

اثر تنش شوری بر برخی شاخص های فیزیولوژیکی دو رقم هیبرید و ایرانی اسفناج

مینا بیارش*^۱، محمود رقامی^۲

^۱ دانشجوی دکتری، ^۲ استادیار گروه علوم و مهندسی باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه ولیعصر رفسنجان، رفسنجان، ایران
*نویسنده مسئول: minabayarash@gmail.com

چکیده

شوری آب و خاک باروری بسیاری از محصولات کشاورزی را کاهش می دهد به ویژه سبزی ها که تحمل کمتری به تنش شوری دارند. در این آزمایش اثر تنش شوری بر میزان شاخص های فیزیولوژیکی دو رقم اسفناج برگ پهن ورامین و هیبرید ناریتا مورد بررسی قرار گرفت. این آزمایش به صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با چهار تکرار انجام شد. فاکتورها شامل تنش شوری در چهار سطح (صفر، ۱۰، ۲۰، ۳۰ میلی مولار کلرید سدیم) و رقم در دو سطح (برگ پهن ورامین و هیبرید ناریتا) بود. نتایج نشان داد که تنش شوری باعث کاهش محتوای آب نسبی برگ و افزایش پرولین و نشت الکترولیت در هر دو رقم اسفناج شد و هر دو رقم تحت تأثیر تنش شوری قرار گرفتند اما میزان تأثیر تنش شوری بر رقم هیبرید بیشتر بود. به نظر می رسد رقم برگ پهن ورامین از نظر شاخص های فیزیولوژیکی برای کشت در شرایط تنش شوری نسبت به رقم هیبرید مناسب تر است.

واژه های کلیدی: "برگ پهن ورامین"، پرولین، نشت الکترولیت.

مقدمه

اسفناج بانام علمی *Spinacia oleracea* L. متعلق به خانواده *Chenopodiaceae* (اسدی و حسندخت، ۱۳۸۶) و از جمله سبزی های برگی مهم فصل سرد است. شوری آب و خاک یکی از تنش های غیرزنده مهم است که رشد و بهره وری محصول را کاهش می دهد. تخمین زده شده است که تا سال ۲۰۵۰ حدود ۵۰ درصد از زمین های زراعی جهان تحت تأثیر شوری قرار خواهند گرفت. شوری خاک باروری بسیاری از محصولات کشاورزی را کاهش می دهد به خصوص محصولات سبزی که تحمل کمتری به شوری خاک دارند. با این حال افزایش در تولید و مصرف سبزی ها اولویت جهانی دارد. تنش شوری به دلیل کاهش باروری و افزایش میوه ها، ریشه و غده نامناسب و برگ هایی که ارزش تجاری ندارند، باعث کاهش عملکرد قابل عرضه به بازار می شود (Manuel et al., 2017). تنش شوری باعث کاهش محتوای آب نسبی برگ می شود که این کاهش به تدریج و با افزایش غلظت نمک رخ می دهد. کاهش محتوای آب نسبی برگ نشان دهنده ازدست دادن فشار تورگر است که در نتیجه دسترسی محدود گیاه به آب برای فرایندهای توسعه سلول است (Liu et al., 2013). اگر محتوای آب نسبی بالا باشد به معنای توانایی برگ به حفظ مقادیر بیش تری آب در شرایط تنش است که قابلیت تنظیم اسمزی و یا توانایی ریشه در جذب آب به وجود می آید. مطالعات متعدد نشان می دهد که غشای پلاسمایی ممکن است محل آسیب دیدگی در اثر تنش شوری باشد و در نتیجه هدایت الکتریکی و نفوذپذیری غشاء به طور قابل توجهی پس از قرار گرفتن در معرض نمک تغییر می کند (Parvaiz and Satyawati, 2008). یک راه حل برای اجتناب از تنش در سطح سلولی، فرایند تنظیم اسمزی است. در حقیقت سطح بالایی از آسیب در اثر تنش شوری را می توان از طریق انباشت عوامل تنظیم اسمزی مانند قندهای محلول، گلیسین بتائین و پرولین کنترل کرد. گلیسین بتائین و پرولین دو عامل اصلی تنظیم اسمزی هستند که در پاسخ به تنش در گیاه انباشته می شوند (Liu et al., 2013). قندها علاوه بر تعدیل اسموتیکی در حفظ پروتئین ها، حفظ سیالیت غشاء و زدودن رادیکال های آزاد اکسیژن نقش دارند. تولیدات گیاهی در پاسخ به تنش های زیست محیطی مانند شوری، خشکی و دمای شدید کاهش می یابد؛ بنابراین مطالعه فیزیولوژی تغذیه گیاه در شرایط شوری و برای افزایش تولید و تحمل شوری در مناطق شور مهم است؛ بنابراین، پژوهش حاضر باهدف بررسی برخی شاخص های فیزیولوژیکی دو رقم اسفناج، تحت تنش شوری و مشخص کردن رقم متحمل تر بر اساس این شاخص ها در خاک های شور طراحی و اجرا شد.

مواد و روش‌ها

بذرهای دو رقم اسفناج ایرانی و هیبرید، در بهمن‌ماه ۱۳۹۷ در مزرعه تحقیقاتی دانشگاه ولیعصر رفسنجان کشت شد. این پژوهش به صورت آزمایش فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با چهار تکرار که فاکتورها شامل تنش شوری (در چهار سطح ۰، ۱۰، ۲۰، ۳۰ میلی‌مولار کلرید سدیم) و رقم (هیبرید ناریتا و برگ‌پهن ورامین) بود. ابتدا بذرهای دو رقم اسفناج در گلدان‌های پلاستیکی در بستری با نسبت ۳:۱ خاک و کود حیوانی در داخل شاسی در مزرعه کشت شدند. آبیاری قبل از رویدن هرروز و بعد از سبز شدن یک روز در میان انجام شد. پس از گذشت یک ماه و در مرحله چهار برگی اعمال تیمارها شروع شد. تیمار شوری هر دو روز یک‌بار اعمال شد. پس از گذشت سه ماه و پس از ظاهر شدن اثرات اولیه تیمار بر روی گیاه برداشت صورت گرفت. در این پژوهش شاخص‌هایی که اندازه‌گیری شد شامل محتوای آب نسبی برگ، نشت الکترولیت، قندهای محلول و پرولین بود. برای اندازه‌گیری محتوای آب نسبی برگ ابتدا از هر گلدان شش دیسک پهنک‌برگ تازه تهیه و وزن شد و داخل پتری دیش حاوی آب مقطر قرار گرفت. پس از گذشت شش ساعت آن‌ها را وزن کرده و پس از آن نمونه‌ها در آون با دمای ۷۰ درجه سلسیوس به مدت ۴۸ ساعت قرار گرفتند و دوباره وزن آن‌ها اندازه‌گیری و محتوای آب نسبی برگ با استفاده از فرمول زیر به دست آمد:

$$RWC = \frac{(wf - wd)}{(wt - wd)} \times 100$$

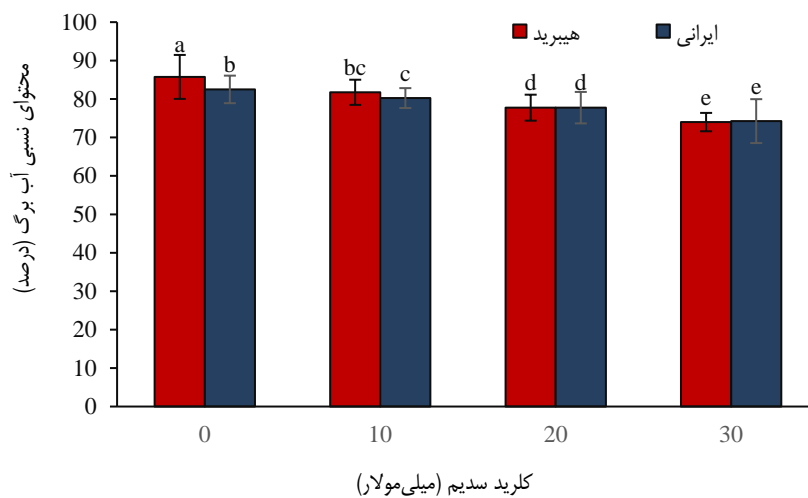
به منظور اندازه‌گیری نشت الکترولیت، از برگ گیاهان هر گلدان ۴ دیسک تهیه و در دمای اتاق درون شیشه‌هایی حاوی ۲۰ میلی‌لیتر آب مقطر نگهداری گردید. در مرحله بعد با گذشت ۲۴ ساعت میزان هدایت الکتریکی آب مقطر محتوی نمونه اندازه‌گیری و به عنوان نشت اولیه ثبت گردید. بعد از قرارگیری شیشه‌های محتوی نمونه در اتوکلاو با دمای ۱۲۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲۰ دقیقه میزان هدایت الکترولیتی آن‌ها به عنوان نشت ثانویه اندازه‌گیری و ثبت گردید. در پایان میزان نشت الکترولیت با استفاده از فرمول زیر محاسبه شد (Sairam and Srivastava, 2002):

$$100 \times \left[\frac{\text{نشت ثانویه} - \text{نشت اولیه}}{\text{نشت ثانویه}} \right] = \text{نشت الکترولیت}$$

برای استخراج پرولین ۰/۵ گرم برگ توسعه‌یافته را با استفاده از ۵ میلی‌لیتر اتانول ۹۵ درصد در هاون چینی کوبیده و محلول حاصل را در لوله فالکن ریخته و عمل استخراج دو بار و هر بار با ۵ میلی‌لیتر اتانول ۷۰ درصد تکرار شد. محلول به دست آمده ۱۰ دقیقه در دستگاه سانتریفیوژ با سرعت ۳۵۰۰ دور در دقیقه قرار داده شد. پس از جداسازی فاز مایع از جامد، قسمت مایع برای استخراج پرولین مورد استفاده قرار گرفت. میزان پرولین برحسب میکرو مول بر گرم وزن تر نمونه برگ محاسبه شد (Bates *et al.*, 1973). آنالیز آماری با استفاده از نرم‌افزار SAS و مقایسه میانگین صفات به کمک آزمون LSD و ترسیم نمودارها توسط نرم‌افزار اکسل انجام شد.

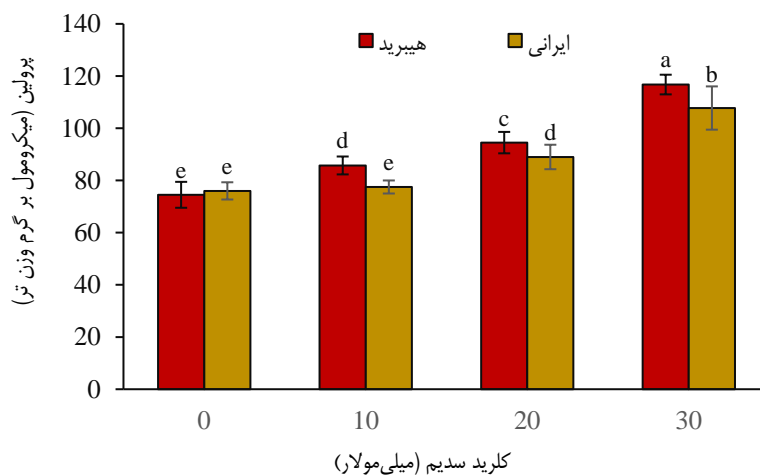
نتایج و بحث

محتوای آب نسبی برگ: بر اساس نتایج تجزیه واریانس اثر رقم و برهم‌کنش رقم و شوری بر مقدار محتوای آب نسبی برگ معنی‌دار بود. مقایسه میانگین بین تیمارها نشان داد که محتوای آب نسبی برگ با افزایش شدت تنش در هر دو رقم اسفناج کاهش یافت به طوری که مقدار آن در رقم ایرانی اسفناج در شرایط ۱۰، ۲۰ و ۳۰ میلی‌مولار کلرید سدیم در مقایسه با گیاهان شاهد به ترتیب حدود ۲/۷۳، ۵/۷۶ و ۱۰ درصد و در رقم اسفناج هیبرید به ترتیب حدود ۴/۶۶، ۹/۳۳ و ۱۳/۷ درصد در مقایسه با گیاهان شاهد کاهش یافت (شکل ۱).



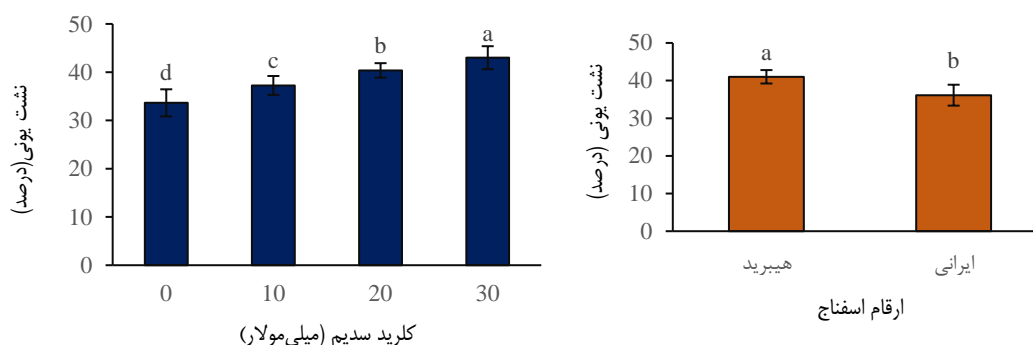
شکل ۱- تأثیر سطوح مختلف کلرید سدیم بر محتوای آب نسبی برگ ارقام اسفناج در شرایط مزرعه

پرولین: نتایج تجزیه واریانس نشان داد که اثر رقم، شوری و برهم کنش این دو بر مقدار پرولین برگ معنی دار شد. مقایسه میانگین ها نشان داد محتوای پرولین برگ با افزایش شدت تنش در بافت برگ افزایش یافت هرچند تغییرات مقدار پرولین در اسفناج هیبرید در مقایسه با رقم ایرانی در پاسخ به شرایط تنش بیشتر بود. به طوری که مقدار پرولین در رقم هیبرید در شرایط ۳۰ میلی مولار کلرید سدیم حدود ۵۶/۷ درصد و در رقم ایرانی ۴۱/۸ درصد در مقایسه با گیاهان شاهد افزایش یافت (شکل ۲).



شکل ۲- تأثیر سطوح مختلف کلرید سدیم بر مقدار پرولین برگ ارقام اسفناج در شرایط مزرعه

نشت یونی: نتایج تجزیه واریانس نشان داد که اثرات ساده رقم و شوری در سطح احتمال پنج درصد بر نشت یونی معنی دار شد در حالی که برهم کنش بین رقم و شوری بر مقدار آن اثر معنی داری نداشت. طبق نتایج مقایسه میانگین ها، مقدار نشت یونی رقم هیبرید در مقایسه با رقم ایرانی بیشتر بود. نتایج همچنین نشان داد که با افزایش غلظت کلرید سدیم نشت یونی افزایش یافت به طوری که با کاربرد تیمار ۱۰، ۲۰ و ۳۰ میلی مولار کلرید سدیم مقدار نشت یونی به ترتیب ۴، ۹/۷ و ۱۴/۱ درصد در مقایسه با گیاهان شاهد افزایش یافت (شکل ۳).



الف ب

شکل ۳- میزان نشت یونی برگ (الف) و تأثیر سطوح مختلف کلرید سدیم بر میزان نشت یونی (ب) ارقام اسفناج در مزرعه

قندهای محلول: نتایج تجزیه واریانس نشان دادند که قندهای محلول برگ تحت تأثیر رقم، شوری و برهم کنش بین آن‌ها قرار گرفت. در شرایط تنش، گیاهان برای تداوم رشد باید پتانسیل آب درونی را پایین تر از خاک نگاه داشته و جذب آب و آماس خود را حفظ کنند. کاهش در محتوای آب نسبی برگ، آسیب به آماس را نشان می‌دهد که در نهایت منجر به محدود شدن قابلیت استفاده آب برای فرایندهای توسعه سلولی می‌شود (Ahmad and Sharma, 2010). در واقع محتوای آبی برگ‌ها به‌عنوان فاکتوری برای تعیین سطح آب گیاه شناخته شده است که می‌تواند فعالیت‌های متابولیکی درون بافت گیاه را نشان دهد. نتایج تحقیق حاضر نشان داد که محتوای آب نسبی برگ در شرایط تنش شوری در هر دو رقم اسفناج کاهش یافت. کاهش در محتوای آب نسبی برگ در شرایط تنش را می‌توان به کاهش رشد ریشه و کاهش جذب آب نسبت داد. از طرف دیگر در شرایط تنش شوری و قلیائیات به دلیل کاهش پتانسیل آب اطراف ریشه اختلاف پتانسیل آب بین بافت ریشه و محیط اطراف ریشه کمتر شده و در نتیجه آب کمتر از طریق اختلاف شیب پتانسیل آب حرکت می‌کند و در نتیجه محتوای آب نسبی برگ کاهش می‌یابد. کاهش در محتوای نسبی آب برگ نشانگر کاهش فشار تورژسانس است که سبب کاهش آب مورد نیاز برای فرایندهای مورفولوژیکی و فیزیولوژیکی از قبیل طویل شدن سلولی، باز شدن روزنه‌ها و فرایندهای وابسته به فتوسنتز است (Farkhondeh *et al.*, 2012). به‌طور کلی کاهش محتوای آب نسبی برگ و کارایی استفاده آب در زمان تنش شوری می‌تواند ناشی از کاهش رشد ریشه، بسته شدن روزنه‌های هوایی، کاهش جذب و انتقال آب توسط ریشه و همچنین افزایش تجمع یون‌ها به‌ویژه یون‌های سدیم و کلر باشد (Sheng and Ying-Ning, 2009). کاهش محتوای آب نسبی برگ در شرایط تنش شوری در دیگر گیاهان مانند خربزه (Kaya *et al.*, 2007) و نخودفرنگی (Ahmad and John, 2005) نیز گزارش شده است که با نتایج پژوهش حاضر مطابقت دارد. گیاهان برای مقابله با شرایط تنش سازوکارهای متفاوتی را بکار می‌برند تا اثرات تنش بر بافت‌های گیاه کاهش یابد. در شرایط تنش گیاه از طریق تجمع ترکیبات اسمزی یا تنظیم‌کننده‌های اسمزی نظیر پرولین و قندهای محلول، پتانسیل اسمزی برگ یا بافت گیاه را کاهش می‌دهد و با کاهش پتانسیل اسمزی اختلاف شیب پتانسیل آب بین محیط ریشه و بافت ریشه بیشتر شده و این اختلاف پتانسیل سبب جریان آب از سمت ریشه به سمت بافت گیاه می‌گردد (Peng *et al.*, 2007; Yang *et al.*, 2008). نتایج تحقیق حاضر نشان داد که مقدار پرولین برگ اسفناج در شرایط تنش شوری در هر دو رقم افزایش یافت ولی تغییراتی در مقدار کربوهیدرات‌های محلول در ارقام اسفناج مشاهده نشد. افزایش در مقدار پرولین در شرایط تنش شوری را می‌توان به کاهش محتوای آب نسبی برگ نسبت داد. تجمع پرولین یک پاسخ فیزیولوژیکی به شرایط تنش بوده و از دو جنبه قابل بررسی است: نخست این که در شرایط تنش شوری یون سدیم در مقادیر بالا در سیتوزول جمع شده، ایجاد سمیت می‌کند و باید به واکنش‌ها منتقل شود؛ بنابراین مواد آلی با وزن مولکولی کم که با عنوان محلول‌های سازگار نامیده می‌شوند، برای حفظ تعادل پتانسیل آب، درون سیتوپلاسم تجمع می‌یابند. پرولین یکی از مهم‌ترین محلول‌های سازگار بوده و در تعدیل پتانسیل اسمزی بسیار مؤثر است. به‌علاوه پرولین نقش آسمولاتی به‌عنوان مخزن کربن و نیتروژن دارد و نیز حفاظت گیاه را در برابر صدمات رادیکال‌های آزاد انجام می‌دهد. (Farkhondeh *et al.*, 2012) افزایش میزان پرولین در شرایط تنش شوری در سایر گیاهان مانند برنج (Kumar *et al.*, 2007) نیز گزارش شده است که

با نتایج پژوهش حاضر مشابه است. نتایج پژوهش حاضر همچنین نشان داد که محتوای آب نسبی برگ در شرایط تنش شوری کاهش یافت و مقدار آن در رقم ایرانی در مقایسه با رقم هیبرید تغییرات کمتری نشان داد. مقدار پرولین برگ ارقام هیبرید و ایرانی نیز در شرایط تنش شوری در هر دو رقم به ترتیب حدود ۴۱ و ۶۴ درصد افزایش یافت و مقدار پرولین برگ رقم هیبرید در مقایسه با رقم ایرانی بیشتر بود. نشت یونی نیز در رقم هیبرید در مقایسه با رقم ایرانی بیشتر بود و با افزایش شدت تنش، نشت یونی حدود ۱۴ درصد افزایش یافت. به نظر می‌رسد که رقم ایرانی به دلیل تغییرات کمتر محتوای آب نسبی برگ در شرایط تنش شوری از نشت یونی کمتری برخوردار بود و براین اساس رقم برگ‌پهن ورامین در شرایط تنش شوری از تحمل بیشتری به شرایط تنش برخوردار است و برای کشت در شرایط شور مناسب‌تر است.

منابع

- اسدی، ح.ع و حسندخت، م.ر. ۱۳۸۶. بررسی تنوع ژنتیکی توده‌های بومی اسفناج ایرانی. مجله علوم و فنون کشاورزی ایران، ۳۸ (۲): ۲۵۶-۲۵۷.
- Ahmad, P. and Jhon, R. 2005. Effect of salt stress on growth and biochemical parameters of *Pisum sativa* L. *Arshoves of Agronomy and soil Science*, 51: 665-672
- Ahmad, P. and Sharma, S. 2010. Physio-biochemical attributes in two cultivars of mulberry (*Morus alba* L.) under NaHCO_3 stress. *Industrial Crops and Products*, 4: 1735-1743.
- Bates, L.S., Waldren, R.P. and Teare, I.D., 1973. Rapid determination of free proline for water-stress studies. *Plant and soil*, 39(1):205-207.
- Farkhondeh, R., Nabizadeh, E. and Jalilnezhad, N. 2012. Effect of salinity stress on proline content, membrane stability and water relations in two sugar beet cultivars. *International Journal of AgriScience*, 2(5): 385-392.
- Kaya, C., Tuna, A. L., Ashraf, M. and Altunlu, H. 2007. Improved salt tolerance of melon (*Cucumis melo* L.) by the addition of proline and potassium nitrate. *Journal of Environmental and Experimental Botany*, 60(3): 397-403
- Kumar, R., Venuprasad, R. and Atlin, G. N. 2007. Genetic analysis of rainfed lowland rice drought tolerance under naturally-occurring stress in eastern India: heritability and QTL effects. *Field Crops Research*, 103(1): 42-52
- Liu, L., Ueda, A. and Saneoka, H. 2013. Physiological responses of white Swiss chard (*Beta vulgaris* L. subsp. *cicla*) to saline and alkaline stresses. *Australian Journal of Crop Science*, 7(7): 1046-1052
- Manuel, R., Machado, A. and Serralheiro, R. P. 2017. Soil Salinity: Effect on Vegetable Crop Growth. *Management Practices to Prevent and Mitigate Soil Salinization. Journal of Horticulturae*, 30: 1-13.
- Parvaiz, A. and Satyawati, S. 2008. Salt stress and phyto-biochemical responses of plants. *Plant Soil Environmental*, 54(3): 89-99.
- Peng, Y., Lin, W., Cai, W. and Arora, R. 2007. Overexpression of a *Panax ginseng* tonoplast aquaporin alters salt tolerance, drought tolerance and cold acclimation ability in transgenic *Arabidopsis* plants. *Planta*, 226(3): 729-740.
- Sairam, R. K. and Srivastava, G. C. 2002. Changes in antioxidant activity in subcellular fraction of tolerant and susceptible wheat genotypes in response to long term salt stress. *Journal of Plant Science*, 162: 897-904
- Sheng, W. U. and Ying-Ning, Z. O. U. 2009. The effect of dual application of arbuscular mycorrhizal fungi and polyamines upon growth and nutrient uptake on trifoliolate orange (*Poncirus trifoliata*) seedlings. *Notulae Botanicae Horti Agrobotanici Cluj-Napoca*, 37(2): 95-98.
- Yang, C. W., Jianaer, A., Li, C. Y., Shi, D. C. and Wang, D. L. 2008. Comparison of the effects of salt- stress and alkali- stress on photosynthesis and energy strong of an alkali resistant halophyte *chloris virgate*. *Photosynthetica*, 46(2): 273-278.

The effect of salinity stress on some physiological parameters of hybrid and Iranian spinach cultivars

Mina Bayarash^{1*}, Mahmoud Raghmi²

^{1*} Ph.D student, ²Assistant professor, Department of horticulture Science, Faculty of Agriculture, Vali-e-Asr University of Rafsanjan, Rafsanjan, Iran

*Corresponding Author: minabayarash@gmail.com

Abstract

The salinity of soil and water reduces the fertility of many agricultural products, especially vegetables less tolerant of salinity stress. In this experiment, the effect of salinity stress was investigated on the physiological parameters of two spinach cultivars ('Bargpahn-e-varamin' and 'Narita' F₁ hybrid). This experiment was performed as factorial in a completely randomized design with four replications. Factors included salinity stress at four levels (0, 10, 20, 30 mM sodium chloride) and cultivar at two levels. The results showed that salinity stress decreased the relative water content of leaves and increased proline and electrolyte leakage in both spinach cultivars. Both cultivars were affected by salinity stress, but the effects of salinity stress were greater on hybrid cultivars. It seems that the 'Bargpahn-e-varamin' cultivar is more suitable for cultivation under salinity conditions than the hybrid cultivar in terms of physiological parameters.

Keywords: 'Bargpahn-e-varamin', Proline, Relative water content, Sodium chloride.