Journal of
Plant Environmental Physiology
Print ISSN: 2423-7671
Online ISSN: 2783-4689
Phycological Society of Iran

Evaluation of biochemical parameters of Portulaca oleracea under chromium and salinity

Zahra Talebzadeh[1*], Rahle Rahbarian[2], Mohabbate Nadaf[3],Hamid Sobanian[4]

[1]Department of Biology, Payam Noor University, Tehran, Iran, E-mail: zatalebzadeh@yahoo.com
[2]Department of Biology, Payam Noor University, Tehran, Iran, E-mail: a_rahbarian@pnu.ac.ir
[3]Department of Biology, Payam Noor University, Tehran, Iran, E-mail: m_nadaf@pnu.ac.ir
[4]Department of Biology, Payam Noor University, Tehran, Iran, E-mail: motif3000@yahoo.com

Article type:
Research Full Paper

Article history
Received: 13.04.2021
Revised: 18.06.2021
Accepted: 24.06.2021
Published:24.06.2023

Keywords
Malondialdehyde
Proline
Portulaca oleracea
Potassium dichromate
Salinity

Abstract

The aim of this study was to investigate the interaction of salinity and chromium stress on some biochemical characteristics of portulaca oleracea. The study was conducted in a completely randomized greenhouse design with 3 replications. Four levels of salinity levels of salinity (0, 4, 8, and 12 ds/m sodium chloride) were applied every 4 days through irrigation. Also, chromium treatment levels (0, 7, 14, 21, and 28 mg/kg dry weight of soil) were applied before seed cultivation by adding increasing levels of potassium dichromate to the soil. Soluble and insoluble carbohydrates, proteins, proline, malondialdehyde, and hydrogen peroxide were assayed after 60 days of plant cultivation. Results showed that with increasing levels of chromium and salinity, the amounts of proline, peroxide, malondialdehyde, and soluble carbohydrates increased, but insoluble carbohydrates and proteins decreased. The lowest levels of insoluble carbohydrates and proteins and the highest amount of proline, peroxide, malondaldehyde and alcohol-soluble carbohydrates were observed in the combined treatments of salinity stress (12 ds/m) and chromium (28 mg/kg). The combined treatment with salinity stress and chromium caused a further reduction in insoluble carbohydrate and protein contents of portulaca plants. As a result, the production of reactive oxygen species and oxidative stress increased along with increasing chromium and salinity concentrations.

Cite this article as: Talebzadeh, Z., Rahbarian, R., Nadaf, M., Sobanian, H. (2023). Evaluation of biochemical parameters of Portulaca oleracea under chromium and salinity. *Journal of Plant Environmental Physiology*, 70(2): 1-16.

©The author(s)
Publisher: Islamic Azad University, Gorgan branch
Doi: 10.30495/iper.2022.690256
Dor: 20.1001.1.24237671.1402.18.70.4.4

فیزیولوژی محیطی گیاهی
شاپا چاپی: ۲۴۲۳-۷۶۷۱
شاپا الکترونیکی: ۲۷۸۳-۴۶۸۹
PSI
انجمن جلبک شناسی ایران
Phycological Society of Iran
دانشگاه آزاد اسلامی
واحد گرگان

ارزیابی شاخص‌های بیوشمیایی گیاه دارویی خرفه *Portulaca oleracea* تحت تنش کروم و شوری

زهرا طالب‌زاده[1*]، راهله رهباریان[2]، محبت نداف[3]، حمید سبحانیان[4]

[1]گروه زیست شناسی، دانشگاه پیام نور، تهران، ایران، رایانامه: zatalebzadeh@yahoo.com
[2]گروه زیست شناسی، دانشگاه پیام نور، تهران، ایران، رایانامه: a_rahbarian@pnu.ac.ir
[3]گروه زیست شناسی، دانشگاه پیام نور، تهران، ایران، رایانامه: m_nadaf@pnu.ac.ir
[4]گروه زیست شناسی، دانشگاه پیام نور، تهران، ایران، رایانامه: motif3000@yahoo.com

نوع مقاله:
مقاله کامل علمی-پژوهشی

تاریخ دریافت: ۱۴۰۰/۰۱/۲۴
تاریخ بازنگری: ۱۴۰۰/۰۳/۲۸
تاریخ پذیرش: ۱۴۰۰/۰۴/۰۳
تاریخ چاپ: ۱۴۰۲/۰۴/۰۳

واژه‌های کلیدی:
پرولین
خرفه
دی کرومات پتاسیم
شوری
مالون دی آلدئید

چکیده

هدف از پژوهش حاضر، بررسی برهمکنش تنش شوری و کروم بر برخی شاخص‌های بیوشیمیایی گیاه خرفه بود. این پژوهش درقالب طرح کاملا تصادفی گلخانه‌ای و با ۳ تکرارانجام شد. ٤ سطح شوری (۰، ٤، ۸ و ۱۲ دسی‌زیمنس بر متر) بااستفاده از کلریدسدیم هر ٤ روز ازطریق آبیاری و سطوح تیمار کروم (۰، ۷، ۱٤، ۲۱ و ۲۸ میلی‌گرم بر کیلوگرم وزن خشک خاک) فراهم شد و قبل از کشت بذر در خاک، سطوح مختلف تیمار کروم با افزایش دی کرومات پتاسیم به خاک، تهیه شد. مقادیر کربوهیدرات‌های محلول و نامحلول، پروتئین‌ها، پرولین، مالون دآلدئید و پراکسیدهیدروژن پس از ٦۰ روز از کشت گیاهان اندازه‌گیری و سنجش شدند. نتایج نشان داد با افزایش سطوح مختلف کروم و شوری مقادیر پرولین، پراکسید، مالون دی آلدئید، کربوهیدرات محلول روند افزایشی داشت، اما کربوهیدرات‌های نامحلول و پروتئین‌ها روند کاهشی داشت. کمترین میزان کربوهیدرات‌های نامحلول و پروتئین‌ها و بیشترین میزان پرولین، پراکسید، مالون دی آلدئید، کربوهیدرات محلول در الکل در تنش ترکیبی سطوح شوری ۱۲ دسی‌زیمنس‌برمتر و کروم ۲۸ میلی‌گرم بر کیلوگرم مشاهده گردید. تنش ترکیبی شوری و کروم باعث کاهش بیشتری در کربوهیدرات‌های نامحلول و پروتئین‌ها خرفه گردید.در نتیجه هم راستا با افزایش غلظت‌های کروم و شوری تولید اکسیژن‌های واکنشگر و تنش اکسیداتیو افزایش می‌یابد.

استناد: طالب‌زاده، زهرا؛ رهباریان، راهله؛ نداف،محبت؛ سبحانیان، حمید. (۱٤۰۲). ارزیابی شاخص‌های بیوشمیایی گیاه دارویی خرفه *Portulaca oleracea* تحت تنش کروم و شوری. *فیزیولوژی محیطی گیاهی*، ۷۰ (۲)، ۱٦-۱.

ناشر: دانشگاه آزاد اسلامی، واحد گرگان
© نویسندگان.
Doi: 10.30495/iper.2022.690256
Dor: 20.1001.1.24237671.1402.18.70.4.4

مقدمه

خرفه یکی از گیاهان شناخته شده در طب سنتی است که از زمان‌های بسیار دور مورد استفاده قرار گرفته و در درمان بسیاری از بیماری‌ها نیز کاربرد دارد (Zarei, 2013). خرفه یا پرپهن (با نام علمی *oleraceaPortulaca* از خانواده Oleracea، که در فارسی و عربی به اسامی دیگری نظیر بخله، بقله فاطمه، فرفخ، قینا، کف و کلنک نیز معروف است گیاهی است علفی، یکساله با ساقه و برگ‌های ضخیم و متقابل آبدار سبز با ساقه‌های قرمز، گل‌های زرد یا سفید کوچک و تخم‌های سیاه ریز که خواص دارویی دارند. خرفه وحشی، علف هرزی است آبدار که در شرایط گرم و خشک به خوبی رشد می‌کند و در دامنه گسترده‌ای از خاک‌ها و شرایط اقلیمی مختلف می‌روید. به لحاظ طب سنتی، طبیعت خرفه سرد و تر، قابض و مدر است و حرکات کیسه صفرا، بالطبع جریان صفراوی را کاهش می‌دهد (Sultana, 2013).

آلودگی خاک به فلزات سنگین در بسیاری از نقاط جهان به صورت مشکل جدی زیست محیطی درآمده است (Zhao, 2014; Solgi, 2012). در ایران نیز با توسعه شهرنشینی و صنعتی شدن، نگرانی قابل ملاحظه‌ای در مورد آلودگی خاک‌ها توسط فلزات سنگین وجود دارد. فلزات سنگین سمی، دارای قابلیت تجمع زیستی و مقاوم به تجزیه بیوشیمیایی هستند و به عنوان خطر جدی برای سلامت انسان مطرح می‌شوند (Wei, 2010). نتایج مطالعه Zhao و همکاران (۲۰۱٤) نشان دادند که خطر غیرسرطان‌زایی همه فلزات کمتر از یک است، در حالی که مقادیر خطر سرطان‌زایی کروم، کادمیوم و آرسنیک بالاتر از حد مجاز بوده است (Zhao, 2014).

Cr (VI) به دلیل حلالیت زیاد یونی خطرناک محسوب می‌شود که آب‌های زیرزمینی را آلوده می‌کند و می‌تواند از طریق زنجیره غذایی منتقل شود. Cr همچنین با اختلال در فرایندهای اساسی سوخت و ساز، روی رشد گیاهان تأثیر منفی می‌گذارد. اثرات سمی Cr با تولید گونه‌های اکسیژن و اکنش‌پذیر (ROS)، که باعث تنش اکسیداتیو در گیاهان می‌شوند، ارتباط دارد. تا به امروز، Cr هیچ نقش بیولوژیکی شناخته شده‌ای در فیزیولوژی گیاه ندارد (Reale, 2016). به‌طورکلی تصور می‌شود که سطح بیش از حد Cr دربافت‌های گیاه ممکن است چندین روند مورفو-فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی را در گیاهان تحریک کند (Uddin, 2015). هرگونه مسمومیت فلزی به مجموعه پیچیده‌ای از فعل و انفعالات فلز با فرآیندهای ژنتیکی، انتقال سیگنال و مسیرها و ماکرومولکول‌های سلولی نسبت داده می‌شود (Kamran, 2017). از این رو، گزارش شده است که سمیت کروم بر رشد گیاه تأثیر می‌گذارد و از روندهای متابولیکی ضروری آن جلوگیری می‌کند (Shanker, 2009). به‌طور معمول، سمیت Cr با ایجاد تغییرات فوق ساختاری غشای سلول و کلروپلاست، ترغیب کلروز در برگ‌ها، آسیب رساند نبه سلول‌های ریشه، کاهش محتوای رنگدانه‌ها، برهمزدن روابط آب و تغذیه مواد معدنی، تأثیر بر تعرق و جذب نیتروژن و تغییر فعالیت‌های مختلف آنزیمی، رشد گیاه را کاهش می‌دهد (Reale, 2016) تمام این اثرات سمی Cr ممکن است به‌دلیل تولید بیش از حد گونه‌های اکسیژن واکنش‌پذیر (ROS) باشد که در نهایت تعادل اکسایش اکسیداسیون در گیاهان را مختل می‌کند(Anjum, 2017; Anket, 2020). با در نظر گرفتن همه موارد، در این پژوهش اثرات مختلف Cr بر کربوهیدرات‌های محلول و نامحلول، پروتئین‌ها، پرولین، مالون دآلدئید و پراکسیدهیدروژن گیاه خرفه بررسی شد.

مواد و روش‌ها

به‌منظور بررسی صفات مورفولوژیکی گیاه خرفه، بذور آن در گلدان‌های ۳ لیتری حاوی خاک مزرعه‌ای در ینگه‌قلعه بجنورد با خصوصیات فیزیکی شیمیایی جدول ۱، دو ماه قبل از کشت بذور خاک توسط دی کرومات پتاسیم آلوده به سطوح مختلف کروم (۰، ۷، ۱٤، ۲۱ و ۲۸ میلی‌گرم بر کیلوگرم خاک) اضافه شد. درصد رطوبت خاک از طریق آبیاری با سطوح مختلف شوری (۰، ٤، ۸ و ۱۲ دسی‌زیمنس بر متر) دوبار در هفته به اندازه ظرفیت زراعی تنظیم شد. به این ترتیب، ٤ تیمار تنش شوری به صورت آزمایش فاکتوریل در قالب طرح کاملا تصادفی با ۳ تکرار مورد مقایسه قرار گرفتند. گلدان‌ها کشت شده در درجه حرارت محیط (۱۸ تا ۲۵ درجه سانتی‌گراد) و در شرایط نور طبیعی انجام گرفت.

جدول ۱: خصوصیات فیزیکی شیمیایی خاک قبل از شروع آزمایش

pH	EC(ms/cm)	$CaCO_3$(%)	بافت خاک (٪)			N(%)	P(PPM)	K (PPM)	Cr(PPM)	Cd(PPM)	Pb(PPM)	As(PPM)	Mn(PPM)	Cu(PPM)	Zn(PPM)	Fe(PPM)
			شن	رس	سیلت											
۷/۷۳	۱/۲۹	۲۶/۲۵	۲۳	۱۷	۶۰	۰/۰۳۶	۸/۱	۲۶۰	۲۶	۰/۳۱	۱۲	۲۰۴	۵۶۲	۲۵	۷۱	۲۶/۹۹

به منظور بررسی کربوهیدرات‌های محلول و نامحلول، پروتئین‌ها، پرولین، مالون دآلدئید و پراکسیدهیدروژن، گیاهان در روز ٦۰ از گلدان‌ها خارج شده و نمونه‌برداری انجام شد. میزان مالون‌دی‌آلدئید، آب اکسیژنه، پرولین، پروتئین کل محلول برگی، کربوهیدرات محلول برگ‌ها و کربوهیدرات نامحلول گیاهان مورد سنجش قرارگرفت.

پرولین: برای استخراج و سنجش پرولین از روش Beiths و همکاران (1973) استفاده شد (Anjum, 2017). بدین‌منظور ۰/۲ گرم از بافت برگ در ٤ میلی‌لیتر اسیدسولفوسالیسیلیک آبدار (W/V) ۳٪ کاملا سائیده شده تا همگن شود. سپس هموژن حاصل توسط کاغذ صافی واتمن شماره ۲ صاف و از محلول حاصل برای سنجش پرولین استفاده گردید. ۲ میلی‌لیتر از هموژن با ۲ میلی‌لیتر معرف نین‌هیدرین و ۲ میلی‌لیتر اسید استیک گلاسیال در یک لوله آزمایش مخلوط شدند. لوله‌های آزمایش به مدت یک ساعت در حمام آب ۱۰۰ درجه سانتی‌گراد قرار گرفتند. سپس بلافاصله نمونه‌ها به ظرف حاوی یخ منتقل شدند تا واکنش خاتمه یابد و پس از آن به دمای اتاق منتقل شدند. سپس به محتویات داخل لوله آزمایش ٤ میلی‌لیتر تولوئن افزوده و به‌مدت ۳۰ ثانیه به شدت مخلوط شدند. این عمل موجب دو فازه شدن محتویات لوله شد (فاز تولوئن رنگی حاوی پرولین در بالا و فاز آبی شفاف در پائین). پس از مدت ۲۰ دقیقه، جذب نوری محلول فوقانی در۵۲۰ نانومتر خوانده شد و با استفاده از منحنی استاندارد، غلظت پرولین در محلول محاسبه شد. در نهایت مقدار پرولین بر اساس میلی مول بر گرم وزن تر نمونه گیاهی مطابق معادله ۱ زیر محاسبه شد.

$$X=[(A-B)] /C/(D/5) \quad \text{معادله (۱)}$$

A: مقدار پرولین بدست آمده از منحنی استاندارد بر حسب میکروگرم در میلی‌لیتر

B: مقدار تولوئن استفاده شده بر حسب میلی‌لیتر
C: عدد مولکولی پرولین (۱۱۵/۵)
D: مقدار نمونه گیاهی برحسب گرم
X: مقدار پرولین بر حسب میلی مول بر گرم

پراکسیداسیون لیپیدهای غشاء: سنجش میزان پراکسیداسیون لیپیدهای غشاء با استفاده از روش Robbert و همکاران (1980) براساس تشکیل کمپلکس مالون‌دی‌آلوئید حاصل از پراکسیداسیون لیپیدهای غشاء با اسید تیوباربیتوریک (TBA) انجام شد (Nasibi, 2011). به این منظور ۰/۲ گرم بافت تر برگ با ۵ میلی‌لیتر اسید تری‌کلرواستیک اسید ۰/۱ درصد در هاون چینی به خوبی ساییده و همگن شد. همگن حاصل به مدت ۵ دقیقه و در ۱۰۰۰۰ دور سانتریفوژ گردید. سپس ۱ میلی‌لیتر از محلول روشناور با ٤ میلی‌لیتر از محلول اسید تری‌کلرواستیک ۲۰ درصد که حاوی اسید تیوباربیتوریک ۰/۵ درصد بود، مخلوط شد. محلول حاصله به مدت ۳۰ دقیقه در حمام آبگرم ۹۰ درجه سانتی‌گراد قرار گرفت و بعد از اتمام این مدت به حمام یخ منتقل شد. در مرحله بعد، مجدداً به مدت ۱۰ دقیقه و در ۱۰۰۰۰ دور سانتریفوژ شد. جذب نوری هر یک از نمونه‌ها در طول موج ۵۳۲ نانومتر خوانده شد. از آنجایی که ترکیبات دیگری به غیر از مالون‌دی‌آلوئید در محلول دارای جذب غیراختصاصی می‌باشند، جذب این ترکیبات در ٦۰۰ نانومتر نیز خوانده شد و پس از کسر میزان جذب در٦۰۰ نانومتر از میزان جذب در ۵۳۲ نانومتر با استفاده از رابطه‌ی معادله ۲ غلظت مالون‌دی‌آلوئید محاسبه شد.

معادله (۲) $A=\varepsilon bc$

A: جذب نمونه مورد نظر ε: ضریب خاموشی برابر c: غلظت مالون‌دی‌آلوئید بر حسب $1/55\times10^{-5}Mcm^{-1}$ mol/gFW می‌باشد.

پراکسید هیدروژن: سنجش پراکسید هیدروژن با استفاده از روش Sagisaka (1976) انجام شد (Keramat, 2014). به این منظور مقدار ۰/۵ گرم از بافت تر برگ با ۵ میلی‌لیتر اسید تری‌کلرواستیک ۱ درصد (w/v) هاون چینی در حمام یخ کاملاً ساییده و همگن شد. هموژن حاصل به‌مدت ۱۵ دقیقه در ۱۲۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفوژ گردید. در مرحله‌ی بعد ۰/۵ میلی‌لیتر از محلول روشناور به لوله‌ی آزمایش منتقل و به آن ۰/۵ میلی‌لیتر بافر فسفات پتاسیم ۱۰ میلی‌مولار با pH۷ و یک میلی‌لیتر یدید پتاسیم (KI) یک مولار اضافه گردید (تمام مراحل در حمام یخ انجام شد). مخلوط واکنش به خوبی با هم مخلوط شدند. در نهایت جذب نمونه‌ها در طول موج ۳۹۰ نانومتر به کمک دستگاه اسپکتروفتومتر تعیین گردید. سپس بر اساس منحنی استاندارد آب اکسیژنه، غلظت پراکسید هیدروژن در نمونه‌ها بر حسب میکرومول برگرم وزن تر برگ محاسبه شد.

پروتئین: سنجش پروتئین به روش اندازه‌گیری به روش Bradfor (1976) انجام پذیرفت (Arma, 2010). به ۱۰۰ میلی‌لیتر بافر تریس (Trith) نیم مولار با PH=٦/۸، ۲گرم سدیم دودسیل سولفات (SDS) افزوده ۲۰۰ میکرولیتر از بافر استخراج به نمونه تازه‌های اضافه کرده و توسط میله شیشه‌ای استریل له و خوب مخلوط شد (تمامی مرحله در دمای ٤ درجه سانتی‌گراد انجام می‌گیرد). سپس محلول‌ها بمدت ۲۰ دقیقه با دور ۱۳ هزار سانتریفوژ شده، به ۵ میلی‌لیتر محلول برادفورد، ۱۰۰ میکرولیتر از عصاره فوق را اضافه نموده و بعد از ۳۰ دقیقه در شرایط آزمایشگاهی جذب نمونه‌ها در طول موج ۵۹۵ اندازه‌گیری شد. سپس میزان پروتئین بر حسب میلی‌گرم بر گرم بافت تر برگ محاسبه شد (Ashraf & Foolad, 2007).

استخراج و سنجش میزان کربوهیدرات محلول[1] در الکل و نامحلول برگی: ۰/۱ گرم از ماده خشک گیاهی را به فالکون‌های پلاستیکی درپیچ دار منتقل کرده و سپس به آن ۱۵ میلی‌لیتر الکل اتیلیک ۸۰٪ که قبلا آنرا گرم نموده‌ایم افزوده و لوله‌ها به‌مدت ۲۰ ثانیه ورتکس شد. سپس به‌منظور جدا کردن فاز جامد از مایع، فالکون‌ها به‌مدت ۱۰ دقیقه با سرعت ۳۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفیوژ شدند. فاز مایع برای سنجش میزان کربوهیدرات‌های محلول و فاز جامد برای سنجش کربوهیدرات‌های نامحلول بود هر نمونه را در داخل پتری حاوی فاز مایع ریخته و پتری‌ها را به‌مدت یک ساعت در دمای ۵۰ درجه سانتی‌گراد قرارداده تا اتانول آن تبخیر گردد. مراحل افزودن اتانول ۸۰٪ و سانتریفیوز به‌مدت۱۰ دقیقه با سرعت ۳۰۰۰ دور در دقیقه ۳ بار تکرار شد. پس از تبخیر الکل، مقدار ۱۰۰ میلی‌لیتر آب مقطر به پتری‌ها افزوده و محلول به ظرف ۲۵۰ میلی‌لیتری منتقل شد. به‌منظور حذف رسوبات اضافی و ترکیبات دیگر، ۵ میلی‌لیتر از محلول ۵٪ سولفات روی و ٤/۷ میلی‌لیتر از محلول هیدروکسید باریم ۰/۳ نرمال به ظرف افزوده شد. مقدار ٤۵ میلی‌لیتر از هر نمونه برداشته و به‌مدت ۱۰ دقیقه با سرعت ۳۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفیوژ شد. ۲ میلی‌لیتر از عصاره رویی به شیشه درپوش‌دار منتقل شد. به هر شیشه حاوی ۲ میلی‌لیتر عصاره، ۱ میلی‌لیتر محلول فنل ۵٪ افزوده شد و درب شیشه بسته شده و به شدت تکان داده شد. سپس در زیر هود و به سرعت ۵ میلی‌لیتر اسید سولفوریک ۹۸٪ به هر شیشه اضافه شد. پس از گذشت ٤۵ دقیقه و با تثبیت رنگ قهوه‌ای مایل به زرد میزان جذب نوری نمونه‌ها در طول موج ٤۸۵ نانومتر قرائت شد. سپس قسمت باقیمانده در روی کاغذ صافی برداشته شده و حجم آن به ۱۰۰ میلی‌لیتر رسانده شد. ۲ میلی‌لیتر از عصاره به شیشه درپوش دار منتقل و سپس۱ میلی‌لیتر محلول فنل ۵٪ افزوده شد و درب شیشه بسته شده و به شدت تکان داده شد. سپس در زیر هود و به سرعت ۵ میلی‌لیتر اسید سولفوریک ۹۸٪ به هر شیشه اضافه شد. پس از گذشت ٤۵ دقیقه و با تثبیت رنگ قهوه‌ای مایل به زرد میزان جذب نوری نمونه‌ها در طول موج ٤۸۵ نانومتر قرائت شد. سپس میزان کربوهیدرات‌های محلول و نامحلول برحسب میلی‌گرم در لیتر محاسبه شد. با توجه به حجم عصاره قندی بدست آمده و مقدار وزن خشک ماده مورد استفاده، غلظت کربوهیدرات‌های محلول و نامحلول در واحد وزن خشک گیاه محاسبه گردید (Renaut et al., 2005).

تجزیه و تحلیل آماری

این پژوهش در قالب طرح کاملاً تصادفی صورت گرفت. برای هر تیمار سه تکرار در نظر گرفته شد. پردازش داده‌ها بوسیله نرم‌افزار رایانه‌ای SPSS 22 و رسم شکل‌ها بوسیله نرم‌افزار Excel 2007 انجام شد. تجزیه واریانس جهت صفات اندازه‌گیری شده انجام سپس میانگین داده توسط آزمون چند دامنه‌ای Duncan، با ضریب اطمینان ۹۹/۹۵ درصد (α=۰/۰۵) یا ($P\leq$۰/۰۵) مقایسه شدند.

نتایج

کربوهیدرات محلول و نامحلول برگی در الکل: تغییرات محتوای کربوهیدرات‌های نامحلول و محلول برگی در شکل‌های ۱ و ۲ نشان داده شده است. نتایج حاصل از تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد که محتوای کربوهیدرات‌های محلول و نامحلول برگی تحت تاثیر معنی‌دار ($P\leq$۰/۰۵) سطوح مختلف شوری و کروم

1. Soluble carbohydrates

قرار گرفتند (جدول ۲). مقایسه میانگین سطوح مختلف شوری نشان داد با افزایش مقدار شوری محتوای کربوهیدرات‌های محلول به‌طور معنی‌داری افزایش یافت، بیشترین مقدار کربوهیدرات‌های محلول در تیمار ۱۲ دسی‌زیمنس بر متر و کروم ۲۸ میلی‌گرم در کیلوگرم حدود ۵ برابر و به مقدار (۱/۱ میلی‌گرم بر گرم وزن تر) بود. همچنین سطوح شوری ۱۲ دسی‌زیمنس بر متر و کروم ۲۸ میلی‌گرم در کیلوگرم و همچنین سطوح شوری ۱۲ دسی‌زیمنس بر متر و کروم سطوح ۰، ۷، ۱۴ و ۲۱ میلی‌گرم در کیلوگرم اختلاف معنی‌داری نشان دادند.

جدول ۲: نتایج تجزیه واریانس (میانگین مربعات) برای شاخص‌های بیوشیمیایی

منبع	df	پراکسید هیدروژن (µmol /gr FW)	پروتئین (mg/g FW)	مالون دی‌آلدئید (mol /g FW)	پرولین (mg/g FW)	کربوهیدرات نامحلول (mg/g FW)	کربوهیدرات محلول (mg/g FW)
مدل اتصحیح شده	۱۹	۱۵/۲۶۱	۰/۴۵۳	۰/۳۸۵	۴۹۸۸۸۶۵/۱۴۵	۰/۱۸۹	۰/۱۲۵
مقدار ثابت	۱	۲۷۸۴/۶۰۹	۲۷۶/۵۸۴	۲۲/۷۷۱	۴۴۲۴۶۶۵۸۱/۳	۴۴/۴۴۲	۲۷/۷۹
Cr	۴	۳۹/۸۳۴*	۱/۶۷۲*	۱/۵۵۷*	۲۰۵۰۲۳۱۴/۷۰*	۰/۴۳۱*	۰/۰۸۲*
NaCl	۳	۳۸/۹۹۳*	۰/۵۷۹*	۰/۲۸۸*	۷۲۶۰۵۱۶/۵۲۷*	۰/۵۹۵*	۰/۶۴۵*
Cr * NaCl	۱۲	۱/۱۳۷*	۰/۰۱۵*	۰/۰۱۹*	۳۵۳۲۸۵/۶۲۹*	۰/۰۰۷*	۰/۰۰۹*
خطا	۴۰	۳/۵۸۳	۰/۱۲۸	۰/۱۳۰	۱۶۶۷۱/۸۴۶	۰/۰۸۹	۰/۰۱۶

(علامت * و ns به‌ترتیب معنی‌دار ($P\leq$۰/۰۵) و عدم معنی‌دار)

با افزایش شوری و کروم محتوای کربوهیدرات‌های نامحلول برگی کاهش داشت، بطوریکه کمترین مقدار کربوهیدرات‌های نامحلول برگی در تیمار ۱۲ دسی‌زیمنس بر متر و کروم ۲۸ میلی‌گرم در کیلوگرم به مقدار (۰/۳۹ میلی‌گرم بر گرم وزن تر) بود. محتوای کربوهیدرات‌های نامحلول تحت تاثیر غلظت کروم، کلریدسدیم قرار گرفت، برهمکنش آنها بر این صفت معنی‌دار بود محتوای کربوهیدرات‌های نامحلول برگی گیاهان شاهد با سطح شوری ۱۲ دسی‌زیمنس بر متر و کروم ۱۴ و سطح شوری۱۲ دسی‌زیمنس بر متر و کروم ۲۱ میلی‌گرم در کیلوگرم روند کاهش معنی‌داری بود. در گیاهان متعلق به سایر سطوح اختلاف معنی‌داری مشاهده نگردید (جدول ۳).

پرولین: نتایج حاصل از تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد که محتوای پرولین تحت تاثیر شوری و کروم قرار گرفتند. اثر سطوح مختلف شوری و کروم و برهمکنش آنها بر مقدار فاکتور محتوای پرولین معنی‌دار ($P\leq$۰/۰۵) بوده است (جدول ۲).

مقایسه میانگین سطوح مختلف شوری نشان داد با افزایش سطوح شوری و کروم، محتوای پرولین افزایش یافت. بطوریکه بیشترین مقدار پرولین در تیمار۱۲ دسی‌زیمنس بر متر و کروم ۲۸ میلی مول در کیلوگرم حدود ۶/۲ برابر و به مقدار (۴۶۴۵/۶۹ میلی‌مول در هر گرم وزن تر) و کمترین مقدار پرولین در گیاهان شاهد به مقدار (۷۴۹/۹۰ میلی مول در هر گرم وزن تر) بود. محتوای پرولین تحت تاثیر غلظت کروم، کلریدسدیم و برهمکنش آنها قرار گرفت. محتوای پرولین در سطح کروم صفر و شوری ۱۲ دسی‌زیمنس با سطح کروم ۷ میلی‌گرم در کیلوگرم و و شوری ۱۲ دسی‌زیمنس بر متر باهم اختلاف معنی‌داری نشان ندادند. همچنین مقدار آن در سطوح کروم ۲۱ و شوری ۱۲ دسی‌زیمنس با سطح ۲۸ میلی‌گرم در کیلوگرم و شوری ۱۲ دسی‌زیمنس بر متر باهم اختلاف معنی‌داری نشان ندادند (جدول ۳).

جدول ۳: مقایسه میانگین اثر سطوح مختلف کروم و کلرید سدیم بر شاخص‌های بیوشیمیایی

Cr	NaCl	پراکسید هیدروژن (mol/gr FW)	پروتئین (mg/g FW)	مالون دی‌آلدئید (mol /g FW)	پرولین (mg/g FW)	کربوهیدرات نامحلول(mg/g FW)	کربوهیدرات محلول(mg/g FW)
۰	۰	۲/۹۵^{a}	۲/۹۱^{f}	۰/۱۲^{a}	۷۴۹/۹۰^{a}	۱/۳^{e}	۰/۲۲^{a}
	٤	۳/۱۲^{a}	۲/٦۳^{ef}	۰/۱۳^{a}	۱۲٤۰/٤۸^{bc}	۱/۱٤^{cde}	۰/۵۱^{bc}
	۸	۵/۱۲^{abc}	۲/۵۳^{def}	۰/۲۱^{a}	۱٦۲٦/٤۱^{d}	۰/۹۸^{ae}	۰/۷۱^{cdef}
	۱۲	٦/۸۷^{bf}	۲/٤٤^{cf}	۰/۳۰^{abc}	۲۳۸٦/۰۰^{e}	۰/۸٤^{ae}	۰/۸۷^{ef}
۷	۰	۳/٦٦^{ab}	۲/٦۵^{ef}	۰/۲٤^{ab}	۲۵۰٦/٦۳^{e}	۱/۲٦^{de}	۰/٤۳^{b}
	٤	۳/۸۷^{ab}	۲/٤۳^{cf}	۰/۲۵^{ab}	۱۲۷۳/٤۱^{cd}	۱/۰۵^{be}	۰/۵۸^{bcd}
	۸	۷/۲۰^{cf}	۲/۳۰^{cf}	۰/٤۳^{ad}	۱۵۱۳/۱۳^{cd}	۰/۸۱^{ae}	۰/٦۹^{cf}
	۱۲	۷/۸۷^{cf}	۲/۱۰^{be}	۰/٤۷^{ae}	۲۵۲۵/۹۳^{e}	۰/۷۵^{ad}	۰/۸٤^{ef}
۱٤	۰	٤/۸۷^{abc}	۲/۳۱^{cf}	۰/۳٦^{abc}	۲۵۵۰/۱۳^{e}	۱/۱۰^{be}	۰/٤۵^{b}
	٤	۵/۵٤۲^{ad}	۲/۱۹^{be}	۰/٤٤^{ad}	۲۹٤۵/۹۲^{f}	۰/۹۸^{ae}	۰/٦۳^{be}
	۸	۸/۰۸^{cf}	۲/۱۰^{be}	۰/٦۹^{ae}	۲۵۱۹/۰۵^{e}	۰/۸۵^{ae}	۰/۷۱^{cf}
	۱۲	۸/۲۰^{cf}	۲/۰۱^{ae}	۰/۷۹^{ae}	۲۹۱۹/۰۵^{f}	۰/٦۷^{ad}	۰/۸^{ef}
۲۱	۰	٦/۲۹^{ae}	۲/۰^{ae}	۰/۵۹^{ae}	۳۱۷۲/۲۵^{fg}	۰/۸۹^{ae}	۰/٤۸^{bc}
	٤	۸/۲۰^{cf}	۱/۹۳۲^{ad}	۰/۹٤^{be}	۳۲۸٦/۸۰^{g}	۰/۸۲^{ae}	۰/٦۵^{bf}
	۸	۹/۲۰^{def}	۱/۸۷^{ad}	۰/۹۷^{cde}	۳۷۱۱/۹٦^{h}	۰/۵٦^{abc}	۰/۸۱^{def}
	۱۲	۹/۲^{ef}	۱/۵۲^{ab}	۱/۰۹^{de}	٤۵۰٤/۸۷^{j}	۰/۵۵^{abc}	۰/۸۸^{f}
۲۸	۰	۷/۵٤^{cf}	۱/۹۰^{ad}	۰/۹۳^{be}	۳۸۱۸/۵۲^{h}	۰/۸۱^{ae}	۰/۵۱^{bc}
	٤	۸/۵٤^{cf}	۱/۸۲^{abc}	۰/۹۷^{cde}	۳/۵۲۰۱^{hi}	۰/۷۵^{ad}	۰/۷۱^{cf}
	۸	۹/۵٤^{ef}	۱/۷۷^{abc}	۱/۱۱^{de}	٤۱۸۵/۰٤^{i}	۰/۵٤^{ab}	۰/۸۷^{ef}
	۱۲	۱۰/۲۰^{f}	۱/۳۹^{a}	۱/۱۷^{e}	٤٦٤۵/٦۹^{j}	۰/۳۹^{a}	۱/۱۰^{g}
NaCl	۰	۵/۰٦^{a}	۲/۳٦^{b}	۰/٤۵^{a}	۲۱۲۷/۸۱^{a}	۱/۰۹^{c}	۰/٤۲^{a}
	٤	۵/۸۵^{a}	۲/۲۰^{b}	۰/۵۵^{ab}	۲۸۳۰/۷۷^{b}	۰/۹۵^{bc}	۰/٦۲^{b}
	۸	۷/۸۵^{b}	۲/۱۱^{ab}	۰/٦۹^{ab}	۳۲۱۷/۲۳^{c}	۰/۷۵^{ab}	۰/۷٦^{c}
	۱۲	۸/٤۷۵^{b}	۱/۸۹^{a}	۰/۷۵^{b}	۳٦۵۲/۲۲^{d}	۰/٦٤^{a}	۰/۸۱^{d}
Cr	۰	٤/۵۲^{a}	۲/٦۳^{c}	۰/۱۹^{a}	۲۵۳۹/۲۵^{a}	۱/۰۹^{c}	۰/۵۸^{a}
	۷	۵/٦۵^{ab}	۲/۳۷^{bc}	۰/۳۵^{ab}	۲۵۸۵/۹۰^{b}	۰/۹۷^{c}	۰/٦٤^{ab}
	۱٤	٦/٦۷^{b}	۲/۱۵^{b}	۰/۵۷^{b}	۳۲۵۲/۲۱^{c}	۰/۹۰^{bc}	۰/٦٦^{ab}
	۲۱	۸/۲۵^{c}	۱/۸٤^{a}	۰/۹۰^{c}	۳۸۳۸/۵٦^{d}	۰/۷۱^{ab}	۰/۷۱^{b}
	۲۸	۸/۹۵^{c}	۱/۷۲^{a}	۱/۰۵^{c}	۱۷٤۹/۹۲^{e}	۰/٦۲^{a}	۰/۹۰^{c}

(در هر ستون میانگین‌های دارای حرف مشترک اختلاف معنی‌داری با هم ندارند ($P\leq0.05$)

مالون‌دی‌آلدئید: داده‌های مربوط به مالون‌دی‌آلدئید گیاه خرفه در نشان داد که گیاه خرفه ظرفیت بالایی برای تجمع مالون‌دی‌آلدئید را در سطوح مختلف کروم و شوری دارد و با افزایش سطوح کروم و شوری مقادیر فاکتور مالون‌دی‌آلدئید افزایش معنی‌داری ($P\leq۰/۰۵$) یافت (جدول ۲)، بطوریکه کمترین مقدار مالون‌دی‌آلدئید متعلق به گیاهان سطوح کروم ۰ میلی‌گرم بر کیلوگرم و شوری ٤ دسی‌زیمنیس بر متر به مقدار (۰/۱۲ میکروگرم در هر گرم وزن تر) و بیشترین مقدار آن متعلق به گیاهان خرفه در سطوح کروم ۲۸ میلی‌گرم بر کیلوگرم و کلریدسدیم ۱۲ دسی‌زیمنس‌برمتر حدود سه برابر گیاهان شاهد و به

مقدار (۱/۱۷ میکرومول در هر گرم وزن تر) بود. محتوای مالون‌دی‌آلدئید گیاهان سطوح کروم صفر میلی‌گرم بر کیلوگرم و شوری ٤ دسی‌زیمنیس بر متر با سطوح کروم ۲۱ و شوری ٤ دسی‌زیمنس بر متر و سطوح کروم ۲۸ میلی‌گرم بر کیلوگرم و شوری ٤ دسی‌زیمنس بر متر اختلاف معنی‌داری داشت. افزایش سطوح شوری در تیمارهای مختلف کروم بر محتوای مالون‌دی‌آلدئید اختلاف معنی‌داری نشان نداد (جدول۳).

پراکسید هیدروژن: نتایج حاصل از تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد که محتوای پراکسید هیدروژن تحت تاثیر سطوح مختلف شوری و کروم قرار گرفتند. اثر سطوح مختلف شوری و کروم بر مقادیر فاکتور پراکسید هیدروژن افزایشی معنی‌دار (P≤۰/۰۵) بوده است (جدول ۲). کمترین مقدار آن متعلق به گیاهان شاهد به مقدار (۲/۹۵ میکرومول برگرم وزن تر) و بیشترین مقدار آن در گیاهان خرفه تحت تیمار کروم ۲۸ میلی‌گرم بر کیلوگرم و شوری ۱۲ دسی‌زیمنس‌برمتر حدود ۳/۵ برابر گیاهان شاهد و به مقدار (۱۰/۲۰ میکرومول برگرم وزن تر) بود. در گیاهان متعلق به سطوح ۱۲ دسی‌زیمنس بر متر با افزایش تیمار کروم اختلاف معنی‌داری در مقادیر پراکسید هیدروژن مشاهده نگردید (جدول ۳).

پروتئین‌های محلول: مقدار فاکتور پروتئین‌های محلول تغییرات بطور معنی‌داری با افزایش سطوح مختلف کروم و شوری افزایش یافت، اما اثر برهمکنش آنها بر مقدار فاکتور پروتئین‌های محلول معنی‌دار نبود (جدول ۲). بطوریکه کمترین مقدار پروتئین‌های محلول در مقایسه با شاهد ٤۸٪ کاهش داشت و متعلق به گیاهان تحت تیمار کروم ۲۸ میلی‌گرم بر کیلوگرم و کلریدسدیم ۱۲ دسی‌زیمنس‌برمتر به مقدار (۱/۳۹ میلی‌گرم بر گرم وزن تر) بود. بیشترین مقدار پروتئین‌های محلول در گیاهان خرفه در گیاهان شاهد و به مقدار (۲/۹۱ میلی‌گرم بر گرم وزن تر) بود (P≤۰/۰۵). همچنین نتایج نشان داد که اثر سطوح مختلف کروم و شوری بر مقدار فاکتور پروتئین‌های محلول روند افزایشی داشته است، اما در مقادیر پروتئین‌های محلول گیاهان در سطوح شوری ۱۲ دسی‌زیمنس بر متر و کروم سطوح ١٤ میلی‌گرم بر کیلوگرم با گیاهان سطوح شوری ۱۲ دسی‌زیمنس بر متر و کروم ۲۱ میلی‌گرم بر کیلوگرم و همچنین گیاهان سطوح شوری ۱۲ دسی‌زیمنس بر متر و کروم ۲۸ میلی‌گرم بر کیلوگرم اختلاف معنی‌داری مشاهده نگردید (جدول ۳).

در بررسی اثرات شوری و کروم و برهمکنش این دو بر رشد و نمو خرفه، افزایش تیمارهای شوری و کروم با تغییرات شاخص‌های محتوای کربوهیدرات‌های محلول و نامحلول برگی، پرولین، مالون‌دی‌آلدئید، پراکسید هیدروژن، پروتئین‌های محلول گیاه خرفه همراه بود. با افزایش شوری و کروم، محتوای کربوهیدرات‌های نامحلول و پروتئین‌های محلول روند کاهشی داشتند اما سایر شاخص‌ها روند افزایشی نشان دادند.

بحث

نتایج تحقیق حاضر نشان داد کمترین مقدار پروتئین‌های محلول با کاهش ٤۸٪ متعلق به گیاهان تحت تیمار کروم ۲۸ میلی‌گرم بر کیلوگرم و کلریدسدیم ۱۲ دسی‌زیمنس بر متر بمقدار ۱/۳۹ میلی‌گرم بر گرم وزن تر بود. بیشترین مقدار پروتئین‌های محلول در گیاهان خرفه در گیاهان شاهد و بمقدار ۲/۹۱ میلی‌گرم بر گرم وزن تر بود (P≤۰/۰۵). نتایج تحقیق حاضر با نتایج سایر محققین مطابقت داشت (Koksal, 2010) کاهش در غلظت

پروتئین یک نشانه‌ی معمول از تنش اکسیداتیو می‌باشد و اغلب در گیاهان قرارگرفته تحت تنش مشاهده می‌شود.

نتایج Amini و همکاران (2016) نشان داد که با افزایش تنش فلزات سنگین، میزان پروتئین محلول کاهش معنی‌داری داشت، مقایسه میانگین ترکیبات مختلف بستر کاشت در هر نوع از فلزات سنگین برای پروتئین محلول برگ نشان داد که در سطح شاهد (بدون تنش فلزات سنگین) بیشترین میزان پروتئین محلول برگ مربوط به کاربرد تنش فلزات سنگین با تولید رادیکال‌های آزاد اکسیژن سبب تخریب ساختار پروتئین‌ها و اسید آمینه‌ها می‌شوند، همچنین رادیکال‌های آزاد اکسیژن میل ترکیبی بالایی با پروتئین داشته و سبب اکسید شدن آن‌ها می‌شوند (Khudsar, 2001). همچنین کاهش میزان پروتئین می‌تواند بدلیل افزایش فعالیت پروتئازها باشد که تحت شرایط تنش مقدارشان افزایش می‌یابد و یا ممکن است که عناصر سنگین، القاکننده پراکسیداسیون لیپیدها و تکه تکه شدن پروتئین‌ها باشند که از اثرات سمی نمونه‌هایی از گونه‌های فعال اکسیژن نتیجه شده باشد (John, 2009). همچنین نتایج یافته‌های Koksal (2010) نشان داد که با افزایش شدت تنش شوری مقدار پروتئین محلول کل کاهش یافت. تحت شرایط تنش کمترین مقدار پروتئین محلول مشاهده شد.

مطالعات Lakhdar و همکاران (2008) نشان داد مولکول‌های پروتئین به فلز متصل شده و تولید کمپلکس‌های پروتئین-فلز به نام متالوتیونین‌ها را می‌کنند که اثرات سمی ناشی از فلز را خنثی می‌نمایند، همچنین تولید دسته‌ی دیگری از مولکول‌های پروتئینی بنام فیتوکلاتین‌ها تحت اثر غلظت‌های بالای فلزات سنگین افزایش پیدا می‌کند. این پروتئین‌ها بدلیل داشتن گروه‌های سولفیدریل موجود در ساختمان سیستئین خود قادر هستند کاتیون‌ها را به دام انداخته و در نتیجه سبب کاهش خسارت ناشی از آن باشند (Cobbett, 2000).

نتایج تحقیق حاضر نشان داد با افزایش مقدار شوری و کروم محتوای کربوهیدرات‌های محلول افزایش یافت اما محتوای کربوهیدرات‌های نامحلول برگی کاهش داشت. بطوریکه بیشترین مقدار کربوهیدرات‌های محلول در تیمار ۱۲ دسی‌زیمنس بر متر و کروم ۲۸ میلی‌گرم در کیلوگرم حدود ۵ برابر و بمقدار ۱/۱ میلی‌گرم بر گرم وزن تر و کمترین مقدار کربوهیدرات‌های نامحلول برگی در تیمار۱۲ دسی‌زیمنس بر متر و کروم ۲۸ میلی‌گرم در کیلوگرم ۰/۳۹ میلی‌گرم بر گرم وزن تر بود. نتایج بررسی Ghorbani (2016) نشان داد، برهمکنش شوری و عناصر سنگین با افزایش میزان کربوهیدرات محلول برگ همراه می‌باشد، این ترکیبات در فرایندهای شیمیایی آنها دخالت نمی‌کنند. از ترکیبات سازگار کننده می‌توان به انواعی از کربوهیدرات‌های محلول و ترکیبات اسید آمینه، پرولین و گلیسین‌بتائین اشاره کرد. ترکیبات سازگار کننده نقش مهمی در بهبود تنظیم اسمزی در گیاهان تحت تنش دارند و منجربه ادامه جذب آب در شرایط شور می‌شوند (Good, 1994). نتایج تحقیق Du و Chen (2009) نشان داد تیمار عنصر سنگین و اثر متقابل شوری و عنصر سنگین نیز اثر افزایشی معنی‌دار بر مقدار کربوهیدرات محلول برگ اسفناج دارد. مشاهده شد که شوری سبب افزایش میزان کربوهیدرات محلول در برگ‌های اسفناج شد. با ازدیاد سطح شوری از شاهد به ۸ دسی زیمنس بر متر، مقدار کربوهیدرات محلول افزایش یافت. در این راستا، حضور عناصر سنگین نیز بر مقدار کربوهیدرات محلول در برگ افزودند. در تمامی سطوح شوری، تیمار سرب و تیمار کادمیوم+سرب بیشترین تأثیر را بر تجمع کربوهیدرات

در برگ‌ها داشتند. در بالاترین سطح شوری (۸ دسی‌زیمنس برمتر) بیشترین میزان کربوهیدرات نیز از تیمار ترکیبی کادمیوم+سرب حاصل شد. افزایش قندهای محلول در شرایط تنش ناشی از شوری، خشکی، سرما و فلزات سنگین گزارش شده است (Du & Chen, 2009). بسیاری از فلزات سنگین با تغییر در فعالیت پروتئین‌های کانالی انتقال آب و با بستن روزنه‌های برگ، جریان آب در گیاه را متوقف می‌سازند. به دنبال تجمع فلز سنگین در سلول‌ها، با کاهش انتقال آب به برگ، میزان قندهای محلول در گیاه افزایش می‌یابد. تغییرات کربوهیدرات‌ها به دلیل ارتباط مستقیم‌شان با فرایندهای فیزیولوژیکی نظیر فتوسنتز، انتقال و تنفس اهمیت خاصی دارند. در میان کربوهیدرات‌های محلول، ساکارز و فروکتوز در سازگاری با تنش، نقش مهمی ایفا می‌کنند پژوهش‌ها نشان می‌دهد که این ویژگی یک روش سازگاری گیاه برای حفظ شرایط اسمزی است. علاوه بر این، افزایش قندهای محلول در الکل به گیاه کمک می‌کند تا بتواند ذخیره کربوهیدراتی خود را برای حفظ متابولیسم پایه در شرایط تنش در حد مطلوب نگه دارد (Verma, 2001). آنزیم‌های ساکارز فسفات سنتاز و ساکارز سنتاز همچنین می‌توانند توسط CDPK فسفریله شوند (Amari et al., 2017). تنش فلز سنگین باعث افزایش میزان قندها در گیاهان تیمار یافته شد که ممکن است کاهش تنفس و افزایش فعالیت آنزیم‌های تجزیه کننده قندهای غیرمحلول، نظیر انورتاز و سوکروز سنتتاز که منجر به کاهش مصرف قندها از یک طرف و افزایش تولید آنها از طرف دیگر شده است دلیل این امر باشد. گیاهان با افزایش قندهای محلول در شرایط تنش علاوه بر حفظ پتانسیل اسمزی، قادر خواهند بود تا ذخیره کربوهیدراتی خود را برای متابولیسم پایه سلولی در حد مطلوب نگهدارند (Foyer, 1998). همچنین انباشتگی قندهای محلول در سلول می‌تواند به‌علت تجزیه نشاسته به واحدهای کوچکتر و در نتیجه کاهش نشاسته در سلول باشد (Ghasemi, 2010).

کربوهیدرات‌ها گروهی از ترکیبات آلی هستند که افزایش آن به عنوان یک پیام متابولیکی عمل می‌کند و موجب افزایش بیان ژن‌های مربوط به دفاع و کاهش فتوسنتز می‌شود (Kocal et al., 2008). گیاه با افزایش ذخیره‌سازی کربوهیدرات‌ها، پرولین و پروتئین‌سازی می‌تواند در برابر تنش ایجاد شده مقاومت کند (Hong et al., 2000). عمل اصلی این ترکیبات حفاظت اسمزی، تنظیم اسمزی، ذخیره کربن و حذف رادیکال‌هاست. قندها سبب تنظیم اسمزی همچنین سبب پایداری غشاها و پروتئین‌های موجود در سلول می‌شوند (Tavakoli et al., 2014). این عمل می‌تواند از طریق تشکیل پیوندهای هیدروژنی بین گروه‌های کربوکسیل قندها و زنجیره‌های قطبی پروتئین‌ها و بالاخره پایدارسازی پروتئین‌ها صورت گیرد. برای مثال تجمع ساکارز موجب حفظ فسفولیپدهای غشاء شده و از تغییرات ساختاری در پروتئین‌های محلول در سلول جلوگیری می‌کند (Sharma and Ahmad, 2008).

نتایج تحقیق حاضر نشان داد با افزایش مقدار شوری و کروم محتوای پرولین افزایش یافت. بطوریکه بیشترین مقدار پرولین در تیمار ۱۲ دسی‌زیمنس بر متر و کروم ۲۸ میلی‌گرم در کیلوگرم حدود ٦/٢ برابر و به‌مقدار ٤٦٤٥/٦٩ میکروگرم در هر گرم وزن تر و کمترین مقدار پرولین در گیاهان شاهد ۷۴۹/۹۰ میکروگرم در هر گرم وزن تر بود. جهت ایجاد محافظت در برابر تنش‌های مختلف، تجمع اسمولیت‌های سازگار مانند پرولین در اکثر گیاهان برای ایجاد ثبات غشا و تنظیم اسمزی رخ می‌دهد (Sharma et al., 2019; Kumar al., 2009). محتوای

پرولین می‌تواند در برابر انواع مختلف تنش‌های زنده و غیرزنده مانند شوری، خشکسالی، دما، فلزات سنگین و حمل هپاتوژن افزایش یابد (Hayat et al., 2012). نتایج تحقیقات Yazichi و همکاران نشان داد که گیاهان خرفه با افزایش ظرفیت آنتی‌اکسیداتیو تجمع پرولین به تنش NaCl پاسخ می‌دهند (Kafi & Rahimi, 2011). نتایج یافته‌های رای و همکاران نشان داد محتوای پرولین در *Ocimum tenuiflorum* L. تحت تنش Cr افزایش می‌یابد که با ایجاد محافظت در برابر اثرات خطرناک فلز به‌عنوان یک آنتی‌اکسیدان عمل می‌کند (Rai et al., 2004). گزارش‌ها حاکی از آن است که پرولین تنها اسیدآمینه‌ای است که در برگ‌های گیاهان تحت شرایط تنش تجمع می‌یابد (Ganesh et al., 2009). این تجمع حتی در دوزهای پایین تنش شروع می‌شود و به روشی وابسته به دوز افزایش می‌یابد. از این رو، تجمع پرولین هنگامی که در بافت‌ها جمع می‌شود به تنظیم اسمزی کمک می‌کند و به عنوان یک نشانگر وابسته برای ژنوتیپ‌ها برای تحمل تنش عمل می‌کند (Ganesh et al., 2009). Rohit Kale (2015)، براساس نتایج بدست آمده از بررسی گیاه خرفه نشان داد، *P. Oleracea* تنش کروم با انباشت معنی‌دار پرولین نسبت به تنش کروم مقاومت می‌کند و بر فعالیت آنزیم پراکسیداز در لاشه‌خواری ROS تولید شده اضافی در پتانسیل‌های کمتر با کاهش رشد و انباشت بیوماس اثر می‌گذارد. تجمع زیاد پرولین در سلول‌های تحت تنش، سبب محافظت از سلول در شرایط تنش و همچنین جلوگیری از ایجاد سمیت در سلول می‌شود (Tawfik et al., 2008). پرولین همچنین در حفظ ساختار غشاء، ایجاد سازگاری اسمزی و حفظ ساختار آنزیم‌ها در سلول، ایفای نقش می‌کند (Ashraf & Iram, 2005). پرولین می‌تواند در سیتوپلاسم تجمع یابد و هیچ تأثیر منفی بر فعالیت آنزیم سیتوزولی نداشته باشد (Flowers & Colmer, 2008). همچنین با افزایش غلظت پرولین و K^+ در بافت‌ها، وقتی مقدار آب با افزایش شوری کاهش می‌یابد، تنظیم اسمزی ممکن است حاصل شود. علاوه بر این، نقش اصلی پرولین ممکن است فقط به‌عنوان یک اسمولیت نباشد، اما همچنین به سلول‌ها کمک می‌کند تا بر تنش اکسیداتیو در گیاهان تحت فشار نمک غلبه کنند (Rajendrakumar et al., 1994). افزایش RWC برگ و تجمع یک محافظ اسمزی به عنوان مثال پرولین، در خرفه در معرض شوری ممکن است، یک ویژگی انطباقی برای بهبود موفقیت آن وحفظ تعادل آب در برابر تنش اسمزی ناشی از شوری باشد.

نتایج تحقیق حاضر نشان داد مالون‌دی‌آلدئید با افزایش کروم گیاه افزایش یافت. به‌طوری‌که کمترین مقدار آن متعلق به گیاهان تحت تیمار کروم صفر میلی‌گرم بر کیلوگرم و شوری ٤ دسی‌زیمنی بر متر به‌مقدار ۰/۱۲ میکرومول در هر گرم وزن تر و بیشترین مقدار در گیاهان خرفه تحت تیمار کروم ۲۸ میلی‌گرم بر کیلوگرم و کلریدسدیم ۱۲ دسی‌زیمنس‌برمتر حدود سه برابر گیاهان شاهد و به‌مقدار ۱/۱۷ میکرومول در هر گرم وزن تر بود ($P\leq ۰/۰۵$). نتایج پژوهش Zhou و همکاران (2017) نشان داد میزان پراکسیداسیون لیپید و غلظت مالون‌دی‌آلدئید برگ‌های گیاه *Leymuschinesis* در شرایط تنش شوری روند افزایشی دارد. نتایج یافته‌های علی و همکاران (۲۰۱۱) نشان داد تنش شوری و کروم اثر افزایشی بر میزان مالون‌دی‌آلدئید در بخش‌های هوایی و ریشه گیاه دارد. همچنین نتایج بررسی Ghorbanli و همکاران (2012) نشان داد در گیاه زیره سبز با تنش شوری میزان مالون‌دی‌آلدئید افزایش یافت. مالون‌دی‌آلدئید یک محصول پراکسیداسیون اسیدهای چرب اشباع نشده در

فسفولیپیدها است. از سطح پراکسیداسیون لیپیدها بعنوان یک نشانه رادیکال آزاد مضر برای غشا سلولی تحت شرایط تنش استفاده شده است (Jalal et al., 2007; Katsuhara et al., 2005). البته پراکسیداسیون در کلروپلاست و میتوکندری هم صورت می‌گیرد (Elstner, 1982). نتایج یافته‌های بلادی و همکاران (۱۳۸۹) نشان داد با افزایش سطوح تنش فلزات سنگین میزان مالون‌دی‌آلدئید کاهش یافت. نتایج یافته‌های Zhou و همکاران (2017) و Feghhzadeh و همکاران (2015) نشان داد میزان مالون‌دی‌آلدئید در گیاه با افزایش تیمار شوری و فلز سنگین افزایش یافت. Borgian و همکاران (2018) نشان داد میزان مالون‌دی‌آلدئید با افزایش تیمار فلزات سنگین در دوزهای پایین کاهش معنی‌داری یافت. کاهش مالون‌دی‌آلدئید بیانگر اینست که سیستم آنتی‌اکسیدانی گیاه توانایی از بین بردن رادیکال‌های آزاد را با کمک مالون‌دی‌آلدئید داشته و از خسارت اکسیداتیو به گیاه جلوگیری کند (Mamdouh, 2007). پراکسیداسیون لیپید به دلیل فعالیت لیپوکسیژنازها افزایش می‌یابد، مالون‌دی‌آلدئید (MDA) فراوان‌ترین محصول حاصل از تجزیه لیپید آلدئیدی به شمار می‌آید (Davey et al., 2005).

نتایج تحقیق حاضر نشان داد پراکسید هیدروژن با افزایش کروم گیاه افزایش یافت. به‌طوری‌که کمترین مقدار آن متعلق به گیاهان شاهد بمقدار ۲/۹۵ و بیشترین مقدار در گیاهان خرفه تحت تیمار کروم ۲۸ میلی‌گرم بر کیلوگرم و کلریدسدیم ۱۲ دسی‌زیمنس بر متر حدود ۳/۵ برابر گیاهان شاهد و به‌مقدار ۱۰/۲۰ بود ($P\leq ۰/۰۵$). همچنین نتایج نشان داد که اثر کروم و شوری بر مقدار مالون‌دی‌آلدئید روند افزایشی داشته است. از آن جا که گیاهان موجودات ساکنی هستند و توانایی فرار از شرایط نامساعد محیطی را ندارند، به شبکه سیگنال‌دهی منظم و قوی برای تنظیم فرآیندهای مختلف درطول رشد و نمو و پاسخ به محرک‌های محیطی نیاز دارند (Petrov & Breusegem, 2012). نقش H_2O_2 به علت دارا بودن نیمه عمر طولانی‌تر نسبت به سایر ROSها و تبدیل سایر ROSها به آن، در سیگنال‌دهی بیشتر مورد توجه قرار گرفته است. امروزه مشخص شده که تحت تنش‌های محیطی، از طریق H_2O_2 تنظیم‌کننده فعالیت‌های فیزیولوژیکی می‌باشند (Kahriz et al., 2017). تاثیرتنش شوری در بیان پروتئین‌های مقاومت بسیاری مانند القای پاسخ‌های دفاعی، مقاومت اکتسابی، تقویت دیواره سلولی، پیری، تولید فیتوالکسین، فتوسنتز، باز شدن روزنه و تنظیم چرخه سلولی می‌باشد (Mubarakshina et al., 2010). تولید فعال H_2O_2 به‌طور عمده در فضای آپوپلاستی رخ داده زیرا برای شروع زنجیره اکسیداتیو در پاسخ به تنش، حساسیت به پاتوژن، رشد و نمو طبیعی و مرگ برنامه‌ریزی شده سلولی ضروری است. منبع اصلی تولید H_2O_2 گروهی از اکسیدازهای وابسته به NADPH غشای سلولی مانند هملوگ اکسیداز زنجیره تنفسی هستند که دسته‌ای از پروتئین‌ها (ROPs) آن را تنظیم می‌کنند (Oda et al., 2010). نتایج یافته‌های Porakbar (2015) نشان داد محتوای پراکسید هیدروژن و مالون‌دی‌آلدئید اندام هوایی و ریشه با افزایش مقادیر شوری افزایش یافت و این افزایش بین مقادیر مختلف شوری و شاهد معنی‌دار بود.

نتیجه‌گیری نهایی

بنابر نتایج حاصل ازیافته‌های این پژوهش مشخص گردید که هم راستا با افزایش غلظت‌های کروم و شوری تولید اکسیژن‌های واکنشگر و تنش اکسیداتیو افزایش می‌یابد. گیاه خرفه با فعال نمودن

مکانیسم‌های دفاعی آنتی‌اکسیدانت اثرات تخریبی ناشی از تنش کروم و شوری را کاهش می‌دهد. مکانیزم‌های دفاعی شامل افزایش میزان کربوهیدرات‌های محلول، پرولین و ترکیبات مهار کننده گونه‌های اکسیژن فعال می‌باشد.

Refrences

Amini, F., Baluchi, H., Movahedi Dehnavi, M., and Attarzadeh, M. (2016). The effect of different concentrations of some heavy metals on germination indices and seed vigor of Pseudo beans (*Phaseolus vulgaris* L.). Iranian Seed Science and Research. 3(2): 51-95.

Ahmad, P., and Sharma, S. (2008). Salt stress and phytobiochemical responses of plants .Plant Soil and Environment. 54:89-99.

Amari, T., Ghnaya, T., and Abdelly, C. (2017). Nickel, Cadmium and Lead phytotoxicity and potential of halophytic plants in heavy metal extraction. South African Journal of Botany. 111: 99-110.

Anjum, S.A., Ashraf, U., Khan, I., Tanveer, M., Shahid, M., Shakoor, A., and Wang, L. (2017). Phyto-toxicity of chromium in maize: Oxidative damage, osmolyte accumulation, anti-oxidative defense and chromium uptake. Pedosphere. 27: 262–273.

Anket, S., Dhriti, K., Junfeng, W., Babar, S., Vinod, K., Aditi, S.B., Shivam, J., Bingsong, Z., Huwei, Y., and Daoliang, Y. (2020). Chromium Bioaccumulation and Its Impacts on Plants: An Overview. Planta. 9(1): 1-17.

Ashraf, M. and Foolad, M.R. (2007) Roles of Glycine Betaine and Proline in Improving Plant Abiotic Stress Resistance. Environmental and Experimental Botany. 59: 206-216.

Chen, Z., and Gallie, DR. (2004). The ascorbic acid redox state controls guard cell signaling and stomatal movement. Plant Cell. 16: 1143–1162.

Cobbett, S. (2000). Phytochelatins and Their Roles in Heavy Metal Detoxification. Plant Physiology. 123(3): 825-32.

Colmer, TD., and Flowers, TJ. (2008). Flooding tolerance in halophytes. New Phytologist. 179: 964–974.

Ghorbani, H. (2016). Effect of different salinity levels and heavy elements of lead and cadmium on growth, photosynthetic pigments and sodium and potassium levels in spinach. Science and Technology of Greenhouse Cultures in the Seventh Year. 25: 15-24.

Godehkahriz, J., Khadem Sedighi, S., Ebadi, A., Tavakoli, N., and Davari, M. (2017). Effect of calcium on salt tolerance protein expression and activity of antioxidants in borage undersalinity conditionSodabeh. Genetic Engineering and Biosafety. 6(1): 117-129.

Hong, Z., Lakkineni, K., Zhang, Z., and Verma, D.S. (2000). Removal of feedback inhibitionof1-pyrrolin-5-carboxylate synthetas resalts in increased prolinaccumulation and prodaction of plant from osmoticstress. Plant Physiology. 122: 1129-1136.

Kafi, M., and Rahimi, Z. (2011). Effect of salinity and silicon on root characteristics, growth, water status, proline content and ion accumulation of purslane (*Portulaca oleracea* L.). Soil Science and Plant Nutrition. 57(2): 341-347.

Kamran, M., Eqani, S., Katsoyiannis, A., Xu, R., Bibi, S., Benizri, E., and Chaudhary, H. (2017). Phytoextraction of chromium (Cr) and influence of Pseudomonas putidaon Eruca sativa growth. Geochem Explor. 182: 269–274.

Keramat, B., Daryaee, F., and Arvin, M.J. (2014). Effect of selenium and cadmium interaction on aldehydes and hydrogen peroxide content and catalase activity in wheat seedling (Kavir cv). Plant Research. 27(3): 490-500.

Kocal, N., Sonnewald, U., and Sonnewald, S. (2008) Cell wall-bound invertaselimits sucrose export and is involved insymptom development andinhibition of photosynthesis during compatible interaction between tomato and Xanthomonas campestris pv. Vesicatoria. Plant Physiol. 148: 1523-1536.

Koksal, D,. Ozge, S., Kadioglu, Y.K., and Aydin, G. (2010). Essential and non-essential element composition of tomato plants fertilized with poultry manure. Scientia Horticulturae. 127: 16-22.

Montazerinejad, S., Selouki, M., and Fakheri, B. (2013). Ascorbate peroxidase (Cm APX) activity and expression of the gene encoding it under salinity stress in melon (*Cucumis melo* L.) cultivars native to Sistan. Genetic Engineering and Biosafety. 2(2): pp. 145-154.

Mubarakshina, M.M., Ivanov, B.N., and Naydov, I.A. (2010) Productionand diffusion of chloroplastic H_2O_2 and itsimplicationto signalling. Exp Botany. 61(13): 3577-87.

Nasibi, F., and YaghoobiandKh Kalantari, M. (2011). Effect of exogenous arginine on alleviation of oxidative damage in tomato plant under water stress. Journal of Plant Interaction. 6: 291-296.

Oda, Y., Iida Y., Kondo, Y., and Fukuda, H. (2010) Wood cell-wall structure requires local 2D-microtubule disassembly by a novel plasma membrane-anchored protein. Curr. Biology. 20 (13): 1197–1202.

Olutoyosi, A., Patrick, N., Reinette, S., and James, O. (2012). Assessment of Metal Concentrations, Chlorophyll Content and Photosynthesis in Phragmites australis along the Lower Diep River, Cape Town, South Africa Energy and Environment Research. 2(1): 128-139.

Panda, S.K. (2007). Chromium mediated oxidative stress and ultrastructural changes in root cells of developing rice seedlings. Plant Physiology. 164: 1419-142.

Pandey, V., Dixit, V., and Shyam, R. (2005). Antioxidative responses in relation to growth of mustard (Brassica juncea cv. Pusa Jaikisan). Plants exposed to hexavalent chromium. Chemosphere. 61: 4-40.

Ponnusami, B., and Karuppan, M. (2011). Degradation of Phenol in Aqueous Solution by Fenton, Sono-Fenton and Sono-Photo-Fenton Methods. Clean-Soil Air Water. 39(2): 142 – 147.

Purakber, S., and Maqsumi, S. (2015). Effect of salinity on antioxidant enzymes in roots and shoots of maize (*Zea mays* L.) Journal of Applied Biology. 28(1): 10-21.

Reale, L., Ferranti, F., Mantilacci, S., Corboli, M., Aversa, S., Landucci, F., Baldisserotto, C., Ferroni, L., Pancaldi, S., and Venanzoni, R. (2016). Cyto-histological and morpho-physiological responses of common duckweed (*Lemna minor* L.) to Chromium. Chemosphere. 145: 98–105.

Renault, S. (2005). Response of red osier dogwood (*Cornus stolonifera*) seedlings to sodium sulphate salinity: effects of supplemental calcium. Physiological Plantarum. 123: 75–81.

Rohit Kale, A., Vinayak, H., and Lokhande Avinash, B. (2015). Phytoremediation of chromium contaminated soil Sorghum plant, international J. of Environmental sciences. 2(2): 429-440.

Shanker, A.K., Cervantes, C., Loza-Tavera, H., and Avudainayagam, S. (2009). Chromium toxicity in plants. Environment International. 31: 739-753.

Shanker, A.K.; Djanaguiraman, M.; Venkateswarlu, B. (2009). Chromium interactions in plants: Current status and future strategies. Metallomics. 1: 375–383.

Sharma, A., Kapoor, D., Wang, J., Shahzad, B., Kumar, V., Shreeya Bali, A., Jasrotia, S., Zheng, B., Yuan, H., and Yan, D. (2019). Chromium Bioaccumulation and Its Impacts on Plants: An Overview. Plants. Plant respons and toleranceto metal/metalloid toxicity. 9(1): 318-335.

Sharma, A., Kapoor, D., Wang, J., Shahzad, B., Kumar, V., Shreeya Bali, A., Jasrotia, S., Zheng, B., Yuan, H., and Yan, D. (2020). Arsenic Uptake, Toxicity, Detoxification, and speciation in Plants: Physiological, Biochemical and Molecular Aspects. International Journal of Environmental Research and public Heakth. Int J. Environ. Res. Public Health. 15(1): 59-74.

Solgi, E., Esmaili-Sari, A., Riyahi-Bakhtiari, A., and Hadipour, M. (2012). Soil contamination of metals in the three industrial estates, Arak, Iran. Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology. 88(4): 634-638.

Sultana, A., and Rahman, K. (2013). *Portulaca oleracea* L: A Global panacea with ethnomedicinal and pharmacological potential. International Journal pharmacy and pharmaceutical Science. 5(2): 9-33.

Uddin, I., Bano, A., and Masood, S. (2015). Chromium toxicity tolerance of *Solanum nigrum* L. And *Parthenium hysterophorus* L. plants with reference to ion pattern, antioxidation activity and root exudation Ecotoxicology and Environmental Safety. 113: 271–278.

Uddin, M.K., Juraimi, A.S., Anwar, F., Hossain, M.A. and Alam M.A. (2015). Effect of salinity on proximate mineral composition of purslane (*Portulca oleracea* L.). australian journal of crop science. 6: 1732-1736.

Verma, S., and Dubey, R.S. (2001). Effect of Cadmium on Soluble Sugars and Enzymes of their Metabolism in Rice. Biologia Plantarum. 44(1): 117-123.

Wei, B., and Yang, L. (2010). A review of heavy metal contaminations in urban soils, urban road dusts and agricultural soils from China. Microchem journal. 94(2): 99-107.

Zarei, A., Changizi Ashtiyani, S., and Taheri, S. (2014). The effectsof hydroalcoholic extract of *Portulaca Oleracea* on the concentration of Hepatic enzymes on Rats. Iran South Med journal. 17(5):889-899.

Zhao, Q., Wang, Y., Cao, Y., Chen, A., Ren, M., and Ge, Y. (2014). Potential health risks of heavy metals in cultivated topsoil and grain, including correlations with human primary liver, lung and gastric cancer, in Anhui province, Eastern China. Science of the Total Environment. 470: 340-347.