به‌زراعی کشاورزی
دوره ۱۹ ■ شماره ۳ ■ پاییز ۱۳۹۶
صفحه‌های ۶۸۶-۶۷۱

بررسی بهبود صدمات تنش شوری در دانهال‌های خرمندی (*Diospyros lotus* L.) با پوتریسین و کیتوزان

فریبا رضایی‌آدریانی[۱]، آیت‌اله رضایی[۲]، اورنگ خادمی[۲]* و یاور شرفی[۲]

۱. کارشناسی‌ارشد، گروه باغبانی، دانشکدهٔ کشاورزی، دانشگاه شاهد، تهران، ایران
۲. استادیار، گروه باغبانی، دانشکدهٔ کشاورزی، دانشگاه شاهد، تهران، ایران

تاریخ وصول مقاله: ۱۳۹۵/۰۷/۱۲ تاریخ پذیرش مقاله: ۱۳۹۵/۰۹/۱۵

چکیده

شوری یکی از مهم‌ترین عوامل محدودکنندهٔ رشد گیاهان است که با استفاده از مواد تعدیل‌دهندهٔ تنش می‌توان از آثار نامطلوب آن کاست. در این پژوهش پاسخ دانهال‌های خرمندی به تنش شوری کلرید سدیم و اثر دو ترکیب پوتریسین و کیتوزان بر کاهش آثار ناشی از شوری بررسی شد. آزمایش در دانشگاه شاهد، در سال ۹۵-۱۳۹۴، به‌صورت فاکتوریل، شامل سه سطح کلرید سدیم (۰، ۳۰ و ۶۰ میلی‌مولار) و پنج تیمار ضدتنش (شاهد، پوتریسین در دو غلظت ۱ و ۲ میلی‌مولار و کیتوزان در دو غلظت ۰/۲۵ و ۰/۵ درصد) بر پایهٔ طرحی کاملاً تصادفی با چهار تکرار اجرا شد. نتایج نشان داد که گیاه خرمندی در مراحل اولیهٔ رشد، حساس به تنش شوری بود و کاهش معناداری در وزن تر ساقه، وزن تر ریشه، طول ساقه، طول ریشه و مقدار کلروفیل برگ در دانهال‌های تیمارشده با تنش شوری کلرید سدیم در مقایسه با شوری صفر مشاهده شد. در حالی که مقدار سدیم، درصد سوختگی برگ، درصد نشت یونی و مقدار مالون دی‌آلدهید در دانهال‌های تنش شوری کلرید سدیم افزایش یافت. تیمار پوتریسین، به‌خصوص در غلظت ۲ میلی‌مولار به‌طور معناداری آثار ناشی از تنش شوری کلرید سدیم را در دانهال‌های خرمندی کاهش داد و موجب بهبود رشد رویشی ریشه و ساقه شد، در حالی که تیمار کیتوزان اثر معناداری در کاهش آثار مضر ناشی از تنش شوری در این آزمایش نشان نداد. بنابراین، دانهال خرمندی حساس به شوری و از جمله تیمارهای مؤثر در افزایش تحمل آن به تنش شوری استفاده از پوتریسین است.

کلیدواژه‌ها: خرمالو، رشد رویشی، کلروفیل، کلرید سدیم، مواد ضدتنش.

* نویسنده مسئول Email: o.khademi@shahed.ac.ir

۱. مقدمه

خرمندی (*Diospyros lotus* L.) متعلق به خانوادهٔ آبنوس[1] و پایه‌ای برای خرمالوی خوراکی (*Diospyros kaki* Thunb.) مطرح است [۳۷]. روش اصلی ازدیاد خرمالوی خوراکی، پیوند آن روی دانهال‌های حاصل از خرمندی یا خرمالوی آمریکایی (*Diospyros virginiana* Thunb.) است [۲۸]. در چین و ژاپن از خرمندی به‌عنوان پایه برای خرمالوی خوراکی استفاده می‌شود. در ایران نیز استفاده از این پایه عمومیت بیشتری دارد، زیرا دارای ریشه‌های منشعب است و جابه‌جایی و استقرار درختان بهتر انجام می‌گیرد. علاوه‌بر آن، به‌طور طبیعی در جنگل‌های شمال ایران گسترش دارد و تهیهٔ بذر آن آسان است [۴، ۱۸، ۲۸]. خرمندی نسبت به بیشتر گونه‌های جنس *Diospyros* تحمل بیشتری نسبت به خشکی دارد، ولی در مقایسه با نوع آمریکایی تحمل آن به سرما کمتر است [۲۸].

تنش شوری از مهم‌ترین عوامل محدودکنندهٔ کشت و پرورش درختان به‌شمار می‌رود [۳۶]. تنش شوری بر فرایندهای عمده‌ای از قبیل رشد، فتوسنتز، سنتز پرولین و سوخت‌وساز چربی تأثیر دارد. رادیکال‌های آزاد تولیدشده در شرایط تنش ممکن است موجب آسیب اکسایشی در ساختار سلولی، پروتئین‌ها، لیپیدهای غشا و مولکول‌های حیاتی همچون DNA و RNA شود [۲۹، ۳۴]. خرمالوها از جمله خرمالوی خوراکی و خرمالوی آمریکایی درختانی حساس به تنش شوری و خشکی شناخته می‌شوند [۱۸]، ولی در خصوص پاسخ خرمالوها، به‌خصوص خرمندی، به تنش شوری اطلاعات چندانی در دسترس نیست.

پلی‌آمین‌ها شامل پوتریسین (دی‌آمین)، اسپرمیدین (تری‌آمین) و اسپرمین (تتراآمین) و ترکیباتی با وزن مولکولی کم و آمین‌های آلیفاتیک کوچک است [۲، ۸]. در گیاهان تحت شرایط تنش شوری و دیگر عوامل غیرزیستی، مقدار پلی‌آمین‌ها به‌طور معناداری تغییر می‌کند. ازاین‌رو، پلی‌آمین نقش‌های پیچیده‌ای در ارتباط با سازگاری گیاه با تنش‌های زیستی و غیرزیستی بر عهده دارد [۲۱، ۳۳]. ممانعت از تولید پلی‌آمین‌ها، موجب حساس‌شدن گیاه به تنش می‌شود. در همین حال، بالابردن سطح پلی‌آمین موجب افزایش تحمل گیاه به تنش‌ها می‌شود [۱۷، ۳۲].

تنش شوری از طریق تأثیر بر چند سازوکار مهم در گیاه مانند فتوسنتز، تنظیم فشار اسمزی و فعالیت آنزیم ها رشد گیاه را کاهش می‌دهد [۳۶]. حضور پلی‌آمین‌ها در گیاهان تحت تنش شوری از پراکسایش لیپید ها و تخریب ماکرومولکول‌ها جلوگیری می‌کند و موجب افزایش مقدار گلوتاتیون و کارتنوئیدها می‌شود که آنتی اکسیدان عمل می‌کند. همچنین، پلی‌آمین‌ها سنتز ATP و کارایی فتوسنتز را افزایش می‌دهد و با افزایش سطح انرژی تحمل شرایط تنش را بهبود می‌بخشد [۱۲، ۱۴، ۱۷]. یکی از سازوکارهای تحمل گیاهان به تنش شوری ممانعت از ورود یون‌های اضافی است که پلی‌آمین‌ها میزان ورود یون‌ها را با بستن کانال‌های غیرانتخابی کاتیونی کاهش می‌دهد [۱۶]. تأثیر مثبت تیمار پوتریسین در کاهش آثار نامطلوب تنش شوری در کنار [۵]، نخودفرنگی [۱۷]، پسته [۲۱]، پایهٔ مرکبات [۳۲] و تاتوره [۹] نشان داده شده است.

کیتوزان پلی‌ساکارید گلوکوزامین مشتق‌شده از کیتین است. در کشاورزی از کیتوزان برای افزایش تولید، تحریک سیستم ایمنی گیاه و تحریک جوانه‌زنی و رشد گیاه استفاده می‌شود [۱۳]. اثر مثبت کیتوزان در غلظت‌های کم در ایجاد تحمل به تنش‌های غیرزیستی، از جمله تنش شوری، نشان داده شده است که ناشی از نقش تنظیم‌کنندگی این ترکیب در افزایش بیان ژن‌های درگیر در تولید مواد ضدتنش همانند آنتی‌اکسیدان‌هاست [۶، ۷، ۲۶].

1. Ebenaceae

در این پژوهش، با هدف بررسی تحمل یا حساسیت دانهال خرمندی به تنش شوری ناشی از کلرید سدیم، همچنین اثر تیمارهای کیتوزان و پوتریسین در کاهش آثار احتمالی ناشی از تنش شوری روی دانهال خرمندی بررسی شد.

۲. مواد و روش‌ها

این آزمایش در سال ۹۵-۱۳۹۴ در گلخانهٔ آموزشی-پژوهشی و آزمایشگاه‌های دانشگاه شاهد تهران انجام گرفت. در آبان ماه سال ۱۳۹۴ میوه‌های خرمندی از باغ گیاه‌شناسی پردیس کشاورزی کرج جمع‌آوری و بذرهای آن در آزمایشگاه جداسازی شد. سپس، برای برطرف‌سازی نیاز سرمایی، بذور در پرلیت مرطوب به مدت ۲۰ روز در دمای ۴ درجهٔ سانتی‌گراد نگهداری شد [۲۸]. پس از طی این مدت، بذرها از بستر پرلیت خارج و شستشو داده شد. سپس، به‌مدت ۲۴ ساعت در محلول بنومیل ۱ درصد ضدعفونی و برای کاشت آماده شد.

کاشت بذرها در گلدان‌های پلاستیکی با قطر دهانهٔ ۱۲ سانتی‌متر و ارتفاع ۲۰ سانتی‌متر حاوی ۵۰ درصد پرلیت و ۵۰ درصد پامیس صورت گرفت. در هر گلدان سه بذر در عمق ۱ سانتی‌متری کشت شد و آبیاری با آب آشامیدنی (EC برابر با ۰/۳ دسی‌زیمنس بر متر) تا زمان جوانه‌زنی به‌طور روزانه صورت گرفت. پس از جوانه‌زنی بذرها برای استقرار بهتر دانهال‌ها آبیاری با محلول غذایی تغییریافتهٔ هوگلند (جدول ۱) با فاصلهٔ سه روز انجام شد. در طول مدت آزمایش دمای متوسط روزانهٔ گلخانه ۳۰ درجهٔ سانتی‌گراد و دمای متوسط شبانهٔ آن ۲۵ درجهٔ سانتی‌گراد و رطوبت متوسط ۳۵ تا ۴۰ درصد، همچنین طول روز به‌طور میانگین ۱۲ ساعت روشنایی بود.

پس از آنکه دانهال‌ها به مرحلهٔ چهار برگی رسید (حدود ۴۰ روز پس از کاشت بذرها)، گلدان‌های حاوی دانهال‌های یکنواخت برای اعمال تیمارها انتخاب شد. سطوح تنش شوری مورد استفاده در این آزمایش شامل کلرید سدیم صفر میلی‌مولار به‌عنوان شاهد (آب آشامیدنی) و کلرید سدیم ۳۰ و ۶۰ میلی‌مولار بود که در ترکیب با محلول غذایی به‌صورت آبیاری در سطح گلدان‌ها اعمال شد. در هر بار آبیاری برای هر گلدان ۲۰۰ میلی‌لیتر محلول اختصاص یافت.

هم‌زمان با اعمال تنش شوری، تیمارهای ضدتنش کیتوزان و پوتریسین نیز به‌صورت محلول‌پاشی برگی اعمال شد. کیتوزان در غلظت‌های ۰/۲۵ و ۰/۵ درصد [۷] و پوتریسین در غلظت‌های ۱ و ۲ میلی‌مولار [۲۱] اعمال شد. از آب مقطر نیز به‌عنوان تیمار شاهد استفاده شد. همچنین، برای سورفکتانت در محلول‌های اعمال‌شده از توین-۲۰ استفاده و محلول‌پاشی تا مرحلهٔ آب‌چک انجام شد.

جدول ۱. غلظت عناصر غذایی محلول غذایی هوگلند (هوگلند و آرنون، ۱۹۵۰)

عنصر غذایی	N	P	K	Ca	Mg	S	B	Cu	Fe	Mn	Mo	Zn
مقدار (mg/l)	۲۴۲	۳۱	۲۳۲	۲۲۴	۴۹	۱۱۳	۰/۴۵	۰/۰۲	۳	۰/۵	۰/۰۱۰۶	۰/۴۸

بیست روز پس از اعمال تنش شوری کلرید سدیم و هم‌زمان با ظهور علایم سوختگی برگ‌ها، دانهال‌ها از بستر کشت خارج و از نظر شاخص‌های رشدی و فیزیولوزیکی از قبیل درصد سوختگی برگ‌ها، طول ریشه، طول ساقه، وزن تر ساقه، وزن تر ریشه، محتوای نسبی آب (RWC)[1] برگ‌ها، غلظت کلروفیل، مالون دی‌آلدهید و سدیم برگ، درصد نشت یونی، و مقدار برگ در تیمارهای مختلف ارزیابی شد.

شدت سوختگی برگ‌ها به‌صورت مشاهده‌ای و به درصد یادداشت شد. طول ساقه و طول ریشه با خط‌کش اندازه‌گیری و بر اساس میلی‌متر بیان گردید. برای محاسبهٔ وزن تر اندام هوایی و ریشه، این دو قسمت از ناحیهٔ یقه از هم جدا و وزن تر آن با استفاده از ترازوی دیجیتال با دقت ۰/۰۰۰۱ اندازه‌گیری شد.

برای اندازه‌گیری محتوای آب نسبی برگ نیز از هر گیاه یک برگ چیده و وزن تر (FW)[2] آن یادداشت شد. سپس، نمونه‌های برگی در پتری‌دیش‌های جداگانه حاوی آب مقطر قرارگرفت و پس از ۲۴ ساعت برگ‌ها دوباره توزین و به‌عنوان وزن معرف آماس (TW)[3] یادداشت شد. در مرحلهٔ سوم، نمونه‌های برگی داخل پاکت‌های کاغذی به مدت ۲۴ ساعت در آون با دمای ۷۰ درجهٔ سانتی‌گراد قرارگرفت. سپس، وزن آن به‌عنوان وزن خشک (DW)[4] یادداشت شد. در نهایت، محتوای آب نسبی برگ از طریق فرمول (۱) به‌دست آمد [۱۱].

$$\% RWC = [(FW-DW) / (TW - DW)] \times 100 \qquad (۱)$$

برای اندازه گیری مقدار کلروفیل برگ، ۰/۱ گرم از نمونهٔ برگی وزن و در ۳ میلی‌لیتر استون ۸۰ درصد به‌خوبی همگن شد. سپس، مخلوط به‌دست‌آمده در دستگاه سانتریفوژ (Universal-PIT320) با دور ۱۰۰۰۰ به‌مدت ۱۰ دقیقه و در دمای ۴ درجهٔ سانتی‌گراد سانتریفوژ و محلول رویی جمع‌آوری شد. میزان جذب محلول رویی در طول‌موج‌های ۶۴۵ و ۶۶۳ نانومتر با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر (Lambda 25–ParkinElmer USA) اندازه‌گیری و مقدار کلروفیل آ، کلروفیل ب و کلروفیل کل با استفاده از فرمول‌های (۲) تا (۴) محاسبه شد [۱۷].

$$\text{Chlorophyll a (mg/ g)} = [12.7(A_{663}) - 2.69(A_{645})] \times (V/1000 \times W) \qquad (۲)$$

$$\text{Chlorophyll b (mg/g)} = [22.9(A_{645}) - 4.68(A_{663})] \times (V/1000 \times W) \qquad (۳)$$

$$\text{Total Chlorophyll (mg/ g)} = [20.2(A_{645}) + 8.02(A_{663})] \times (V/1000 \times W) \qquad (۴)$$

A: میزان جذب نوری، V: حجم عصاره، و W: وزن تر بافت گیاهی است.

برای سنجش درصد نشت یونی، ۰/۲ گرم از نمونهٔ برگ توزین و به هر نمونه ۱۰ میلی‌لیتر آب دیونیزه اضافه شد و به مدت ۳۰ دقیقه روی شیکر قرارگرفت. پس از آن هدایت الکتریکی نمونه‌ها با دستگاه هدایت‌سنج الکتریکی در دمای ۲۵ درجهٔ سانتی‌گراد اندازه‌گیری و به‌عنوان هدایت الکتریکی اولیه (EC_1) یادداشت شد. سپس، نمونه‌ها در حمام آب گرم در دمای ۱۰۰ درجهٔ سانتی‌گراد به‌مدت ۳۰ دقیقه قرارگرفت و بعد از رسیدن دمای نمونه به دمای ۲۵ درجهٔ سانتی‌گراد، هدایت الکتریکی ثانویه (EC_2) یادداشت شد. در نهایت، نشت یونی نسبی با استفاده از رابطهٔ (۵) محاسبه شد [۱۱].

$$\%REL = (EC_1 / EC_2) \times 100 \qquad (۵)$$

اندازه‌گیری میزان پراکسایش لیپیدهای غشا با تست تیوباربیتوریک اسید (TBAT) با سنجش غلظت مالون‌دی‌آلدئید انجام شد. برای این منظور ۰/۲ گرم از

1. Relative Water Content
2. Fresh Weight
3. Torger Weight
4. Dry weight

بافت برگ در ۵ میلی‌لیتر محلول ۰/۱ درصد تری‌کلرواستیک اسید همگن و سپس هموژن به‌دست‌آمده به‌مدت پنج دقیقه در ۱۰۰۰۰ دور سانتریفیوژ شد. به ۱ میلی‌لیتر از محلول رویی ۴ میلی‌لیتر محلول تری‌کلرواستیک اسید ۲۰ درصد حاوی ۰/۵ درصد تیوباربیتوریک اسید اضافه شد. مخلوط حاصل به‌مدت ۳۰ دقیقه در حمام آب گرم (۹۵ درجهٔ سانتی‌گراد) قرارگرفت. سپس، در آب یخ سرد شد. بعد از آن به‌مدت ۱۰ دقیقه در ۱۰۰۰۰ دور سانتریفوژ شد. شدت جذب محلول حاصل با استفاده از اسپکتروفتومتر در طول‌موج‌های ۵۳۲ و ۶۰۰ نانومتر قرائت و غلظت مالون‌دی‌آلدئید با استفاده از ضریب تصحیح (۱۵۵ ($mmol^{-1}$ cm^{-1}) محاسبه و بر اساس واحد نانومول بر گرم وزن تر ($nmol\ g^{-1}$ FW) بیان شد [۲۳].

غلظت سدیم برگ با استفاده از مادهٔ خشک حاصل از برگ‌های هر واحد آزمایشی در پایان آزمایش اندازه‌گیری شد. برای تهیهٔ عصاره ۰/۱ گرم از پودر خشک گیاهی که قبلاً در آون با دمای ۸۰ درجهٔ سانتی‌گراد به‌مدت ۲۴ ساعت خشک شده بود، با ترازوی دیجیتال به دقت یک‌هزارم گرم وزن و درون کروزه ریخته شد. کروزه‌ها به‌مدت هفت ساعت در دمای ۶۰۰ درجهٔ سانتی‌گراد در داخل کورهٔ الکتریکی قرارگرفت. پس از خنک‌شدن، به محتویات کروزه‌ها، ۱۰ میلی‌لیتر اسید کلریدریک دو نرمال اضافه و سپس کروزه‌ها روی هیتر به آرامی حرارت داده شد. به‌محض مشاهدهٔ خروج دود سفید رنگ از کروزه‌ها (تبخیر نیمی از اسید)، مواد از کاغذ صافی عبور داده شد و عصاره در بالن ژوژه جمع‌آوری و برای تجزیهٔ شیمیایی در ظروف تمیز در یخچال نگهداری شد. از عصارهٔ حاصل برای قرائت مقدار عنصر سدیم، با دستگاه فلیم فتومتر استفاده شد [۳۲].

آزمایش به‌صورت فاکتوریل در قالب طرح پایهٔ کاملاً تصادفی با چهار تکرار، هر تکرار حاوی ۱۵ گلدان، در هر گلدان سه گیاه اجرا شد. فاکتورهای آزمایش شامل تنش شوری کلرید سدیم (در سه سطح) و تیمارهای ضدتنش کیتوزان و پوتریسین (در پنج سطح) و در مجموع شامل ۱۵ تیمار اعمال‌شده (تنش شوری کلرید سدیم × تیمار ضدتنش) بود. داده‌ها پس از بررسی نرمال‌بودن با استفاده از نرم‌افزار آماری SAS (9.3) تجزیه و برای مقایسهٔ اختلاف بین میانگین‌ها از آزمون حداقل تفاوت معنادار *LSD* در سطح احتمال ۵ درصد استفاده شد.

۳. نتایج و بحث

۱.۳. شاخص‌های رشدی دانهال خرمندی

بر اساس نتایج تجزیهٔ واریانس (جدول ۲)، اثر تنش شوری کلرید سدیم بر طول ریشه، وزن تر ساقه، وزن تر ریشه و درصد سوختگی برگ معنادار بود، ولی بر طول ساقه معنادار نبود. همچنین، اثر تیمارهای ضدتنش در تمامی شاخص‌های رشد شامل طول ساقه، طول ریشه، وزن تر ساقه، وزن تر ریشه و درصد سوختگی معنادار بود. اثر برهم‌کنش بین تنش شوری کلرید سدیم و تیمار ضدتنش در هیچ یک از شاخص‌های رشد معنادار نبود.

بر اساس نتایج مقایسهٔ میانگین (جدول ۳)، اعمال تنش شوری کلرید سدیم در هر دو غلظت ۳۰ و ۶۰ میلی‌مولار موجب کاهش معنادار طول ریشه در مقایسه با تنش شوری صفر میلی‌مولار شد. بین دو غلظت ۳۰ و ۶۰ میلی‌مولار تنش شوری کلرید سدیم از نظر طول ریشه اختلاف معناداری مشاهده نشد. همچنین، تنش شوری ۶۰ میلی‌مولار به‌طور معناداری دارای وزن تر ساقهٔ کمتری در مقایسه با شوری صفر میلی‌مولار بود، در حالی که با وجود کاهش نسبی اختلاف آماری معناداری بین تنش شوری ۳۰ میلی‌مولار و شوری صفر میلی‌مولار از نظر وزن تر ساقه مشاهده نشد (جدول ۳).

جدول ۲. نتایج تجزیهٔ واریانس اثر تنش شوری کلرید سدیم و تیمارهای ضدتنش بر شاخص‌های رشد دانهال خرمندی

منابع تغییرات	درجهٔ آزادی	میانگین مربعات				
		طول ساقه	طول ریشه	وزن ترساقه	وزن تر ریشه	سوختگی
تنش شوری کلرید سدیم	۲	۲۳۵/۱۱۶^{ns}	۳۵۱/۶۵**	۰/۲۶۶**	۰/۰۶۳**	۴۳/۱۴۶**
تیمار ضدتنش	۴	۴۰۹/۵۶۶*	۱۰۹/۴۴۱*	۰/۱۶۹**	۰/۰۳*	۶/۷۶۶**
تنش شوری × ضدتنش	۸	۱۱۳/۲۴۱^{ns}	۴۶/۶ ^{ns}	۰/۰۴۲ ^{ns}	۰/۰۱۱ ^{ns}	۱/۰۷۴^{ns}
خطای آزمایش	۴۵	۱۲۰/۱۲	۳۷/۹۰۱	۰/۰۴۳	۰/۰۰۹	۱/۲۲۳
ضریب تغییرات	–	۱۷/۳۰	۱۵/۳۱۴	۲۱/۷۰۳	۲۰/۸۶۵	۲۸/۹۸۹

* معنادار در سطح احتمال ۵ درصد، ** معنادار در سطح احتمال ۱ درصد و ^{ns} عدم وجود اختلاف معنادار

جدول ۳. اثر تنش شوری کلرید سدیم بر شاخص‌های رشد دانهال خرمندی

شاخص / تنش شوری کلرید سدیم	طول ریشه (mm)	وزن تر ساقه (gr)	وزن تر ریشه (gr)	سوختگی (%)
۰ (mM)	۴۴/۹۹a	۱/۰۸a	۰/۵۳۵a	۷c
۳۰ (mM)	۳۸/۳۵b	۰/۹۴ab	۰/۴۵b	۱۵/۵b
۶۰ (mM)	۳۷/۲۵b	۰/۸۴۷b	۰/۴۳b	۲۸/۵a

میانگین‌هایی با حروف مشابه دارای اختلاف معنادار نسبت به یکدیگر در سطح ۵ درصد آزمون *LSD* نیست.

هر دو تنش شوری ۳۰ و ۶۰ میلی‌مولار بدون اختلاف معنادار نسبت به یکدیگر به کاهش معنادار وزن تر ریشه در مقایسه با شوری صفر میلی‌مولار انجامید (جدول ۳). درصد سوختگی برگ‌های خرمندی با اعمال تنش شوری ۳۰ و ۶۰ میلی‌مولار در مقایسه با شوری صفر میلی‌مولار افزایش یافت و با افزایش غلظت شوری کلرید سدیم درصد سوختگی برگ‌ها به‌طور معناداری بیشتر نیز شد (جدول ۳).

یکی از نخستین پاسخ‌های گیاه در مقابل تنش شوری، کاهش رشد گیاه در نتیجهٔ کاهش میزان سطح قابلاستفادهٔ برگ و تأثیرگذاری بر فتوسنتز است [۲۹]. با توجه به نتایج حاصل از آزمایش به‌خوبی مشخص است که با افزایش تنش شوری، رشد گیاهان کاهش و درصد برگ‌های نکروزه افزایش یافته است. بنابراین، تحت این شرایط سطح اندام‌های فتوسنتزکننده و راندمان فتوسنتز کاهش یافت. بررسی اثر تنش شوری بر برخی پایه‌های پرتقال نشان داد که نخستین نشانه‌های ظاهری تأثیر شوری در پرتقال‌های ناول به‌صورت سوختگی حاشیه و نوک برگ‌ها بروز پیدا می‌کند که با نتایج به‌دست‌آمده در این آزمایش منطبق است [۱۰].

کاهش رشد در شوری‌های بالا به دلایل کاهش انرژی مورد نیاز برای رشد و ازبین‌رفتن تورژسانس است. کاهش انرژی ممکن است نتیجهٔ انحراف مواد فتوسنتزی به سمت انتقال فعال و جذب یون‌ها باشد [۲۸]. در شوری زیاد تجمع

نمک‌ها در دیواره‌های سلول، گسترش سلولی را کاهش می‌دهد و در نتیجه تورژسانس سلول کاهش می‌یابد [۳۰]. همچنین، هر چه گیاه در معرض شوری قراربگیرد، کاهش وزن سایر قسمت‌ها به‌دلیل عدم انتقال یا انتقال کم آب و عناصر غذایی از ناحیهٔ ریشه کاسته خواهد شد [۱۹، ۳۱].

در حالت کلی، خرمالو درختی بسیار حساس به شوری معرفی شده است، ولی مطالعات کاملی در انواع خاک‌های شور و آبیاری با آب شور روی آن صورت نگرفته است [۲۰]. با این حال، آزمایش‌ها روی دو نوع خرمالوی خوراکی و آمریکایی نشان داده است که افزایش غلظت کلرید سدیم در آب آبیاری سبب بروز علایم شوری در برگ این دو گونه می‌شود، به‌طوری که بر اساس گزارش صورت‌گرفته، با افزایش میزان نمک، تعداد برگ و طول ساقه به‌طور معناداری کاهش می‌یابد و این کاهش در تعداد برگ و طول ساقه در کاکی بیشتر از ویرجینیاناست [۱۸]. بر اساس نتایج آزمایش حاضر، سوختگی هر چند به مقدار کم حتی در دانهال‌های آبیاری‌شده با آب آشامیدنی نیز دیده شد. بنابراین، خرمندی نیز بسیار حساس به شوری است و مقدار شوری اندک نیز به بروز علایم سوختگی و کاهش رشد در آن می‌انجامد.

بر اساس نتایج مقایسهٔ میانگین، دانهال‌های تیمارشده با پوتریسین ۱ و ۲ میلی‌مولار بدون اختلاف معنادار نسبت به یکدیگر دارای طول ساقه و طول ریشهٔ بیشتری در مقایسه با دانهال‌های شاهد بود، در حالی که اختلاف معناداری بین دانهال‌های تیمارهای کیتوزان و شاهد از نظر طول ساقه و طول ریشه مشاهده نشد (جدول ۴). همچنین، دانهال‌های تیمارهای پوتریسین دارای وزن تر ساقهٔ بیشتری در مقایسه با شاهد بود، در حالی که دانهال‌های تیمارهای کیتوزان اختلاف معناداری با شاهد از نظر وزن تر ساقه نشان نداد (جدول ۴).

دانهال‌های تیمار پوتریسین ۲ میلی‌مولار به‌طور معناداری دارای وزن تر ریشهٔ بیشتری در مقایسه با دانهال‌های شاهد بود، در حالی که دانهال‌های تیمارهای پوتریسین ۱ میلی‌مولار و کیتوزان ۰/۲۵ و ۰/۵ درصد اختلاف معناداری با شاهد از نظر وزن تر ریشه نشان نداد (جدول ۴).

جدول ۴. اثر تیمارهای ضدتنش بر شاخص‌های رشدی دانهال‌های خرمندی

شاخص / تیمار ضدتنش	طول ساقه (mm)	طول ریشه (mm)	وزن تر ساقه (gr)	وزن تر ریشه (gr)	سوختگی (%)
شاهد	۵۶b	۳۶/۷۵c	۰/۸۹۴b	۰/۴۲۸bc	۲۲/۵a
پوتریسین (۱ mM)	۶۹/۵۸a	۴۲/۳۳ab	۱/۰۹a	۰/۵۱ab	۱۵b
پوتریسین (۲ mM)	۶۹/۰۸a	۴۴/۱۶a	۱/۰۸a	۰/۵۳۲a	۸/۳۳c
کیتوزان (۰/۲۵ ٪)	۶۱/۵۸ab	۳۸/۲۵bc	۰/۸۳b	۰/۴۷۴b	۱۸/۳۳ab
کیتوزان (۰/۵ ٪)	۶۰/۵۸ab	۳۹/۵bc	۰/۸۸b	۰/۴۱۵c	۲۰/۸۳a

میانگین‌های با حروف مشابه دارای اختلاف معنادار نسبت به یکدیگر در سطح ۵ درصد آزمون *LSD* نیست.

جدول ۵. نتایج تجزیهٔ واریانس اثر تنش شوری کلرید سدیم و تیمارهای ضدتنش بر شاخص‌های فیزیولوژیکی دانهال خرمندی

منابع تغییرات	درجهٔ آزادی	میانگین مربعات						
		محتوی آب نسبی	کلروفیل a	کلروفیل b	کلروفیل کل	نشت الکترولیت	مالون‌دی‌آلدهید	سدیم
شوری کلرید سدیم	۲	۲۷۶/۵۸۹ns	۲۰۵/۲۴۸**	۶۰/۳۶۸**	۴۸۱/۰۲۶**	۳۸۰/۳۵۳**	۳۱۵۴۷۷/۰۶۱**	۶۹۶/۹۸۳**
تیمار ضدتنش	۴	۱۹۳/۹۸۳ns	۳۶/۴۱۷**	۳۲/۲۰۲**	۱۳۳/۲۸۳**	۲۱۰/۷۱۷**	۱۲۵۶۴۰/۶۸۹**	۲۰۹/۶۳۵**
تنش شوری × ضدتنش	۸	۱۶۵/۰۱۶ns	۲۳/۶۸۷*	۶/۶۱۱ ns	۵۱/۶۳۸ **	۵۱/۳۴۲ ns	۲۳۱۳۳ /۱۳۶ ns	۱۰۶/۱۳ ns
خطای آزمایش	۴۵	۲۷۲/۷۴۶	۹/۰۰۹	۳/۷	۱۶/۷۵	۴۰/۶۶۱	۲۶۰۲۵/۹۲۷	۵۶/۱۷۱
ضریب تغییرات	–	۲۱/۶۵	۳۰	۲۹/۵۱	۲۴/۷۷۶	۱۶/۰۶۳	۱۷/۵	۲۳/۸۰۷

* معنادار در سطح احتمال ۵ درصد، ** معنادار در سطح احتمال ۱ درصد و ns عدم وجود اختلاف معنادار

بیشترین درصد سوختگی برگ در دانهال‌های شاهد مشاهده شد. البته، اختلاف معناداری بین دانهال‌های تیمارهای کیتوزان و شاهد از نظر درصد سوختگی برگ مشاهده نشد، در حالی که تیمارهای پوتریسین ۱ و ۲ میلی‌مولار به کاهش معنادار درصد سوختگی برگ در مقایسه با شاهد انجامید. در این بین، تأثیر تیمار پوتریسین ۲ میلی‌مولار به‌طور معناداری بیشتر از تأثیر تیمار پوتریسین ۱ میلی‌مولار در کاهش درصد سوختگی بود (جدول ۴).

مشابه با نتایج این پژوهش، در بررسی اثر تیمار پوتریسین بر رشد گیاه دارویی تاتوره در پاسخ به تنش شوری گزارش شده است که طول ساقه در اثر تیمار شوری کاهش یافت و تیمار پوتریسین به افزایش طول ساقه انجامید [۹]. تأثیر مثبت تیمار پوتریسین در افزایش رشد ساقه و ریشه احتمالاً مربوط به نقش این هورمون در افزایش تقسیم سلولی و افزایش مقدار سایر هورمون‌های گیاهی از قبیل اکسین و جیبرلین است [۱۷]. در میوهٔ سیب (*Malus sylvestris*) نشان داده شده است که طی تنش شوری، غلظت پوتریسین در مقایسه با شاهد به‌دلیل فعال‌شدن مسیر مربوط افزایش پیدا می‌کند [۲۷].

برخلاف بسیاری از پژوهش‌های انجام‌شده در خصوص تأثیر کیتوزان در کاهش آثار تنش شوری در گیاهان مختلف [۲۴]، در این پژوهش مشاهده شد که کیتوزان بر هیچ‌کدام از صفات رویشی اندازه‌گیری‌شده اثر معناداری ندارد. این امر ممکن است به‌دلیل ماهیت برگ‌های خرمالو باشد که دارای کوتیکول نسبتاً ضخیم است و کیتوزان به‌دلیل ماهیت ژله‌ای خود قدرت نفوذ کافی در برگ‌ها را نداشته است [۸، ۱۳].

۲.۳. محتوی آب نسبی

بر اساس نتایج تجزیهٔ واریانس (جدول ۵)، اثر هیچ یک از تیمارهای تنش شوری کلرید سدیم و مواد ضدتنش و برهم‌کنش بین آن‌ها بر محتوای آب نسبی برگ خرمندی معنادار نشد.

۳.۳. مقدار کلروفیل

بر اساس نتایج تجزیهٔ واریانس (جدول ۵)، اثر تنش شوری کلرید سدیم، اثر تیمار ضدتنش و اثر برهم‌کنش بین تنش شوری و تیمار ضدتنش بر مقدار کلروفیل آ و کلروفیل کل معنادار بود. همچنین، اثر تنش شوری کلرید سدیم و تیمار ضدتنش بر مقدار کلروفیل ب معنادار بود، ولی اثر برهم‌کنش بین تنش شوری و تیمار ضدتنش بر آن معنادار نبود (جدول ۵).

نتایج مقایسهٔ میانگین‌ها نشان داد که با اعمال تنش شوری کلرید سدیم در هر دو غلظت ۳۰ و ۶۰ میلی‌مولار مقدار کلروفیل ب به‌طور معناداری در مقایسه با شوری صفر میلی‌مولار کاهش یافت. اختلاف معناداری نیز بین تنش شوری ۳۰ و ۶۰ میلی‌مولار از نظر کلروفیل ب مشاهده نشد (جدول ۶). اعمال تیمار پوتریسین در غلظت ۲ میلی‌مولار موجب حفظ بهتر و معنادار کلروفیل ب در مقایسه با شاهد شد، در حالی که بین دانهال‌های شاهد و تیمارهای کیتوزان ۰/۲۵ و ۰/۵ درصد اختلاف آماری معناداری از نظر کلروفیل ب مشاهده نشد (جدول ۷).

بر اساس نتایج، اثر برهم‌کنش بین تنش شوری کلرید سدیم و تیمار ضدتنش با افزایش غلظت تنش شوری مقدار کلروفیل آ در تمامی دانهال‌ها به‌طور معناداری کاهش یافت. در همین حال، در شوری صفر میلی‌مولار مقدار کلروفیل آ در تیمارهای پوتریسین ۱ و ۲ میلی‌مولار به‌طور معناداری بیش از مقدار کلروفیل آ در دانهال‌های شاهد و تیمارهای کیتوزان ۰/۲۵ و ۰/۵ درصد بود، در حالی که بین دانهال‌های شاهد و تیمارهای کیتوزان ۰/۲۵ و ۰/۵ درصد اختلاف آماری معناداری از نظر مقدار کلروفیل ب مشاهده نشد. در تنش شوری ۳۰ و ۶۰ میلی‌مولار اختلاف آماری معناداری بین هیچ‌یک از دانهال‌های شاهد و تیمارهای پوتریسین و کیتوزان از نظر مقدار کلروفیل آ مشاهده نشد (جدول ۸).

بر اساس نتایج اثر برهم‌کنش بین تنش شوری کلرید سدیم و تیمار ضدتنش با افزایش غلظت تنش شوری مقدار کلروفیل کل در تمامی دانهال‌ها به‌طور معناداری کاهش یافت. در شوری صفر میلی‌مولار مقدار کلروفیل کل تیمارهای پوتریسین ۱ و ۲ میلی‌مولار به‌طور معناداری بیش از مقدار کلروفیل کل دانهال‌های شاهد و تیمارهای کیتوزان ۰/۲۵ و ۰/۵ درصد بود، در حالی که بین دانهال‌های شاهد و تیمارهای کیتوزان اختلاف آماری معناداری از نظر مقدار کلروفیل ب مشاهده نشد. در تنش شوری ۳۰ میلی‌مولار مقدار کلروفیل کل تیمار پوتریسین ۲ میلی‌مولار به‌طور معناداری بیش از مقدار کلروفیل کل دانهال‌های شاهد بود، در حالی که بین تیمارهای کیتوزان ۰/۲۵ و ۰/۵ درصد و پوتریسین ۱ میلی‌مولار و شاهد اختلاف آماری معناداری از نظر مقدار کلروفیل کل مشاهده نشد. در شوری ۶۰ میلی‌مولار اختلاف آماری معناداری بین هیچ‌یک از دانهال‌های شاهد و تیمارهای پوتریسین و کیتوزان از نظر مقدار کلروفیل کل مشاهده نشد (جدول ۹).

جدول ۶. اثر تنش شوری کلرید سدیم بر شاخص‌های فیزیولوژیکی دانهال خرمندی

شاخص / تنش شوری کلرید سدیم	کلروفیل ب (mg g^{-1} FW)	نشت الکترولیت (٪)	مالون‌دی‌آلدهید (nmol g^{-1} FW)	سدیم (mg g^{-1} DW)
۰ (mM)	۸/۴۱a	۳۴/۶۷۱b	۵۸۰/۹۴c	۲۴/۶۶۵b
۳۰ (mM)	۶/۱۲b	۴۲/۴۷۱a	۸۲۶/۶۲b	a۳۴/۹۹۷
۶۰ (mM)	۵/۰۱b	۴۱/۹۵a	۱۰۰۷/۹۵a	۳۷/۷۸a

میانگین‌های با حروف مشابه دارای اختلاف معنادار نسبت به یکدیگر در سطح ۵ درصد آزمون *LSD* نیست.

جدول ۷. اثر تیمارهای ضدتنش بر شاخص‌های فیزیولوژیکی دانهال خرمندی

شاخص / تیمار ضدتنش	کلروفیل ب (mg g^{-1} FW)	نشت الکترولیت (٪)	مالون‌دی‌آلدهید (nmol g^{-1} FW)	سدیم (mg g^{-1} DW)
شاهد	۵/۲۸۸b	۴۴/۲۸۷a	۹۸۹/۰۱a	۳۵/۳۴۶a
پوتریسین (۱ mM)	۸/۰۷۲a	۳۳/۸۵۱c	۷۹۳/۱۷c	۲۶/۸۸۶b
پوتریسین (۲ mM)	۸/۳۶۴a	۳۷/۳۸bc	۸۴۳/۰۹bc	۲۷/۰۹۶b
کیتوزان (۰/۲۵ ٪)	۶/۱۴۲b	۴۰/۲۱۱ab	۱۰۴۰/۸۴a	۳۴/۹۰۹a
کیتوزان (۰/۵ ٪)	۱۱/۵۳۲b	۸/۸۶۴bcd	۶/۵۹۳d	۳۳/۱۶۷ab

میانگین‌هایی با حروف مشابه دارای اختلاف معنادار نسبت به یکدیگر در سطح ۵ درصد آزمون *LSD* نیست.

جدول ۸. اثر برهم‌کنش بین تنش شوری کلرید سدیم و تیمارهای ضدتنش بر مقدار کلروفیل آ دانهال خرمندی

تنش شوری کلرید سدیم / تیمار ضدتنش	۰(mM)	۳۰(mM)	۶۰(mM)
شاهد	۱۱/۵۳۲b	۸/۸۶۴bcd	۶/۵۹۳d
پوتریسین (۱ mM)	۱۷/۵۹۱a	۷/۱۲۴cd	۷/۹۷۳bcd
پوتریسین (۲ mM)	۱۸/۷۶۲a	۱۱/۱۲۷bc	۷/۹۷۸bcd
کیتوزان (۰/۲۵ ٪)	۱۰/۷۹۸bcd	۷/۸۱۰bcd	۸/۹۲۶bcd
کیتوزان (۰/۵ ٪)	۹/۷۷۴bcd	۶/۹۸۵cd	۸/۲۲۳bcd

میانگین‌هایی با حروف مشابه دارای اختلاف معنادار نسبت به یکدیگر در سطح ۵ درصد آزمون *LSD* نیست.

جدول ۹. اثر برهم‌کنش بین تنش شوری کلرید سدیم و تیمارهای ضدتنش بر مقدار کلروفیل کل دانهال خرمندی

تنش شوری کلرید سدیم / تیمار ضدتنش	۰ (mM)	۳۰ (mM)	۶۰ (mM)
شاهد	۱۸/۶۹۸b	۱۱/۲۶۰cd	۹/۴۸۵ d
پوتریسین (۱ mM)	۲۸/۷۸۹a	۱۳/۶۵۴bcd	۱۴/۴۲۷bcd
پوتریسین (۲ mM)	۳۰/۲۰۱a	۱۸/۷۵۷b	۱۴/۰۰۳bcd
کیتوزان (۰/۲۵ ٪)	۱۶/۸۴۵bc	۱۴/۱۷۸bcd	۱۲/۹۳۶d
کیتوزان (۰/۵ ٪)	۱۶/۰۰۹bc	۱۴/۶۷۱bcd	۱۱/۸۵۵cd

میانگین‌هایی با حروف مشابه دارای اختلاف معنادار نسبت به یکدیگر در سطح ۵ ردصد آزمون *LSD* نیست.

کلروفیل‌ها و کاروتنوئیدها از رنگیزه‌های اصلی فتوسنتزی است که نقش مهمی در فتوسنتز ایفا می‌کند و تغییر در مقدار رنگیزه‌های فتوسنتزی بیانگر تغییر در فتوسنتز است [۱۲]. مقدار رنگیزه‌های گیاهی در واریته‌های متعددی از گیاهان حساس یا مقاوم در دامنهٔ وسیعی از غلظت‌های متفاوت نمک اندازه‌گیری می‌شود [۳۲]. در بسیاری از گیاهان افزایش یا کاهش مقدار کلروفیل به مدت زمان قرارگرفتن گیاه در معرض کلرید سدیم بستگی دارد [۳۰]. کاهش میزان کلروفیل‌ها با کاربرد کلرید سدیم، در بسیاری از گیاهان از جمله ذرت، لوبیا، گلرنگ، خردل و برخی گیاهان تیرهٔ نعناسانان گزارش شده و بهعلت افزایش آنزیم مخرب کلروفیلاز بوده است [۲۵، ۳۱].

در دیگر ارقام خرمالو نیز مشابه با نتایج این پژوهش با افزایش سطح شوری، کاهش قابل‌ملاحظه‌ای در غلظت کلروفیل نسبت به شاهد دیده شده است [۱۸]. در بررسی اثر پوتریسین و پاکلوبوترازول بر پایهٔ *Citrus karna* Raf. مشاهده شد، مقدار کلروفیل آ و کلروفیل ب تحت تنش شوری به‌طور معناداری کاهش پیدا می‌کند و پوتریسین بر مقدار آن‌ها اثرگذار است، به‌طوری که بیشترین مقدار کلروفیل وقتی به ثبت رسید گیاهان تحت تنش شوری بودند با ۵۰ میلی‌گرم بر لیتر پوتریسین [۳۱]. همچنین، در گیاه پسته نشان داده شده است که مقدار کلروفیل با محلولپاشی پلی‌آمین‌ها تحت تنش شوری افزایش می‌یابد [۲۱].

به‌نظر می‌رسد نقش آنتی‌اکسیدانی پوتریسین سبب ثبات غشای تیلاکوئیدی و حفظ پروتئین و لیپیدهای آن در مقابل تنش ثانویهٔ اکسایشی حاصل از تنش شوری می‌گردد که نتیجهٔ آن به شکل حفظ کلروفیل از صدمات ناشی از تنش مشاهده می‌شود. از طرف دیگر، در شرایط تنش شوری افزایش فعالیت کلروفیلاز، موجب کاهش مقدار کلروفیل می‌شود و احتمالاً اثر حفاظتی پوتریسین مربوط به کاهش فعالیت این آنزیم است [۳۵].

۴.۳. نشت الکترولیت و مقدار مالون‌دی‌آلدهید

بر اساس نتایج تجزیهٔ واریانس، اثر تنش شوری کلرید سدیم و تیمار ضدتنش بر درصد نشت الکترولیت و مقدار مالون‌دی‌آلدهید معنادار ولی اثر برهم‌کنش بین تنش شوری و تیمار ضدتنش غیرمعنادار بود (جدول ۵). بر اساس نتایج مقایسهٔ میانگین‌ها با اعمال تنش شوری کلرید سدیم در هر دو غلظت ۳۰ و ۶۰ میلی‌مولار مقدار نشت الکترولیت و مالون‌دی‌آلدهید در مقایسه با شوری صفر میلی‌مولار به‌طور معناداری افزایش یافت. اختلاف معناداری نیز بین دو غلظت ۳۰ و ۶۰ میلیمولار تنش شوری از نظر درصد نشت یونی مشاهده نشد، ولی تنش شوری ۶۰ میلی‌مولار به‌طور معناداری دارای مقدار مالون‌دی‌آلدهید بیشتری در مقایسه با تنش شوری ۳۰ میلی‌مولار بود (جدول ۶).

اعمال تیمار پوتریسین در هر دو غلظت ۱ و ۲ میلی‌مولار بدون اختلاف معنادار نسبت به یکدیگر به‌طور معناداری موجب کاهش درصد نشت یونی و مقدار مالون‌دی‌آلدهید دانهال‌های برگی خرمندی در مقایسه با شاهد شد. در حالی که بین تیمارهای کیتوزان ۰/۲۵ و ۰/۵ و شاهد اختلاف معناداری از نظر درصد نشت یونی و مقدار مالون‌دی‌آلدهید مشاهده نشد (جدول ۷).

صدمهٔ ناشی از عوامل تنش‌زای محیطی نظیر گرما، سرما، خشکی، شوری در مرحلهٔ نخست روی غشاهای سلولی قابل‌مشاهده است، به‌طوری که بر اثر اعمال تنش شوری، نفوذپذیری غشا تحت تأثیر قرارمی‌گیرد [۳]. در این پژوهش با افزایش شوری نشت الکترولیتی غشا در برگ‌ها افزایش یافت که افزایش نشت الکترولیت ناشی از آسیب و کاهش پایداری غشاها و احتمالاً نتیجهٔ تنش اکسایشی منتج از شوری است [۱۵]. افزایش نشت الکترولیت در نتیجهٔ افزایش سطوح شوری، در اسفناج [۲۴] و کلزا [۳۱] نیز گزارش شده است.

در این آزمایش همچنین، مقدار مالون‌دی‌آلدهید در

بـرگ خرمنـدی تحـت تـنش شـوری افـزایش یافـت. مـالون‌دی‌آلدهیـد محصـول پراکسایشـی اسـیدهای چـرب اشباع‌نشده در فسفولیپیدها و معرف میزان صدمات غشـا در شرایط تنش است. در واقع، از سطح تجمع مالون‌دی‌آلدهید به‌عنوان نشانگر وجود رادیکـال آزاد مضـر در درون سـلول اسـتفاده مـی‌شـود [۲۳]. یکـی از تغییـرات بیوشـیمیایی ایجادشده در گیاه تحت تنش، تجمع گونه‌های فعال اکسیژن (سوپر اکسید، پراکسید هیدروژن و رادیکـال هیدروکسـیل) است که محصول اجتناب‌ناپذیر سوخت‌وساز طبیعی سلول اسـت. ایـن گونـه‌هـای فعـال اکسـیژن سـمی و بسـیار واکـنش‌پذیرنـد و در غیـاب سـازوکارهای حفـاظتی، سوخت‌وساز طبیعی سلول را به میزان زیادی مختل می‌کنند. این رادیکـال‌هـا از طریـق پراکسـایش لیپیـدها و در نتیجـه تخریب غشا، تخریب پروتئین‌ها، غیرفعال‌کـردن آنـزیم‌هـا، ازبین‌بردن رنگیزه‌هـا و اخـتلال در عملکـرد DNA، تـنش ثانویهٔ اکسایشی ایجاد می‌کند که به خسارت‌های جـدی بـه ساختارهای سلولی و گیاه می‌انجامد [۳۳].

نتایج به‌دسـت‌آمـده در ایـن پـژوهش بـا نتـایج دیگـر پژوهش‌های مبنی بر نقش کلیـدی پلـی‌آمـین‌هـا در حفـظ یکپارچگی و بقای غشای سلولی، در شرایط تـنش شـوری همخوانی دارد. پلی‌آمین‌ها به‌دلیل خاصیت پلـی‌کـاتیونی و اتصال فیزیکی به ساختار غشاهای زیستی، همچنین به‌دلیل خاصیت آنتی‌اکسیدانی و افزایش سطح آنتی‌اکسـیدان درون سلول در حفاظت از ساختارهای غشا و پایداری سـلول‌هـا تحت شرایط تنش مؤثر است [۲۷].

۵.۳. مقدار سدیم

بر اساس نتایج تجزیهٔ واریـانس، اثـر تـنش شـوری کلریـد سدیم و تیمار ضدتنش بر مقـدار سـدیم معنـادار ولـی اثـر بـرهم‌کـنش بـین تـنش شـوری و تیمـار ضـدتنش بـر آن غیرمعنادار بود (جدول ۵). نتایج مقایسهٔ میانگین نشـان داد کـه بـا اعمـال تـنش شـوری در هـر دو غلظـت ۳۰ و ۶۰ میلی‌مولار مقدار سدیم در مقایسه با شوری صفر میلی‌مولار به‌طور معناداری در بافت گیـاه خرمنـدی افـزایش یافـت و اختلاف آماری معناداری نیز بین دو غلظـت تـنش شـوری کلرید سدیم از نظر مقدار سدیم مشاهده نشد (جدول ۶).

اعمـال تیمـار پوتریسـین در هـر دو غلظـت ۱ و ۲ میلی‌مولار منجر به کاهش معنادار تجمـع سـدیم در بافـت گیاه خرمندی شـد در حـالی کـه اخـتلاف معنـاداری بـین تیمارهای کیتوزان و شاهد از نظر مقدار سدیم مشاهده نشد (جدول ۷).

در آزمایش صـورت‌گرفتـه روی خرمـالوی آمریکـایی و ژاپنی دیده شد که در صورت آبیاری با تیمـار کلریـد سـدیم صفر، ۵۰ و ۷۵ میلی‌مولار به‌ترتیب در خرمـالوی ژاپنـی ۲۰، ۸۷ و ۱۰۳ میلی‌گرم در هر گرم وزن خشک و در خرمـالوی آمریکایی به‌ترتیب ۱۸، ۲۸ و ۴۰ میلی‌گرم بر گرم وزن خشک سـدیم تجمـع پیـدا کـرد [۱۸]. در بررسـی مشـابهی روی پایه‌های مختلف پسته نشان داده شد که بـا افـزایش غلظـت شـوری در آب آبیـاری غلظـت سـدیم در ریشـه و قسـمت هوایی پایه‌های مورد مطالعه افزایش یافت ولی بین پایه‌ها در مقدار سدیم اندام هوایی اختلاف معنـاداری وجـود داشـت، به‌طوری که کمترین مقدار تجمع سدیم اندام هوایی، در پایـهٔ Atlantica و بیشـترین آن در Kurdica مشـاهده شـد [۲۱]. ازاین‌رو، بر اساس نتـایج آزمـایش حاضـر مـی‌تـوان عنـوان داشت خرمندی هماننـد خرمـالوی آمریکـایی و پایـهٔ پسـتهٔ Atlantica تحمل بیشتری به شوری دارد و سدیم کمتری در بافت خود تجمع می‌دهد. سدیم به‌جای تجمع در برگ‌هـای بالایی و جوان‌تر، ترجیحاً در برگ‌هـای پـایینی، بـه‌خصـوص ریشـه تجمـع مـی‌یابـد [۲۱]. اعمـال تیمـار ۱ میلـی‌مـولار پوتریسین در مراحل اولیهٔ رشد گیـاه خـردل سـبب کـاهش نفوذپذیری غشای سلولی و تعدیل سمیت یـونی بـا خـروج یون سدیم و ورود یون پتاسیم تحت تنش شوری شد [۲۵].

آسیب ناشی از سدیم با تجمع سدیم در بافت برگ همراه بود و ماحصل آن نکروزهٔ برگ‌های پیر است که نخست از نوک و حاشیه‌ها شروع می‌شود و در صورت تشدید آن به سمت مرکز برگ گسترش می‌یابد. در این آزمایش نیز سوختگی برگ از علایم تیمار با کلرید سدیم بود. تجمع یون سدیم تغییراتی در تعادل یونی ایجاد کرد و عدم‌تعادل یونی سبب کاهش یا ممانعت از رشد گیاه شد [۱].

در این آزمایش تیمار پوتریسین با کاهش تجمع سدیم در بافت دانهال خرمندی از بروز علایم ناشی از سمیت سدیم کاهش داد. مشابه با این نتایج نشان داده شده است که محلول‌پاشی برگی پلی‌آمین‌ها روی دانهال‌های پسته قرار گرفته در معرض شوری، سبب کاهش تجمع یون‌های سدیم و کلر در ساقه‌ها شد و آثار سمی ناشی از سطوح بالای این یون‌ها را بهبود بخشید [۲۱]. کانال‌های جذب و انتقال یون سدیم در شرایط تنش شوری، میزان زیادی سدیم را به داخل ریشه و بافت‌ها انتقال می‌دهد و به انباشته‌شدن یون سدیم در بافت و ایجاد اختلال در سوخت‌وساز سلولی می‌انجامد. ثابت شده است که تیمار نخود با پلی‌آمین‌ها سبب کاهش خروج پتاسیم در سلول‌های مزوفیل برگ می‌شود و این به‌دلیل بسته‌شدن کانال‌های غیرانتخابی کاتیونی به وقوع می‌پیوندد. در واقع، با حضور پلی‌آمین‌ها و فعالیت این کانال‌ها از خروج پتاسیم و ورود سدیم ممانعت به‌عمل می‌آید [۱۷].

با توجه به تمامی مباحث ذکرشده می‌توان بیان کرد که گیاه خرمندی در مراحل اولیهٔ رشد، حساس به تنش شوری است و با افزایش مقدار کلرید سدیم در آب آبیاری کاهش معناداری در صفاتی چون وزن تر ساقه و ریشه، طول ساقه و ریشه و میزان کلروفیل، همچنین افزایش در میزان سدیم، مالون دی‌آلدهید، نشت یونی و درصد سوختگی در آن دید شد، به‌طوری که در کلرید سدیم ۶۰ میلی‌مولار پس از سه‌بار آبیاری، علایم تنش شوری نظیر سوختگی، به‌سرعت در آن بروز پیدا کرد.

کیتوزان تأثیر معناداری در بهبود شاخص‌های مورفولوژیکی و فیزیولوژیکی اندازه‌گیری‌شده در این پژوهش نداشت، در حالی که با اعمال تیمار پوتریسین به‌صورت محلول‌پاشی برگی، دانهال خرمندی تا حدی نسبت به شرایط شوری متحمل گردید و بهبود معناداری در شاخص‌های رشد حاصل شد. بنابراین، می‌توان گفت که در مناطق خشک و نیمه‌خشک که با مشکل شوری خاک و آب روبه‌روست با اعمال تیمار پوتریسین تأثیر تنش شوری به‌صورت کوتاه‌مدت تعدیل می‌شود.

منابع

۱. اورعی م، طباطبایی س‌ج، فلاحی ا و ایمانی ع (۱۳۸۸) اثرات تنش شوری و پایه بر رشد، شدت فتوسنتز، غلظت عناصر غذایی و سدیم درخت بادام. نشریهٔ علوم باغبانی. ۲۳: ۱۳۱-۱۴۰.

۲. ایزدی ز و تدین مر (۱۳۹۲) نقش کاربرد خارجی پلی‌آمین‌ها در مقاومت به تنش در گیاهان زراعی. کنفرانس ملی پدافند غیرعامل در بخش کشاورزی. ۱-۲.

۳. تیموری ع و جعفری م (۱۳۸۹) بررسی تأثیر تنش شوری بر روی برخی خصوصیات مورفولوژی و آناتومی سه گونه سالسولا. فصلنامهٔ علمی- پژوهشی تحقیقات مرتع و بیابان ایران. ۱۷: ۳۱-۳۴.

۴. خدیوی ع (۱۳۹۰) میوه‌کاری (عمومی و خصوصی). انتشارات آموزش و ترویج کشاورزی. ۴۶۸ ص.

۵. گردی تختی ش (۱۳۹۰) تأثیر پلی‌آمین پوتریسین بر افزایش تحمل به نمک و برخی ویژگی‌های مورفولوژیکی و فیزیولوژیکی دو رقم کنار پیوندی. پایان‌نامهٔ کارشناسی‌ارشد، دانشگاه شیراز.

۶. مهدوی ب، مدرس ثانوی ع‌م، آقاعلیخانی م و شریفی

م (۱۳۹۲) اثر غلظت‌های مختلف کیتوزان بر جوانه‌زنی بذر و آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانت گلرنگ در شرایط تنش کم‌آبی. مجلهٔ پژوهش‌های گیاهی مجلهٔ زیست‌شناسی ایران. ۲۶: ۳۶۵-۳۵۲.

۷. نادری ص، فاخری ب‌ع و اسمعیل‌زاده بهابادی ص (۱۳۹۲) اثر تنش شوری و کیتوزان بر جوانه‌زنی و رشد دانهال گیاه ریحان *Ocimum basilicum*. اولین کنفرانس ملی تنش شوری در گیاهان و راهکارهای توسعهٔ کشاورزی در شرایط شور. دانشگاه شهید مدنی آذربایجان: ۶۹۰-۶۹۳.

۸. نوح پیشه ز و منوچهری کلانتری خ (۱۳۹۰) اثرات کاربرد متقابل اسپرمیدین و تنش شوری در گیاه فلفل. مجلهٔ زیست‌شناسی ایران. ۲۴: ۸۴۸-۸۵۷.

۹. نیاکان م، رضاپور م‌ش و قربانلی م (۱۳۹۴). اثر پوترسین بر رشد، فتوسنتز و ترکیبات آلکالوئیدی گیاه دارویی تاتوره در پاسخ به تنش شوری تحت شرایط هیدروپونیک. مجلهٔ علوم و فنون کشت‌های گلخانه‌ای. ۲۱: ۱۱۱-۱۲۳.

10. Banuls J and Primo-Millo E (1995) Effect of salinity on some citrus scion rootstock combination. Annals Botany. 76: 97-102.

11. Besma BD and Denden M (2012) Effect of salt stress on growth, anthocyanins, membrane permeability and chlorophyll fluorescence of okra (*Abelmoschus esculentus* L.) seedlings. American Journal of Plant Physiology. 7: 174-183.

12. Cohen AS, Popovic RB and Zalik S (2004) Effects of polyamines on chlorophyll and protein content, photochemical activity, and chloroplast ultrastructure of barley leaf discs during senescence. Plant Physiology. 64: 717-720.

13. Devlieghere F, Vermeulen A and Debevere J (2004) Chitosan: antimicrobial activity, interactions with food components and applicability as a coating on fruit and vegetables. Food Microbiology. 21: 703-714.

14. Hajiboland R, Ebrahimi N and Poschenrieder C (2012) Bound putrescine, a distinctive player under salt stress in the natrophilic sugar beet in contrast to glycophyte tobacco. Journal of Sciences, 23: 105-114.

15. Hasegawa PM, Bressan RA, Zhu JK and Bohnert HJ (2000) Plant cellular and molecular responses to high salinity. Annual Review Plant Physiology and Plant Molecular Biology. 51: 463-499.

16. Health RL and Packer L (1968) Photoperoxidation in isolate chloroplast Kinetics and stoichiometry of fatty acid peroxidation. Archives of Biochemistry and Biophysics. 125: 189-198.

17. Hussein MM, EL-Gereadly NHM and El-Desuki M (2006) Role of putrescine in resistance to salinity of pea plants (*Pisum sativum* L.). Applied Science Research. 2: 598-604.

18. Incesu M, Cimen B, Yesiloglu T and Yilmaz B (2014) Growth and photosynthetic response of two persimmon rootstocks (*Diospyros kaki* and *D. virginiana*) under different salinity levels. Notulae Botanicae Horticulture Agrobotanici Cluj-Napoca. 42: 386-391.

19. Jaleel CA, Gopi B, Sankar P, Manivannan A, Kishorekumar RS and Panneers L (2007) Studies on germination, seedling vigour, Lipid peroxidation and proline metabolism in *Catharanthus roseus* seedling under salt stress. South African Journal of Botany. 73: 190-195.

20. Kagami H (1999) Effect of sugars on rooting of shoots of Japanese persimmon propagated in vitro. Plant Biotechnology. 16: 371-374.

21. Kamiab F, Talaie A, Khezri M and Javanshah A (2013) Exogenous application of free polyamines enhance salt tolerance of pistachio (*Pistacia vera* L.) seedlings. Plant Growth Regulation. 72: 257-268.

22. Karimi HR, Zamani Z, Ebadi A and Fatahi R (2012) Effects of water salinity on growth indices and physiological parameters in some wild pistachio. International Journal of Nuts and Related Sciences 3: 41-48.

23. Katsuhara M, Otsuka T and Ezaki B (2005) Salt stress-induced lipid peroxidation is reduced by glutathione S-transferase, but this reduction of lipid peroxides is not enough for a recovery of root growth in *Arabidopsis*. Plant Sciences. 169: 369- 373.

24. Kaya C, Higges D and Kirnak H (2001) The effects of high salinity (NaCl) and supplementary phosphorus and potassium on physiology and nutrition development of spinach *Bulgican*. Plant Physiology. 27: 47-59.

25. Lakra N, Pushpa C and Mishrab SN (2016) Growth response modulation by putrescine in Indian mustard *Brassica juncea* L. under multiple stress. Indian Journal of Experimental Biology. 1: 262-270.

26. Lianju M, Yueying L, Cuimei Y, Yan W, Xuemei L, Na L, Qiang C and Ning B (2011) Alleviation of exogenous oligochitosan on wheat seedlings growth under salt stress. Protoplasma. 249: 393-399.

27. Liu JH, Kazuyoshi N, Chikako H, Hiroyasu K, Xiao-Peng W, Xiao-Ming P and Takaya M (2006) Polyamine biosynthesis of apple callus under salt stress: importance of the arginine decarboxylase pathway in stress response. Experimental Botany. 57: 2589-2599.

28. Mowat AD, George AP and Collins RJ (1995) Cultivation of persimmon *Diospyros kaki* under tropical conditions. *Acta Horticulturae*. 409: 141-149.

29. Oertli JJ (1968) Extracellular salt accumulation, a possible mechanism of salt injury in plants. Agrochemica. 12: 461-465.

30. Pinheiro HA, Silva JV, Endres L, Ferreira VM, Camara CA, Cabral FF and Santos BG (2008) Leaf gas exchange, chloroplastic pigments and dry matter accumulation in Caster bean (*Ricinus communis* L.) seedlings to salt conditions. Crop Science. 27: 385-392.

31. Rezaei H, Khosh SK, Malakouti MJ and Pessarakli M (2006) Salt tolerance of canola in relation to accumulation and xylem transportation of cations. Journal of Plant Nutrition. 29: 1903-1917.

32. Sharma DK, Dubey AK, Srivastav M, Singh AK, Sairam RK, Pandey RN (2011) Effect of putrescine and paclobutrazol on growth, physiochemical parameters, and nutrient acquisition of salt-sensitive citrus rootstock Karna khatta (*Citrus karna* Raf.) under NaCl stress. Journal of Plant Growth Regulation. 30: 301-311.

33. Tang W and Newton JR (2005) Polyamines reduced salt induced oxidative damage by increasing the activities of antioxidant enzymes and decreasing lipid peroxidation in Virginia pine. Plant Growth Regulation. 46: 31-43.

34. Wei P, Yang Y, Fang M, Wang F and Chen H (2016) Physiological response of young seedlings from five accessions of *Diospyros* L. under salinity stress. Korean Journal of Horticultural Science and Technology. 1: 564-577.

35. Xiao-Ming P, Zhi-Yi Z, Xiao-Peng W, Yusuke B and Takaya M (2007) Polyamines, All-purpose in response to environment stresses in plants. Plant Stress. 1: 173-188.

36. Yarami N and Sepaskhah AR (2016) Effect of irrigation water salinity, manure application and planting method on soil ions variation and ions uptake by saffron (*Crocus sativus* L.). International Journal of Plant Production. 10: 197-220.

37. Yonemori K, Sugiera A and Yamada M (2000) Persimmon genetics and breeding. Plant Breeding Reviews. 19: 191-225.

Crops Improvement
(Journal of Agricultural Crops Production)
Vol. 19 ■ No. 3 ■ Autumn 2017

Investigation of improving salinity stress damages in *Diospyros lotus* seedlings by putrescine and chitosan

Fariba Rezaei Aderyani[1], Ayatollah Rezaei[2], Orang Khademi[2] and Yavar Sharaff[2]*

1. M.Sc., Department of Horticulture, Faculty of Agriculture, Shahed University, Tehran, Iran
2. Assistant Professor, Department of Horticulture, Faculty of Agriculture, Shahed University, Tehran, Iran

Received: October 3, 2016 **Accepted: December 5, 2016**

Abstract

Salinity is one of the most important plant growth limiting factors, which using the anti-stress materials is considered as an important approach in moderating its effects on plants. In this research, the date plum seedlings response to salinity stress and two compounds putrescine and chitosan to reduce salinity stress was studied. The experiment was conducted as a factorial with three levels of sodium chloride (0, 30 and 60 mM), and five treatments of control, putrescine (1 and 2 mM) and chitosan (0.25 and 0.5%), based on a completely randomized design with four replications at Shahed University in 2016. The results showed that date plum was sensitive to salt stress in the early stages of growth and sodium chloride salinity stress resulted in significant decrease in vegetative traits such as fresh matter weight and length of shoots and roots as well as leaf chlorophyll content in compared to 0 salinity. In addition, the leaf blight percentage, sodium content, electrolyte leakage and malondialdehyde content were increased in plants treated with salinity. Putrescine treatment, especially at 2 mM concentration effectively reduced the effects of salinity on date plum seedlings and improved vegetative growth of stem and root, while chitosan had no significant effect in reducing the harmful effects induced by salt stress in this experiment. According to the results, *Diospyros lotus* seedlings were sensitive to salinity and using treatments such as putrescine is effective in increasing its resistance to salinity stress.

Keywords: anti-stress materials, chlorophyll, persimmon, sodium chloride, vegetative growth.

Corresponding Author: o.khademi@shahed.ac.ir