

مقاله پژوهشی

بررسی اثر تنش ناشی از شوری بر تکوین اندام‌های رویشی در گیاه لیف (*Luffa cylindrica* L.)

سایه جعفری*، معصومه ماهوت فروشها

گروه زیست شناسی دانشگاه آزاد اسلامی واحد تهران شمال، تهران، ایران

* Email: Jafarisayah@gmail.com

تاریخ پذیرش: بهمن ۱۳۹۸

تاریخ دریافت: شهریور ۱۳۹۸

چکیده

گیاه لیف^۱ گیاهی علفی، یک ساله با ارزش اقتصادی و دارویی بالا متعلق به تیره کدوئیان است. با توجه به معضل شوری در کشور، در این پژوهش تاثیر تنش شوری بر تکوین اندام رویشی گیاه لیف مورد بررسی قرار گرفت. بذور تهیه شده در گلدان (شاهد و ۳ تیمار هر کدام با چهار تکرار) کشت شدند و دو هفته قبل از گلدهی تحت تیمارهای ۱۵، ۳۰ و ۴۵ میلی مولار کلرور سدیم با شرایط آبیاری قطره ای قرار گرفتند. به منظور بررسی تکوین اندام‌های رویشی، ریشه، ساقه، برگ، دم‌برگ در فیکساتور گلیسرالددید تثبیت و از روش‌های رایج بافت شناسی برای تهیه برش‌ها استفاده شد. مریستم رویشی، در مراحل مختلف برداشت، در FAA 70 تثبیت و در الکل ۷۰٪ نگهداری و با میکروتوم برش‌گیری شد. رنگ‌آمیزی با PAS و هماتوکسیلین انجام گرفت. نتایج نشان داد افزایش تنش شوری، موجب کاهش ارتفاع، فاصله میان گره و اندازه کلی گیاه شد. با افزایش غلظت نمک وسعت ناحیه پاراننشیم پوست کاهش، تعداد عناصر متاگزایلمی در ریشه افزایش یافت. ساقه با افزایش غلظت نمک زودتر به مرحله ساختمان پسیین وارد شد و تعداد لایه‌های سلولی و فعالیت لایه زاینده افزایش یافت. در برگ در تیمارهای مختلف نمک افزایش تعداد لایه‌های پاراننشیم نردبانی، کاهش فضای بین سلولی، کوچک تر شدن بافت مزوفیل برگ، افزایش تعداد و طول کرک مشاهده شد. در راس رویشی ساقه‌های تحت تیمار، تغییر شکل مریستم از شکل رویشی به مرحله‌ای شبیه مریستم زایشی با رنگ پذیری همگن مشاهده شد که نشانه پیری زودرس گیاه است. تغییرات ساختاری ناشی از تنش شوری سبب اختلال در رشد و فرایند تکوین گیاه شد.

کلیدواژه‌ها: گیاه لیف، تکوین، تنش شوری، اندام رویشی.

¹ *Luffa*

مقدمه

با توجه به اینکه وسعت زیادی از خاک ایران شور است بررسی اثرات ناشی از تنش شوری بر تکوین ساختار گیاه اعم از اندام‌های رویشی و زایشی اهمیت زیادی دارد امروزه شوری خاک و آب یکی از موانع و محدودیت‌های استفاده از این منابع در تولید بهینه‌ی محصولات کشاورزی است [۵]. اصولاً خاک شور به خاکی گفته می‌شود که غلظت املاح محلول در آن به قدری باشد که عملکرد را کاهش دهد مشروط بر آن که سایر عوامل مانعی برای رشد محصول ایجاد نکنند [۳]. اگر غلظت نمک به حدی باشد که باعث تقلیل پتانسیل آب به اندازه ۰/۵ تا ۰/۱ مگاپاسکال گردد، به آن تنش ناشی از نمک گفته می‌شود و هر گاه غلظت نمک تا این اندازه زیاد نباشد که پتانسیل آب را کاهش دهد تنش از نوع یونی می‌باشد و ممکن است تنش از نوع خاصی از یونها باشد و به طور کلی محیط‌های شور با دو خصوصیت کلی مشخص می‌شوند که عبارتند از پتانسیل اسمزی کم و غلظت زیاد املاح که برای گیاهان سمی هستند. یون‌هایی که در بروز شوری سهیم هستند شامل کلرورها و سولفات، بی‌کربنات، سدیم، کلسیم، منیزیم، و به ندرت نیترات و پتاسیم می‌باشند که از این میان کلرورها و سولفات‌ها به دلیل حلالیت زیاد مهم‌ترین عوامل بروز عوارض ناشی از شوری هستند [۳]. از میان تنش‌های مختلف غیرزیستی، شوری القا شده با NaCl از عمده‌ترین فاکتورهای محدود کننده رشد و تکامل گیاه محسوب می‌شود [۶].

اثرات منفی تنش شوری بر رشد، ریخت‌شناسی، ساختار تشریحی، ریز ساختارها توسط محققین مختلف گزارش شده است [۲۹، ۳۱].

مهمترین سازش‌های ریخت‌شناسی-آناتومیکی تحت شرایط تنش شوری شامل افزایش ضخامت اپیدرم و اسکلرانشیم، افزایش تراکم کرک‌ها و روزنه‌ها، افزایش اندازه سلول و حجم واکوئل‌ها، رشد و توسعه ساختارهایی مثل موهای وزیکولی و غده‌های نمک می‌باشد [۱۴].

لیف با نام علمی *Luffa cylindrica* L یکی از مهمترین گیاهان متعلق به تیره کدوئیان *Cucurbitacea* است. لیف به علت این که میوه آن دارای فیبر می‌باشد

معروف به گیاه فیبری است [۱۵]. از میوه این گیاه در تولید لیف شست و شوی بدن استفاده می‌شود. لیف تهیه شده از این گیاه خواص درمانی و محافظتی برای پوست بدن دارد و در مراقبت پوست برای برداشتن پوست مرده و تحریک کردن گردش پوست به کار می‌رود خواص درمانی بسیاری از بیماری‌های مفصلی و روماتیسمی نیز از این میوه شناخته شده است و هم چنین فیبر گیاه لیف از ظرفیت جذب آب بالایی برخوردار است [۱۰].

تا کنون تاثیر تنش شوری بر تکوین اندام‌های رویشی گیاه لیف مورد بررسی قرار نگرفته است. با توجه به اهمیت اقتصادی و دارویی گیاه لیف، مطالعه تاثیر تنش شوری بر تغییرات ساختار تشریحی اندام‌های رویشی این گیاه ارزشمند می‌تواند در مدیریت و توسعه کشت آن مورد توجه و استفاده قرار گیرد.

مواد و روش‌ها

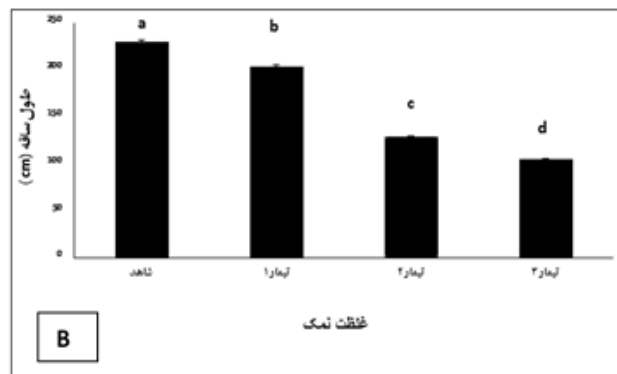
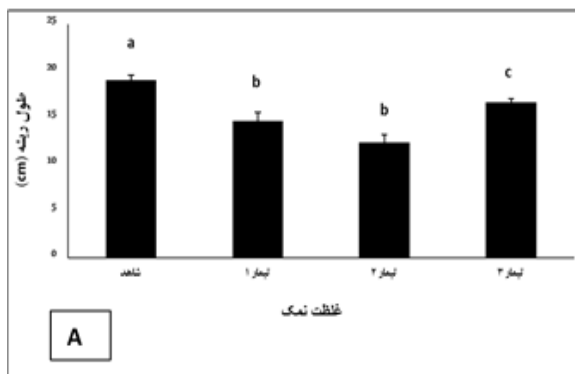
بذرهای بعد از تهیه از موسسه اصلاح و تهیه بذر و نهال اصفهان با قارچ‌کش بنومیل با غلظت ۲ گرم ماده موثره در کیلوگرم بذر، ضد عفونی گردید و سپس با آب شست و شو داده شد و به مدت ۴ روز در آب خیسانده و سپس در آغاز فصل بهار بعد از شخم زدن زمین با چهار تکرار و با رعایت کردن فاصله مناسب بذرهای کشت گردید.

این آزمایش با شاهد و سه تیمار NaCl با غلظت‌های ۱۵ (تیمار ۱)، ۳۰ (تیمار ۲) و ۴۵ (تیمار ۳) میلی مولار انجام گرفت و برای هر کدام چهار تکرار در نظر گرفته شد. آبیاری زمین با استفاده از سیستم قطره‌ای انجام شد. برای این منظور ظروف پلاستیکی به حجم ۲۰ لیتر تهیه شد. بذر بعد از ۱۴-۲۱ روز جوانه زدند. محلول‌های نمکی موجود در ظروف از طریق سوراخ‌های تعبیه شده در شلنگ‌هایی که از کنار گیاه می‌گذشت دو هفته قبل از شروع گلدهی به گیاهان داده شد. لازم به ذکر است در مورد گیاهان شاهد که با آب معمولی آبیاری می‌شدند نیز از سیستم قطره‌ای استفاده شد تا شرایط آزمایش در تمام گیاهان یکسان باشد.

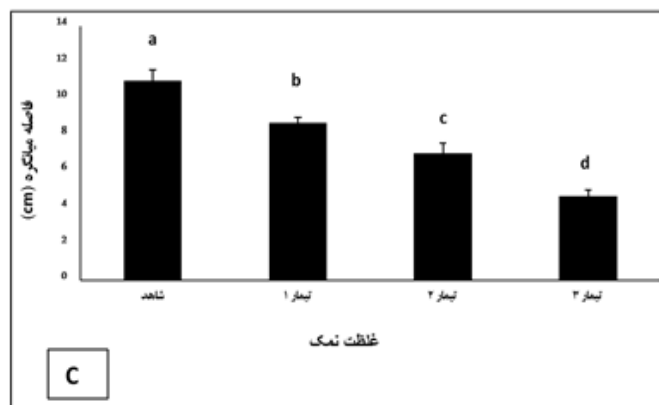
نتایج حاصل از بررسی‌های آماری با نرم‌افزار SPSS ver. 19 نشان داد تیمارهای مختلف شوری اثر متفاوتی را بر روی رشد ریشه و طول آن داشته است. شوری بر طول ریشه تاثیر منفی داشته و با افزایش تنش شوری طول ریشه کاهش می‌یابد. تیمار ۱ و تیمار ۲ نتایج مشابهی نشان دادند در تیمار ۳ طول ریشه نسبت به تیمار ۱ و ۲ افزایش می‌یابد (شکل ۱-A). اما نسبت به شاهد کاهش معنی‌دار نشان داد. بعد از اندازه‌گیری طول ساقه در تیمارهای مختلف شوری مشخص شد تیمارهای مختلف شوری بر طول ساقه تاثیر منفی داشته و با افزایش تنش شوری طول ساقه کاهش می‌یابد (شکل ۱-B). بعد از اندازه‌گیری فاصله میانگره در تیمارهای مختلف شوری مشخص شد تیمارهای مختلف شوری بر فاصله میانگره تاثیر منفی داشته و با افزایش تنش شوری فاصله میانگره کاهش می‌یابد. که در هر سه تیمار اعمال شده، نتایج مشابهی مشاهده شد (شکل ۱-D).

از قسمت های مشخصی از ساقه (بخش میانی بین میانگره سوم و چهارم) و برگ، دمبرگ و ریشه گیاهان شاهد و گیاهان تحت تیمار نمونه برداری انجام شد و در فیکساتور الکل گیسیرین که برای برش های دستی نیاز است، نگهداری شدند و پس برش گیری به روش رنگ آمیزی مضاعف با کارمن زاجی و آبی متیلن رنگ آمیزی شده و پس از بررسی از نمونه های مناسب با فتومیکروسکوپ (Nicon) عکس برداری شد. نمونه های مریستم راس ساقه در تثبیت کننده ی FAA قرار گرفتند و برای برش میکروتوم (Mod , 4060/Biocut) آماده شدند و پس از برش گیری و رنگ آمیزی با هماتوکسیلین و اتوزین از نمونه های مناسب عکس برداری شد. عکس برداری در دانشگاه آزاد اسلامی واحد تهران شمال و در محل آزمایشگاه محمودیه انجام شد.

نتایج



ج

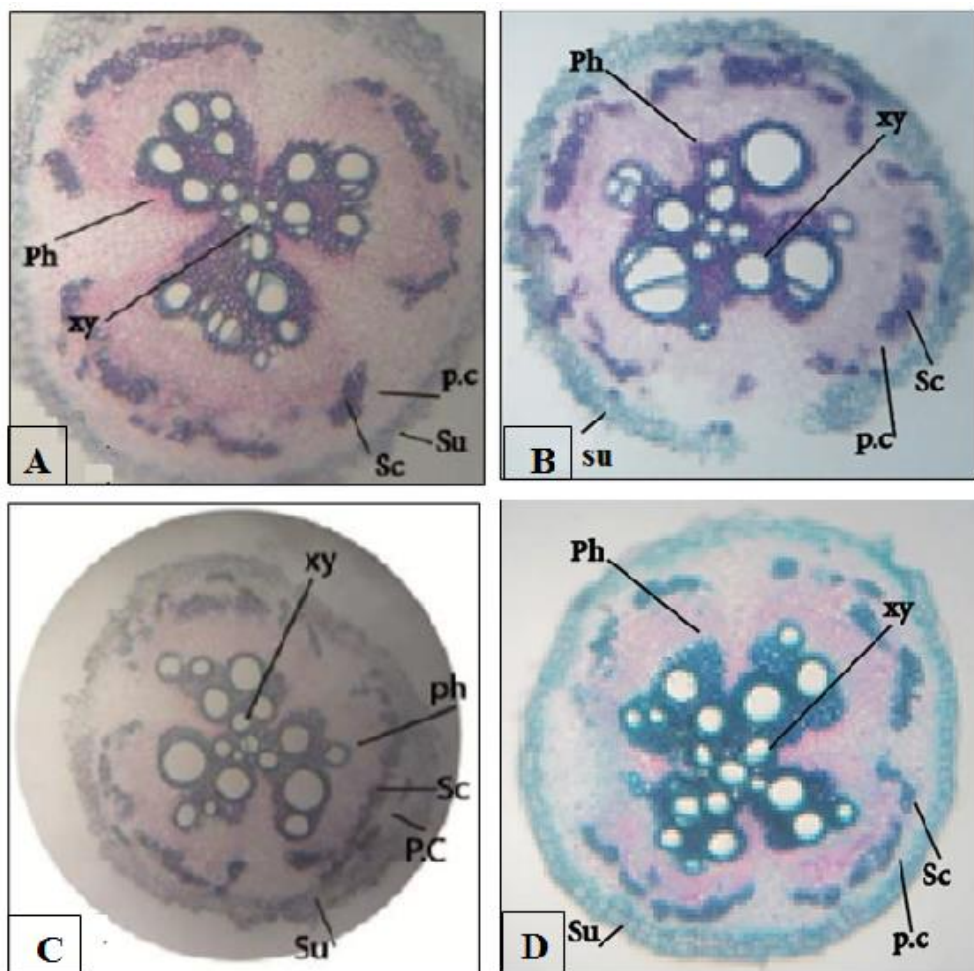


شکل ۱- A: تغییرات طول ریشه (cm)؛ B: تغییرات طول ساقه (cm)؛ C: تغییرات طول میانگره (cm). داده‌ها حاصل میانگین حداقل چهار تکرار مستقل هستند. خطوط عمودی نشان دهنده خطای استاندارد است. حروف غیر یکسان نماینده معنی‌دار بودن تفاوت در سطح $p < 0.05$ می‌باشد.

نتایج حاصل از بررسی‌های تشریحی

در برش عرضی ریشه، به ترتیب از خارج به داخل بافت چوب پنبه (su)، پارانشیم پوست (p.c)، دستجات اوندی چوب-آبکش به شکل یک حلقه که بر روی سطح آن سلول‌های اسکلرانشیمی قرار دارند، مشاهده شد (شکل A-۲). در تیمار ۱ وسعت پارانشیم پوست در مقایسه با نمونه شاهد کاهش پیدا کرد. سلول‌های اسکلرانشیم در مقایسه با نمونه شاهد افزوده و وسعت آوند چوب کم شد. تعداد عناصر متاگزایلمی با دهانه‌های فراخ در مقایسه با نمونه شاهد افزایش چشمگیری پیدا کرد (شکل B-۲). منطقه پوست در مقایسه با گیاه شاهد کمی کاهش یافت. قطر و به

خصوص تعداد عناصر متاگزایلمی با دهانه فراخ نسبت به نمونه شاهد افزایش قطر پیدا کرد این نشانه سازگاری گیاه نسبت به این غلظت از نمک می‌باشد (شکل C-۲). در تیمار ۳ وسعت آوند چوب در مقایسه با نمونه شاهد بیشتر شد. ضخامت چوب پنبه نسبت به شاهد تغییری نشان نداد. منطقه پوست نسبت به نمونه شاهد تغییر زیادی پیدا نکرد. قطر عناصر متاگزایلمی در مقایسه با نمونه شاهد افزایش یافت. در هیچ یک از تیمارها آثار چروکیدگی و دهیدراته شدن سلول‌ها ناشی از افزایش فشار اسمزی مشاهده نشد (شکل D-۲).

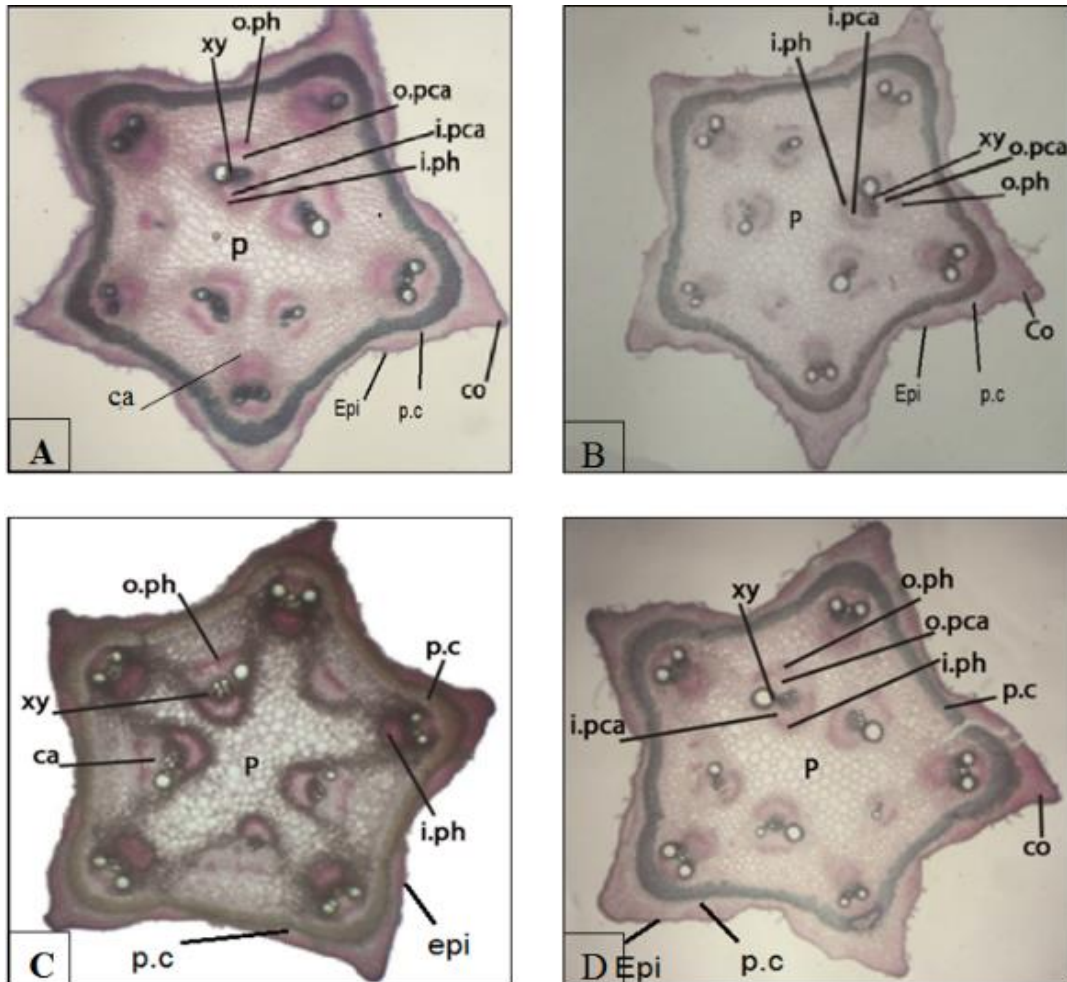


شکل ۲- مقطع عرضی ریشه لیف (x4) رنگ آمیزی با کارمن زاجی و سبز متیل، A: نمونه‌ی شاهد، B: نمونه‌ی تحت تیمار ۱، C: نمونه‌ی تحت تیمار ۲، D: نمونه‌ی تحت تیمار ۳.

Sub: چوب پنبه، p.c: پارانشیم پوست، Sc: اسکلرانشیم، xy: بافت چوب، ph: بافت آبکش

نسبت به نمونه شاهد و نمونه های تحت تیمار دیگر زودتر به رشد پسین رسیدند. عناصر متاگزایلمی از نظر تعداد و قطر افزایش نشان دادند و ساقه از نظر تشریحی نسبت به سایر تیمارها و شاهد متمایز بود (شکل C-۳). تیمار ۳ از نظر تکوینی تقریبا مشابه شاهد بود، به نظر می رسد گیاه نسبت به این تیمار سازگاری حاصل کرده است. در این تیمار نیز مانند شاهد آثار اولیه ظهور سلول های مریستمی به منظور تشکیل حلقه کامبیومی در حال تکوین و تمایز است، ولی به دلیل اثر تنش ناشی از شوری (NaCl) تعداد عناصر متاگزایلمی با دهانه فراخ در مقایسه با شاهد بیشتر بود (شکل D-۳).

در ساختار ساقه به ترتیب از خارج به داخل اپیدرم، کلانشیم از نوع گوشه دار ناپیوسته، و دسته های آوندی واقع بر روی دو حلقه مشاهده شدند، در دسته های آوندی، آبکش های درونی مشاهده شد. در تیمار ۱، حلقه های ممتد فیبر اسکلرانشیم دسته های آوندی نسبت به شاهد کوچک تر بود و اینطور به نظر می رسد که ساقه در این تیمار از نظر تکوینی نسبت به شاهد جوان تر است، زیرا در نمونه شاهد آثار اولیه ظهور کامبیوم قابل مشاهده است (شکل B-۳) در تیمار ۲ قطعات پروکامبیومی به حلقه کامبیومی تبدیل شد. ساقه های تیمار شده با این غلظت نمک از نظر تکوینی

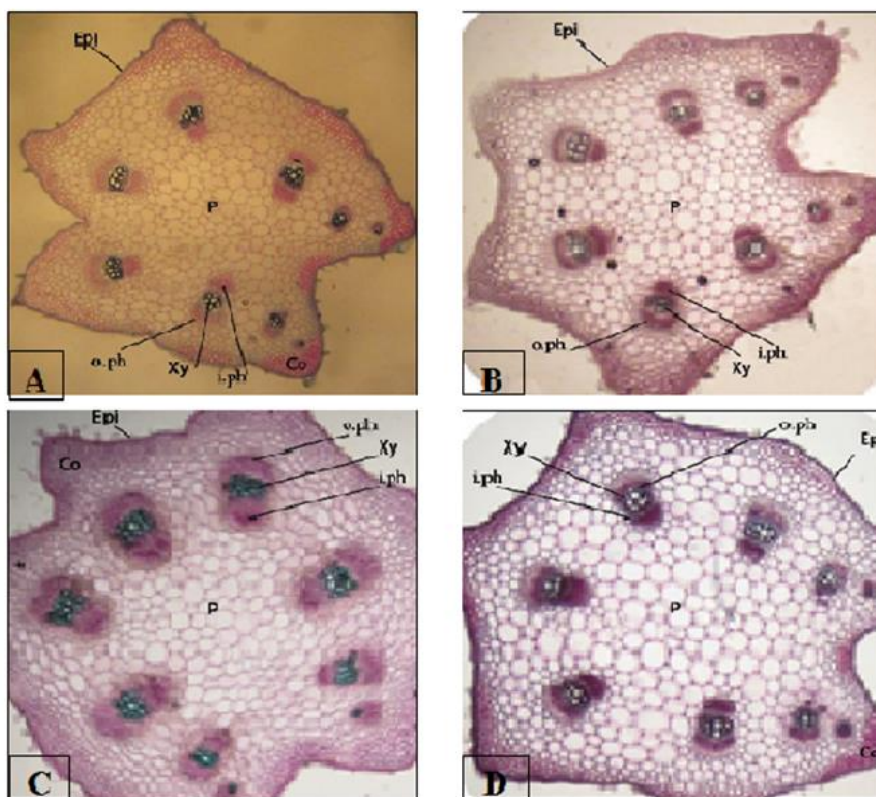


شکل ۳- مقطع عرضی ساقه لیف (x4) رنگ آمیزی با کارمن زاجی و سبز متیل، A: نمونه ی شاهد، B: نمونه ی تحت تیمار، C: نمونه ی تحت تیمار ۲، D: نمونه ی تحت تیمار ۳.

Epi = اپیدرم، Co = کلانشیم، P.C = پارانشیم پوست، O.Ph = آبکش خارجی، o.pca = پروکامبیوم بیرونی، xy = چوب، i.pca = پروکامبیوم داخلی، iph = آبکش داخلی، ca = کامبیوم

نسبت به نمونه شاهد بیشتر بود و همچنین آوند چوب نسبت به شاهد دارای وسعت بیشتری بود. قطر و تعداد عناصر متاگزایلمی نسبت به شاهد بیشتر بود (شکل C-۴). نمونه تیمار ۳ در مقایسه با گیاه شاهد منظم تر شد و عمق بریدگی ها کاهش پیدا کرد. حجم دسته های آوندی در این تیمار نسبت به شاهد کاهش نشان داد. وسعت آبکش داخلی نسبت به نمونه شاهد و همچنین آوند چوب نسبت به شاهد کمتر بود. در دمبرگ نیز آثار چروکیدگی در سلول ها ناشی از افزایش غلظت نمک مشاهده نشد (شکل D-۴). ساختار برگ به صورت ساختمان متداول برگ دو لپه ای ها شامل دو بخش اپیدرم زیرین و زیرین بود. پس از اپیدرم زیرین بافت پارانشیمی میان برگ با سلول های کشیده به ترتیب پارانشیم زده ای دو تا سه لایه ای و پارانشیم اسفنجی قرار داشت که بین سلول ها فضای خالی کمی مشاهده شد. سلول های پارانشیم اسفنجی لوب دار هستند و فضاهای خالی به صورت حفرات بزرگی بین این سلول ها مشاهده شد.

برش عرضی دمبرگ به ترتیب از خارج به داخل اپیدرم، یک لایه با سلول های متراکم و بدون فضای بین سلولی بود. سپس چند لایه سلول کلانشیمی از نوع گوشه دار وجود داشت که به طور گسسته در زیر اپیدرم قرار داشتند. دسته های آوندی به ترتیب از خارج به داخل عبارت اند از: آبکش بیرونی، پروکامبیوم خارجی، بافت چوب، پروکامبیوم داخلی، آبکش درونی در دمبرگ، پنج دسته آوندی بزرگ و چهار دسته آوندی کوچک. که دو دسته آوندی نسبت به دسته های دیگر بسیار کوچک تر بودند. (شکل A-۴) در نمونه تیمار اوسعت آوند چوب در مقایسه با نمونه شاهد کاهش پیدا کرد و تعداد عناصر متاگزایلم کم شد ولی قطر آن اندکی افزایش یافت (شکل B-۴). در نمونه تیمار ۲ در مقایسه با شاهد در حاشیه دمبرگ برجستگی ها بیشتر شد و عمق بریدگی های واقع بین برجستگی ها بیشتر بود. حجم دسته های آوندی در این تیمار نسبت به شاهد افزایش نشان داد. وسعت آبکش خارجی و به خصوص آبکش داخلی



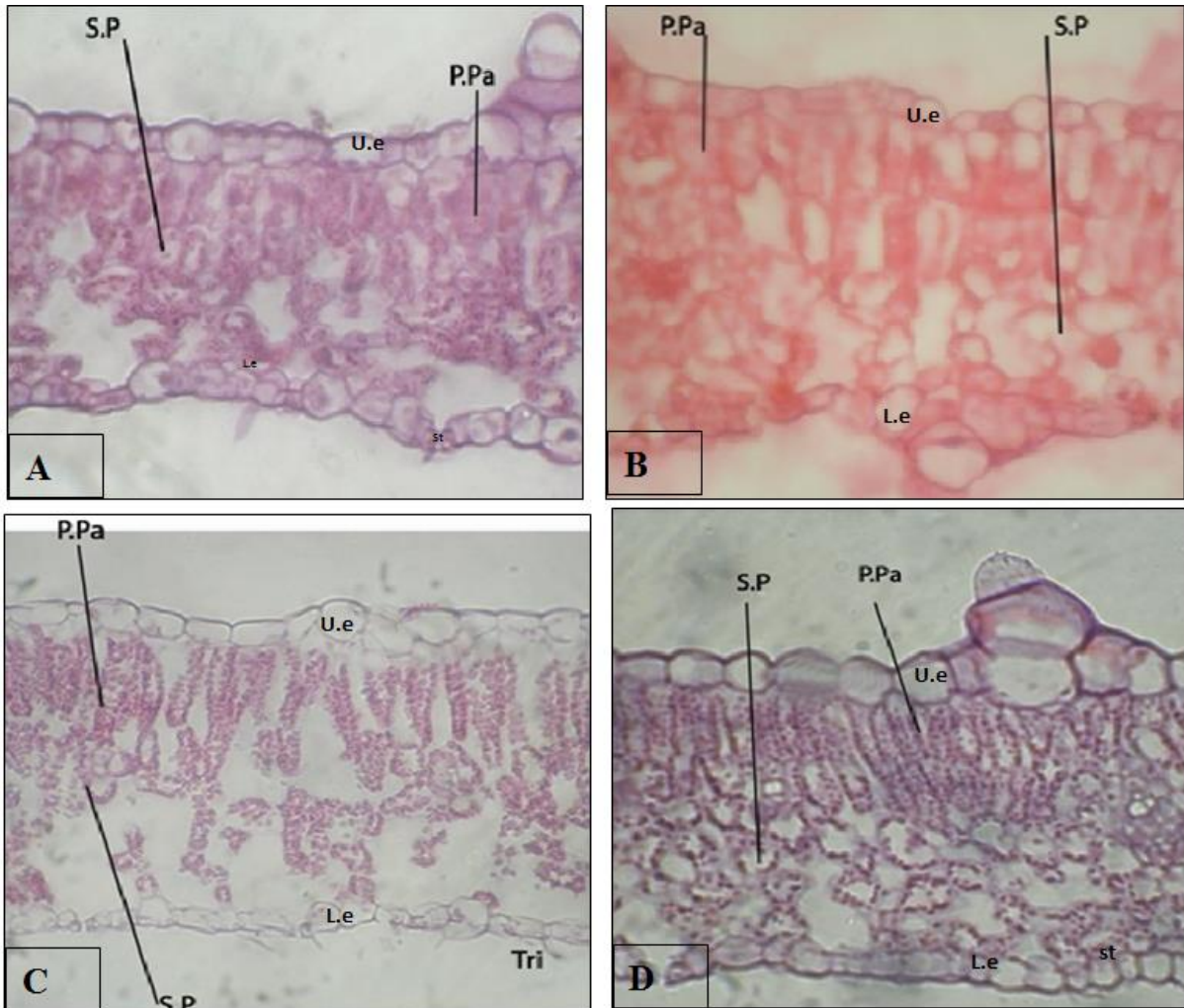
شکل ۴- مقطع عرضی دمبرگ لیف (x4) رنگ آمیزی با کارمن زاجی و سبزمیتیل A: نمونه ی شاهد، B: نمونه ی تحت تیمار ۱، C: نمونه ی تحت تیمار ۲، D: نمونه تحت تیمار ۳.

Epi = اپیدرم، Ph = آبکش، xy = زایلیم، Tri = کرک، Co = کلان

لایه‌های پارانشیم نردبانی و اسفنجی می‌باشد. در تیمار ۳ قطر سلول‌های پارانشیم نردبانی افزایش و فضای بین سلولی در بافت مزوفیل کاهش یافت (شکل ۵-D).

در برش عرضی رگبرگ میانی برگ به ترتیب از خارج به داخل اپیدرم، کلانشیم، پارانشیم پوست، دسته‌های آوندی متشکل از آبکش خارجی، آوند چوب و آبکش داخلی مشاهده شد (شکل ۶-A). نمونه تیمار ۱ تفاوت زیادی با نمونه‌ی شاهد نشان نداد تنها افزایش محسوس قطر عناصر متاگزایلمی و افزایش وسعت بافت کلانشیم در مقایسه با

روزنه St در این گیاه از نوع همسطح می‌باشد (شکل ۵-A). در تیمار ۱ فضای بین سلولی نسبت به نمونه شاهد در بافت پارانشیم نردبانی و پارانشیم اسفنجی افزایش یافته است. در مقایسه با شاهد برگ ضخیم تر شده است (شکل ۵-B). در تیمار ۲ فضای بین سلولی نسبت به نمونه شاهد و نمونه تیمارهای دیگر در بافت پارانشیم نردبانی و پارانشیم اسفنجی بسیار افزایش یافت. سلول‌های بافت مزوفیل برگ کوچک تر شد و قطر سلول‌های پارانشیم نردبانی کاهش یافت (شکل ۵-C). در تیمار ۳ ضخامت پهنک برگ نسبت به نمونه شاهد افزایش یافت که مربوط به افزایش در تعداد



شکل ۵- مقطع عرضی برگ لیف (x4) رنگ آمیزی با همتوکسیلین - اتوزین، A: نمونه‌ی شاهد، B: نمونه‌ی تحت تیمار ۱، C: نمونه‌ی تحت تیمار ۲، D: نمونه‌ی تحت تیمار ۳.

Epi = اپیدرم، P.Pa = پارانشیم نرده‌ای، Sp = پارانشیم اسفنجی، Tri = کرک، L.e = اپیدرم زیرین، U.e = اپیدرم زیرین، St = روزنه

هم قابل تشخیص نبودند (شکل C-۷). شکل ظاهری مریستم در تیمار ۳ کاملاً تغییر کرد. آثار دهیدراتاسیول یا آبدهی ناشی از تنش شوری در سلول های مریستمی نمایان بود. در مقایسه با شاهد، کاهش حجم کلی مریستم و کوچک تر شدن اندازه سول های آن و فاصله گرفتن آن ها از یکدیگر مشاهده شد. طرح اولیه برگ در مقایسه با نمونه های شاهد بسیار کوچک و سلول های آن همگن می باشد (شکل D-۷).

بحث و نتیجه گیری

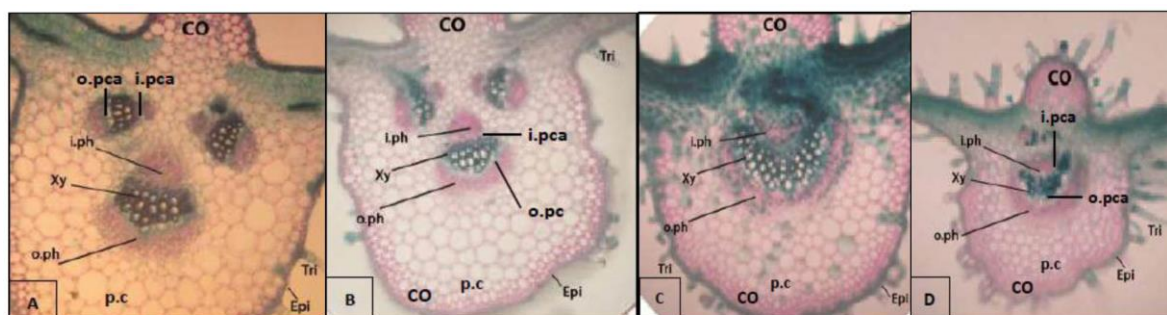
این مطالعه چشم انداز خوبی از لحاظ شناخت ویژگی های مربوط به تغییرات ساختاری تشریحی تحت تنش های شوری با غلظت های مختلف ارائه داده است که می تواند در مطالعات آینده به منظور کشت آن و راهکارهای مقاوم کردن آن در مقابل تنش ها مفید باشد. لیف *Luffa cylindrica* L. در مرحله ی رویشی به نمک حساس تر است. افزایش تنش شوری در گیاه لیف موجب کاهش قابل ملاحظه ی رشد گیاه شامل ارتفاع، فاصله میانگره و اندازه ی کلی گیاه در مقایسه با شاهد شده است. نتایج بدست آمده با تحقیقات Bartosz، در سال ۲۰۰۹ و Yetisir و همکاران در سال ۲۰۰۹ در مورد اثر تنش شوری بر روی گیاه لیف همخوانی دارد. تمام این پژوهشگران ثابت کردند که افزایش تنش شوری، سبب کاهش رشد در لیف می شود [۷، ۱۳].

شاهد مشاهده شد (شکل B-۶). در نمونه تیمار ۲ قطر کلی رگبرگ میانی، تعداد کرک های ترشخی و محافظ، ضخامت کوتیکول در مقایسه با شاهد افزایش یافت. تعداد لایه ها و وسعت بافت کلانشیم نسبت به شاهد افزایش یافت. بلورهای انگرالات کلسیم در سلول های پاراننشیم پوست به فراوانی مشاهده شد. در این تیمار به جای سه دسته آوندی یک دسته آوندی بسیار وسیع مشاهده شد (شکل C-۶). در نمونه تیمار ۳ اندازه رگبرگ نسبت به شاهد کاهش و تعداد کرک ها به شدت افزایش یافت، همچنین طویل تر شدن کرک ها، تحلیل دسته های آوندی و کاهش قطر دهانه آوند چوب در محل رگبرگ میانی در این تیمار مشاهده شد. آثار دهیدراتاسیون ناشی از افزایش غلظت نمک در هیچیک از تیمارها مشاهده نشد (شکل D-۶).

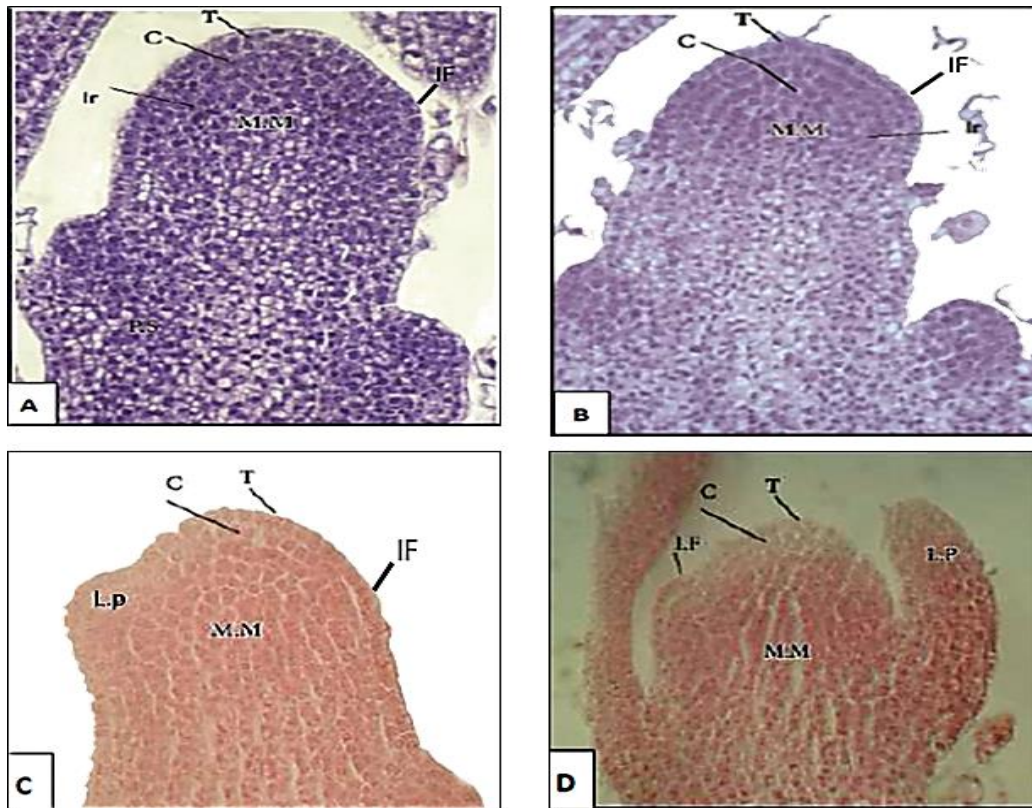
ساختمان کلی مریستم نخستین ساقه لیف به صورت تیپ متداول دولپه ای ها متشکل از دو ردیف تونیکا و کورپوس می باشد که در زیر آن مریستم مغز و حلقه بنیادی با سلول های کوچک و با رنگ پذیری بالا در طرفین مریستم مشاهده می شوند (شکل A-۷).

مریستم در تیمار ۱ تقریباً مشابه شاهد بود. لایه های تونیکا (T) و کورپوس (C) و مریستم مغز (M.M) قابل مشاهده بود با این تفاوت که هسته ی سلول های ناحیه مریستم مغز (M.M) افزایش یافت (شکل B-۷).

مریستم در تیمار ۲ کاملاً حالت لایه لایه و همگن داشت به طوریکه ناحیه تونیکا، کورپوس و مریستم مغز از



شکل ۶- مقطع اصلی رگبرگ میانی لیف (x4) رنگ آمیزی با کارمن زاجی و سبز متیل، A: نمونه ی شاهد، B: نمونه ی تحت تیمار ۱، C: نمونه ی تحت تیمار ۲، D: نمونه ی تحت تیمار ۳. Epi = اپیدرم، Tri = کرک، p.c = پاراننشیم پوست، o.ph = آبکش خارجی، xy = چوب، i.ph = آبکش داخلی، o.pca = پروکامبیوم داخلی، i.pca = پروکامبیوم بیرونی.



شکل ۷- مریستم راس ساقه لیف (x10) رنگ آمیزی با هماتوکسیلین - اتوزین، A: نمونه‌ی شاهد، B: نمونه‌ی تحت تیمار ۱، C: نمونه‌ی تحت تیمار ۲، D: نمونه‌ی تحت تیمار ۳.

T=تونیکا، C=کورپوس، M.M= مریستم مغز، I.F= بنیان برگ، I.r= حلقه بنیادی

گیاه *Gazania harlequin* توسط Younis و همکاران (۲۰۱۴) نیز مشاهده شد [۳۳].

در تیمار ۲ با افزایش تنش شوری تعداد و قطر عناصر متاکزیلمی افزایش پیدا کرده است که با پژوهش Jafari در سال ۲۰۱۲ و Goffiner در سال ۲۰۰۶ مبنی بر اثرات تنش شوری بر روند تکوین آوند مطابقت دارد [۱۲، ۱۷].

در بررسی نتایج حاصل از شوری بر ساختمان تشرییحی ساقه لیف ملاحظه شد که در تیمار ۲ قطعات پروکامبیومی به حلقه کامبیومی تبدیل شده است و ساقه در این تیمار در حال ورود به ساختمان پسین می‌باشد، علت این امر پیری گیاه در نتیجه افزایش غلظت نمک می‌باشد با نتایج جعفری-شرعی مطابقت دارد. در سنگین ترین تیمار نمکی مانند شاهد آثار اولیه ظهور سلول‌های مریستمی به منظور تشکیل حلقه کامبیومی در حال تکوین و تمایز است که نشان دهنده سازگاری این گیاه با شرایط تنش است با نتایج Majd و Jafari در ۱۹۹۶ مطابقت دارد [۱۹].

همچنین کاهش طول ساقه ناشی از تنش شوری در گیاهان مختلف از قبیل گوجه فرنگی، کتان و پنبه نیز گزارش شده است [۲۵، ۳۲]. مهار و کاهش رشد از پیامدهای متداول تنش شوری می‌باشد که احتمالاً ناشی از کاهش سطح فتوسنتز و رنگیزه‌های فتوسنتزی، بسته شدن روزنه‌ها، کاهش جذب آب، مهار محصولات فتوسنتزی و ممانعت از سنتز کربوهیدرات‌ها می‌باشد [۲۶].

در ریشه‌ی گیاه لیف با افزایش تنش شوری وسعت ناحیه‌ی پارانشیم پوست کاهش یافته است. محققین دیگری که به بررسی اثرات تنش خشکی و شوری پرداخته‌اند از جمله Majd و Jonobi در سال ۲۰۱۴ و Jafari در ۲۰۱۲ کاهش منطقه‌ی پارانشیم پوست را گزارش کرده‌اند [۱۷، ۱۸]. کاهش پارانشیم پوستی در گیاه *Chloris gayana* نیز توسط Ceccoli و همکاران در سال ۲۰۱۱ گزارش شده است [۸]. همچنین کاهش سطح مناطق آبکش و چوب و منطقه پارانشیم پوست ریشه و ساقه به عنوان پیامد ناشی از تنش شوری با NaCl در

تعداد همراه با بزرگتر شدن دستجات آوندی متاگزیلیمی و تشکیل آنراشیم همراه بوده است [۴].

در گیاه لیف در مقطع عرضی و رگبرگ اصلی مشاهده می‌شود که تعداد عناصر و ردیف‌های آوندی و در مجموع قطر دسته آوندی در تیمار ۱ به طول مشخصی افزایش می‌یابد علت افزایش تعداد عناصر و ردیف‌های آوندی در تیمار ۱ مربوط به فعالیت بیشتر سلول‌های منطقه لایه زاینده است و این نتیجه با مطالعات Majd و Jafari در سال ۱۹۹۶ همسویی دارد [۱۹].

تعداد عناصر آوندی و حجم دسته آوندی در تیمار ۲ نسبت به تیمار ۱ کاهش یافته است که ناشی از کاهش فعالیت لایه زاینده است. در تیمار ۳ تحلیل دسته‌های آوندی و کم شدن قطر دهانه آوند چوب در محل رگبرگ میانی مشاهده شد این نتایج با Majd و Torabi همسو است [۲۴]. Ola و همکاران در سال ۲۰۱۲ در مطالعه تاثیر تنش شوری بر گیاه *Leptochloa fusca* کاهش ضخامت رگبرگ، کاهش ضخامت غلاف آوندی، کاهش وسعت متاگزیلیم و ناحیه آبکش را در تیمار ۱۰۰ میلی‌مولار NaCl گزارش کردند [۲۷].

افزایش تعداد و طول کرک در برگ‌های تیمار ۳ مشاهده می‌شود، افزایش اندازه و تعداد کرک‌ها در این تیمار می‌تواند برای جلوگیری از تعرق بیشتر باشد. این نتایج با مطالعات Majd و همکاران در سال ۲۰۰۹ در گیاه آفتابگردان و Zarinkamar و Farakhah در سال ۲۰۰۵ همسو است [۲۰، ۳۴]. همچنین Dolatabadian و همکاران در سال ۲۰۱۱ با بررسی تاثیر شوری بر ساختار گزلیلم و ویژگی‌های تشریحی گیاه سویا بیان کردند که افزایش تعداد کرک بر روی سلول‌های اپیدرمی احتمالاً مکانیسمی جهت تحمل و مقاومت به شوری در گیاهان می‌باشد [۱۱].

در دمبرگ لیف در تیمارهای ۳ و ۱ که به ترتیب سبک‌ترین و سنگین‌ترین تیمارها هستند وضعیت مشابه مشاهده شد. در این تیمارها تعداد عناصر آوندی در مقایسه با شاهد و تیمار ۲ کاهش محسوسی دارد.

در تیمار ۲ تعداد و قطر عناصر آوندی افزایش می‌یابد. افزایش تعداد عناصر آوندی در حقیقت بیانگر سازگاری و مقاومت گیاه به این تیمار نمکی است از طرفی نمک در این گیاه سبب فعالیت لایه زاینده می‌شود که اثر این فعالیت به

برگ یکی از اندام‌های پاسخ دهنده به شرایط محیطی است و در میان عوامل محیطی که ممکن است در ساختار برگ اثر گذار باشند به طور قطع تنش شوری یکی از مهمترین آن‌ها است. ساختار تشریحی برگ در گیاهان تحت تنش تغییر می‌یابد که می‌تواند مربوط به کاهش هدایت روزنه ای باشد. در بررسی نتایج حاصل از شوری بر ساختار تشریحی برگ لیف ملاحظه شد با افزایش غلظت نمک در تیمار ۳ پهنک برگ نسبت به شاهد افزایش یافت، که این افزایش مربوط به افزایش در تعداد لایه‌های پارانشیم نردبانی می‌باشد و سلول‌های پارانشیم نردبانی افزایش یافته و فضای بین سلولی در بافت مزوفیل کاهش یافته و سلول‌های پارانشیم نردبانی در مقایسه با گیاه شاهد و تیمار ۲ متراکم تر شده اند و این نتایج با مطالعات Majd و Torabi همسویی دارد [۲۴]. در تیمار ۲ سلول‌های بافت مزوفیل برگ کوچکتر شده و قطر سلول‌های پارانشیم نردبانی کاهش یافته و فضای بین سلولی در بافت مزوفیل در مقایسه با گیاه شاهد و تیمارهای ۱ و ۳ بسیار افزایش یافته است این نتیجه با مطالعات Jafari در ۲۰۱۲ همسویی دارد [۱۷].

کوچک‌تر شدن سلول‌های بافت مزوفیل در ارتباط با این مسئله است که کشسانی دیواره سلولی بطور نزدیکی با اندازه سلول در ارتباط است. به این صورت که سلول‌های کوچک مقاومت بیشتری در مقابل فشار نورگر منفی نسبت به سلول‌های بزرگ نشان می‌دهند. کاهش اندازه سلول در شرایط تنش خشکی و شوری ممکن است به عنوان مکانیسم سازگاری در نظر گرفته شود [۹].

در مطالعات اخیر که توسط Acosta-Motos و همکاران در سال ۲۰۱۵ [۱، ۲] بر اثرات تنش شوری با NaCl بر روی گیاه *Myrtus communis* و *Eugenia myrtifolia* صورت گرفت، تغییرات معنی دار در پارانشیم نردبانی مشاهده نشد اما پارانشیم اسفنجی کاهش و فضای بین سلولی افزایش یافت که با داده‌های حاصل از این مطالعه مطابقت دارد. همچنین افزایش فضای بین سلولی و قطر مزوفیل برگ در گیاه *Cucurbita pepo* توسط Rouphael در سال ۲۰۱۶ نیز گزارش شده است [۳۰]. همچنین در گیاه *Typha domingensis* تاثیر تنش شوری با کاهش ضخامت برگ، افزایش حجم واکوتل، کاهش

- [1] Acosta-Motos J.R., Díaz-Vivancos P., Álvarez S., Fernández-García N., Sánchez-Blanco M.J., Hernández J.A. 2015. NaCl-induced physiological and biochemical adaptative mechanism in the ornamental *Myrtus cummunis* L. plants. *J. Plant Physiol*, 183, 41-51.
- [2] Acosta-Motos J.R., Díaz-Vivancos P., Álvarez S., Fernández-García N., Sánchez-Blanco M.J., Hernández J.A. 2015, Physiological and biochemical mechanisms of the ornamental *Eugenia myrtifolia* L. plants for coping with NaCl stress and recovery. *Planta*, 242: 829-846.
- [3] Akhtar S.H., Akram M., Arfan M., Yasmin S.H. 2003, Differential yield responses of barley genotypes to NaCl salinity. *International journal of agriculture & biology*, 233-235.
- [4] Akhtar N., Hameed M., Nawaz F., Ahmad K.S., Hamid A., Segovia-Salcedo C., Shahnaz M.M. 2017, Lef anatomical and biochemical adaptations in *Typha domingensis* Pers. Ecotypes for salinity tolerance. *Botanical sciences*, 95 (4): 807-821.
- [5] Alani F. 2008, The effect reciprocal Na and K on genesis *Ocimum basilicum*. Islamic Azad University Olom Tahghighat branch.
- [6] Barret-Lennard E.G, 2003. The interaction between water logging and salinity in higher plants: Causes, consequences and implications. *Plant Soil*, 253: 35-54.
- [7] Bartosz g. 2009, Physiological and antioxidant responses of *Menthe pulegium* (pennyroyal) to salt stress.
- [8] Ceccoli G., Ramos J.C., Ortega L.I., Acosta J. M., Perreta M. G. 2011, "Salinity induced anatomical and morphological changes in *Chloris gayana* Kunth roots," *Biocell*. 35 (1):9-17.
- [9] Chartzoulakis K; Patakas A; Bosabalids A.1999, Changes in water relations, photosynthesis and leaf anatomy induced by intermittent drought in two olive cultivar. *Environ.Exp.Bot.* 42:113-120.
- [10] Divanali M. 2012, Healer plant-The expert of tecnology pharmaceutical herbs and redolent.
- [11] Dolatabadian A., Modarressanavy A.A.M., Ghanati F. 2011, Effects of salinity on growth, xylem structure and anatomical characteristics of soybean. *Not Sci Biol*, 3(1):41-45.
- صورت دسته‌های جوان در حال تمایز در میان دسته‌های آوندی مشهود است این نتایج با مطالعات Jafari و Mousavi در سال ۲۰۱۴ همسو است [۱۶].
- Popham ساختار جوانه‌ی رویشی را به هفت تیپ تقسیم کرده است و مریستم رویشی در لیف از الگوی عمومی گیاهان دو لپه‌ای توصیف شده توسط Popham تبعیت می‌کند [۲۸]. سلول‌ها در ناحیه تونیکا (T)، کوروپوس (C) کوچک‌تر شده که نشان دهنده تاثیر نمک بر تقسیمات سلولی در این نواحی می‌باشد. نتایج حاصل از این پژوهش بر روی مریستم راس رویشی لیف نشان می‌دهد که با اعمال تنش شوری در گیاهان تیمار ۱ افزایش تراکم، رنگ پذیری سلول‌های مریستم مشاهده می‌شود که می‌تواند به دلیل تغییر شکل مریستم از شکل رویشی به مرحله‌ای شبیه مریستم زایشی باشد این نتیجه با Majd و Torabi بر روی گیاه گاو زبان همسویی دارد [۲۴]. در تیمار ۲ سلول‌ها ریزتر هستند که نشان دهنده تاثیر نمک بر تقسیمات سلولی که در نهایت منجر به رشد می‌شود، افزایش می‌یابد و این نتیجه با مطالعات Majd و Tahori در سال ۲۰۱۰ بر روی گیاه کدو همسویی دارد [۲۳]. در تیمار ۳ شکل ظاهری مریستم تغییر کرده است و یکی دیگر از اثرات شوری در تیمار ۳ پراکنده بودن تقسیمات سلولی در کل مریستم و عدم تمرکز آن در منقطه جانبی است این نتیجه با مطالعات Majd و Shahbazi در سال ۱۹۹۶ و همچنین Majd و Jafari در سال ۱۹۹۶ همسو می‌باشد [۲۰، ۲۲]. با افزایش غلظت نمک از برجستگی مریستم کاسته شده و مریستم حالت همگن پیدا می‌کند. رنگ‌پذیری همگن در کل مریستم راسی از ویژگی‌های مریستم زایشی گیاهان است. نتایج پژوهش حاضر نشان می‌دهد که در واقع در تیمارهای نسبتاً سنگین مریستم از حالت رویشی به حالت شبیه مریستم زایشی تغییر کند و چون مرحله زایشی یکی از تجلیات دوران پیری در گیاهان به شمار می‌آید، می‌توان این تغییرات را در جهت بروز پیری زودرس ناشی از تنش شوری دانست، نتایج بدست آمده با مطالعات Majd و Jafari در سال ۱۹۹۶ و Nazembakei و Majd در سال ۲۰۰۵ و Jafari در سال ۲۰۱۲ همخوانی دارد [۱۷، ۲۱].

- [12] Goffner D. 2006, lacto glue coma nans Increase cell population Density and Alter the Protoxglpm/ Mea xylem Treachery Element Ratio in Ylogenesis Cult are of Zinnia.
- [13] Halite Y. 2009, Veli Uygur Plant Growth Mineral Element Content of Different Gourd Specis and Watermelon Ander salinity stress.
- [14] Hameed M, Ashraf M, Ahmad M.S.A, Naz N. Structural and functional adaptations in plants for salinity tolerance. 2010. In: Plant Adaptation and Phytoremediation. Ashraf M, Ozturk M, Ahmad MSA, editors. Berlin: Springer Verlag, p. 151-70.
- [15] Information Bank herbal remedies and medical plant, Medicine Iran,20-200 (IRTEB.com)
- [16] Jafari S., Musavii M. 2014, The survey of effect drought stress on germination and ontogeny of vegetative and generative organs in *Ocimum basilicum* L. Islamic Azad University North Tehran Branch, M.Sc Thesis
- [17] Jafari S., Sharei F. 2012, The survey of effect salinity stress (NaCl) on germination and ontogeny of vegetative and generative organs in *Mentha pulegium* L. Islamic Azad University North Tehran Branch, M.Sc Thesis.
- [18] Majd A., Jonobi P. 2014, The survey of anatomical of Vegetative organs and development Generative organs *Mangifera indica* L. Kharazmi University.
- [19] Majd A., Jafari S. 1996. The study of effect salinity stress (NaCl) on ontogeny of vegetative and generative organs and rate of productivity spesies tow *Arachis hypogea* L, Tarbiat modares university M.SC thesis.
- [20] Majd A., Jonubi P, Zeini pur M. 2009. The effect water stress on vegetative organs (*Helianthus annuus* L.).
- [21] Majd A., Nazembakei. 2005, The survey effect ascorbic asid on genesis vertical meristem and turnover *Laurus nobilis* L plant, Azad Islamic Univercity olom tahghighat branch phd.
- [22] Majd, A., Shahbazi, 1996, The study of effect salinity stress (NaCl) on anatomical structure some of the physiology phenomenon steam and young leafs *Mangifera indica* L plant. Tarbiyat moalem university M.SC thesis.
- [23] Majd A., Tahori F. 2010, The effect of Salicylic Acid on Seeds Germination, Seed Ontogeny and The survey anatomical structure Cucurbita pepo L. Islamic Azad University Tahghighat Branch, M.Sc Thesis.
- [24] Majd A., Torabi F. The survey of effect salinity on structure vegetative meristem and morfology characters *Borago Officinalis* L.
- [25] Mühlhling K.H., Läuchli A. 2002, Effect of salt stress on growth and cation compartmentation in leaves of two plant species differing in salt tolerance. J. Plant Physiol, 159:137-146.
- [26] Nazar R., Iqbal N., Syeed S.A., Khan N. 2011, Salicylic acid alleviates decreases in photosynthesis under salt stress by enhancing nitrogen and sulfur assimilation and antioxidant metabolism differentially in two mungbean cultivar. Plant Physiol, 168: 807-815.
- [27] Ola H., Regam A.E., Farag E., Eisa S.S., Habib S.A. 2012. Morpho-anatomical changes in salt stressed kallar grass (*Leptochloa fusca*). Research Journal of Agriculture and Biological Sciences, 8(2): 158-166.
- [28] Popham.R. A. 1951, Principles types of vegetative shhot apex organization in vascular plants. The Ohio Journal of Science, 51:249-270.
- [29] Riaz A., Martin P., Riaz S., Younis A., Hameed M. 2013, Comparative performance of two zinnia (*Zinnia elegans*) cultivars under high-temperature and limited water conditions in Pakistan. Acta Horticulturea, 980: 69-78.
- [30] Roupheal Y., De Micco V., Arena C., Raimondi G., Colla G., De Pascale S. 2016, Effect of Ecklonia maxima seaweed extract on yield, mineral composition, gas exchange, and leaf anatomy of zucchini squash grown under saline conditions. J. Appl. Phycol.
- [31] Shao H.B., Chu L.Y., Jaleel C.A., Zhao C.X. 2008. Water deficient stress induced anatomical changes in higher plants. Comptes Rendus Biologies, 331: 215-225.
- [32] Tuna A.L., Kayab C., Ashraf M., Altunlu H., Yokas I., Yagmur B. 2007, The effects of calcium sulphate on growth, membrane stability and nutrient uptake of tomato plants grown under salt stress. Environ. Exp. Bot, 59: 173-178.
- [33] Younis A., Riaz A., Ahmed I., Siddique M.I., Tariq U., Hameed M., Nadeem M. 2014, Anatomical changes induced by NaCl stress in root and stem of *Gazania hartlequin* L. Agricultural communications, 2(3): 8-14.
- [34] Zarinkamar F., Farkhah A. 2003, The survey comperative different moods anatomical 3 species under effect salinity. Research and composer 66.cover 18.number 1, page 50.

The Study of salinity (NaCl) stress on ontogeny of vegetative organs in (*Luffa cylindrica* L.)

Jafari S.^{1*}, Mahootforoshha M.¹

¹ Department of Biology, Faculty of Sciences, Islamic Azad University, North-Tehran Branch, Tehran, Iran

* Email: jafarisayeh@gmail.com

Received: October 2019

Accepted: February 2020

Abstract

Luffa cylindrica L. (Cucurbitaceae family) is an herbal plant with high medicinal and economical usage. Due to the salinity problem in soils of the country, the effect of salinity stress on the development of vegetative organs of luffa was investigated. Seeds were planted in pots (control and 3 treatments with four replications) and treated with 15, 30 and 45 mM NaCl under drip irrigation two weeks before flowering. The root, stem, leaf and petiole of plants were fixed in Glyceraldehyde fixator solution. The common methods of cell – histology was used for preparing of section. Vegetative meristem was removed in different stages, fixed in FAA_{70%} and maintained in ethanol_{70%}. The microtome was used for vegetative meristem sections and staining was carried out with PAS (Periodic Acid Schiff) and Hematoxyline. The results showed increasing salinity decreased the height, internode distance and overall size of plant. Increasing salt concentration causes the growth in the thickness of methaxylem elements at the root, leads the stem to go to subsequent structure earlier than normal process, have the cell layers increase in number, and increase the activity of the generative layers. In leaves, findings also showed that different salt concentration lead to increasing of ladder parenchyma layers, number and length of trichomes. Under the treatment meristem vegetative tip of the stem was layered. At the higher concentration vegetative tip became wide and got homogeneous pigment similar to what is seen in generative meristem. This phenomenon can be the sign of premature aging of the plant.

Keywords: Luffa, ontogeny, salt stress, vegetative organ.