسترش فضای سبز در مناطقی که آب آبیاری و یا خاک آن‌ها از هدایت الکتریکی بالاتری برخوردار هستند از راه کشت این رقم از ورد می‌باشد.

References

منابع

۱. حیدری شریف آباد، ح. ۱۳۸۰، گیاهان و شوری. انتشارات موسسه تحقیقات جنگل‌ها و مراتع، تهران، ایران، ۲۵۶ ص.
۲. صالحی، م.، ع.، کوچکی و م.، نصیری محلاتی. ۱۳۸۴. ارزیابی مقدار نیتروژن و کلروفیل در ذرت زیر تنش شوری. پژوهش‌های کشاورزی. ۲۲-۱: (۲۷)۲.

3. Abd El-Aziz, N.G., A.M. Mazher Azz and E. El-Habba. 2006. Effect of foliar spraying ascorbic acid on growth and chemical constituents of *Khaya senegalensis* growth under salt condition. Amer. Euras. J. Agr. Env. Sci. 1(3):207-214.
4. Aebi, H.E. 1984. Catalase *in vitro*. Methods Enzymol. 105: 121-126.
5. Ali, E.F., Bazaid S.A. and F.A.S. Hassan. 2014. Salinity tolerance of 'Taif' roses by Gibberellic acid (GA3). Int. J Sci. Res. 3(11):184-192.
6. Appel, K. and H. Hirt. 2004. Reactive oxygen species: metabolism, oxidative stress and signal transduction. Ann. Rev. Plant Biol. 55: 373-399
7. Ashraf, M., H.R. Athar, P.J.C. Harris and T.R. Kwon. 2008. Some prospective strategies for improving crop salt tolerance. Adv. Agro. 97: 45–110.
8. Ashraf, M., N. Mukhtar, S. Rehman and E.S. Raha. 2004. Salt-induced changes in photosynthetic activity and growth in a potential medicinal plant Bishop's weed (*Ammi majus* L.). Photosynthetica, 42(4): 543-550.
9. Baby, J., and D. Jini. 2011. A Medicinal Potency of *Capparis decidua*-A Harsh Terrain Plant. Res. J. Phytochem. 5(1): 1-13.
10. Baily, C. 2004. Active oxygen species and antioxidants in seed biology. Seed Sci. Res. 14: 93-107.
11. Bor, M., F. Ozdemir and I. Turkan. 2003. The effect of salt stress on lipid peroxidant and antioxidant in leave of suger beet (*Beta vulgar* L.) and wild beet (*Beta maritime* L.). Plant Sci. 164: 77-84.
12. Cabrera, R.I., R.S. Alma and J.J. Sloan. 2009. Greenhouse rose yield and ion accumulation responses to salt stress as modulated by rootstock selection. HortScience, 44: 2000–2008.
13. Cabrera, R.I. and P. Perdomo. 2003. Reassessing the salinity tolerance of greenhouse roses under soilless production conditions. HortScience, 38:533–536.
14. Cai, X., G. Niu, T. Starman and C. Hall. 2014. Response of six garden roses (*Rosa* × *hybrida* L.) to salt stress. Sci. Hort. 168: 27-32.
15. Cai, Y.Z., J. Xing, M. Sun, Z.Q. Zhan and H. Corke. 2005. Phenolic Antioxidants (Hydrolyzable Tannins, Flavonols, and Anthocyanins) Identified by LC-ESI-MS and MALDI-QIT-TOF MS from *Rosa chinensis* Flowers. J. Agr. Food Chem. 53 (26): 9940–9948
16. Chatzissavvidis, C., G. Veneti, I. Papadakis and I. Therios. 2008. Effect of NaCl and CaCl₂ on the antioxidant mechanism of leaves and stems of the rootstock CAB-6P (*Prunus cerasus* L.) under *in vitro* conditions. Plant Cell Tiss. Organ Cult. 95:37–45
17. Chookhampaeng, S. 2011. The effect of salt stress on growth, chlorophyll content, proline content and antioxidative enzymes of pepper (*Capsicum annuum* L.) seedling. Eur. J. Sci. Res. 49(1): 103-109.

18. Deepika, H. and R. Dhingra. 2014. Effect of salinity stress on morpho-physiological, biochemical and yield characters of cluster bean [*Cyamopsis tetragonoloba* (L.) Taub.]. Ind. J. Plant Physiol. 19(4):393–398
19. Demiral, T. and I. Turkan. 2005. Comparative lipid peroxidation, antioxidant defense systems and proline content in roots of two rice cultivars differing in salt tolerance. Env. Exp. Bot. 53: 247-257.
20. Erturk, U, N. Siveritepe, C. Yerlikaya, M. Bor, F. Ozdemir and I. Turkan. 2007. Responses of the cherry rootstock to salinity *in vitro*. Biol. Plant. 51 (3): 597-600.
21. Filippo, L, A. Moretti, and A. Lovat. 2002. Seed yield, yield components oil content and essential oil and composition of *Nigella sativa* L. and *Nigella damascene* L. Ind. Crop Prod. 15(1): 59-69
22. Goreta, S., V. Bucevic-Popovic, M. Pavela-Vrancic and S. Perica. 2007. Salinity-induced changes in growth, superoxide dismutase activity, and ion content of two olive cultivars. J. Plant Nut. Soil Sci. 170(3): 398-403.
23. Guo, H., C. Yu, L. Luo, H. Wan, N. Zhen, T. Xu, J. Tan, H. Pan and Q. Zhang. 2017. Transcriptome of the floral transition in *Rosa chinensis* ‘Old Blush’. BMC Genomics. 18: 199.
24. Hu, L., H. Li, H. Pang and J. Fu. 2012. Responses of antioxidant gene, protein and enzymes to salinity stress in two genotypes of perennial ryegrass (*Lolium perenne*) differing in salt tolerance. J Plant Physiol. 169: 146– 156.
25. Huang, C.J., G. Wei, Y.C. Jie, J.J. Xu, S.Y. Zhao, L.C. Wang and S.A. Anjum. 2015. Responses of gas exchange, chlorophyll synthesis and ROS-scavenging systems to salinity stress in two ramie (*Boehmeria nivea* L.) cultivars. Photosynthetica, 53 (3): 455-463.
26. Hura, T., B. Szewczyk-Taranek, K. Hura, K. Nowak and B. Pawlowska. 2017. Physiological responses of *Rosa rubiginosa* to saline environment. Water Air Soil Pollution. 228(2): 81.
27. Isfendiyaroglu, M. and E. Zeker. 2002. The relation between phenolic compound and seed dormancy in *Pistacia* spp. In: AKB. E. (ed.). 11 Grema Serr Pistachios and Almond. Options Mediterraneennes, 56: 232-277.
28. Kaya, C., D. Higgs, F. Ince, B.M. Amador, A. Caki and E. Sakar. 2003. Ameliorative effects of potassium phosphate on salt-stressed pepper and cucumber. J. Plant Nut. 26: 807-820.
29. Khan, M.A., M.Z. Ahmad and A. Hameed. 2006. Effect of sea salt and L- ascorbic acid on the seed germination of halophytes. J. Arid Env. 67: 535-540.
30. Kim, S.E. and J.M. Lee. 1989. Effect of rootstocks and fertilizers on the growth and mineral contents in cucumber (*Cucumis sativus* L.). Inst. Food Dev., Kyung Hee Univ., Suwon, Korea, Res. Collection. 10: 75–82.

31. Ksouri, R., W. Megdiche, A. Debez, M. Falleh, C. Grignon and C. Abdelly. 2007. Salinity effect on polyphenol content and antioxidant activities in leaves of the halophyte *Cakile maritima*. Plant Physiol. Biochem. 45: 244-248.
32. Laspina, N.V., M.D. Groppa, M.L. Tomaro and M.P. Benavides. 2005. Nitric oxide protects sunflower leaves against Cd-induced oxidative stress. Plant Sci. 169(2): 323-330.
33. Lichtenthaler, H.K., 1987. Chlorophylls and carotenoids: pigments of photosynthetic biomembranes. Methods Enzymol. 148: 350-382.
34. Maksimovic, J.D., J. Zhang, F. Zeng, B.D. Zivanovic, L. Shabala, M. Zhou, S. Shabala. 2013. Linking oxidative and salinity stress tolerance in barley: can root antioxidant enzyme activity be used as a measure of stress tolerance. Plant Soil. 365:141–155.
35. Manivannan, A., P. Soundararajan, LS Arum, CH Ko, S Muneer, and B.R. Jeong. 2015. Silicon-Mediated Enhancement of Physiological and Biochemical Characteristics of *Zinnia elegans* 'Dreamland Yellow' Grown under Salinity Stress. Hort. Environ. Biotechnol. 56(6):721-731.
36. McDonald, M. B. 1999. Seed deterioration: physiology, repair, and assessment. Seed Sci. Tech. 27(11): 177–237.
37. Meyers, K.J., C.B. Watkins, M.P. Pritts, and R. Hai-Liu. 2003. Antioxidant and antiproliferative activities of strawberries. Agr. Food Chem. 51: 6887-6892.
38. Mittova, V., M. Guy, M. Tal and M. Volokita. 2004 Salinity up-regulates the anti-oxidative system in root mitochondria and peroxisomes of the wild salt tolerant tomato species *Lycopersicon pennellii*. J. Exp. Bot. 55: 1105–1113.
39. Mostafazadeh-Fard, B., M. Heidarpour, A. Aghakhani and M. Feizi. 2007. Effects of irrigation water salinity and leaching on soil chemical properties in an arid region. Int. J. Agr. Biol. 3: 462-466.
40. Niu, G. and D.S. Rodriguez. 2008. Responses of growth and ion uptake of four rose rootstocks to chloride- or sulfate-dominated salinity. J. Amer. Soc. Hort. Sci. 133: 663–669.
41. Niu, G., D.S. Rodriguez and L. Aguiniga. 2008. Effect of saline water irrigation on growth and physiological responses of three rose rootstocks. HortScience, 43:1479–1484.
42. Niu, G., D.S. Rodriguez, L. Rodriguez and W. Mackay. 2007. Effect of water stress on growth and flower yield of big bend bluebonnet. HortTechnology, 17(4): 557-560.
43. Niu, G., T. Starman and D. Byrne. 2013. Responses of growth and mineral nutrition of garden roses to saline water irrigation. HortScience, 48(6): 756-761.
44. Oh, M.M., E.E. Carey and C.B. Rajashekar. 2009. Environmental stresses induce health-promoting phytochemicals in lettuce. Plant Physiol. Biochem. 47(7): 578-583.
45. Orcutt, D.M. and E.T. Nilsen. 2000. The Physiology of Plants under Stress: Soil and Biotic Factors. John Wiley and Son, Hoboken, New Jersey, USA. 696p.

46. Parihar, P., S. Singh, R. Singh, V.P. Singh and S.M. Prasad. 2015. Effect of salinity stress on plants and its tolerance strategies: a review. *Environ. Sci. Pollut. Res.* 22:4056–4075
47. Pitman, M.G., Luchli, A., 2002. Global impact of salinity and agricultural ecosystems. In: Luchli, A., Luttge, U. (Eds.), *Salinity: Environment–Plants–Molecules*. Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, pp. 3–20.
48. Plewa, M.J., S.R. Smith and E.D. Wagner. 1991. Di ethyl dithiocarbamate suppresses the plant activation of aromatic amines into mutagens by inhibiting tobacco cell peroxidase. *Mut. Fund. Mol. Mech. Mutag.* 247(1): 57-64.
49. Razali, N., R. Razab, S. Mat Junit and A. Abdulaziz. 2008. Radical scavenging and reducing properties of extracts of cashew shoots (*Anacardium occidentale* L.). *Food Chem.* 111: 38-44.
50. Rice–Evans, C.A., N.J. Miller and G. Paganga. 1997. Antioxidant properties of phenolic compounds. *Trends Plant. Sci.* 2: 152–159.
51. Said-Alahl, H.A.H. and E.A. Omer. 2011. Medicinal and aromatic plants production under salt stress: A review. *Herba Polonica.* 57 (1): 72-86.
52. Sairam, R. K. and G.C. Srivastava. 2002. Changes in antioxidant activity in subcellular fraction of tolerant and susceptible wheat genotypes in response to long term salt stress. *Plant Sci.* 162: 897-904.
53. Shen, B., R.G. Jensen and H.J. Bohnert. 1997. Mannitol protects against oxidation by hydroxyl radicals. *Plant Physiol.* 115: 527-532.
54. Shen, X., Y. Zhou, L. Duan, Z. Li, A.E. Enej and J. Li. 2010. Silicon effects on photosynthesis and antioxidant parameters of soybean seedlings under drought and Ultraviolet-B radiation. *Plant Physiol.* 167: 1248-1252.
55. Soundararajan, P., A. Manivannan, C.H. Ko, S. Muneer and B.R. Jeong. 2017. Leaf physiological and proteomic analysis to elucidate silicon induced adaptive response under salt stress in *Rosa hybrida* ‘Rock Fire’. *Int. J. Mol. Sci.* 18(8):1768.
56. Sudhakar, C., A. Lakshmi and S. Giridarakumar. 2001. Changes in the antioxidant enzyme efficacy in two high yielding genotypes of mulberry (*Morus alba* L.) under NaCl salinity. *Plant Sci.* 161(3): 613-619.
57. Vogt, T. 2010. Phenyl propanoid biosynthesis. *Mol. Plant.* 3: 2-20.
58. Wahome, P.K., H.H. Jesch and I. Grittner. 2001. Mechanisms of salt stress tolerance in two rose rootstocks: *Rosa chinensis* ‘Major’ and *R. rubiginosa*. *Sci. Hort.* 87(3): 207-216.
59. Zhang, S., J. Weng, J. Pan, T. Tu, S. Yao and C. Xu. 2003. Study on the photo-generation of superoxide radicals in Photosystem II with EPR spin trapping techniques. *Photos. Res.* 75: 41-48.

Effect of Saline Water Irrigation on Some Physiological and Biochemical Features of *Rosa chinensis* 'Old Blush'

A. Shaghaghy, M.M. Jowkar*, A. Alirezalu and M. Omidi Ghaleh-Mohammadi¹

Rosa chinensis is one of the most important urban landscape plants. One of the main important uprising problem facing urban landscape development and extension is salinity stress caused by excess NaCl in water and soil. Therefore, in the present study the impacts of NaCl salinity stress on some physiological and biochemical features of *Rosa chinensis* were studied in a factorial experiment based on completely randomized design. Plants were irrigated by saline water (4, 8, and 12 dS m⁻¹) and irrigation water (EC of 0.8 dS m⁻¹, as control) for 40 days. After the mentioned period, some physiological features such as leaf relative water content (RWC), leaf photosynthetic pigment (such as chlorophyll a, chlorophyll b, and carotenoids), beside activity of some enzymes involved in plant resistance to salinity stress (such as catalase, guaiacol peroxidase and superoxide dismutase) and phenol content were measured. Results indicated that leaf relative water content reduced by salinity stress and the reduction was significant at 12 dS m⁻¹. Leaf chlorophyll and carotenoid pigments also showed a significant reduction at 12 dS m⁻¹ salinity level. Salinity stress increased the activity of antioxidant enzymes such as catalase, guaiacol peroxidase and superoxide dismutase. Similarly leaf phenol content of stressed plants increased accordingly as level of salinity stress increased. Catalase and superoxide dismutase activity significantly increased at 12 dS m⁻¹ salinity level, while guaiacol peroxidase and phenol content increment was significant at 8 dS m⁻¹.

Keywords: Catalase, Chlorophylls content, Guaiacol peroxidase, Oxidative stress, Phenol content, Superoxide dismutase.

1. M.Sc. Student, Department of Horticultural Sciences, College of Agriculture, Urmia University, Urmia, Assistant Professor, Department of Horticulture, College of Agriculture, Kermanshah Branch, Islamic Azad University, Kermanshah, Assistant Professor, Department of Horticultural Sciences, College of Agriculture, Urmia University, Urmia and Ph.D. Candidate, Department of Horticultural Sciences, College of Agriculture, Tehran University, Karaj, Iran, respectively.

*Corresponding author, Email: (mjowk@iauksh.ac.ir).