

## تأثیر تنش شوری بر فعالیتهای فیزیولوژیک و آنتی‌اکسیدانی در دو لاین حساس و متحمل به شوری (NaCl) آفتابگردان روغنی (*Helianthus annuus L.*) در مرحله گیاهچه‌ای

رضا درویش زاده<sup>۱،۲\*</sup> و علیرضا پیرزاد<sup>۳</sup>

<sup>۱</sup> ایران، ارومیه، دانشگاه ارومیه، دانشکده کشاورزی، گروه اصلاح و بیوتکنولوژی گیاهی

<sup>۲</sup> ایران، ارومیه، دانشگاه ارومیه، پژوهشکده زیست فناوری

<sup>۳</sup> ایران، ارومیه، دانشگاه ارومیه، دانشکده کشاورزی، گروه زراعت

تاریخ دریافت: ۱۳۹۷/۱/۱۱ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۷/۴/۳

### چکیده

غلظت بالای نمک در آب و خاک یکی از عمده‌ترین عوامل محدود کننده رشد و تولید گیاهان در سراسر جهان است. در این پژوهش اثرات تنش شوری بر فعالیتهای فیزیولوژیک دو ژنوتیپ آفتابگردان روغنی در مرحله گیاهچه‌ای بررسی شد. آزمایش به-صورت فاکتوریل بر پایه طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار اجرا شد. فاکتور اول ژنوتیپ در دو سطح: C64 و C68 و فاکتور دوم شوری در پنج سطح: صفر، ۲، ۴، ۶ و ۸ دسی‌زیمنس بر متر تنش شوری بود. نتایج تجزیه واریانس نشان داد برهمکنش ژنوتیپ × تنش شوری در رابطه با صفات پرولین، کلروفیل کل و گایاکول پراکسیداز معنی‌دار است. با افزایش سطح تنش، محتوی پرولین و مالون دی‌آلدئید افزایش یافتند. از طرفی فتوستتز خالص و میزان کلروفیل کل کاهش پیدا کردند که این کاهش در ژنوتیپ حساس (C64) نسبت به ژنوتیپ متحمل (C86) بیشتر بود. همچنین، با افزایش سطح شوری، فعالیت آنزیم گایاکول پراکسیداز در ژنوتیپ متحمل بیشتر از ژنوتیپ حساس بود. بنابراین بر اساس نتایج این آزمایش، واکنش متفاوت ژنوتیپهای متحمل و حساس در مواجهه با تنش شوری در سطح مولکولی تأیید می‌شود و بنابراین می‌توان از ژنوتیپ C86 به عنوان ژنوتیپ متحمل به شوری در پروژه‌های تولید ارقام هیبرید متحمل به شوری استفاده نمود.

واژه‌های کلیدی: آفتابگردان، پرولین، تحمل شوری، فتوستتز خالص، فعالیت آنزیمی، مالون دی‌آلدئید.

\* نویسنده مسئول، تلفن: ۰۹۱۴۹۷۳۴۴۵۸، پست الکترونیکی: r.darvishzadeh@urmia.ac.ir

### مقدمه

گونه گیاهی، کاهش عملکرد در مواجهه با تنشهای محیطی بالاخص خشکی و شوری بین ۵۰ تا ۸۰ درصد گزارش شده است (۱۸). در آفتابگردان کاهش عملکرد در اثر تنشهای محیطی تا ۶۰ درصد گزارش شده است (۳۴).

خاک شور خاکی است که هدایت الکتریکی آن بیش از چهار دسی‌زیمنس بر متر (معادل ۴۰ میلی‌مولار NaCl) باشد (۵۰). شوری خاک ناشی از آنیونها و کاتیونهای بسیاری از جمله  $Na^+$ ،  $Ca^{2+}$ ،  $Cl^-$ ،  $SO_4^{2-}$  و  $HCO_3^-$  می‌باشد اما مهم‌ترین آنها  $Na^+$  و  $Cl^-$  است (۱۳). زیرا یونهای کلرید

غلظت بالای نمک در آب و خاک یکی از عمده‌ترین عوامل محدود کننده رشد و تولید گیاهان در سراسر جهان می‌باشد (۳). بیش از ۸۰۰ میلیون هکتار از اراضی کشاورزی در سراسر جهان که معادل شش درصد از کل اراضی می‌باشد تحت تأثیر شوری هستند (۳). پیش‌بینی می‌شود تا سال ۲۰۵۰، ۵۰ درصد زمین‌های مناسب کشاورزی بر اثر شوری قابلیت کشت خود را از دست بدهند (۵۷). از کل سطح کشور (۱۶۲/۲ میلیون هکتار)، ۲۳/۸ میلیون هکتار تحت تأثیر شوری است (۳). بسته به

Hebbara و همکاران (۲۶) مشاهده کردند که در ژنوتیپ‌های آفتابگردان با افزایش تنش شوری دمای برگ افزایش اما پتانسیل اسمزی، تبادل روزنه ای و میزان تعرق کاهش می‌یابد. در مطالعه ایشان تنوع ژنتیکی گسترده ای برای عملکرد دانه تحت تنش شوری مشاهده شد. محققین مختلف گزارش کردند که در آفتابگردان تحت تنش شوری تبادل روزنه ای و به تبع آن میزان فتوسنتز کاهش می‌یابد (۶۴). Umar & Siddiqui (۶۱) مشاهده کردند تحت تنش شوری و خشکی در آفتابگردان فعالیت آنزیم‌های سوپراکسید دسموتاز و کاتالاز افزایش یافته و تجمع پراکسید هیدروژن کاهش می‌یابد. محققان نشان دادند که تجمع پرولین در گیاه روغنی آفتابگردان در مواجهه با شوری افزایش پیدا می‌کند (۴۲).

با توجه به اینکه سازوکارهای مربوط به جذب، انتقالات یونی، مکانیسم‌های تحمل و غیره در مراحل مختلف رشد گیاه متفاوت می‌باشد و ژنهای مختلفی تحمل به شوری را کنترل می‌کنند (۲۹ و ۵۱)، بنابراین توصیه شده که ارزیابی تحمل به شوری در مراحل مختلف رشد گیاه مانند مرحله جوانه‌زنی، گیاهچه، گیاه بالغ انجام گیرد و سپس راهکار هرمن‌بندی ژنها برای ایجاد ارقام متحمل در پیش گرفته شود (۴). اخیراً واکنش ۱۰۰ لاین خویش آمیخته نوترکیب آفتابگردان به همراه والدین به تنش شوری ناشی از NaCl بر اساس صفات آگرو موفولوژیک بررسی شد (۴۱). لاینها واکنش متفاوتی در سطح فتوتیپی به تنش شوری نشان دادند. در ادامه در این پژوهش اثر تنش شوری بر دو ژنوتیپ با واکنش متفاوت، در سطح مولکولی در مرحله گیاهچه‌ای با بررسی میزان فتوسنتز خالص، کلروفیل، تجمع پرولین و میزان فعالیت آنزیم گایاکول پراکسیداز مطالعه شده است.

### مواد و روشها

**مواد گیاهی و تنش شوری:** دو لاین خویش آمیخته نوترکیب آفتابگردان با واکنش متفاوت نسبت به تنش

و سدیم بیشتر از سایر یونها توسط سلولهای ریشه گیاهان جذب می‌شوند (۵۲ و ۵۸). از جمله اثرات اولیه تنش شوری می‌توان به کمبود آب و عدم توازن میزان یونها و از اثرات ثانویه آن به کاهش رشد، کاهش میزان فتوسنتز، تولید گونه‌های فعال اکسیژن، اختلال در عمل غشاها، کاهش فعالیت آنزیمها و فعالیت متابولیسمی سلول اشاره نمود. تنش اسمزی به‌صورت سریع در فاز اولیه تنش رخ داده و تنش یونی به‌صورت کند و در فاز دوم تنش رخ می‌دهد که در سطوح بالای تنش شوری باعث مرگ سلولهای گیاهی می‌گردند (۲۷ و ۴۶). بررسی غلظت مالون دی‌آلدئید در بافتهای گیاهی می‌تواند بیانگر میزان آسیب به غشای سلولی باشد زیرا این ترکیب در پی تخریب و پراکسیده شدن غشای سلولی آزاد می‌شود (۱۰). تحت تنش اکسیداتیو ناشی از تولید گونه‌های فعال اکسیژن سنتز آنزیمهایی نظیر گایاکول پراکسیداز و ترکیبات غیر آنزیمی نظیر آسکوربیک اسید و کاروتنوئید در بافتهای گیاهی افزایش پیدا می‌کند که در پالایش گونه‌های فعال اکسیژن مؤثر هستند (۴۰ و ۵۴). تحت شرایط تنش شوری، برخی از ترکیبات حاوی نیترژن نیز در گیاهان تجمع می‌یابند (۳۰). که فراوان‌ترین این ترکیبات آمیدها (گلوآمین و آسپارژین) و اسیدهای آمینه نظیر آرژینین، پرولین، سیترولین و اورنیتین می‌باشد. در اندازه‌گیری پرولین به‌عنوان یک شاخص مطلوب در جهت انتخاب برای تحمل به شوری به خاطر دخالت آن در تنظیم اسمزی اتفاق نظر وجود دارد (۶۰).

آفتابگردان (*Helianthus annuus* L.) گیاهی یکساله از خانواده Asteraceae است که خاستگاه اولیه آن آمریکای مرکزی می‌باشد (۵۶). این گیاه با تأمین ۱۲ درصد روغن گیاهی جهان یکی از مهم‌ترین منابع روغن گیاهی است (۵۳). با توجه به گزارشات Mass & Haffman (۳۳) گیاه آفتابگردان با آستانه تحمل به شوری ۲/۳ دسی‌زیمنس بر - متر گیاهی نیمه حساس به شوری است. تنش شوری بسیاری از فرآیندهای فیزیولوژیک و مورفولوژیک گیاهان زراعی نظیر آفتابگردان را تحت تأثیر قرار می‌دهد (۱۴).

بقیه گیاهچه‌ها حذف شدند. آبیاری گلدانها سه بار در هفته انجام می شد و در دو بار از سه بار، آبیاری با آب حاوی ۰/۵ گرم در لیتر کود ۲۰-۲۰-۲۰ (N-P-K) انجام می گرفت. بعد از رسیدن گیاهچه‌ها به مرحله هشت برگی (گیاهچه های ۴۵ روزه)، سطوح مختلف تنش شوری در گلدانها اعمال گردید و جهت جلوگیری از تنش اسمزی و خروج آب از زهکش گلدانها، اعمال تنش در دو روز متوالی صورت گرفت. با توجه به جدول ۱ شوری اولیه خاک مورد استفاده یک دسی زیمنس بر متر بود که به عنوان شاهد (۰) در نظر گرفته شد. با افزودن مقدار مناسب نمک به خاک گلدانها شوری مورد نظر (۲، ۴، ۶ و ۸ دسی زیمنس بر متر) تأمین گردید. در طول آزمایش کنترل مقدار شوری خاک گلدانها به وسیله دستگاه EC سنج انجام گرفت. دوازده روز بعد از اعمال تنش شوری، متغیرهای زیر در گیاهچه ها اندازه گیری شد.

جدول ۱- خصوصیات بستر (خاک + پیت ماس) مورد استفاده در بررسی واکنش فیزیولوژیک ۲ ژنوتیپ حساس و متحمل آفتابگردان روغنی به تنش شوری

Soil Sample	pH	EC	OC	OM	CaCO <sub>3</sub>	Clay	Silt	Sand	Texture	K	P
	-	dS/m	%	%	%	%	%	%	-	mg/kg	mg/kg
	7.96	1.09	0.68	1.17	12.0	24	40	36	Loam	218.96	16

pH: potential of hydrogen; EC: electrical conductivity; OC: organic carbon; OM: organic matter; K: potassium; P: poporus.

قرار داده شدند. بعد از خارج ساختن نمونه‌ها از حمام آب گرم، نمونه‌ها در داخل یخ به سرعت سرد شدند و روی هر نمونه چهار میلی لیتر تولوئن اضافه و به هم زده شد. بعد از تشکیل دو فاز، میزان جذب فاز رویی برای هر نمونه در طول موج ۵۲۰ نانومتر توسط دستگاه اسپکتروفتومتر (WPA S2100, UK) اندازه گیری شد. جهت تعیین میزان پرولین، منحنی استاندارد با استفاده از غلظتهای معلوم پرولین تهیه گردید.

**مالون دی آلدئید:** برای اندازه‌گیری مالون دی آلدئید از روش Heath & Packer (۲۲) استفاده گردید. بر طبق این روش، ۰/۲ گرم از بافت تازه برگ‌گی توزین شد و در هاون چینی حاوی پنج میلی لیتر تری کلرو استیک اسید (TCA)

شوری از میان ۱۰۲ لاین انتخاب شدند (۴۱). واکنش مولکولی لاینها شامل C86 (متحمل به شوری) و C64 (حساس به شوری) تحت سطوح مختلف تنش شوری ناشی از NaCl شامل صفر، ۲، ۴، ۶ و ۸ دسی زیمنس بر متر به صورت فاکتوریل بر پایه طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار در شرایط گلخانه در سال ۱۳۹۳ بررسی گردید. بدین منظور تعداد ۶۰ گلدان با قطر دهانه ۱۲ و ارتفاع ۱۶ سانتیمتر انتخاب و با خاک مزرعه و پیت ماس به نسبت سه به یک پر شدند. در هر گلدان تعداد سه بذر در عمق دو سانتیمتری خاک کاشته شد. رشد نمونه‌ها در اتاقک رشد با شرایط ۱۲ ساعت نور با شدت  $200 \mu\text{Em}^{-2}\text{s}^{-1}$ ، ۲۰۰ ساعت تاریکی، دمای بیشینه ۲۸ درجه سانتی‌گراد و دمای کمینه ۱۲ درجه سانتی‌گراد دنبال شد. بعد از جوانه‌زدن و ظهور گیاهچه‌ها، در سطح هر گلدان گیاهچه های با بنیه، سالم و حدواسط (نه ضعیف و نه قوی) نگهداری شد و

پرولین: مقدار پرولین آزاد بر طبق روش Bates و همکاران (۸) اندازه‌گیری شد. برای سنجش میزان پرولین ۰/۰۴ گرم از نمونه برگ به همراه ۱۵ میلی لیتر اسید سولفوسالیسیلیک سه درصد در هاون ساییده شد و به مدت ۷۲ ساعت در یخچال در دمای چهار درجه سانتی‌گراد نگهداری شد تا اسید آمینه پرولین آزاد شود. بعد از ۷۲ ساعت نمونه‌ها به مدت ۲۰ دقیقه با سرعت ۳۰۰۰ دور سانتی‌فیوژ شدند. سپس به دو میلی لیتر از محلول رویی، مقدار دو میلی لیتر اسید استیک گلاسیال و دو میلی لیتر معرف نین هیدرین (شامل ۲۰ میلی لیتر اسید فسفریک شش مولار، ۳۰ میلی لیتر استیک اسید گلاسیال و ۱/۲۵ گرم نین هیدرین) اضافه شد و نمونه‌ها به مدت یک ساعت در حمام آب گرم با دمای ۱۰۰ درجه

اندازه‌گیری فتوستتز خالص با استفاده از دستگاه HCM-1000 ساخت شرکت WALZ (آلمان) انجام گرفت. در طول اندازه‌گیری، شدت نور و دمای محفظه Cuvette که برگ در داخل آن قرار می‌گرفت، ثابت بود و بر اساس دستورالعمل دستگاه به ترتیب  $1500 \mu\text{mol m}^{-2}$  و  $33-30$  درجه سانتی‌گراد در نظر گرفته شد. یکی از برگ‌ها که در همه گلدانها در یک موقعیت قرار داشت، زیر اتاقک در دستگاه قرار داده شد. سطح برگ داخل محفظه اتاقک پنج سانتیمتر مربع بود.

**سنجش فعالیت آنزیم گایاکول پراکسیداز:** جهت اندازه‌گیری فعالیت آنزیم ابتدا از برگ‌های گیاهان مورد آزمایش نمونه برداری شد. نمونه‌ها بلافاصله پس از برداشت در فریزر در دمای  $-80$  درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند. مقدار  $0.5$  گرم از بافت تر برگ به همراه سه میلی‌لیتر بافر استخراج تریس-اسید کلریدریک  $50$  میلی‌مولار ( $\text{pH}=7$ ) محتوی سه میلی‌مولار  $\text{MgCl}_2$ ، یک میلی‌مولار EDTA در هاون سرد ساییده شد. هموزنات حاصل به مدت  $20$  دقیقه در شرایط دمایی چهار درجه سانتی‌گراد با  $5000$  دور در دقیقه سانتریفیوژ شد. محلول رویی برای سنجش فعالیت آنزیم مورد استفاده قرار گرفت. سنجش فعالیت آنزیم با استفاده از روش Upadhyaya و همکاران (۶۲) انجام شد. مخلوط واکنش شامل  $2/5$  میلی‌لیتر بافر فسفات  $50$  میلی‌مولار ( $\text{pH}=7$ ) محتوی یک میلی‌لیتر گایاکول یک درصد، یک میلی‌لیتر  $\text{H}_2\text{O}_2$  یک درصد و  $0.1$  میلی‌لیتر عصاره استخراج شده بود. فعالیت گایاکول پراکسیداز به صورت افزایش در جذب طی یک دقیقه در طول موج  $420$  نانومتر محاسبه شد. برای سنجش میزان فعالیت از ضریب خاموشی ( $26/6 \text{ mM}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ ) و فرمول زیر استفاده شد.

یک درصد ساییده شد. و عصاره حاصل با استفاده از دستگاه سانتریفیوژ به مدت  $10$  دقیقه با سرعت  $8000$  دور در دقیقه (rpm) سانتریفیوژ گردید. روی یک میلی‌لیتر از محلول رویی به مقدار چهار میلی‌لیتر از محلول محتوی  $20$  TCA درصد و  $0.5$  TBA درصد اضافه شد. سپس نمونه‌ها به مدت  $30$  دقیقه در حمام آب گرم با دمای  $95$  درجه سانتی‌گراد قرار گرفتند. بعد از آن نمونه‌ها بلافاصله در آب یخ سرد شدند و سپس به مدت پنج دقیقه با  $8000$  دور در دقیقه (rpm) سانتریفیوژ شدند و در نهایت میزان جذب نمونه‌ها در دو طول موج  $532$  نانومتر (A532) و  $600$  نانومتر (A600) اندازه‌گیری شد. میزان MDA از ضریب خاموشی ( $155 \text{ mM}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ ) و با استفاده از فرمول زیر محاسبه شد.

$$\text{MDA}(\mu\text{mol/g Fw}) = [(A532 - A600)] \times 100$$

**محتوای کلروفیل کل برگ‌ها و فتوستتز خالص:** در مرحله پر شدن دانه‌ها، محتوای کلروفیل برگ‌ها به روش اسپکتروفتومتری تعیین شد. برای اندازه‌گیری رنگیزه‌های کلروفیلی از روش Lichtenthaler & Wellburn (۳۱) استفاده شد. بر طبق این روش، مقدار  $0.1$  گرم از بافت تازه برگ‌ها توزین شد و در هاون چینی حاوی پنج میلی‌لیتر استون  $100$  درصد ساییده شد و عصاره حاصل با استفاده از دستگاه سانتریفیوژ به مدت  $10$  دقیقه با سرعت  $2500$  دور در دقیقه (rpm) سانتریفیوژ گردید. سپس میزان جذب فاز بالایی هر یک از نمونه‌ها توسط اسپکتروفتومتر (WPA, UK S2100) در طول موجهای  $662$  نانومتر،  $645$  نانومتر اندازه‌گیری شد. برای محاسبه کلروفیل کل از فرمول زیر استفاده شد.

$$\text{TCh} = (11.75 A662 - 2.350 A645) + (18.61 A645 - 3.960 A662)$$

در این فرمول A میزان جذب خوانده شده در هر طول موج توسط اسپکتروفتومتر می‌باشد.

$$\text{Units}(mM / \text{min}) = \frac{d[OD]}{S \text{ tandard}(Slop)} \times [Vol][of][assay]$$

$$\text{ExtinctionCoefficient}$$

استفاده از آزمون SNK و در سطح احتمال ۵ درصد انجام گرفت.

### نتایج و بحث

بررسی تغییرات پرولین و مالون دی‌آلدئید: از مهم‌ترین پاسخ گیاهان به تنش‌های غیرزیستی افزایش سنتز انواع مواد حل شونده سازگار از قبیل پرولین می‌باشد (۵۹). پرولین در تنظیم اسمزی بسیار فعال است و با کاهش تأثیرات تخریبی NaCl بر روی غشای سلولی، باعث پایداری غشاء می‌گردد (۳۵). بر اساس نتایج بسیاری از پژوهش‌ها تجمع پرولین به‌عنوان یک شاخص، نشان دهنده کاهش اثرات مخرب تنش شوری است (۱۷ و ۵۵). بر اساس نتایج جدول تجزیه واریانس، برهمکنش ژنوتیپ × تنش بر مقدار پرولین در سطح احتمال ۵ درصد معنی دار می‌باشد (جدول ۲).

تجزیه و تحلیل داده‌ها: تجزیه آماری داده‌های حاصل از اندازه‌گیری صفات مختلف با استفاده از نرم افزار SPSS نسخه ۲۴ و SAS نسخه ۹/۴ انجام گرفت. قبل از تجزیه واریانس فرضیات اساسی شامل همگنی واریانسها و توزیع نرمال اشتباهات آزمایشی آزمون شدند. برای این منظور در نرم افزار SPSS در مسیر Analyze/General linear model/Univariate بعد از تعیین مدل تجزیه داده‌ها، با انتخاب Save/Residuals/unstandardized اشتباهات آزمایشی محاسبه شدند. برای آزمون نرمال بودن توزیع اشتباهات آزمایشی از مسیر Analyze/Descriptive statistics/p-p plots استفاده شد. برای آزمون همگنی واریانسها بعد از تعیین مدل تجزیه، از قسمت Options/Homogeneity tests استفاده شد که آزمون همگنی را بر اساس Levene's test انجام می‌دهد. این کار از مسیر دیگر نیز قابل انجام است. مقایسه میانگینها با

جدول ۲- تجزیه واریانس داده‌های حاصل از اندازه‌گیری پرولین، مالون دی‌آلدئید، آنزیم گاباکول پراکسیداز، کلروفیل کل و فتوسنتز خالص در برگ

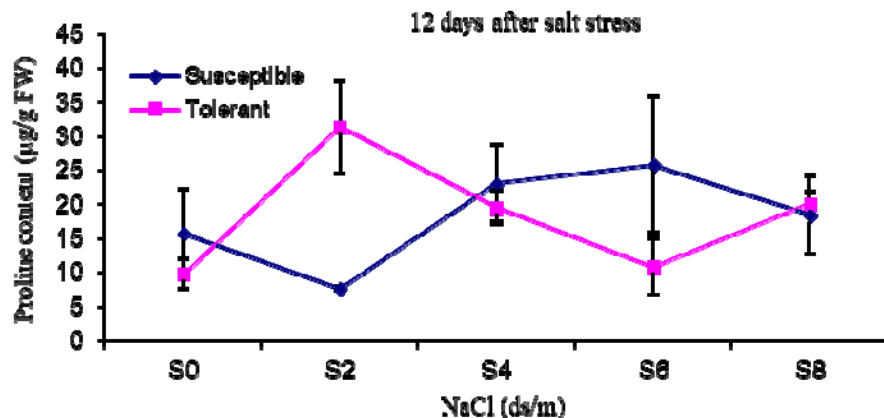
گیاهچه‌های دو ژنوتیپ حساس و متحمل آفتابگردان روغنی ۱۲ روز بعد از اعمال تنش شوری

Source of variation	df	Mean Square				
		Proline	MDA	GPX	TCh	NP
Salt	4	53.13	0.33*	0.0002	146.93**	7.23*
Genotype	1	0.16	0.055	0.0011**	147.29**	0.38
Genotype × Salt	4	297.29*	0.014	0.0002**	46.82**	0.20
Error	18	86.63	0.09	0.0001	8.97	1.53
Contrast						
Normal vs Salt (NaCl)	1	184.36 <sup>ns</sup>	0.51*	0.0003 <sup>ns</sup>	150.79**	22.97**

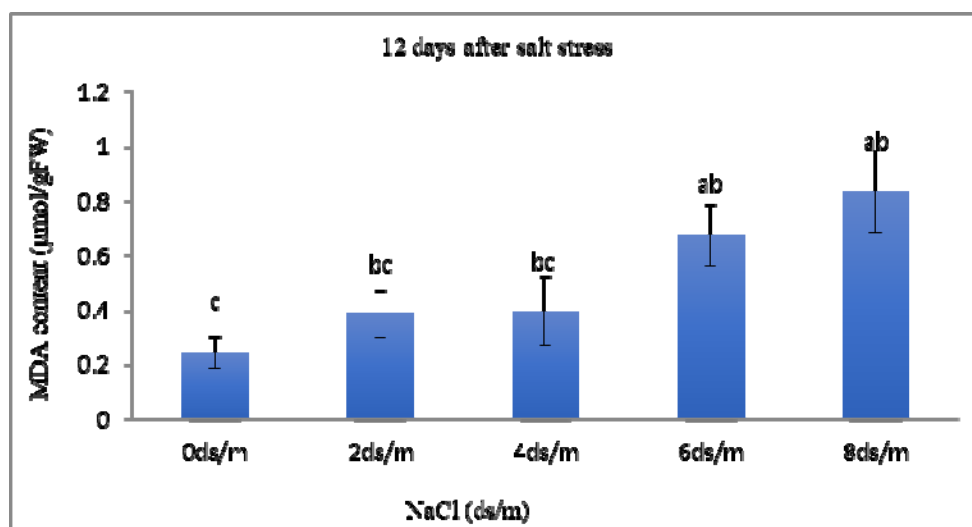
NP: net photosynthesis, MDA: Malondialdehyde, GPX: guaiacol peroxidases, TCh: total chlorophyll, df: degree of freedom. <sup>ns</sup>, \* and \*\* Non-significant, significant at 5% and 1% probability level, respectively. vs: versus.

اسیدآمین پرولین افزایش می‌یابد (۲). Moaveni و همکاران (۳۹) در شرایط کنترل نشده مزرعه‌ای تفاوت معنی داری بین ژنوتیپهای چغندرقد از نظر مقدار پرولین مشاهده نکردند. این در حالی است که آنها گزارش کردند که بررسی تجمع پرولین در محیطهای کنترل شده، در تشخیص ژنوتیپهای متحمل و حساس از اهمیت بیشتری برخوردار است.

بر اساس نتایج مقایسه میانگین، بین دو ژنوتیپ آفتابگردان در سطح شوری دو (ds/m) اختلاف معنی دار مشاهده شد به طوری که بیشترین تجمع پرولین (۳۱/۳۶ درصد) مربوط به ژنوتیپ متحمل بود (شکل ۱). در زمینه افزایش پرولین در گیاهان تحت تنش شوری گزارشهای زیادی وجود دارد، از جمله می‌توان به مطالعات دیگر در آفتابگردان (۶ و ۲۴)، کلزا (۷)، گندم (۲۵) و یونجه (۳۶) اشاره کرد. مشخص شده است که با اعمال تنش شوری در سویا میزان سنتز



شکل ۱- اثر متقابل شوری و ژنوتیپ روی تغییرات میزان پرولین در آفتابگردان روغنی. در محور X حرف انگلیسی S شوری را نشان می‌دهد. عدد بعد از S سطح شوری را نشان می‌دهد که عبارتند از: ۰، ۲، ۴، ۶ و ۸ دسی زیمنس بر متر. خط آبی نشان دهنده ژنوتیپ C64 (حساس) و خط قرمز نشان دهنده ژنوتیپ C86 (متحمل) است. Error bar روی ستونها نشان دهنده (Standard Error: SE) است.

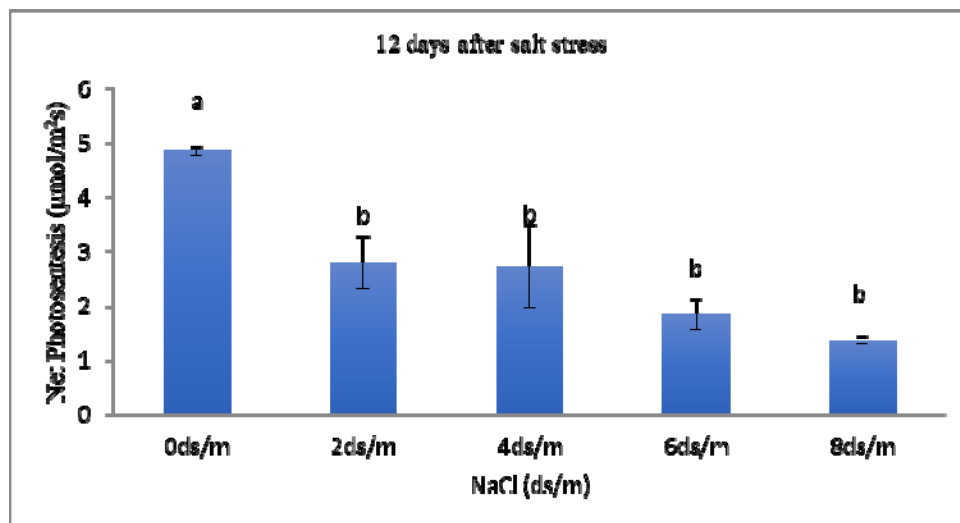


شکل ۲- تأثیر سطوح مختلف تنش شوری بر تغییرات مالون‌دی‌آلدئید در آفتابگردان روغنی در سطوح مختلف تنش شوری. حروف غیرمشترک در بالای ستونها بیانگر تفاوت معنی‌دار در سطح احتمال ۵ درصد با آزمون SNK می‌باشد.

تنش شوری در کلزا میزان مالون دی‌آلدئید افزایش نشان داد (۲۱).

بررسی تغییرات فتوستتزر خالص و کلروفیل کل: بر اساس نتایج تجزیه واریانس اثر شوری بر میزان فتوستتزر خالص و اثرات شوری و ژنوتیپ و همچنین برهمکنش ژنوتیپ × شوری بر روی میزان کلروفیل کل معنی‌دار می‌باشد (جدول ۲). بعد از اعمال تنش شوری کاهش معنی‌دار در میزان فتوستتزر خالص نسبت به سطح شوری صفر، مشاهده گردید (شکل ۳).

مالون‌دی‌آلدئید به‌عنوان شاخصی برای سنجش میزان پراکسیدایون چربیها و صدمات وارده به غشاء در تنش‌های غیر زیستی در نظر گرفته می‌شود (۴۴). بر اساس نتایج جدول تجزیه واریانس اثر شوری بر میزان مالون دی‌آلدئید از لحاظ آماری معنی‌دار می‌باشد (جدول ۲). با افزایش سطوح شوری، میزان مالون دی‌آلدئید افزایش پیدا کرده به طوری که بیشترین مقدار (۸۳ درصد) در بالاترین سطح شوری (۸ دسی‌زیمنس بر متر) مشاهده گردید (شکل ۲). در رابطه با افزایش مالون دی‌آلدئید نیز گزارش‌های متعددی (۱ و ۲۰) در گیاهان منتشر شده است. با افزایش شدن

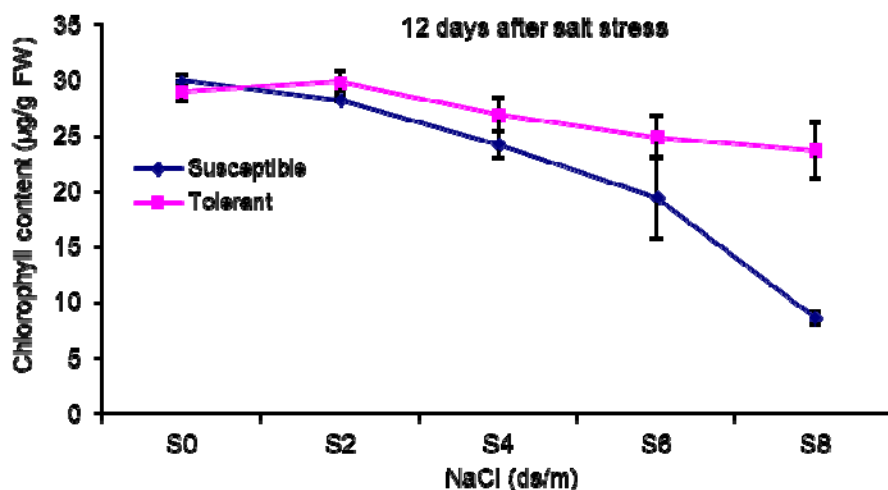


شکل ۳- تأثیر سطوح مختلف تنش شوری بر میزان فتوسنتز خالص در آفتابگردان روغنی در سطوح مختلف تنش شوری. حروف غیر مشترک در بالای ستونها بیانگر تفاوت معنی‌دار در سطح احتمال ۵ درصد با آزمون SNK می‌باشد.

برگ، سطح برگ، سرعت فتوسنتز خالص، و میزان هدایت روزنه‌ای آفتابگردان کاهش می‌یابد. همچنین در آزمایش Liu و همکاران (۳۲) با افزایش سطح شوری از صفر به ۱۰ دسی‌زیمنس برمتر، سرعت فتوسنتز خالص و محتوای کلروفیل در آفتابگردان کاهش یافت. نتایج مطالعات در برنج (۱۱) و تربچه (۴۵) نیز نشان داد که تنش شوری تأثیرات منفی روی محتوای کلروفیل داشته، به طوری که تنش باعث کاهش محتوای کلروفیل می‌گردد که این روند در توافق با یافته‌های این تحقیق می‌باشد. همچنین در گیاهان حساس به تنش شوری در گندم (۱۵، ۴۹)، کلزا (۵) و برنج (۲۸) کاهش غلظت کلروفیل تحت تنش شوری مشاهده شده است. بنابراین می‌توان نتیجه گرفت که میزان رنگدانه‌های برگ (از جمله کلروفیل) در ژنوتیپ‌های آفتابگردان می‌تواند معیار خوبی برای سنجش تحمل یا حساسیت آنها به تنش شوری باشد. Mittal و همکاران (۳۷) مشاهده کردند که تحت تنش شوری محتوای کلروفیل در ارقام متحمل به شوری در کلزا در مقایسه با ارقام حساس بالاتر است. بنابراین میزان کلروفیل می‌تواند به عنوان یک معیار انتخاب برای اصلاح مقاومت به شوری در نظر گرفته شود.

کاهش سرعت فتوسنتز خالص در شرایط تنش باعث آسیب رسیدن به فرایندهای بیوشیمیایی می‌شود. به طوری که در شرایط تنش به دلیل عدم اکسید شدن مولکول  $NADPH/H^+$ ، مصرف  $NADP^+$  جهت دریافت الکترون به عنوان گیرنده نهایی الکترون کاهش می‌یابد. بنابراین مولکول اکسیژن در مسیر زنجیره انتقال الکترون به عنوان گیرنده نهایی الکترون عمل می‌کند و منجر به شکل‌گیری گونه‌های فعال اکسیژن می‌شود (۱۶). گونه‌های فعال اکسیژن به عنوان عوامل مخرب، موجب تنش اکسیداتیو از جمله پراکسیداسیون چربیها و به تبع آن خسارت به غشای سلولی و تخریب کلروفیل می‌شوند (۱۹). در رابطه با میزان کلروفیل با توجه به نتایج مقایسه میانگینها، در ژنوتیپ متحمل از شوری صفر تا هشت دسی‌زیمنس تغییری محسوس در میزان کلروفیل کل مشاهده نشد ولی در ژنوتیپ حساس مقدار کلروفیل کل در سطح شوری ۸ دسی‌زیمنس برمتر به میزان ۸/۶۶ درصد کاهش نشان داد. بنابراین حفظ کلروفیل در سطح بالا در لاین متحمل در مقایسه با لاین حساس مشاهده می‌شود (شکل ۴).

این نتایج در توافق با مطالعات Omami (۴۷) در گیاه آفتابگردان می‌باشد که بیان نمود با افزایش سطح شوری (صفر، ۲، ۵، ۱۰ و ۱۲ دسی‌زیمنس برمتر) ارتفاع گیاه، تعداد



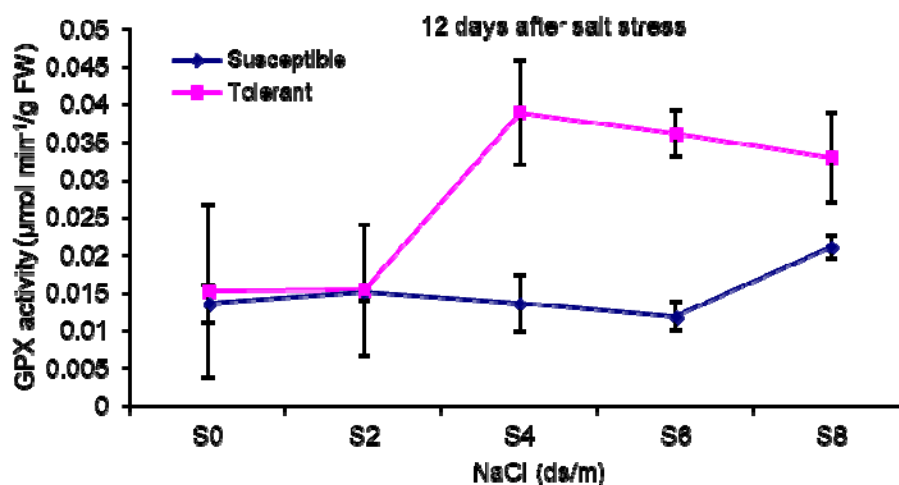
شکل ۴- اثر متقابل شوری و ژنوتیپ روی تغییرات کلروفیل کل در آفتابگردان روغنی. در محور X حرف انگلیسی S شوری را نشان می‌دهد. عدد بعد از S سطح شوری را نشان می‌دهد که عبارتند از: ۰، ۲، ۴، ۶ و ۸ دسی‌زیمنس بر متر. خط آبی نشان دهنده ژنوتیپ C64 (حساس) و خط قرمز نشان دهنده ژنوتیپ C86 (متحمل) است. Error bar روی ستونها نشان دهنده (Standard Error: SE) است.

حساس بود ولی از شوری چهار تا هشت دسی‌زیمنس بر متر میزان فعالیت آنزیم افزایش (۳۹ درصد) یافته است (شکل ۵). احتمالاً همین عامل باعث تحمل بیشتر ژنوتیپ C86 نسبت به تنش شوری باشد. این نتایج در توافق با مطالعات اخیر انجام شده در گیاه سویا (۲ و ۶۳) و گوجه-فرنگی (۱۲) می‌باشد. Pouresmaeil و همکاران (۴۸) اظهار داشت که تنش‌های غیرزیستی سبب کاهش ارزش صفات زراعی لوبیا و افزایش میزان فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان مختلف می‌شوند و همچنین بیان کردند که افزایش آنزیم‌های فوق در شرایط تنش نشان دهنده اثر این آنزیمها در مقابله با گونه‌های فعال اکسیژن و به تبع آن کاهش خسارت تنش اکسیداتیو باشد.

**تجزیه همبستگی صفات:** نتایج همبستگی بین صفات در جدول ۳ آورده شده است. طبق نتایج این تحقیق، بین صفات مالون دی‌آلدئید و فتوستتز خالص و همچنین مالون دی‌آلدئید و کلروفیل کل همبستگی منفی و معنی‌داری مشاهده شد. بین کلروفیل کل و فتوستتز خالص همبستگی مثبت و معنی‌دار مشاهده شد. بین میزان مالون دی‌آلدئید و فعالیت آنزیم گایاکول‌پراکسیداز همبستگی مثبت اما معنی‌دار در سطح احتمال ۱۰ درصد مشاهده شد.

**سنجش فعالیت آنزیم گایاکول‌پراکسیداز:** حذف گونه‌های فعال اکسیژن (ROS) یکی از مکانیسم‌های مهم مقاومت به تنش شوری در گیاهان است (۴۳). برای غلبه بر آثار اکسیداتیو القاء شده از شوری و خنثی کردن اثر سمی اکسیژن‌های واکنش‌گر، گیاهان از یک سیستم آنتی-اکسیدانی پیچیده استفاده می‌کنند که شامل آنتی‌اکسیدانهای غیرآنزیمی مثل کاروتنوئیدها، اسیدآسکوربیک و آنزیم‌های جاروبگر ROS مثل گایاکول‌پراکسیداز می‌باشد (۹ و ۴۴). گایاکول‌پراکسیداز از اکسیداسیون ترکیبات فنولی همانند گایاکول، برای سم زدایی و تجزیه پراکسید هیدروژن استفاده می‌کند. این آنزیم معمولاً در سیتوپلاسم، دیواره سلولی و واکوئلهای دیده می‌شود. همچنین در طی فرآیند سم زدایی از گایاکول به عنوان دهنده الکترون به پراکسید هیدروژن استفاده می‌کند (۲۳). نتایج تجزیه واریانس نشان داد اثر ژنوتیپ و همچنین برهمکنش ژنوتیپ × شوری در سطح احتمال ۱ درصد روی فعالیت آنزیم معنی‌دار است (جدول ۲). با توجه به نتایج مقایسه میانگین، در ژنوتیپ حساس از صفر تا هشت دسی‌زیمنس تغییر آنچنان در فعالیت آنزیم مشاهده نشد ولی در ژنوتیپ متحمل تا شوری چهار دسی‌زیمنس بر متر، واکنش مشابه ژنوتیپ





شکل ۵- اثر متقابل شوری و ژنوتیپ روی تغییرات آنزیم گایاکول پراکسیداز در آفتابگردان روغنی. در محور X حرف انگلیسی S شوری را نشان می‌دهد. عدد بعد از S سطح شوری را نشان می‌دهد که عبارتند از: ۰، ۲، ۴، ۶ و ۸ دسی‌زیمنس بر متر. خط آبی نشان دهنده ژنوتیپ C64 (حساس) و خط قرمز نشان دهنده ژنوتیپ C86 (متحمل) است. Error bar روی ستونها نشان دهنده (Standard Error: SE) است.

جدول ۳- همبستگی بین صفات محتوای پرولین، مالون دی‌آلدئید، آنزیم گایاکول پراکسیداز، کلروفیل کل و فتوسنتز خالص در برگ گیاهچه‌های دو ژنوتیپ حساس و متحمل آفتابگردان روغنی ۱۲ روز بعد از اعمال تنش شوری

Character	Proline	MDA	NP	GPX	TCh
Proline	1				
MDA	0.235	1			
NP	-0.226	-0.818**	1		
GPX	-0.163	0.462	-0.324	1	
TCh	-0.150	-0.733*	0.681*	-0.053	1

### نتیجه‌گیری و پیشنهادات

برخلاف انتظار میزان پراکسیداسیون چربیها (میزان مالون دی‌آلدئید) که به عنوان نشانگر جهت ارزیابی وضعیت درون سلولی در شرایط تنش استفاده می‌شود به طور معنی‌دار افزایش یافته است. لذا احتمال می‌رود که افزایش آسیب به غشاء‌های سلول ناشی از عدم کارایی آنزیم گایاکول پراکسیداز باشد. البته در چنین مواقعی گیاه از یک سری مکانیسمهای دفاعی جایگزین (نظیر چرخه مهلر (۳۸)) نیز استفاده می‌کند که لازم است در ادامه تحقیق بررسیهای بیشتر در این زمینه انجام گیرد تا مکانیسمهای دفاعی ژنوتیپ متحمل روشن شود. به عنوان یک نتیجه کاربردی از آنجا که کاهش معنی‌دار در میزان کلروفیل ژنوتیپ متحمل تحت شرایط تنش شوری در مقایسه با شرایط کنترل مشاهده نشد در حالی که کاهش در میزان کلروفیل در ژنوتیپ حساس مشاهده شد و از طرفی مطالعه

شوری تنش پیچیده‌ای است که بر فعالیتهای مختلف فیزیولوژیک و بیوشیمیایی گیاه تأثیر می‌گذارد و باعث کاهش رشد گیاه می‌شود. در این تحقیق با افزایش سطوح شوری میزان فتوسنتز خالص کاهش یافت. این کاهش احتمالاً باعث کاهش تثبیت دی‌اکسید کربن در چرخه کالوین شده است. کاهش فعالیت این چرخه منجر به افت نسبت  $NADP^+/NADP^+-H^+$  و افزایش تولید انواع گونه‌های فعال اکسیژن می‌شود. افزایش میزان پراکسیداسیون چربیها (میزان مالون دی‌آلدئید) خود گواه بر این ادعاست. با افزایش فعالیت آنزیم آنتی‌اکسیدان گایاکول پراکسیداز در شرایط تنش شوری انتظار می‌رفت که همانند شرایط مطلوب محیطی بین تولید گونه‌های فعال اکسیژن و فعالیت مکانیسمهای دفاعی تعادل وجود داشته باشد. اما

زیست فناوری دانشگاه ارومیه به خاطر فراهم نمودن هزینه و امکانات لازم برای انجام این پژوهش، تشکر و قدردانی می‌گردد. از انستیتو تحقیقات آگرونومی تولوز فرانسه نیز به خاطر در اختیار قرار دادن بذور لاینهای آفتابگردان تشکر می‌گردد.

محتوای کلروفیل مشکل نیست با اندازه گیری میزان این رنگریزه می توان از آن به عنوان یک معیار مناسب برای غربال ژنوتیپها در شوریه‌های بالا استفاده نمود.

### تشکر و قدردانی

نتایج این مقاله از طرح تحقیقاتی مصوب دانشگاه مستخرج شده است. بدین وسیله از معاونت پژوهشی و پژوهشکده

### منابع

- 1- Arora, N., Bhardwaj, R., Sharma, P. and Arora, H.K. (2008). Homobrassinolide alleviates oxidative stress in salt-treated maize (*Zea mays* L.) plants. *Brazilian Journal of Plant Physiology*, 20: 153-157.
- 2- Arshi, A., Ahmad, A., Aref, I. and Iqbal, M. (2012). Comparative studies on antioxidant enzyme action and ion accumulation in soybean cultivars salinity stress. *Journal of Environmental Biology*, 33: 9-20.
- 3- Arzani, A. (2008). Improving salinity tolerance in crop plants: biotechnology view. *In Vitro Cellular & Developmental Biology- Plant*, 44: 373- 383.
- 4- Ashraf, M. and Foolad, M.R. (2013). Crop breeding for salt tolerance in the era of molecular markers and marker-assisted selection. *Plant Breeding*, 132: 10-20.
- 5- Ashraf, M. and McNeilly, T. (2004) Salinity tolerance in Brassica oilseeds. *Critical Reviews in Plant Sciences*, 23: 157-174.
- 6- Ashraf, M. and Tufail, M. (1995). Variation in salinity tolerance in sunflower (*Helianthus annuus* L.). *Journal of Agronomy and Crop Science*, 174: 351-362.
- 7- Bandeh-Hagh, A., Toorchi, M., Mohammadi, A., Chaparzdeh, N., Salekdeh, G. H. and Kazemnia, H. (2008). Growth and osmotic adjustment of canola genotypes in response to salinity. *Journal of Food, Agriculture and Environment*, 6: 201-208.
- 8- Bates, L. S., Walderson, R. P. and Teare, I. D. (1973). Rapid determination of free proline for water stress studies. *Plant and Soil*, 39: 205-208.
- 9- Beltagi, M.S. (2008). Exogenous ascorbic acid (vitamin C) induced anabolic changes for salt tolerance in chick pea (*Cicer arietinum* L.) plants. *African Journal of Plant Science*, 2: 118-123.
- 10- Bhattacharjee, S. and Mukherjee, A.K. (2002). Salt stress induced cytosolute accumulation, antioxidant response and membrane deterioration in three rice cultivars during early germination. *Seed Science and Technology*, 30: 279-287.
- 11- Celic, O. and Atak, C. (2012). The effect of salt stress on antioxidative enzymes and proline content of two Turkish tobacco varieties. *Turkish Journal of Biology*, 36: 339-356.
- 12- Dongan, M. (2012). Investigation of the effect of salt stress on the antioxidant enzyme activities on the young and old leaves of salsola (*Stenoptera*) and tomato (*Lycopersicon esculentum* L.). *African Journal of Plant Science*, 6: 62-72.
- 13- Ebrahimi, R. and Bhatla, S.C. (2012). Ion distribution measured by electron probe X-ray microanalysis in apoplastic and symplastic pathways in root cells in sunflower plants grown in saline medium. *Journal Biosciences*, 37: 713-721.
- 14- Ebrahimian, E., Roshdi, M. and Bybordi, A. (2011). Influence of salt stress on cations accumulation, quantity and quality of sunflower cultivars. *Journal of Food, Agriculture and Environment*, 9(2): 469-476.
- 15- Ehsanzadeh, P., Nekoonam, M. S., Azhar, J. N., Pourhadian, H. and Shaydaee, S. (2009) Growth, chlorophyll, and cation

- concentration of tetraploid wheat on a solution high in sodium chloride salt: hulled versus free-threshing genotypes. *Journal of Plant Nutrition* 32: 58-70.
- 16- Esfandiari, E., Shakiba, M.R., Mahboob, S.A., Alyari, H. and Toorchi, M. (2007). Water stress, antioxidant enzyme activity and lipid peroxidation in wheat seedling. *Journal of Food, Agriculture and Environment* 5: 149-153.
  - 17- Farzaneh Behelgard M., Motamed N., Rastgar Jazzi F. and Ebrahimzadeh H. (2014). Increase of P5CS gene expression in olive plantlets under salinity stress. *Journal of Molecular and Cellular Research*, 27(1): 119-124.
  - 18- Fita A., Rodríguez-Burruezo A., Boscaiu M., Prohens J. and Vicente O. (2015). Breeding and Domesticating Crops Adapted to Drought and Salinity: A New Paradigm for Increasing Food Production. *Frontiers in Plant Science*, 6: 978. doi: 10.3389/fpls.2015.00978.
  - 19- Foyer, C.H. and Noctor, G. (2005) Oxidant and antioxidant signaling in plants: a reevaluation of the concept oxidative stress in a physiological context. *Plant, Cell and Environment*, 28: 1056-1071.
  - 20- Gunes, A., Inal, A., Alpuslan, M., Fraslan, F., Guneri, E. and Cicek, N. (2007). Salicylic acid induced changes on some physiological parameters symptomatic for oxidative stress and mineral nutrition in maize grown under salinity. *Journal of Plant Physiology*, 164: 728-736.
  - 21- Hasanuzzaman, M., Mahabub Alam, M., Nahar, K., Al-Mahmud, J., Ahamed, K. and Fujita, M. (2014). Exogenous salicylic acid alleviates salt stress-induced oxidative damage in Brassica napus by enhancing the antioxidant defense and glyoxalase systems. *Australian Journal of Crop Science*, 8: 631-639.
  - 22- Heath, R. L. and Packer, L. (1968). Photoperoxidation in isolated chloroplasts. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 125: 850-857.
  - 23- Heidari, M. (2016). Physiology and mechanism of resistance to environmental stress in crops. Shahrood University of Technology Press, 232 pp.
  - 24- Heidari, A., Toorchi, M. Bandehag, A. and Shakiba, M.R. (2011). Effect of NaCl stress on growth, water relations, organic and inorganic osmolytes accumulation in sunflower (*Helianthus annuus* L.) lines. *Universal Journal of Environmental Research and Technology*, 3: 351-362.
  - 25- Heidari, M. and Mesri, F. (2008). Salinity effects on compatible solutes, antioxidants enzymes and ion content in three wheat cultivars. *Pakistan Journal of Biological Sciences*, 11: 1385-1389.
  - 26- Hebbara M., Rajakumar G.R., Ravishankar G. and Raghavaiah C.V. (2003). Effect of salinity stress on seed yield through physiological parameters in sunflower genotypes. *Helia*, 26(39): 155-160.
  - 27- Horie, T., Karahara, I. and Katsuhara, M. (2012). Salinity tolerance mechanisms in glycophytes: an overview with the central focus on rice plants. *Rice*, 5: 11-29.
  - 28- Kanawapee, N., Sanitchon, J., Lontom, W. and Threerakulpisut, P. (2012) Evaluation of salt tolerance at the seedling stage in rice genotypes by growth performance, ion accumulation, proline and chlorophyll content. *Plant and Soil*, 358: 235-249.
  - 29- Khan, M.S. (2011). Role of sodium and hydrogen ( $\text{Na}^+/\text{H}^+$ ) antiporters in salt tolerance of plants: present and future challenges. *African Journal of Biotechnology*, 10: 13693-13704.
  - 30- Kuznetsov, V., Shorina, M., Aronova, E., Stetsenko, L., Rakitin, V. and Shevyakov, N. (2007). NaCl and ethylene dependent cadaverine accumulation and its possible protective role in the adaptation of the common ice plant to salt stress. *Plant Science*, 172: 363-370.
  - 31- Lichtenthaler, H.K. and Wellburn, A.R. (1985). Determination of total carotenoids and chlorophylls a and b of leaf in different solvents. *Biochemical Society Transactions*, 11: 591-592.

- 32- Liu, J. and Shi, D.C. (2010). Photosynthesis, chlorophyll fluorescence, inorganic ion and organic acid accumulations of sunflower in responses to salt and salt-alkaline mixed stress. *Photosynthetica*, 48: 127-134.
- 33- Maas, E. V. and Hoffman, G. J. (1977). Crop salt tolerance, current assessment. *Journal of Irrigation and Drainage Division, ASCE*, 103: 115-134.
- 34- Mazahery-Laghab H., Nouri F. and Abianeh H.Z. (2003). Effects of the reduction of drought stress using supplementary irrigation for sunflower (*Helianthus annuus* L.) in dry farming conditions. *Pajouheshva-Sazandegi*, 59: 81-86.
- 35- Melchiorre, M., Quero, G.E., Parola, R., Trippi, Y.S. and Lascano, R. (2009). Physiological characterization of four model lotus diploid genotypes: *L. japonicas* (MG 2000 and Gifru), *L. Filicaulis* and *L. burtii* under salt stress. *Plant Science*, 177: 618-628.
- 36- Menzi, M., Albuchi, A., Biziad, E. and Hamza, M. (2010). Mineral uptake, organic osmotic content and water balance in alfalfa under salt stress. *Journal of Physiology*, 2: 1-12.
- 37- Mittal, S., Kumari, N. and Sharma, V. (2012) Differential response of salt stress on *Brassica juncea*: Photosynthetic performance, pigment, proline, D1 and antioxidant enzymes. *Plant Physiology and Biochemistry*, 54: 17-26.
- 38- Mittler, R., Vanderauwera, S., Gollery, M. and Breusegem, F.V. (2004). Reactive oxygen gene network of plants. *Trends in Plant Sciences*, 9: 490-498.
- 39- Moaveni P., Ranji Z. and Noor-Mohamadi G. (2004). Study of some physiological, parameters and organic composition for selecting of salt tolerant and sensitive genotypes in sugar beet. *Iranian Journal of Crop Sciences*, 6(1): 12-24.
- 40- Molazem, D. and Bashirzadeh, A. (2017). Investigation of the antioxidant enzymes and proline in varieties of maize (*Zea mays* L.) under salinity stress. *Journal of Molecular and Cellular Research*, 30(1): 77-90.
- 41- Morsali Aghajari, F. (2015). Identification of QTL controlling traits in sunflower under different levels of salt stress. M.Sc. Thesis, Urmia University, Urmia, Iran, 192 pp.
- 42- Mostajeran, A. and Gholaminejad, A. (2014). Effect of salinity on sodium and potassium uptake and proline, carbohydrates of turmeric plant parts. *Journal of Current Chemical Pharmaceutical Sciences*, 4(1): 10-21.
- 43- Motohashi, T., Nagamiya, K. and Prodhon, S.H. (2010). Production of salt stress tolerant rice by over expression of the catalase gene, *katE*, derived from *Escherichia coli*. *Asia-Pacific Journal of Molecular Biology and Biotechnology*, 18: 37-41.
- 44- Mudgal, V., Madaan, N. and Mudgal, A. (2010). Biochemical mechanisms of salt tolerance in plants: A review. *International Journal of Botany*, 6: 136-143.
- 45- Munir, S., Siddiqi, E.H., Bhatti, K.H., Nawaz, K., Hussain, K., Rashid, R. and Hussain, I. (2013). Assessment of inter-cultivar variations for salinity tolerance in winter radish (*Raphanus sativus* L.) using photosynthetic attributes as effective selection criteria. *World Applied Sciences Journal*, 21: 384-388.
- 46- Munns, R. and Tester, M. (2008). Mechanisms of salinity tolerance. *Annual Review of Plant Biology*, 59: 651-681.
- 47- Omami, E.N. (2005). Response of amaranth to salinity. Ph.D. Thesis Horticulture. Faculty of natural and agriculture science, The University of Pretoria.
- 48- Pouresmaeil P., Habibi D. and Tavassoli, A. (2009). The effect of water superabsorbent polymer on yield and water use efficiency of different bean red varieties under drought stress in greenhouse conditions *Agriculture Research Journal*, 1(2): 1-16.
- 49- Poustini, K., Siosemardeh, A. and Ranjbar, M. (2007) Proline accumulation as a response to salt stress in 30 wheat (*Triticum*

- aestivum* L.) cultivars differing in salt tolerance. *Genetic Resources and Crop Evolution*, 54: 925-934.
- 50- Qadir M., Ghafoor A. and Murtaza G. (2000) Amelioration strategies for saline soils: a review. *Land Degradation & Development*, 11: 501-521.
- 51- Qasim, M. and Ashraf, M. (2006). Time course of ion accumulation and its relationship with the salt tolerance of two genetically diverse lines of canola (*Brassica napus* L.). *Pakistan Journal of Botany*, 38: 663-672.
- 52- Rani, C. R., Reema, C., Alka, S. and Singh, P. K. (2012). Salt Tolerance of Sorghum bicolor Cultivars during Germination and Seedling Growth. *Research Journal of Recent Sciences*, 1: 1- 10.
- 53- Rauf, S., Jamil, N., Ali Tariq, S., Khan, M., and Kausar, M. (2017). Progress in modification of sunflower oil to expand its industrial value. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 97: 1997-2006.
- 54- Sairam, R. K., Rao, K. V. and Srivastava, G. C. (2002). Differential response of wheat genotypes to long term salinity stress in relation to oxidative stress, antioxidant activity and osmolyte concentration. *Plant Science*, 163: 1037-1046.
- 55- Saxena, S. C., Kaur, H., Verma, P., Petla, B. P., Rao, V. and Majee, M. (2013). Osmoprotectants: potential for crop improvement under adverse conditions. In: Tuteja N, Gill SS (eds), *Plant Acclimation to Environmental Stress*. Springer Science, New York, USA, PP. 197-232.
- 56- Seiler, G. and Jan, C. C. (2010). Basic Information. In Hu, J., Seiler, G. and Kole, C. (eds.). *Genetics, genomics and breeding of sunflower*, pp. 1-50.
- 57- Shah N., Xu J., Hou Z., Salah A., Khan S., Gong J., Shang Z., Qian L. and Zhang C. (2018). The response of transgenic Brassica species to salt stress: a review. *Biotechnology Letters*, doi: 10.1007/s10529-018-2570-z.
- 58- Shahbaz, M. and Ashraf, M. (2013). Improving salinity tolerance in cereals. *Critical Reviews in Plant Sciences*, 32: 237-249.
- 59- Teakel, N. and Tyerman, S. D. (2010). Mechanisms of Cl<sup>-</sup> transport contributing to salt tolerance. *Plant, Cell and Environment*, 33: 566-586.
- 60- Ueda, A., Yamamoto-Yamane, Y. and Takabe, T. (2007). Salt stress enhances proline utilization in the apical region of barley roots. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 355: 61-66.
- 61- Umar M. and Shaheed Siddiqui Z. (2018). Physiological performance of sunflower genotypes under combined salt and drought stress environment. *Acta Botanica Croatica*, 77 (1): 36-44.
- 62- Upadhyaya, A., Sankhla, D., Davis, T.D., Sankhla, N. and Smidth, B.N. (1985). Effect of paclobutrazol on the activities of some enzymes of activated oxygen metabolism and lipid peroxidation in senescing soybean leaves. *Journal of Plant Physiology*, 121: 453-461.
- 63- Weisany, W., Sohrabi, Y., Heidari, G.H, Siosemardeh, A. and Ghassemi-Golezani, K. (2012). Change in antioxidant enzymes activity and plant performance by salinity stress and application in soybean (*Glycine max*). *Plat Omics Journal*, 5: 60-67.
- 64- Zeng W.Z., Xu C., Wu J.W., Huang J.S., Zhao Q. and Wu M.S. (2014). Impacts of salinity and nitrogen on the photosynthetic rate and growth of sunflowers (*Helianthus annuus* L.). *Pedosphere*, 24(5): 635-644.

## The effect of salt stress (NaCl) on physiological and antioxidant activities in salt susceptible and resistant lines of oily sunflower (*Helianthus annuus L.*) at seedling stage

Darvishzadeh R.<sup>1,2</sup> and Pirzad A.<sup>3</sup>

<sup>1</sup> Dept. of Plant Breeding and Biotechnology, Urmia University, Urmia, I.R. of Iran.

<sup>2</sup> Institute of Biotechnology, Urmia University, Urmia, I.R. of Iran.

<sup>3</sup> Dept. of Agronomy, Urmia University, Urmia, Iran.

### Abstract

Salinity stress is one of the most important abiotic stresses that restrict growth and productivity of crop plants worldwide. In the present study, the effects of salinity stress on physiological activities of two sunflower genotypes were investigated at seedling stage. The experiment was conducted as factorial (first factor, genotype at two levels: C64 and C68 and the second factor, salinity at 5 levels: 0, 2, 4, 6, and 8 dS/m) based on completely randomized design with three replications. Analysis of variance showed that genotype  $\times$  salt interaction was significant on proline, total chlorophyll and guaiacol peroxidase activity. With increasing salinity level, the content of proline and malondialdehyde increased. On the other hand, net photosynthesis rate and total chlorophyll content decreased. In this study, by applying salt stress, the total chlorophyll content decreased in both genotypes, but the reduction was higher in susceptible genotype (C64) than tolerant (C86) one. Also, with increasing salinity level, the amount of guaiacol peroxidase increased in tolerant genotype (C86) compared to susceptible (C64) one. According to the results of this experiment, different responses of C64 and C68 genotypes under salt stress are confirmed at the molecular level. Therefore, the above mentioned genotypes can be used in developing tolerant hybrid cultivars.

**Key words:** Enzyme activity, malondialdehyde, net photosynthesis, proline, salt tolerance, sunflower.