نشریه علمی ـ پژوهشی اکوفیزیولوژی گیاهان زراعی، جلد هشتم، شماره ۴(۳۲)، زمستان ۱۳۹۳، صفحه ۵۳۴-۵۱۷

تغییرات خصوصیات جوانه‌زنی، رنگدانه‌های فتوسنتزی و فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان گلرنگ تحت تأثیر تنش‌های خشکی و شوری

علیرضا سیروس‌مهر[۱]، جمیله باردل[۲*] و سپیده محمدی[۳]

چکیده

به منظور مطالعه اثر تنش‌های خشکی و شوری بر برخی خصوصیات جوانه‌زنی، محتوای رنگدانه‌های فتوسنتزی و آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان کاتالاز (CAT)، آسکوربات‌پراکسیداز (APX) و گلوتاتیون‌پراکسیداز (GPX) برگ گلرنگ، آزمایشی در شرایط کنترل‌شده به صورت فاکتوریل در قالب طرح پایه کاملاً تصادفی با چهار تکرار در سال ۱۳۹۱ در محل آزمایشگاه و گلخانه تحقیقاتی دانشکده کشاورزی دانشگاه زابل اجرا گردید. برای ایجاد سطوح تنش خشکی (۰، ۶- و ۸- بار) از پلی‌اتیلن گلیکول، و سطوح تنش شوری (۵، ۱۰ و ۱۵ دسی‌زیمنس بر متر) از منبع کلرید سدیم استفاده شدند. نتایج نشان دادند که اثرات فاکتورها بر درصد و سرعت جوانه‌زنی، محتوای کلروفیل‌های a و b و فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان معنی‌دار بودند. نتایج بررسی آزمایشگاهی نشان داد که کاهش درصد و سرعت جوانه‌زنی ناشی از منفی‌تر شدن پتانسیل اسمزی در سطوح خشکی و شوری اعمال شده بوده است. سنجش رنگیزه‌های نوری برگ‌های رشد یافته در گلخانه نیز به‌طور معنی‌داری با افزایش شدت تنش، کاهش نشان داد. تنش کم‌آبی و افزایش نمک‌های محلول در آب، با ایجاد تنش اکسیداتیو منجر به تغییر در میزان فعالیت برخی آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان گردید. به‌طوری که فعالیت دو آنزیم کاتالاز و گلوتاتیون‌پراکسیداز با افزایش شدت تنش خشکی ناشی از پلی‌اتیلن‌گلیکول افزایش ولی با افزایش تنش شوری کاهش نشان داد. فعالیت آنزیم آسکوربات‌پراکسیداز نیز تحت تأثیر خشکی افزایش یافت. مطالعه اثر متقابل تنش‌های خشکی و شوری مشخص نمود که در تنش ملایم آنزیم گلوتاتیون پراکسیداز، و در تنش‌های شدید آنزیم آسکوربات‌پراکسیداز افزایش بیشتری یافتند که بیان‌گر تولید و فعالیت بیشتر سیستم دفاعی گیاه از جمله این آنزیم‌ها در شرایط تنش‌های اعمال‌شده می‌باشد و منجر به محافظت یا تحمل گیاه در شرایط تنش اکسیداتیو ناشی از خشکی و شوری آب آبیاری می‌شود.

واژگان کلیدی: آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان، جوانه‌زنی، کلروفیل، گلرنگ.

۱- استادیار دانشکده کشاورزی، دانشگاه زابل، ایران
۲- دانشجوی کارشناسی ارشد گیاهان دارویی، ادویه‌ای و نوشابه‌ای، دانشگاه زابل، ایران (* نگارنده‌ی مسئول) jamileh.bardel@ yahoo.com
۳- دانشجوی کارشناسی ارشد آگرواکولوژی، دانشگاه زابل، ایران
تاریخ دریافت: ۹۲/۱۱/۱۰
تاریخ پذیرش: ۹۳/۶/۳۰

مقدمه

در مناطق خشک و نیمه خشک، تنش‌های کم آبی و شوری دو عامل محدود کننده استقرار و تولید در گیاهان زراعی هستند. به طور کلی در جهان ۹۵ میلیون هکتار اراضی شور وجود دارد و در ایران حدود نیمی از اراضی قابل کشت (۹/۵ میلیون هکتار) متأثر از شوری هستند. شوری از طریق سمیت عناصر، اختلال در جذب عناصر و کاهش پتانسیل آب بر جوانه‌زنی و رشد گیاهچه گیاهان زراعی اثر می‌گذارد (Ghaderifar *et al*., 2012). سطوح بالای نمک می‌تواند سبب خسارت به ساختمان خاک نیز گردد. فعالیت یون‌های سدیم زمانی که در تبادل کاتیونی با اجزای رس قرار می‌گیرند سبب فشرده شدن خاک شده و از این رو نه تنها گیاهان در این شرایط از وجود مقادیر بالای سدیم خسارت می‌بینند بلکه به درجات مختلفی تحت تأثیر نبود اکسیژن نیز قرار می‌گیرند (Haidari, 2007). مونز (Munns, 1993) در مورد نحوه واکنش گیاهان به شوری معتقد است در ابتدا بروز شوری، در اثر کاهش پتانسیل آب در محیط ریشه نوعی تنش خشکی حادث می‌شود که عامل اصلی کاهش رشد است. به تدریج و با تجمع املاح نمک در بافت و واکوئل سلول‌ها، خسارت ناشی از سمیت یونی و عدم تعادل عناصر غذایی سبب کاهش بیشتر رشد و در نهایت مرگ گیاهان خواهد شد.

تعداد گیاهان در واحد سطح یکی از عوامل مهم برای کشاورزان است. در شروع کار باید اطلاع دقیقی از درصد جوانه‌زنی برای محاسبه تعداد بذر در واحد سطح داشت (Lopez *et al*., 1999). جوانه‌زنی بذر معمولاً بحرانی‌ترین مرحله تعیین کننده موفقیت یا شکست استقرار گیاه است. از آن‌جا که نمو گیاه از جوانه‌زنی شروع می‌شود و برای ادامه حیات باید بذرها جوانه بزنند تا بتوانند خود را با شرایط محیطی سازگار نموده و در خاک مستقر گردند، موفقیت گذراندن مرحله جوانه‌زنی نقش مهمی در مراحل دیگر استقرار گیاه خواهد داشت (Motamedi *et al*., 2011). در شرایط خشک که مقدار بارندگی محدود و نامنظم است دست‌یابی به پوشش گیاهی مناسب در اوایل فصل رشد از ویژگی‌های مناسب ارقام زراعی است. در چنین مناطقی توان خروج جوانه‌ها از عمق‌های بیشتر خاک، همراه با تحمل به خشکی در مرحله جوانه‌زنی ار ویژگی‌های مهم مرتبط با استقرار گیاهچه است. به دلیل غیریکنواختی محیط خاک و عدم امکان کنترل عوامل محیطی در مزرعه، تحقیقات آزمایشگاهی اهمیت ویژه‌ای برای ارزیابی تحمل گیاهان به تنش خشکی در مرحله جوانه‌زنی دارد (Geravandi *et al*., 2010).

خشکی از تنش‌های بسیار مهم در کاهش رشد و تولیدگیاهان از جمله گلرنگ می‌باشد، به‌طوری‌که بسیاری از جنبه‌های متابولیسم و رشدی گیاه را تحت تأثیر قرار می‌دهد. یکی از مهم‌ترین روش‌های مطالعه تنش خشکی، استفاده از مواد اسمزی مختلف برای ایجاد پتانسیل‌های اسمزی تلقی می‌شود. پلی‌اتیلن گلیکول به علت وزن مولکولی بالا نمی‌تواند از دیواره سلولی عبور کند. به همین دلیل از آن برای تنظیم پتانسیل آب در آزمایش‌های جوانه‌زنی استفاده می‌شود. پلی‌اتیلن‌گلایکول ۶۰۰۰ نسبت به مولکول‌های کوچک‌تر (پلی‌اتیلن‌گلایکول ۴۰۰۰) مناسب‌تر است. زیرا درصد جوانه‌زنی بذر در این محلول و در خاکی با همان پتانسیل آب تقریباً برابر است (Ibrahim *et al*., 2001). سید شریفی و سید شریفی (Seyed-sharifi and Seyed-sharifi, 2008) از آزمون چهار رقم گلرنگ پاییزه در پتانسیل‌های اسمزی صفر، ۲-، ۴-، ۶- و ۸- بار ناشی از پلی‌اتیلن‌گلایکول ۶۰۰۰ اثرات قابل توجهی بر درصد و یکنواختی جوانه‌زنی، وزن ریشه‌چه و ساقه‌چه و وزن کل گیاهچه گزارش کردند. در این آزمایش با افزایش

میزان خشکی، درصد جوانه‌زنی به‌طور معنی‌داری از ۸۱/۰۲ درصد در شاهد به ۶/۰۳ درصد در خشکی ۸- بار رسید. معتمدی و همکاران (Motamedi *et al*., 2011) در تحقیقی که روی صفات فیزیولوژیک دو ژنوتیپ گلرنگ در مرحله جوانه‌زنی و رشد گیاهچه انجام دادند، بیان نمودند با افزایش شوری درصد جوانه‌زنی، طول ریشه‌چه و ساقه‌چه در مقایسه با شاهد کاهش می‌یابد در حالی‌که تجمع مالون‌دی‌آلدهید و فعالیت کاتالازی تا ۱۲ دسی‌زیمنس بر متر افزوده می‌گردد.

یکی از تغییرات بیوشیمیایی در گیاهانی که در شرایط تنش‌های محیطی نظیر خشکی و شوری قرار دارند، تولید گونه‌های فعال اکسیژن با افزایش انتقال الکترون به مولکول اکسیژن است (Fathi-Amirkhiz *et al*., 2011). گونه‌های فعال اکسیژن می‌توانند از طریق ایجاد آسیب اکسیداتیو به غشاء، پروتئین‌ها و اسیدهای نوکلئیک کارکرد آنها را مختل نمایند. همچنین منجر به پراکسیداسیون لیپیدها، دناتوره شدن پروتئین‌ها و موتاسیون DNA گردند. گیاهان برای مقابله با این خسارات سیستم آنتی‌اکسیدانی پیچیده‌ای شامل کارتنوئید، آسکوربات، گلوتاتیون، توکوفرول‌ها یا آنزیم‌هایی از جمله سوپراکسید دیسموتاز، کاتالاز، آسکوربات‌پراکسیداز، گلوتاتیون پراکسیداز و آنزیم‌های دخیل در چرخه آسکوربات-گلوتاتیون را به کار می‌گیرد. فتحی امیرخیز و همکاران (Fathi-Amirkhiz *et al*., 2011) معتقدند سنتز آنزیم‌هایی مانند کاتالاز، یک پاسخ سازگار یافته در برابر تنش اکسیداتیو می‌باشد. این محققان گزارش نمودند آبیاری گلرنگ بهاره بر اساس تخلیه ۵۰ و ۷۵ درصد رطوبت ظرفیت زراعی منجر به افزایش فعالیت آنزیم‌های کاتالاز و آسکوربات پراکسیداز به‌ترتیب تا سطح ۱۶/۶۷ و ۴۵/۷۸ میلی‌گرم پروتئین در دقیقه در وزن تر شد. قربانلی و همکاران (Ghorbanli *et al*., 2010) در مطالعات خود عکس‌العمل اندام‌هوایی و زیرزمینی سیاهدانه در برابر تنش ناشی از کمبود آب را به صورت افزایش آنزیم‌های CAT و GPX در تنش یک‌سوم ظرفیت زراعی در مقایسه با شاهد بیان کردند. در حالی که نصیبی و همکاران (Nasibi *et al*., 2012) معتقدند فعالیت APX در گیاه مورد مطالعه (بابونه) در شرایط شوری افزایش می‌یابد، دهقانی و مستأجران (Dehghani and Mostajeran, 2010) بیان می‌دارند شوری بر رشد رویشی گیاه دارویی زنجبیل اثر منفی داشته و با وجود این‌که در شوری ۴ دسی‌زیمنس بر متر فعالیت CAT افزایش می‌یابد اما شوری‌های ۶ و ۸ دسی‌زیمنس بر متر سبب کاهش فعالیت این آنزیم و آنزیم‌هایی دیگر نظیر فنیل‌آلانین آمونیالیاز (PAL) و تیروزین آمونیالیاز (TAL) می‌گردد.

گلرنگ با نام علمی *Carthamus tinctorius* L. یکی از گیاهان زراعی و با اهمیت در تأمین روغن خوراکی با کیفیت عالی است (Motamedi *et al*., 2011). با توجه به توان خوب این گیاه در توسعه ریشه مستقیم خود در اعماق خاک، به شرایط خشکی و شوری تا حد زیادی مقاوم به تنش‌های خشکی و شوری است. در حال حاضر شرایط آب و هوایی خشک سیستان، و نیز ویژگی‌های گلرنگ باعث شده که در مناطقی از این استان به خصوص در خاک‌های شور و کم‌آب کشت این گیاه توسط کشاورزان مورد استقبال قرار گیرد. شوری آب و خاک و کم‌آبی از مسایل عمده مناطق مرکز، شرق و جنوب کشور است.

یکی از روش‌های مؤثر در کاهش اثرات خشکی و شوری در گیاهان دارویی، استفاده از گیاهان مقاوم است. با توجه به متفاوت بودن پاسخ گلرنگ به تنش‌های محیطی در مراحل مختلف رشد، دانش و آگاهی روند تغییر برخی صفات در مرحله جوانه‌زنی و ابتدای رشد گیاه می‌تواند از اهمیت ویژه‌ای جهت

تعیین نمودن محصول نهایی در مقیاس وسیع برخوردار باشد. بنابراین هدف از این تحقیق بررسی مقاومت به خشکی و شوری در مرحله جوانه‌زنی و بررسی دامنه تغییر برخی آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان در مرحله گیاهچه‌ای در رقم گلدشت گلرنگ بود.

مواد و روش‌ها

آزمایش در دو مرحله آزمایشگاهی و گلخانه‌ای به صورت فاکتوریل در قالب طرح پایه کاملاً تصادفی با ۴ تکرار شامل فاکتور تنش خشکی ناشی از پلی‌اتیلن‌گلیکول ۶۰۰۰ در سه سطح (P_1=0, P_2=-6, P_3=-8 bar) و فاکتور شوری نیز از منبع کلریدسدیم در سه سطح (S_1=5, S_2=10, S_3=15 ds/m) تشکیل شده بود. آزمایش در محل آزمایشگاه تحقیقات دانشکده کشاورزی دانشگاه زابل اجرا گردید. به منظور محاسبه غلظت محلول کلریدسدیم از معادله زیر استفاده شد:

$$TDS= EC \times 0.64$$

که در آن EC هدایت الکتریکی بر حسب دسی‌زیمنس بر متر و TDS میزان نمک مورد استفاده بر حسب گرم در لیتر می‌باشد. پتانسیل مختلف هر یک از سطوح تنش خشکی با استفاده از فرمول میشل و کافمن (Michel and Kaufman, 1973) و با استفاده از پلی‌اتیلن‌گلیکول ۶۰۰۰ تهیه و برای سطح شاهد خشکی از آب مقطر استفاده شد.

مرحله اول (بررسی آزمایشگاهی): شامل ارزیابی جوانه‌زنی بذرهای گلرنگ رقم گلدشت در شرایط کنترل‌شده آزمایشگاه تحت تنش‌های خشکی و شوری بر اساس استاندارد انجمن بین‌المللی آزمون بذر (ISTA) بود (Kamkar *et al*., 2011). بذرها به مدت ۳۰ ثانیه در محلول ۱۰ درصد هیپوکلریت‌سدیم غوطه‌ور و سپس به طور کامل با آب دیونیزه شست‌وشو گردید. تعداد ۱۵ عدد بذر به پتری‌دیش‌های شیشه‌ای استریل که کف آنها یک عدد کاغذ صافی واتمن قرار گرفته بود منتقل شد. برای اعمال تیمارهای موردنظر ۲ میلی‌لیتر از محلول‌های تهیه‌شده به پتری‌دیش‌ها اضافه شده و پس از آن به مدت ۱۰ روز (پایان جوانه‌زنی) در شرایط دمای آزمایشگاه باقی ماند. شمارش بذرهای جوانه‌زده به صورت روزانه (هر ۲۴ ساعت) انجام شد. بازدید از بذرها دو بار در روز صورت گرفت و معیار بذرهای جوانه‌زده، خروج ریشه‌چه به اندازه ۲ میلی‌متر یا بیشتر بود. در طول آزمایش در صورت نیاز از آب مقطر و محلول‌های تهیه‌شده استفاده گردید. برای محاسبه درصد جوانه‌زنی از رابطه زیر استفاده گردید (Agrawal, 1991):

$$GP=100\ (NG/NT)$$

که در آن NG تعداد بذرهای جوانه‌زده و NT تعداد کل بذرها می‌باشد. محاسبه سرعت جوانه‌زنی نیز توسط رابطه زیر صورت گرفت.

$$GR=\sum_{i=1}^{n}\frac{S_i}{D_i}$$

GR= سرعت جوانه‌زنی (تعداد بذر در روز)، S_i = تعداد بذر جوانه زده در هر شمارش و D_i= تعداد روز تا شمارش n ام می‌باشد.

مرحله دوم (بررسی گلخانه‌ای): بذور جوانه‌زده گلرنگ از پتری‌دیش‌ها به درون گلدان‌هایی با ارتفاع ۱۳/۵ و قطر دهانه ۱۵/۵ سانتی‌متر منتقل گردید. آبیاری اول بلافاصله پس از کشت انجام شده از این مرحله به بعد آبیاری گلدان‌ها هر ۳ روز یک بار انجام گرفت. در مرحله ۶-۴ برگی از برگ‌های جوان نمونه‌برداری برای سنجش صفات تهیه گردید. اندازه‌گیری رنگیزه‌های فتوسنتزی به روش آرنون (Arnon, 1976) صورت گرفت.

جهت استخراج عصاره آنزیمی به منظور سنجش آنزیم‌ها، ۰/۲ گرم از بافت سبز برگ برداشته و با ۴

میلی‌لیتر بافر Ice-cold extraction در هاون سرد کاملاً ساییده و همگنای حاصل به مدت ۱۵ دقیقه با دور ۱۴۰۰۰ سانتریفیوژ گردید. سپس فاز شفاف بالایی به عنوان عصاره پروتئینی برای سنجش فعالیت آنزیمی استفاده گردید. این عملیات در دمای ۴ درجه سلسیوس انجام گرفت. در نهایت اندازه‌گیری فعالیت آنزیم کاتالاز با روش بیزر و سیزر (Beers and Sizer, 1952)، آنزیم آسکوربات‌پراکسیداز از روش ناکانو و آسادا (Nakano and Asada, 1981) و گلوتاتیون‌پراکسیداز از روش اوبانک و همکاران (Urbanek *et al*., 1991) انجام شد. قرائت‌ها با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر مدل BTS-45 به ترتیب در طول موج‌های ۲۴۰، ۲۹۰ و ۴۷۰ نانومتر صورت گرفت. تغییرات جذب به دست آمده در زمان یک دقیقه، به ضریب خاموشی مولی واکنش که برای هر آنزیم یاد شده به‌ترتیب برابر ۳۶، ۲/۸ و ۲۶/۶ بر مول در سانتی‌متر ($M^{-1}.cm^{-1}$) است تقسیم شد و فعالیت آنزیمی بر حسب میکرومول پراکسید هیدروژن بر میلی‌گرم پروتئین در دقیقه بیان شد. به منظور انجام محاسبات آماری از نرم‌افزارهای SAS و MSTATC استفاده شد. مقایسات میانگین‌ها نیز با استفاده از آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح احتمال ۵ درصد انجام شد.

نتایج و بحث

اثرات تنش خشکی

مؤلفه‌های جوانه‌زنی

بررسی نتایج نشان داد اثر سطوح مختلف پتانسیل اسمزی ناشی از پلی‌اتیلن‌گلایکول بر درصد و سرعت جوانه‌زنی در سطح احتمال ۱ درصد معنی‌دار بود (جدول ۱). سطح عدم تنش بیشترین جوانه‌زنی (۷۶/۶۳ درصد) و سرعت جوانه‌زنی (۴/۱۷ در روز) را دارا بود. درصد و سرعت جوانه‌زنی با کاهش پتانسیل اسمزی روند کاهشی و مشابهی را نشان داد. این صفات در سطوح تنشی مورد بررسی در کلاس‌های مختلف آماری قرار گرفتند، به طوری که خشکی ۶- بار در مقایسه با شاهد درصد و سرعت جوانه‌زنی را معادل ۸۹/۱۶ و ۸۳/۷۷ درصد کاهش داد (جدول ۲).

سید شریفی و سید شریفی (Seyed-sharifi and Seyed-sharifi, 2008) در چهار رقم گلرنگ گزارش نمودند که با افزایش سطوح خشکی ناشی از پلی‌اتیلن‌گلایکول از صفر تا ۸- بار، درصد و سرعت جوانه‌زنی به‌طور معنی‌داری کاهش می‌یابد. هر چند که در بین ارقام تفاوت‌هایی وجود دارد. با توجه به این که آب یکی از عوامل اصلی فعال‌کننده جوانه‌زنی است و قابلیت دسترسی به آب با کاهش پتانسیل اسمزی کاهش می‌یابد بنابراین، پتانسیل آب محیط تأثیر مستقیمی بر سرعت جذب آب و در نتیجه جوانه‌زنی دارد (Broumand-Rezazadeh and Kouchaki, 2005). کاهش جوانه‌زنی تحت تأثیر خشکی به کاهش رطوبت و تأثیر آن بر ساخت پروتئین‌ها و ترشح هورمون‌ها نیز نسبت داده شده است (Cramer *et al*., 1991).

رنگدانه‌های فتوسنتزی

نتایج نشان داد تیمارهای خشکی از نظر محتوای کلروفیل a، کلروفیل b، مجموع کلروفیل‌ها و همچنین نسبت کلروفیل a به b در سطح احتمال ۱ درصد اختلاف معنی‌داری داشتند (جدول ۱). با افزایش سطوح خشکی ناشی از پلی‌اتیلن گلایکول کلروفیل‌های a و b کاهش یافت. به‌طوری که طبق دسته‌بندی در گروه‌های مختلفی قرار گرفتند. بیشترین میزان رنگدانه‌های فتوسنتزی در شاهد ثبت گردید. در سطح ۶- بار تنش کمبود آب کلروفیل‌های a و b به‌ترتیب ۲۰/۴۳ و ۳۵/۱۴ درصد در مقایسه با شاهد کاسته شد و در سطح ۸- بار این کاهش شدیدتر گردید. تغییرات مجموع کلروفیل‌ها نیز آهنگی مشابه با کلروفیل a و b داشت. همان‌طور که

از نتایج جدول ۲ استنباط می‌گردد آهنگ کاهش کلروفیل b شدیدتر از کلروفیل a است به همین جهت نسبت کلروفیل a به b در سطح ۸- بار تنش اسمزی بیشتر از دو سطح دیگر به دست آمده و البته سطح شاهد و پتانسیل ۶- بار از نظر تأثیر بر نسبت کلروفیل a به b، اختلاف معنی‌داری با هم نداشته با این حال میانگین نسبت کلروفیل‌ها برای تیمار شاهد ۱۳/۲۸ درصد نسبت به تیمار ۶- بار کاهش نشان داد. محققان معتقدند خشکی باعث شکسته شدن کلروپلاست، کاهش تشکیل پلاستیدهای جدید کلروفیل‌های a و b و کاروتن و در نهایت تغییر نسبت کلروفیل‌ها می‌گردد و احتمال کاهش بیشتر در کلروفیل b در مقایسه با کلروفیل a محتمل‌تر است (Kafi *et al*., 2012).

به نظر می‌رسد واکنش گیاهان در مواجهه با پتانسیل‌های اسمزی و اثر آن بر کاهش حداقلی یا حداکثری محتوای رنگدانه‌های فتوسنتزی متفاوت است. در این رابطه نتایج تحقیقات برخی پژوهندگان نتیجه تحقیق کنونی را تضعیف یا تقویت می‌نمایند، به طوری که سی‌وسه مرده و همکاران (Sio-se mardeh *et al*., 2004) در آزمون تنش خشکی بر گندم نتیجه‌ای مشابه گزارش نموده، در حالی که ثمن و همکاران (Saman *et al*., 2011) در آزمایش گلخانه‌ای تنش خشکی بر شش ژنوتیپ نخود اثرات منفی کاهش رطوبت قابل دسترس گیاه را به صورت کاهش بیشتر کلروفیل a نسبت به b بیان کردند.

شکل ۱ برهمکنش تنش‌های خشکی و شوری بر محتوای کلروفیل b در برگ گلرنگ را نشان می‌دهد. بر اساس نتایج این آزمایش، تأثیر پتانسیل‌های مختلف تنش خشکی بستگی به میزان افزایش نمک‌های محلول در آب داشت و مصرف سطوح بیشتر کلریدسدیم باعث کاهش در میزان کلروفیل b برگ گردید. کاهش کلروفیل b در تیمارهای شاهد پلی‌اتیلن‌گلایکول در مقایسه با دو سطح دیگر، تحت تأثیر سطوح شوری بسیار محسوس‌تر بود.

کاهش محتوای کلروفیل تحت تنش خشکی مورد تأیید کاسر و همکاران (Kauser *et al*., 2006) در گیاه *Jatropha curcas* نیز هست. تخریب کلروپلاست‌ها و تجزیه کلروفیل در اثر فعالیت آنزیم کلروفیلاز و پراکسیداز از جمله عوامل مؤثر بر کاهش غلظت رنگدانه‌های فتوسنتزی در شرایط تنش کمبود آب محسوب می‌شوند (Saman *et al*., 2011). پیشنهاد شده است که پایداری کلروفیل می‌تواند به عنوان معیاری برای گزینش ارقام مقاوم به خشکی مورد استفاده قرار گیرد (Kafi *et al*., 2012).

آنزیم آسکوربات‌پراکسیداز

بر اساس نتایج فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز تحت تأثیر سطوح خشکی ($p \leq ۰/۰۱$) قرار گرفت (جدول ۱). سطح ۶- بار خشکی در مقایسه با شاهد ۷۷/۳۸ درصد فعالیت APX را افزایش داد اما در پتانسیل ۸- بار کاهش معنی‌داری در فعالیت APX مشاهده گردید (جدول ۲). به عبارتی آستانه خشکی برای کاهش فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز در مرحله گیاهچه برای رقم گلدشت گلرنگ پتانسیل ۸- بار بود (شکل ۲). افزایش فعالیت آنزیمی در خشکی با شدت کمتر (پتانسیل ۶- بار) نسبت به تنش شدیدتر (پتانسیل ۸- بار)، نشان‌دهنده وجود یک مکانیزم مؤثر برای از بین بردن گونه‌های فعال اکسیژن توسط APX در خشکی متوسط و احتمال تخریب این سیستم در خشکی‌های بالاتر به دلیل افزایش بیش از حد رادیکال‌های آزاد است. به نظر می‌رسد بافت‌های تولیدکننده این آنزیم در تنش‌های ملایم حساس‌تر هستند.

ضرابی و همکاران (Zarabi *et al*., 2010) در بررسی اثرات تنش خشکی بر شش رقم زیتون تحت

تأثیر شرایط شاهد و ۱/۵- مگاپاسکال با سه دوره متناوب (تنش خشکی و آبیاری مجدد) طی دو سال در شرایط گلخانه بر زیتون بیان کردند APX تأثیر چندانی از این شرایط نمی‌پذیرد. مشابه این نتایج، نوری‌پور سی‌سخت و احسان‌زاده (Nouripour sisakht and Ehsanzadeh, 2012) به این نتیجه رسیدند کم‌آبی متوسط (۱۰۵ میلی‌متر تبخیر از تشتک تبخیر کلاس A) نسبت به کم‌آبی شدید موجب کاهش فعالیت APX در کنجد شده است. از نظر محققان این آنزیم به عنوان مهم‌ترین آنتی‌اکسیدان در گیاه، احیاکننده بسیاری از رادیکال‌های آزاد به خصوص پراکسید هیدروژن عمل می‌کند. بنابراین خسارت تنش اکسیداتیو را به حداقل می‌رساند (Kafi *et al*., 2012).

آنزیم کاتالاز

فعالیت کاتالازی متأثر از سطوح مختلف تنش خشکی ناشی از پلی‌اتیلن‌گلایکول در سطح احتمال ۱ درصد بود (جدول ۱). کمترین فعالیت آنزیم CAT در تیمار شاهد بوده و افزایش شدت تنش سبب افزایش معنی‌دار فعالیت این آنزیم در سطوح بالاتر نسبت به شاهد گردید (جدول ۲). تحت تنش خشکی که مقدار جذب و ترکیب دی‌اکسیدکربن به علت منع بازشدن روزنه‌ها کاهش می‌یابد انرژی داخلی افزایش یافته، ظرفیت انتقال الکترون حاصل از فتوسنتز به طرف تجمع می‌رود و به دنبال آن افزایش گونه‌های فعال اکسیژن رخ می‌دهد. این امر نیز سبب پراکسیداسیون لیپیدها و دناتوره‌شدن پروتئین‌ها می‌گردد. در همین‌جاست که آنزیم‌هایی نظیر CAT و GPX به عنوان آنزیم‌های اکسیداتیو فعال‌تر می‌شوند (Hiaso, 1973). به طوری که در پژوهش فوق نیز این افزایش آنزیمی دیده شد و چنین به نظر می‌رسد که در گیاه گلرنگ برای کاهش اثرات تنش کم‌آبی ناشی از پلی‌اتیلن‌گلایکول تا سطح ۸- بار، در مرحله گیاهچه‌ای آنزیم ضداکسیده کاتالاز فعال است. کاتالاز می‌تواند نقش مهمی در کاهش تنش اکسیداتیو بازی کند (Kafi *et al*., 2012).

آنزیم گلوتاتیون‌پراکسیداز

فعالیت این آنزیم تحت تأثیر ($p\leq$۰/۰۱) تنش خشکی قرار گرفت (جدول ۱) و به طور معنی‌داری در تیمارهای ۶- و ۸- بار تنش خشکی در مقایسه با نمونه شاهد افزایش یافت (جدول ۲). افزایش فعالیت GPX در مواجهه با تنش کم‌آبی حاکی از فعال‌بودن و تأثیر این آنزیم بر میزان تحمل به خشکی و پایداری بیشتر آن در مقابل پیشرفت پتانسیل اسمزی ناشی از پلی‌اتیلن‌گلایکول تا ۸- بار است (شکل ۳). قربانلی و همکاران (Ghorbanli *et al*., 2010) در گیاه سیاه‌دانه فعالیت آنزیم گلوتاتیون‌پراکسیداز را در تنش یک‌سوم ظرفیت زراعی در مقایسه با شاهد، و طلایی و همکاران (Talaei *et al*., 2011) نیز در گیاه انگور و در شرایط گلدانی فعالیت آنزیم مذکور را در سطوح ۶- و ۱۰- بار در مقایسه با سطح ۲- بار پتانسیل اسمزی افزایشی گزارش نمودند.

اثرات تنش شوری

مؤلفه‌های جوانه‌زنی

بر اساس نتایج تجزیه واریانس اثر سطوح تنش شوری بر درصد و سرعت جوانه‌زنی بذرها معنی‌دار بود (جدول ۱). بیشترین میزان درصد و سرعت جوانه‌زنی در تیمار ۵ دسی‌زیمنس بر متر شوری ثبت گردید. درصد و سرعت جوانه‌زنی تحت تأثیر شوری با کاهش پتانسیل آب روند کاهشی معنی‌داری را نشان داد، به‌طوری که در سطح ۱۰ دسی‌زیمنس بر متر تنش نمک درصد جوانه‌زنی نسبت به شاهد از ۴۹/۹۷ به ۴۲/۱۹ درصد، و سرعت جوانه‌زنی از ۲/۷۷ به ۲/۲۴ در روز کاسته شد. در بالاترین سطح تنش اسمزی نیز ۳۴/۴۴ و ۴۹/۷۳ درصد در مقایسه با شاهد کاهش در درصد و سرعت جوانه‌زنی مشاهده گردید (جدول ۲).

مطابق نتایج مقایسات میانگین (جدول ۲) در تحقیق کنونی اثرات تنش شوری بر کاهش مؤلفه‌های جوانه‌زنی شدیدتر از تنش خشکی بود.

برومندرضازاده و همکاران (Broumand-Rezazadeh *et al*., 2005) معتقدند در بذر زنیان، رازیانه و شوید از تنش خشکی نسبت به تنش شوری تأثیر منفی شدیدتری بر درصد و سرعت جوانه‌زنی ایجاد می‌گردد. احتمالاً واکنش گیاهان دارویی به محرک‌های محیطی متفاوت است. پولجاکوف و همکاران (Poljakoff *et al*., 1994) کاهش جوانه‌زنی بذر تحت تنش شوری را به دلیل تأثیر مستقیم کلرور سدیم بر رشد جنین گزارش کرده‌اند. شوری با کاهش پتانسیل آب از طریق اثرات سمیت یون‌های سدیم و کلر جوانه‌زنی بذرها را تحت تأثیر قرار می‌دهد.

رنگدانه‌های فتوسنتزی

غلظت کلروفیل برگ شاخص مستقیم سلامتی گیاه و وضعیت رشد آن است. همچنین می‌تواند شاخصی از فعالیت فتوسنتزی گیاه باشد (Zarabi *et al*., 2010). تجزیه واریانس (جدول ۱) نشان داد افزایش شوری از ۵ به ۱۰ دسی‌زیمنس بر متر به ترتیب کاهشی معادل ۷/۵۶ و ۱۵/۳۳ درصد در کلروفیل a و b ایجاد نمود و این کاهش در ۱۵ دسی‌زیمنس بر متر شوری در مقایسه با شاهد به ترتیب ۱۵/۷۳ و ۲۶/۶۸ درصد بود. مجموع کلروفیل‌های a و b نیز از سطوح شوری تأثیر پذیرفته و با افزایش سطوح شوری، روندی کاهشی نشان داد (جدول ۲). همان‌طور که نحوه تأثیرات سطوح شوری بر محتوای رنگدانه‌های فتوسنتزی به صورت درصد در سطور پیشین بیان گردید، نسبت کلروفیل‌ها در هر سطح تغییر چندانی از نظر اثرات شوری نشان نمی‌دهد، بنابراین اثر شوری نیز بر نسبت کلروفیل a/b معنی‌دار نبود. کاهش محتوای کلروفیل که از عوامل مهم تأثیرگذار بر ظرفیت فتوسنتزی می‌باشد با افزایش سطوح شوری موجب ناکارآمدی برگ‌ها در انجام فتوسنتز و تشدید صدمات ناشی از تنش می‌گردد (Jiang and Huang, 2001). علت کاهش کلروفیل را می‌توان ناشی از تجزیه کلروفیل در نتیجه برآیند تنش‌های شوری و خشکی و آسیب‌های اکسیداتیو ناشی از آن دانست.

آنزیم آسکوربات‌پراکسیداز

فعالیت آنزیم APX در سطح احتمال ۱ درصد تحت تأثیر تیمار شوری قرار گرفت (جدول ۱). به‌طوری که سطوح شوری ۱۰ و ۱۵ دسی‌زیمنس بر متر به ترتیب موجب افزایشی معادل ۲۰/۵۵ و ۴۵/۹۵ درصد در فعالیت این آنزیم شد (جدول ۲). آنزیم آسکوربات پراکسیداز نقش مهمی در فعالیت روزنه‌ها از طریق تنظیم غلظت پراکسیدهیدروژن در سلول گیاهی تحت تنش شوری دارد؛ چرا که غلظت این ترکیب به عنوان یکی از سیگنال‌های مهم در به حرکت درآوردن سلول‌های محافظ روزنه عمل می‌کند (Chen and Gallie, 2004). شواهدی موجود است که افزایش فعالیت APX تحت شوری را تأیید می‌کند (Haidari and Mesri, 2010; Nasibi *et al*., 2012). مطالعه برهمکنش خشکی و شوری بر فعالیت APX نشان داد بیشترین میزان فعالیت این آنزیم در تیمار P_2N_3 (خشکی ۶- بار و شوری ۱۵ دسی‌زیمنس بر متر) بوده است. بسته به میزان حساسیت گونه گیاهی، مرحله رشد، شدت و مدت تنش غلظت و فعالیت آنزیم‌های ضداکسنده تغییر خواهند نمود. پیشنهاد می‌شود فعالیت آنزیم APX در شرایط تحمیل توأم تنش‌های خشکی و شوری در مرحله ۶-۴ برگی در ریحان، در مواجهه با شوری کارایی بیشتری از خود نشان دهد.

آنزیم کاتالاز

نتایج تجزیه آماری در جدول ۱ نشان داد تفاوت معنی‌داری بین فعالیت CAT در سطوح مختلف تنش

شوری وجود داشت. در این بین با بالارفتن میزان شوری از فعالیت این آنزیم کاسته شد، به طوری که بالاترین فعالیت CAT در سطح ۵ دسی‌زیمنس بر متر شوری و به میزان ۰/۰۲۵ ($\mu molH_2O_2$/min.mg.protein) ثبت گردید (جدول ۲). سیرام و همکاران (Siaram *et al*., 2002) از تشکیل گونه‌های مختلف رادیکال‌های اکسیژن و افزایش فعالیت بعضی از آنزیم‌های ضداکسنده در طی بروز تنش شوری در گندم بیان کردند. با تکیه بر مطالب عنوان شده همه آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان در طی اعمال تنش شوری افزایش پیدا نمی‌کنند بلکه بسته به گونه گیاهی، مرحله نمو، غلظت، توزیع و نوع نمک در اندام‌های مختلف گیاه برخی از این آنزیم‌ها افزایش می‌یابند. شواهد بسیار خوبی مبنی بر کاهش فعالیت CAT به وسیله رادیکال‌های سوپراکسید و سایر گونه‌های فعال اکسیژن تحت شرایط تنش شوری وجود دارد. دهقانی و مستأجران (Dehghani and Mostajeran, 2010) دریافتند CAT در گیاه زنجبیل با افزایش غلظت نمک در محیط ریشه تا ۶ و ۸ دسی‌زیمنس بر متر کاهش می‌یابد.

انگل و همکاران (Engel *et al*., 2006) نیز معتقدند فعالیت کاتالاز توسط یک واکنش نیمه حساس و وابسته به پراکسیدهیدروژن غیرفعال می‌گردد. در پژوهش حاضر غلظت پایین نمک سبب افزایش فعالیت CAT گردیده اما با افزایش غلظت یون سدیم در سطوح شوری بالاتر، کاهش در فعالیت این آنزیم حادث گردید. پیشنهاد شده است آسیب ناشی از ورود نمک در سطوح بالاتر شوری سیستم سنتز پروتئین را دچار اختلال نموده و این سیستم قادر به بیان ژن‌های کدکننده آنزیم کاتالاز نبوده است و میزان بیش از حد رادیکال‌های آزاد مسئول ایجاد این تغییرات است (Alcher *et al*., 2002).

آنزیم گلوتاتیون‌پراکسیداز

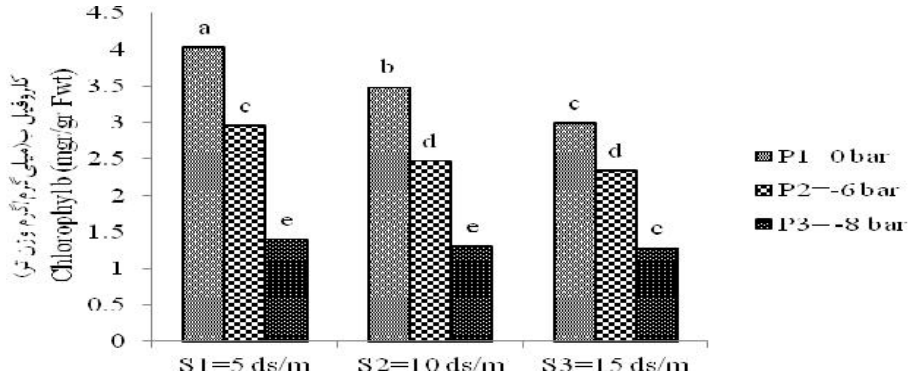
نتایج تجزیه آماری داده‌ها نشان داد تفاوت معنی‌داری بین سطوح مختلف تنش کلریدسدیم بر فعالیت GPX وجود داشت و با بالارفتن میزان شوری تا ۱۵ دسی‌زیمنس بر متر به تدریج از فعالیت GPX کاسته شد. این کاهش در ۱۰ و ۱۵ دسی‌زیمنس بر متر در مقایسه با سطح اول تنش نمک به ترتیب ۲۹/۶۳ و ۶۶/۶۷ درصد بود (جدول ۲). گزارشاتی مبنی بر کاهش آنزیم GPX در گیاهان کلزا (Haidari *et al*., 2010) و گندم (Haidari and Mesri, 2010) تحت تیمار با شوری وجود دارد. مطالعه اثرات متقابل تنش‌های اسمزی ناشی از پلی‌اتیلن‌گلایکول و کلریدسدیم بر GPX بیشترین میزان فعالیت این آنزیم را در P_3S_1 (۸- بار تنش خشکی و ۵ دسی‌زیمنس بر متر شوری) به دست داد. به طوری که مشاهده می‌شود آنزیم ضداکساینده GPX و CAT در گیاه دارویی گلرنگ تحت این شرایط کارایی بیشتری در مقاومت به تنش خشکی، و در مقابل APX کارایی بیشتری در مواجهه گیاه و محافظت از آن تحت تنش شوری داشته است. می‌توان نتیجه گرفت بسته به گونه گیاهی و نوع تنش آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان خاصی جهت تحمل تنش فعال می‌شوند. برای مثال حیدری و مصری (Haidari and Mesri, 2010) گزارش نمودند در ارقام مختلف گندم تحت تیمار با شوری‌های صفر تا ۳۰۰ میلی‌مولار کلریدسدیم تنها بر میزان فعالیت آسکوربات‌پراکسیداز (۰/۰۲۱ تا ۰/۰۳۲ میکرومول H_2O_2 بر میلی‌گرم پروتئین در دقیقه) افزوده شد در حالی‌که از فعالیت دو آنزیم کاتالاز (۰/۰۲۹ تا ۰/۰۲۴) و گلوتاتیون پراکسیداز (۱/۳۹ تا ۱/۰۲ میکرومول H_2O_2 بر میلی‌گرم پروتئین در دقیقه) کاسته شد. این موضوع می‌تواند به نوعی بیانگر این باشد که در این مرحله از رشد مکانیزم‌های دیگری نظیر تنظیم اسمزی، بهتر و

مؤثرتر از آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان در مقاومت به شوری گندم دخالت دارند.

نتیجه‌گیری کلی

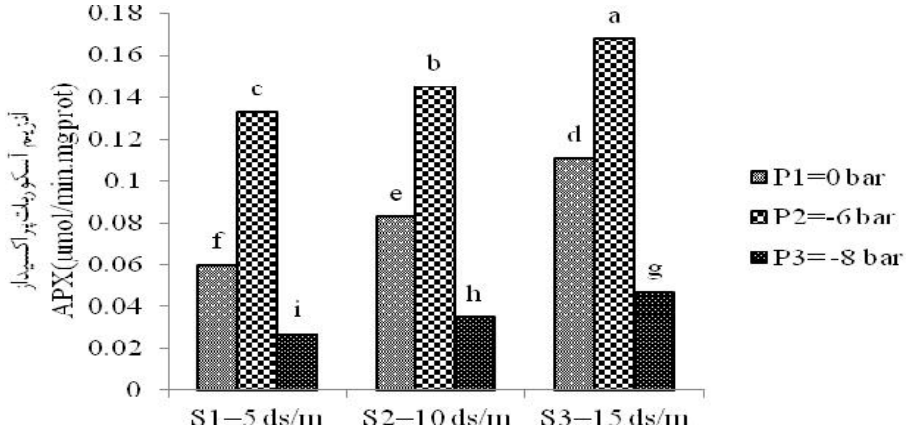
جمع‌بندی نتایج نشان داد افزایش نمک‌های محلول در آب (در محدوده ۵ تا ۱۵ دسی‌زیمنس بر متر) و بروز خشکی (صفر تا ۸- بار) در مراحل جوانه‌زنی و رشد اولیه گلرنگ منجر به کاهش درصد و سرعت جوانه‌زنی، محتوای کلروفیل‌های a و b می‌شود. گر چه به‌منظور بیان آستانه تحمل به خشکی و شوری نیاز به تحقیقات جامع‌تری در شرایط آزمایشگاهی، گلخانه‌ای و مزرعه‌ای در ارقام مختلف گلرنگ است، اما چنین به نظر می‌رسد که رقم گلدشت در شرایط آزمایش کنونی قادر است در سطوح تنش خشکی تا ۸- بار و شوری تا ۱۵ دسی‌زیمنس بر متر رشد نماید اما این شرایط با کاهش برخی مؤلفه‌های جوانه‌زنی، رنگدانه‌های فتوسنتزی و تغییر فعالیت برخی آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان همراه خواهد بود.

بر اساس نتایج و با توجه به افزایش فعالیت آنزیم‌های CAT و GPX این‌طور می‌توان استنباط نمود که این دو آنزیم به‌منظور حفاظت گیاه از اثرات سوء تنش خشکی و صدمات اکسیداتیو ناشی از آن تولید می‌شوند. بدیهی است به دلیل قابل‌توجه بودن سطوح شوری اعمال‌شده و با توجه به مرحله رشدی گیاه، کیفیت عمل سیستم آنتی‌اکسیدانی در مواجهه با شوری تنزل یافت و تنها آنزیم APX در این شرایط افزایش نشان داد. این موضوع به نوعی می‌تواند بیانگر بهره‌گیری گیاه از مکانیسم‌های دیگری نظیر تنظیم اسمزی در مقابله با تنش شوری باشد.



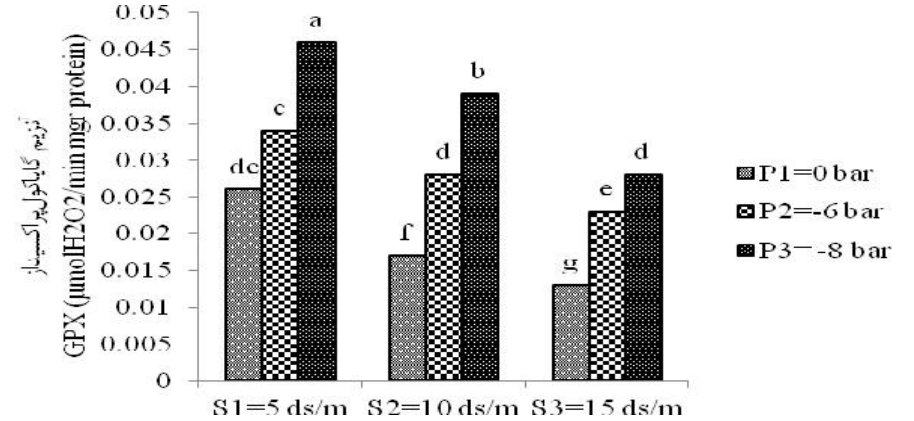
شکل ۱- ترکیب تیماری تنش‌های خشکی و شوری بر محتوای کلروفیل b برگ گلرنگ

Figure 1- Treatment combination of drought and salinity stresses on Chlorophyll b in safflower's leaf



شکل ۲- ترکیب تیماری تنش‌های خشکی و شوری بر فعالیت آسکوربات‌پراکسیداز برگ گلرنگ

Figure 2- Treatment combination of drought and salinity stresses on APX enzyme activity in safflower's leaf



شکل ۳- ترکیب تیماری تنش‌های خشکی و شوری بر فعالیت آنزیم GPX برگ گلرنگ

Figure 3- Treatment combination of drought and salinity stresses on GPX enzyme activity in safflower's leaf

جدول ۱- تجزیه واریانس درصد و سرعت جوانه‌زنی، محتوای کلروفیل و برخی آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان برگ گلرنگ تحت تنش خشکی و شوری

Table 1- Analysis of Variance of germination percentage and rate, chlorophyll content and some anti-oxidant enzymes in safflower's leaf under drought and salinity stresses

منابع تغییر S.O.V.	درجه آزادی df	میانگین مربعات (MS)								
		درصد جوانه‌زنی Germination Percentage	سرعت جوانه‌زنی Germination Rate	کلروفیل کل Total Chl.	کلروفیل b Chlorophyll b	کلروفیل a Chlorophyll a	نسبت کلروفیل a به b Chl. a/b	آسکوربات‌پراکسیداز APX	کاتالاز CAT	گلوتاتیون پراکسیداز GPX
خشکی Drought	2	12522.25**	43.74**	103.17**	14.26**	41.54**	22.82**	0.03802**	0.00046**	0.00106**
شوری Salinity	2	499.08**	2.58**	12.52**	1.06**	6.07**	0.09^{ns}	0.0038**	0.0002**	0.00058**
خشکی × شوری Salinity Drought ×	4	10.48^{ns}	0.21^{ns}	0.12^{ns}	0.22*	0.10^{ns}	0.48^{ns}	0.000248**	0.000016^{ns}	0.000019*
خطا Error	27	23.494	0.16	0.44	0.07	0.56	0.42	0.000027	0.000006	0.0000061
ضریب تغییرات CV (%)		11.24	17.21	5.39	10.60	7.67	14.77	5.76	12.27	8.79

ns، * و ** به ترتیب غیرمعنی‌دار، معنی‌دار در سطح احتمال ۵ و ۱ درصد

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

جدول ۲- مقایسه میانگین درصد و سرعت جوانه‌زنی، محتوای کلروفیل و برخی آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان برگ گلرنگ تحت تنش خشکی و شوری

Table 2- Mean comparisons of germination percentage and rate, chlorophyll content and some anti-oxidant enzymes in safflower's leaf under drought and salinity stresses

تیمارها/ صفات Trials/ Treatments		گایاکول‌پراکسیداز GPX	کاتالاز CAT	آسکوربات‌پراکسیداز APX	نسبت کلروفیل a به b Ch. a/b	کلروفیل کل Total Ch.	کلروفیل b Chlorophyll b	کلروفیل a Chlorophyll a	سرعت جوانه‌زنی Germination Rate	درصد جوانه‌زنی Germination Percentage
		μmol H_2O_2 $min^{-1}mg^{-1}$Prot				mg/gr Fwt			Seed per day	Percent
خشکی Drought	P_1 = 0 bar	0.019c	0.015c	0.084b	3.39b	15.16a	3.50a	11.67a	4.19a	76.63a
	P_2= -6 bar	0.028b	0.02b	0.149a	3.84b	12.27b	2.59b	9.69b	2.28b	40.51b
	P_3= -8 bar	0.037a	0.027a	0.036c	5.97a	9.30c	1.33c	7.95c	0.38c	12.18c
شوری Salinity	S_1=5 ds/m	0.035a	0.025a	0.073c	4.30a	13.30a	2.79a	10.49a	2.77a	49.97a
	S_2=10 ds/m	0.027b	0.020b	0.088b	4.47a	12.19b	2.42b	9.75b	2.24b	42.19b
	S_3=15 ds/m	0.021c	0.016c	0.108a	4.43a	11.26c	2.20b	9.06c	1.85c	37.17c

در هر ستون میانگین‌های دارای حداقل یک حرف مشترک، در سطح احتمال ۵٪ تفاوت معنی‌داری با هم ندارند

* Means in each column, following the same letter(s) are not significantly different at the 5% level of probability

References منابع مورد استفاده

- Agrawal, R.L. 1991. Seed technology. Oxford and IBH Publishing. 658p.
- Arnon, A.N. 1967. Method of extraction of chlorophyll in the plants. *Agronomy Journal*. 23:112-121.
- Beers, G.R., and I.W. Sizer. 1952. Aspectrophotometric method for measuring the breakdown to hydrogen peroxide by catalase. *Biological Chemistry*. 195(1): 133-140.
- Broumand-Rezazadeh, Z., and A.R. Kouchaki. 2005. Seed germination response of Ajowan, Fennel and salt stress due to matric and osmotic potentials of PEG 6000 at different temperatures. *Field Crops Research*. 3(2): 207-217.
- Chen, Z., and D.R. Gallie. 2004. The ascorbic acid redox state controls guard cell signaling and stomata movement. *Journal of Plant Cell*. 16(5): 1143-1162.
- Cramer, G.R., E. Epstein, and A. Lauchli. 1991. Effect of sodium, potassium and calcium on salt – stressed barley. II. Element analysis. *Physiologia Plantarum*. 81(2): 197-202.
- Dehghani, A., and A. Mostajeran. 2010. Effect of salinity on growth and antioxidant enzyme activities in *Zingiber officinale* Roscoe. *Journal of Herbal Drugs.* 1: 1-10. (In Persian).
- Engel, N., M. Schmidt., C. Lutz, and J. Feierabend. 2006. Molecular identification, heterologous expression and properties of light-insensitive plant catalases. *Plant, Cell and Environment*. 29(4): 593-607.
- Fathi-Amirkhiz, K., M. Amini, A.M. Modares-Sanavi, A. Reza-Zadeh, and S. Heshmati. 2011. Effect of iron application on enzymic activity, grain yield and oil content of Safflower under water deficit conditions. *Journal of Crop Sciences*. 13(3): 452-465. (In Persian).
- Geravandi, M., E. Farshad-Far, and D. Kahrizi. 2010. Evaluation of drought tolerance in bread wheat advanced genotypes in field and laboratory conditions. Seed and Seedling Breeding. 1-26(2): 233-242. (In Persian).
- Ghaderi-far, F., W. Akbarpour, F. Khavari, and A. Ehteshamnia. 2012. Determination of salinity tolerance threshold in 6 medicinal plans. *Plant Production.* 18(4): 15-24. (In Persian).
- Ghorbanli, M., Gh. Bakhshi-Khaniki, S. Salimi-Elizeie, and M. Hedayati. 2010. Effect of water deficit and its interaction with ascorbic acid on proline and the activity of CAT and GPX in *Nigella sativa*. *Medicinal and Aromatic Plants Research*. 26(4): 466-476. (In Persian).
- Haidari, M. 2007. Plants response to environmental stresses. First Edit. Aras-rayaneh Press, 96 pp. (In Persian).
- Haidari, M., and F. Mesri. 2008. Salinity effects on compatible solutes, antioxidants enzymes and ion content in three wheat cultivars. *Pakistan Journal of Biological Sciences*. 11(10): 1385-1389.

- Haidari, M., and F. Mesri. 2010. Different levels of salinity on the physiological reactions of potassium and sodium uptake in plants. *Environmental Stress in Crop Sciences*. 3(1): 83-94. (In Persian).
- Haidari, M., F. Mesri, and Z. Keikha. 2010. Effect of salt stress on the metabolism of nucleic acids, antioxidant enzymes, chlorophyll fluorescence and osmotic regulators five varieties of rapeseed. *Crop Science*. 41(3): 491-502. (In Persian).
- Ibrahim, M, N. Zeid, and A. El-semary. 2001. Response of two differentially drought tolerant varieties of maize to drought stress. *Pakistan Journal of Biologicl Sciences*, 4(7): 779-784.
- Jiang, Y., and N. Huang. 2001. Drought and heat stress injury to two cool-season turfgrasses in relation to antioxidant metabolism and lipid peroxidation. *Crop Sciences Society of America*. 41(2): 436-442.
- Kafi, M., A. Borzuie, M. Salehi, A. Kamandi, A. Masumi, and J. Nabati. 2012. Environmental stresses physiology of plants. Second Edition. Jahad-Daneshgahi Publication, Mashhad. 502p. (In Persian).
- Kamkar, B., A. Soltani, and A. Ghaderi. 2011. Seed technology and sciences. Second edition. Jahad-Daneshgahi publication, Mashhad. 500p. (In Persian).
- Kauser, R., H.U. Athar, and M. Ashraf. 2006. Chlorophyll fluorence: A potential indicator for rapid assessment of water stress tolerance in canola. *Pakistan Journal of Botany*. 38(5): 1501-1509.
- Lopez, M., J.M. Humara, A. Casares, and J. Majada. 1999. The effect of temperature and water stress on laboratory germination of *Eucalyptus globulus* Labill. Seeds of different sizes. *INRA, EDP Sciences*, 57(3): 245-250.
- Michel, B.E. and M.R. Kaufmann. 1973. The osmotic potential of polyethylene glycol 6000. *Plant physiology*. 51(5): 914-916.
- Munns, R.1993. Physiological processes limiting plant growth in salin soils: Some dogmas and hypotheses. *Plant, Cell and Environment*, 16(1): 15-24.
- Nakano, Y., and K. Asada. 1981. Hydrogen peroxide is scavenged by ascorbate-specific peroxidases in spinach chloroplasts. *Plant Cell Physiology*. 22(5): 867-880.
- Nasibi, F., Kh. Manouchehri-Kalantari, and N. Fazelian. 2012. Effects of spermidine and Mtylnblue pretreatment on some physiological indices of chamomile *(Matricaria recutita* L.) under salt stress. *Process and Plant Operation*. 1(2):61-73. (In Persian).
- Nouriporsisakht, J., and P. Ehsanzadeh. 2012. Changes in some antioxidant in of sesame, physiological characters' and yield under different irrigation regimes. *Crop Science*. 43(1): 81-91. (In Persian).
- Poljakoff-mayber, A., G.F. Somers., E. Werker, and J.I. Gallagher. 1994. Seeds of *Kosteletzkya virginica (*Malvaceace*)*, their structure, germination and salt tolerance. *American Journal of Botany*. 79(3): 249-256.

- Sairam, R.K., K.V. Rao, and G.C. Srivastava. 2002. Differential response of wheat genotypes to long-term salinity stress in relationto axidative stress. Antioxidant active and osmolyte consentration. *Plant Sciences.* 163(5): 1037-1046.
- Saman, M., A. Sepehri, and G. Ahmadvand. 2011. Dry matter accumulation of metabolites produced consistent in six chickpea genotypes under different levels of soil moisture. *Biology*. 24(4): 373-490. (In Persian).
- Seyed sharif, R.and R. Seyed sharif. 2008. Evaluation the effects of poly ethylene glycol on germination and growth seedling carthamus cultivars. *Journal of Biology.* 21(3): 400-410. (In Persian).
- Shimizu, N., K. Kobayashi, and K. Hayashi. 1984. The reaction of superoxide radical with catalase. Mechanism of the inhibition of catalase by superoxide radical. *Journal of Biological Chemistry*. 259(7): 4414-4418.
- Siosemardeh, A., A. Ahmadi., K. Poustini, and H. Ebrahimzadeh. 2004. Stomatal and non-stomatal factor controlling photosynthesis and its relationship with drought resistance in wheat. *Agricultural Sciences*. 35(1): 93-106. (In Persian).
- Talaei, A., N. Ghaderi., A. Ebadi, and H. Lesani. 2011. Biochemical responses of two grapevine cultivars to soil water potential changes. *Iranian Horticultural Science*. 42(3): 301-308. (In Persian).
- Tamedi, M., Z. Khoda-Rahmpour, and H. Naseri-Rad. 2011. Study of physiologic tolerance of Safflower *(Carthamus tinctorius* L.) genotype on salinity stress in germination stage and seedling growth. *Crop Breeding*. 3(8): 81-93. (In Persian).
- Urbanek, H., E. Kuzniak-Gebarowska, and K. Herka. 1991. Elicitation of defense responses in bean leaves by Botrytis cinerea polyglacturonase, *Acta physiologia Plantarum*. 13(1): 43-50.
- Zarabi, M., A. Talaei., A. Solaimani, and R. Hadad. 2010. Physiological and biochemical changes of six olive cultivars under drought stress. *Horticultural Science*. 24(2): 234-244. (In Persian).

Changes of Germination Properties, Photosynthetic Pigments and Anti Oxidant Enzymes Activity of Safflower as Affected by Drought and Salinity Stresses

Sirousmehr, A[1]., J. Bardel[2*], and S. Mohammadi[3]

Received: January 2014, Accepted: 21 September 2014

Abstract

To evaluate the effects of drought and salinity stresses on some germination characteristics, contents of photosynthetic pigments and antioxidant enzymes (CAT, APX and GPX) in the leaves of safflower, a factorial experiment based on CRD was conducted during 2012 at both laboratory and greenhouse of Zabol University with four replications. To expose the plants to drought (0, -6 and -8 bars) and salinity stresses (5, 10 and 15 $ds.m^{-1}$) PEG 6000 and NaCl were used respectively. The results indicated that the effects of factors on germination percentage and rate, chlorophyll a and b contents and antioxidants enzymes activities were significant. The result of laboratory study revealed a reduction in percentage and speed of germination when plants exposed to negative osmotic potential. Photosynthetic pigments of plant leaves grown in greenhouse significantly decreased by increasing drought and salinity stresses. Increasing drought stress along with soluble salts changed the activity of some antioxidant enzymes. Enzymes' activity of both CAT and GPX were increased when the plants expose to PEG drought stress, but decreased against the levels of salt stress. APX activity also increased due to drought stress. Interactive effects of drought×salinity stresses indicated that under lower stress GPX enzymes increased salinity, and under severe stress APX was highly increased. It means the production and activity of plant defensive system like these enzymes in recent tensions and leads to protect or make plants tolerate against oxidative stress induced by drought and salinity.

Key words: Antioxidant enzymes, Germination, Chlorophyll, Safflower.

1- Assistant Prof., College of Agriculture, University of Zabol, Zabol, Iran.
2- MSc. Student of Medicinal Plant, College of Agriculture, University of Zabol, Zabol, Iran.
3- MSc. Student of Agroecology, College of Agriculture, University of Zabol, Zabol, Iran.
**** Corresponding Author:*** *jamile.bardel@yahoo.com*