بررسی اثر تنش شوری بر برخی پاسخ‌های مورفولوژیکی، بیوشمیایی و آنتی‌اکسیدانی گیاه دارویی *Securigera securidaca* L.

فاطمه میروکیلی[۱]، اصغر مصلح[۲]، محمدرضا سرافراز اردکانی[۳*]، حمید سودائی‌زاده[۴]

[۱]دانشجوی گروه محیط‌زیست، دانشکده منابع طبیعی و کویرشناسی، دانشگاه یزد، یزد، ایران.

[۲]دانشیار گروه محیط‌زیست، دانشکده منابع طبیعی و کویرشناسی، دانشگاه یزد، یزد، ایران.

[۳]استادیار گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه یزد، یزد، ایران.

[۴]دانشیار گروه مدیریت مناطق خشک و بیابانی، دانشکده منابع طبیعی و کویرشناسی، دانشگاه یزد، یزد، ایران.

تاریخ دریافت: ۱۳۹۶/۲/۱۳ ؛ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۶/۱۰/۲۳

چکیده

در این تحقیق به منظور بررسی اثر تنش‌های مختلف شوری بر برخی شاخص‌های مورفولوژیکی، بیوشیمیایی و آنتی‌اکسیدانی گیاه دارویی عدس‌الملک (*Securigera securidaca* L.) در قالب طرح کاملاً تصادفی، بذرهای گیاه در مهرماه سال ۱۳۹۴ از موسسه پاکان بذر اصفهان تهیه و مراحل کاشت و رشد گیاه در اتاق رشد در دانشگاه یزد انجام گردید. ارزیابی و مقایسه تغییرات شاخص‌های مورفولوژیکی، بیوشیمیایی و عملکرد آنتی‌اکسیدانی به روش اسپکتروفتومتری اندازه‌گیری گردید. نتایج نشان داد که با افزایش غلظت شوری برخی شاخص‌های مورفولوژیکی به‌صورت معنی‌داری کاهش یافتند. مقدار رنگیزه‌ها در تیمارهای مختلف شوری نسبت به تیمار کنترل تغییر معنی‌داری نشان نداد. مقدار پرولین، قندهای محلول کل، فلاونوئیدها و آنتوسیانین در بالاترین سطح شوری (۱۲ دسی‌زیمنس بر متر) نسبت به تیمار کنترل و سایر تیمارهای شوری به‌صورت معنی‌داری افزایش قابل توجهی یافتند. مقدار مالون‌دی‌آلدهید در شوری ۱۲ دسی‌زیمنس بر متر افزایش معنی‌داری نشان داد در حالی که بیشترین مقدار فعالیت جاروب رادیکالدی‌فنیل‌پیکریل‌هیدرازیل (DPPH) و فعالیت آنزیم‌های سوپراکسید دیسموتاز، پراکسیداز و کاتالاز در شوری ۸ دسی‌ریمنس بر متر مشاهده شد. یافته‌های فوق نشان داد که با توجه به عدم تغییرات معنی‌دار شاخص‌های موفولوژیکی، بیوشیمیایی و آنتی‌اکسیدانی بویژه در شوری‌های پایین (۴ دسی‌زیمنس بر متر)، احتمالاً بتوان رقم عدس‌الملک مورد مطالعه را به‌عنوان یک گونه نیمه‌حساس (با تحمل متوسط) به شوری پیشنهاد کرد.

واژه‌های کلیدی: آنتوسیانین، آنتی‌اکسیدان‌های آنزیمی، تنش شوری، شاخص فعالیت جاروب رادیکال DPPH، عدس‌الملک، فلاونوئید

*نویسنده مسئول: sarafraz.ardakani@yazd.ac.ir

مقدمه

عدس‌الملک (*Securigra securidaca* L.) گیاهی علفی و یک‌ساله متعلق به خانواده بقولات (Fabaceae) و زیرتیره Faboideae می‌باشد که در زبان فارسی به نام تخم شیرازی، عدس تلخ و گنده‌تلخ شناخته می‌شود (Garjania et al., 2009). از این جنس یک گونه به نام سکوردیکارا (*securidaca*) در تهران و حوالی آن می‌روید و زمان گل دادن آن اردیبهشت‌ماه است (Garajania et al., 2009). در بررسی‌های مختلف حضور متابولیت‌های ثانویه: تری‌ترپنوئیدها، ساپونین، کاردنولید، فلاونوئید، کومارین و البته ترکیبات آنتی‌اکسیدانی به‌ویژه در عصاره بذر آن با استفاده از مطالعات شیمی گیاهی به اثبات رسیده است (Pouramir et al., 2011). برخی موارد استفاده این گیاه در طب سنتی شامل کاهش فشار خون، چربی خون، قند خون و درمان دیابت نوع یک بوده است (Amin, 2005). در جدیدترین پژوهش‌های انجام گرفته در طب سنتی امروز تاثیرات مفید عصاره دانه عدس‌الملک بربهبود عملکرد وابسته به اندوتلیوم عروق و ضربان منظم قلب، اثرات ضدصرعی، اثرات محافظتی و ضد ترشحی مخاط معده به اثبات رسیده است (Fathi Azad et al., 2010). همچنین مشاهدات اخیر حاکی از تاثیر مفید عصاره آبی و هیدروالکلی دانه این گیاه بر کاهش پراکسیداسیون لیپید (Mard et al., 2010; Fathi Azad et al., 2010)، افزایش تجزیه چربی‌ها (لیپولیز) و کاهش تجمع چربی در سلول‌ها (Ghorbani et al., 2014) و تسکین دردهای حاد، مزمن و احشایی (Sameni et al., 2016) بوده است. بررسی‌های مختلف نشان داده است که تولید متابولیت‌های ثانویه به دوعامل ژنوتیپ و زیستگاه گیاه (آب و هوا و خاک) بستگی دارد (Filippo et al., 2002). شوری به عنوان یک تنش غیرزیستی مهم در زیستگاه گیاهان از طریق ایجاد سمیت در خاک و بر هم زدن تعادل مواد غذایی محلول در خاک، رشد و نمو بسیاری از گیاهان مهم برای بشر اعم از زراعی و دارویی را تحت تاثیر قرار داده است (Wang et al., 2007). پاسخ‌های رشد گیاهان به تنش شوری به دو مرحله پاسخ سریع- مرحله تنش اسمزی- که باعث توقف رشد برگ‌های جوان می‌شود و مرحله پاسخ کند- مرحله تنش یونی- که مربوط به تسریع پیری برگ‌های بالغ می‌باشد، تقسیم می‌شود. آسیب‌های اکسیداتیو ناشی از سمیت یون‌ها باعث تخریب رنگیزه‌ها و پروتئین‌های تیلاکوئیدی و کاهش فتوسنتز می‌شود. سنتز و تجمع حفاظت‌کننده‌های اسمزی مانند قندها، آمینواسیدهایی مانند پرولین و گلیسین بتائین، یون‌های غیرآلی، اسیدهای آلی، قند-الکل‌هایی نظیر مانیتول و نیز افزایش متابولیت‌های ثانویه نظیر آنتوسیانین‌ها و فلاونوئیدها و ترکیبات نیتروژن‌دار از مکانیسم‌های تحمل گیاهان در برابر تنش‌های محیطی نظیر شوری می‌باشد (Wakeela et al., 2010; Munns and Testers, 2008). همچنین جاروب سریع رادیکال‌های سوپراکسید و پراکسید هیدروژن بوسیله تعامل سیستم‌های آنتی‌اکسیدانی آنزیمی و غیرآنزیمی در قالب چرخه سوپراکسیددیسموتاز- آسکوربات- گلوتاتیون انجام می‌گیرد در کده‌های مختلف سلول (Wang et al., 2007). از آنجا که عدس‌الملک یک گیاه دارویی و با ارزش‌های دارویی در حال شناسایی است و مزایای زیادی برای انسان دارد ونظر به وسعت اراضی شور و اینکه سابقه اندکی از بررسی این نوع تنش بر این گیاه به چشم می‌آید، هدف ازاجرای این آزمایش بررسی واکنش گونه عدس الملک نسبت به سطوح شوری و ارزیابی برخی ازویژگی‌های رویشی و فیزیولوژیکی این گیاه تحت شرایط تنش شوری و در نهایت تعیین درجه تحمل این گیاه به این تنش می‌باشد.

مواد و روش‌ها

این پژوهش در تابستان ۱۳۹۴ در یک آزمایش به صورت یک طرح کاملاً تصادفی با ۳ تکرار در دانشکده منابع طبیعی دانشگاه یزد به اجرا در آمد. در این آزمایش ابتدا بذرهای عدس‌الملک ازموسسه تحقیقات گیاهی پاکان بذر اصفهان تهیه گردید و پس از ضدعفونی با هیپوکلریت سدیم یک درصد به مدت سه دقیقه و شستشو با آب مقطر در گلدان‌هایی با قطر دهانه ۱۳ سانتی‌متر و ارتفاع ۱۹ سانتی‌متر که محتوی کوکوپیت بود، کاشته شد. مراحل رشد در اتاق رشد واقع در دانشکده منابع طبیعی (دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد و ۱۶ ساعت روشنایی و ۱۶ درجه سانتی‌گراد در ۸ ساعت تاریکی) انجام شد. تیمارهای شوری شامل سطوح نمک (NaCl) صفر (شاهد)، ۴، ۸ و ۱۲ دسی‌زیمنس بر متر (ds/m) بود که به صورت دو روز در میان محلول دهی (هر دفعه به مقدار ۱۰۰ میلی لیتر) انجام شد. محلول‌دهی تیمار شاهد با آب مقطر انجام شد. اعمال تیمارها ۲ ماه به طول انجامید. سپس گونه‌های مورد نظر جهت انجام آنالیزهای مورد نظر به آزمایشگاه منتقل شدند.

برای اندازه‌گیری برخی خصوصیات مورفولوژیک، پس از برداشت گیاه از سطح گلدان و به منظور تعیین تعداد برگ در هر تیمار، تعداد برگ در هر نمونه با سه تکرار شمارش شد. طول بخش هوایی (طول ساقه) و ریشه به‌وسیله خط‌کش اندازه‌گیری شد و نسبت طول ساقه به ریشه نیز محاسبه گردید. به منظور تعیین وزن تر اندام‌ها، وزن ساقه، برگ و ریشه با ترازویی با دقت ۰/۰۰۱ گرم اندازه‌گیری شد. برای تعیین وزن خشک، نمونه‌ها در آون (دمای ۷۰ درجه سانتی‌گراد) به مدت ۴۸ ساعت خشک شدند و وزن خشک آن‌ها با ترازویی با دقت ۰/۰۰۱ گرم اندازه‌گیری شدند. قطر ساقه نیز با استفاده از کولیس اندازه گرفته شد (Moslehi et al., 2011).

برای تعیین مقدار رنگیزه‌ها، استخراج با استون ۸۰ درصد و سانتریفوژ نمونه‌ها در g ×۳۰۰۰ انجام شد. مقدار جذب روشناورها برای کلروفیل‌های a و b در طول موج‌های ۶۶۳ و ۶۴۵ نانومتر و کاروتنوئید در طول موج‌های ۴۸۰ و ۵۱۰ نانومتر برای تعیین مقدار رنگیزه‌های فوق با استفاده از روابط ذیل انجام گرفت و بر حسب میلی‌گرم بر گرم وزن تر ($mg.g^{-1}$ FW) بیان گردیدند (Lichtenthaler and Wellburn, 1983).

$$\text{Chlorophyll } a = \frac{[12.7(A663)+2.63(A645)]\times V}{1000\times W}$$

$$\text{Chlorophyll } b = \frac{[22.9(A645)-4.68(A663)]\times V}{1000\times W}$$

$$\text{Total chlorophyll} = \frac{[20.2(A645)+8.02(A663)]\times V}{1000\times W}$$

$$\text{Carotenoid} = \frac{[7.6(A480)-2.63(A510)]\times V}{1000\times W}$$

مقدار قندهای محلول کل بخش هوایی پس از استخراج با اتانول و سنجش بوسیله روش فنل–اسید سولفوریک در طول موج ۴۸۵ نانومتر با استفاده از منحنی استاندارد بر اساس میلی‌گرم برگرم وزن خشک ($mg.g^{-1}$ DW) اندازه‌گیری شد (Dubios et al., 1956).

میزان پرولین بخش هوایی با استفاده از استخراج به وسیله سولفوسالسیلیک اسید و تعیین مقدار جذب با کمک معرف نین هیدرین تعیین شد در طول موج ۵۲۰ نانومتر با استفاده از منحنی استاندارد بر اساس میلی‌گرم بر گرم وزن خشک ($mg.g^{-1}$ DW) اندازه‌گیری شد (Bates et al., 1973).

به منظور سنجش مقدار فلاونوئید و آنتوسیانین کل، مقدار ۰/۱ گرم از بافت هوایی (برگ و ساقه) در سه میلی‌لیتر محلول اتانول اسیدی (۹۹ حجم اتانول + ۱ حجم اسید کلریدریک) سائیده شد و به تیوب‌های ۳ میلی‌لیتری منتقل گردید. سپس نمونه‌ها در g × ۱۰۰۰۰ سانتریفوژ شدند. حجم رویی نمونه‌ها به تیوب‌های جدید منتقل گردیدند و با محلول متانول اسیدی به حجم ۲ میلی‌لیتر رسانده شدند. مقدار

جذب نمونه‌ها در طول موج‌های ۳۰۰ نانومتر برای فلاونوئید و ۵۳۰ نانومتر برای آنتوسیانین قرائت شدند. سپس نتایج به صورت جذب در گرم وزن تر ($OD.g^{-1}.FW$) بیان گردیدند (Nogues and Baker, 2000).

برای تعیین مقدار مالون‌دی‌آلدئید بخش هوایی، استخراج با بافر فسفات و سانتریفوژ نمونه‌ها در ۱۴۰۰۰×g به‌مدت ۳۰ دقیقه و سپس اضافه کردن محلول ۰/۵ درصد وزنی به حجمی اسیدتیوباربیتوریک حاوی اسیدتری‌کلرواستیک ۲۰ درصد وزنی به حجمی به روشناورها انجام گرفت. نمونه‌ها به‌مدت ۳۰ دقیقه در حمام آب داغ و سپس سریعا به‌مدت ۱۰ دقیقه در یخ قرار داده شد و به مدت ۱۰ دقیقه در ۱۰۰۰۰×g سانتریفوژ شدند. قرائت نمونه‌ها در طول موج‌های ۵۳۲ و ۶۰۰ نانومتر و مقدار نمونه به‌وسیله رابطه زیر تعیین شد. مقدار MDA بر حسب نانومول بر گرم وزن تر ($nmol.\ g^{-1}DW$) گزارش شد (Heath and Packer, 1969). در این آزمایش، ضریب خاموشی (quenching factor)، ۱۵۵ میلی‌مول بر سانتی‌متر است.

$$MDA = \frac{(532\text{nm} - 600\text{nm})}{(\text{quvete diameter} \times \text{quenching factor})} \times \text{d}ilution\ factor$$

برای بررسی اثر آنتی‌اکسیدانی از روش استاندارد DPPH رادیکال استفاده شد. اساس این روش به دام اندازی رادیکال‌های دی فنیل پیکریل هیدرازیل بر مبنای توان هیدروژن‌دهی می‌باشد.در این روش فعالیت رادیکال‌های آزاد ارزیابی می‌شود. بدین‌منظور یک گرم بافت ساقه و برگ خشک شده نمونه های تیمارهای مختلف با ۲۰ میلی‌لیتر متانول ۸۰ درصد به‌مدت ۲۴ ساعت بر روی شیکر قرار داده شد و مخلوط حاصل سه مرتبه توسط کاغذ واتمن صاف شد. مقدار ۰/۱ میلی‌لیتر محلول به دست آمده از هر نمونه به ۵ میلی‌لیتر. محلول ۰/۱ میلی‌مولار رادیکال DPPH در متانول ۸۰ درصد افزوده شد و به‌مدت ۱۵ دقیق در اتاق تاریک قرار داده شد. از نمونه حاوی ۰/۱ میلی لیتر متانول ۸۰ درصد و ۵ میلی‌لیتر.محلول ۰/۱ میلی‌مولار رادیکال DPPH به عنوان شاهد (کنترل) استفاده شد. میزان جذب نمونه‌ها در ۵۱۷ نانومتر قرائت گردید. درصد توان جاروب رادیکال DPPH با استفاده از مقایسه نمونه با تیمار شاهد محاسبه شد. (Abe et al., 1998).

$$\%RSA = \frac{\text{OD contorol} - \text{OD sample}}{\text{OD contorol}} \times 100$$

استخراج عصاره آنزیمی بوسیله خرد کردن بخش هوایی در نیتروژن مایع و سائیدن نمونه‌ها در پلی‌وینیل پیرولیدون (PVP) شروع شد. سپس ۳ میلی‌لیتر بافر استخراج (فسفات پتاسیم ۵۰ میلی مولار با pH ۷ و سدیم متابای سولفیت ۱ میلی مولار) به نمونه‌های سائیده شده اضافه گردید. نمونه‌ها سانتریفوژ گردیدند و فاز بالایی جدا شد. به منظور نگهداری عصاره در دمای ۸۰- درجه سانتی‌گراد، ۳ حجم نمونه با ۱ حجم گلیسرول مخلوط گردید (Rao et al., 1996). فعالیت آنزیم سوپراکسیددیسموتاز (SOD) با استفاده از ممانعت فتوشیمیایی احیای نیتروبلوتترازولیوم (NBT) توسط عصاره اندازه گیری شد (Giannopolitis and Ries, 1977). فعالیت آنزیم کاتالاز (CAT) بر اساس میزان تجزیه شدن H_2O_2 در طول موج ۲۴۰ نانومتر اندازه گیری شد (Aebi, 1984). مقدار فعالیت آنزیم گایاکول پراکسیداز (POX)، با استفاده از کاتالیز بین پراکسید هیدروژن و گایاکول و افزایش میزان جذب در طول موج ۴۷۰ نانومتر و تغییر ضریب خاموشی H_2O_2 به ضریب خاموشی تتراگوئیکول ($۲۶/۶mM^{-1}cm^{-1}$)، تبدیل ΔA_{240}به ΔA_{470} و ضریب ۲ به ۴ انجام گرفت (Chance and Maehly, 1955) در نهایت مقدار فعالیت آنزیمی بر حسب تغییرات جذب به ازای

میلی‌گرم پروتئین (mg^{-1} min^{-1} protein unit) محاسبه گردید.

نرمال بودن و همگن بودن داده‌ها، به ترتیب با آزمون‌های کولموگروف- اسمیرنوف و لون تعیین شد. تجزیه آماری داده‌ها با استفاده از آزمون تحلیل واریانس (ANOVA) در نرم‌افزار SPSS (نسخه ۱۸) و مقایسه میانگین‌ها بر اساس آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح خطای ۵ درصد انجام گردید.

نتایج

شوری ۸ و ۱۲ دسی‌زیمنس بر متر باعث کاهش ارتفاع ساقه گیاه نسبت به تیمار شاهد شد. این کاهش در تیمار ۸ دسی‌زیمنس بر متر به ۱/۵ برابر تیمار شاهد رسید. تیمارهای شوری تاثیر معنی‌داری بر قطر ساقه نسبت به تیمار شاهد نداشتند، هرچند میان تیمارهای ۸ و ۱۲ دسی زیمنس بر متر اختلاف معنی‌داری وجود داشت. تعداد برگ‌ها در شوری ۸ و ۱۲ دسی زیمنس بر متر، به‌طور معنی‌داری نسبت به شاهد و شوری ۴ دسی زیمنس بر متر کاهش نشان داد، به طوری که تعداد برگ‌ها در گیاهان تیمار شوری ۸ دسی‌زیمنس بر متر نسبت به شاهد به میزان ۲ برابر کاهش یافت. طی افزایش شوری، وزن تر برگ و ساقه کاهش یافت که این کاهش در تیمار ۸ دسی زیمنس بر متر، نسبت به شاهد به صورت چشمگیری معنی‌دار بود. علی‌رغم کاهش مقدار وزن خشک ساقه، وزن خشک برگ‌ها طی بروز شوری در محیط نسبت به تیمار شاهد تغییر معنی‌داری نداشت. با افزایش شوری تفاوت معنی‌داری در وزن خشک و تر ریشه نسبت به شاهد مشاهده نشد. همچنین تیمارهای مختلف شوری تاثیر معنی‌داری بر طول ریشه و نسبت طول ساقه به ریشه در گیاهان تیمارهای مختلف شوری نسبت به حالت کنترل نداشتند (جدول ۱).

جدول ۱: نتایج تجزیه واریانس اثر تیمارهای مختلف شوری بر صفات رویشی عدس‌الملک

منابع تغییر	درجه آزادی	ارتفاع ساقه	قطر ساقه	تعداد برگ	وزن تر برگ	وزن خشک برگ	وزن تر ساقه	وزن خشک ساقه	طول ریشه	طول ساقه/طول ریشه	وزن تر ریشه	وزن خشک ریشه
تیمار	۳	۱۳/۱۷۵**	۰/۴۴۲ns	۱۵۲۷۷/۴۱ **	۰/۲۱۴**	۰/۰۰۲ns	۰/۰۳۵ *	۰/۰۰۳ns	۲/۶۴۷ns	۶،۶۳۶ ns	۰/۰۳۰ns	۰/۰۰۱ns
خطا	۸	۱/۸۳۷	۰/۱۵۱	۳۰۹/۰۸۳	۰/۰۰۹	۰/۰۰۲	۰/۰۰۴	۰/۰۰۶	۲/۴۴۱	۲۴/۳۶۷	۰/۰۳۴	۰/۰۰۱
ضریب تغییرات (٪)	۱۲/۱۲	۲۵/۴۶	۰/۱۲۱ b	۲۵/۱۹	۳۶/۴۷	۹/۲۸	۵۳/۴۲	۲۴/۳۸	۸۰/۹۶	۷۳/۸۵	۵۹/۶۶

* و ** به‌ترتیب نشان دهنده معنی‌داری در سطح ۵ و ۱ درصد هستند. ns بیانگر عدم اختلاف معنی‌دار است.

جدول ۲: مقایسه میانگین اثر تیمارهای مختلف شوری بر شاخص‌های رویشی گیاه عدس الملک (مقادیر میانگین ۳ تکرار± انحراف استاندارد است. بر اساس آزمون دانکن، حروف یکسان بیانگر عدم اختلاف معنی‌دار در سطح $P\leq0/05$ است).

تیمار های شوری دسی‌زیمنس بر متر	ارتفاع ساقه (cm)	قطر ساقه (cm)	تعدا برگ	وزن تر برگ (g)	وزن خشک برگ (g)	وزن تر ساقه (g)	وزن خشک ساقه (g)	طول ریشه	طول ساقه/طو ل ریشه	وزن تر ریشه	وزن خشک ریشه
شاهد	۱۳/۵۷a	۱/۲۹ ab	۲۲۳b	۱/۰۸a	۰/۱۳۷ a	۰/۷۶ a	۰/۱۶۷ a	۷/۶۴ a	۵/۷۶a	۰/۳۲۴a	۰/۰۶۶a
۴	۱۲/۱۶ab	۱/۶۵ ab	۲۹۳ a	۰/۷۴۳b	۰/۱۶۹ a	ab ۰/۶۵۶	۰/۱۷۸ a	۶/۶۲ a	۸/۱۴a	۰/۳۴۷a	۰/۰۶۲a
۸	۸/۸۶c	۱/۱۴ b	۱۲۷d	۰/۵۲۳c	۰/۰۸۵ a	۰/۶۲۶b	۰/۱۰۵ b	۵/۶۶ a	۴/۶۹a	۰/۱۷۳a	۰/۰۴۸a
۱۲	۱۰/۱۱bc	۲/۰۰ a	۱۷۱ c	۰/۵۰۶c	۰/۰۹۸ a	۰/۴۹۶c	۰/۱۳۰ab	۵/۶۹ a	۵/۷۸a	۰/۱۵۴a	۰/۰۳۵a

با افزایش شوری، مقدار کلروفیل *a* و *b*، مجموع کلروفیل، کاروتنوئید و نسبت کلروفیل *a* به *b* نسبت به تیمار شاهد تغییر معنی‌داری نشان ندادند (جدول ۲).

مقدار پرولین در شوری ۱۲ دسی‌زیمنس بر متر به صورت معنی‌داری تا ۳ برابر مقدار پرولین تیمار شاهد افزایش نشان داد در حالیکه تغییر مقدار پرولین در تیمارهای ۴ و ۸ دسی‌زیمنس بر متر نسبت به تیمار شاهد معنی‌دار نبود. همچنین این پژوهش نشان داد که مقدار قندهای محلول کل نیز تنها در تیمار ۱۲ دسی‌زیمنس بر متر به صورت معنی‌داری نسبت به تیمار کنترل بیش از ۳ برابر افزایش یافت (جدول ۲).

مالون‌دی‌آلدهید به‌عنوان یک شاخص پراکسیداسیون لیپیدی در شوری ۱۲ دسی‌زیمنس بر متر نسبت به تیمار شاهد افزایش معنی‌دار نشان داد. این در حالی بود که بین مقدار این شاخص در تیمارهای مختلف شوری تفاوت معنی‌داری وجود نداشت. با این حال بیشترین میزان فعالیت جاروب رادیکال DPPH و فعالیت آنزیم کاتالاز و پراکسیداز در تیمار ۸ دسی‌زیمنس بر متر شوری مشاهده شد (جدول ۲).

مقدار فلاونوئیدها تنها در شوری ۱۲ دسی‌زیمنس بر متر به صورت معنی‌داری نسبت به تیمار کنترل افزایش نشان داد در حالی که مقدار آنتوسیانین در تیمارهای ۸ و ۱۲ دسی‌زیمنس بر متر به‌صورت معنی‌داری افزایش یافت.

جدول ۱: نتایج تجزیه واریانس اثر غلظت‌های مختلف شوری بر شاخص‌های بیوشیمیایی و آنتی‌اکسیدانی در گیاه عدس‌الملک

منابع تغییر	درجه آزادی	کلروفیل a	کلروفیل b	کلروفیل a+b	کاروتنوئید	کلروفیل a/b	پرولین	مالون‌دی آلدئید	جاروب DPPH	فعالیت سوپراکسید دیسموتاز	فعالیت پراکسیداز	فعالیت کاتالاز	قندهای محلول کل	فلاونوئید	آنتوسیانین
تیمار	۳	۲۹/۱۸^{ns}	۶/۸۳۹^{ns}	۴۳/۶۷۷^{ns}	۰/۶۲۷^{ns}	۰/۹۹^{ns}	۰/۰۰۴**	۰*	۲۱۱/۴۰۶*	۰/۰۸۵**	۱/۱۷۰**	۰/۰۰۶**	۰/۰۰۲**	۰/۰۶۳*	۰/۰۰۲**
خطا	۸	۱۶/۴۰	۶/۷۷۰	۴۹/۱۶۹	۰/۶۸۴	۰/۱۳۴	۰	۰	۴۸/۷۱۹	۰/۰۱۱	۰/۰۹۹	۰	۰/۰۰۵	۰/۴۳۳	۰/۰۰۵
ضریب تغییرات	(٪)	۱۷/۴۱	۲۷/۲۰	۲۱/۵۷	۱۲/۴۹	۱۴/۳	۰	۰	۸/۲۴	۷/۳۷	۱۵/۹۹	۰	۳/۷۶	۳/۶۵	۱۲/۳۷

* و ** به ترتیب نشان دهنده معنی‌داری در سطح ۵٪ و ۱٪ هستند. ns بیانگر عدم اختلاف معنی‌دار است.

جدول ۲: مقایسه میانگین اثرتیمارهای مختلف شوری بر شاخص‌های بیوشیمیایی و آنتی‌اکسیدانی گیاه عدس‌الملک (مقادیر میانگین ۳ تکرار± انحراف استاندارد است. براساس آزمون دانکن، حروف یکسان بیانگر عدم اختلاف معنی‌دار در سطح ۰/۰۵ ≥P است).

تیمار های شوری دسی‌زیمنس بر متر	کلروفیل a mg g^{-1}FW	کلروفیل b mg g^{-1}FW	کلروفیل a+b mg g^{-1}FW	کلروفیل a/b	کاروتنوئید mg g^{-1}FW	پرولین µmol g^{-1}FW	قندهای محلول mg g^{-1} FW	مالون دی آلدید nmol g^{-1}FW	SADPPH (٪)	سوپراکسید دیسموتاز g^{-1}protein µunit min^{-1}	گایاکول پراکسیداز g^{-1}protein µmol min^{-1}	کاتالاز g^{-1}protein µmol min^{-1}	فلاونوئید OD.g^{-1}.FW	آنتوسیانین OD.g^{-1}.FW
شاهد	۲۲/۴۹a	۸/۲۶a	۳۱/۱۵a	۲/۷۲a	۶/۴۲a	۲/۰۶b	۰/۶۸۶b	۰/۱۲۰b	۹۴/۲۱a	۰/۷۸۳a	۰/۲۱۳b	۰/۰۱۸b	۳/۰۳b	۰/۹۲c
۴	۲۵/۴۶a	۱۰/۴۴a	۳۶/۳۱a	۲/۴۳a	۷/۱۵a	۱/۲۵b	۰/۶۵۰b	۰/۱۵۰b	۸۸/۲۹a	۰/۹۶a	۰/۲۱۴b	۰/۰۲۶b	۳/۵۷ab	۱/۰۱ab
۸	۲۳/۴۹a	۹/۶۰a	۳۳/۰۹a	۲/۴۴a	۶/۴۶a	۱/۰۶b	۰/۷۸۶a	۰/۱۷۴ab	۷۵/۰۳a	۰/۹۸۳a	۱/۵۳۰a	۰/۱۱۱a	۳/۶۰ab	۱/۱b
۱۲	۲۰/۶۳a	۸/۷۸a	۲۹/۴۲a	۲/۳۵a	۶/۴۴a	۶/۱۸a	۰/۸۲۳a	۰/۲۴۰a	۸۰/۸۸a	۱/۱۹a	۰/۵۱۶b	۰/۰۲۷b	۳/۹۵a	۱/۲۶a

بحث

نتایج تحقیق نشان دهنده کاهش معنی‌دار تعداد برگ‌ها، طول ساقه، وزن تر برگ و وزن تر و خشک ساقه در مقابل عدم کاهش معنی‌دار شاخص‌های مورفولوژیکی در ریشه بود. این نتایج نشان دهنده حساسیت بیشتر بخش هوایی به تیمارهای اعمال شده شوری است. افت پتانسیل آب درون گیاه ناشی از افزایش فشار اسمزی محیط گیاه به سرعت وزن تر گیاه را تحت تاثیر قرار داده و آن را کاهش می‌دهد. همچنین کاهش اندازه و وزن خشک بخش هوایی یک گیاه متاثر از شوری محیط ناشی ازبرهمکنش اثرات تنش اسمزی ناشی، برهم خوردن تعادل عناصر در گیاه ناشی از **تغییرغلظت عناصر غذایی در محلول خاک** و سمیت یون‌هاست (Dkhil and Denden, 2010). اصولا با کاهش مقدار پتانسیل آب، کاهش زیتوده اتفاق می‌افتد. در این حالت گیاه از طریق تنظیم اسمزی و کاهش پتانسیل آبی ساقه در جهت حفظ آب درون سلول و برقراری تورژسانس سلولی اندام‌ها تلاش می‌کند تا بتواند از حداکثر پتانسیل آبی محیط بهره‌برداری کند (Wang et al., 2012). با اینحال، عدم افزایش وزن تر و خشک و نیز طول ریشه نشان می‌دهد که کاهش پتانسیل اسمزی اطراف ریشه باعث نشده است که گیاه برای افزایش جذب آب حجم ریشه خود را توسعه دهد. مطابق با نتایج بدست آمده، در مطالعات انجام شده توسط آقایی و همکاران (Aghaei et al., 2016) در رابطه با گیاه ترخون، و آذری و همکاران (Azari et al., 2012) بر روی دو گونه کلزا و شلغم روغنی، کاهش وزن تر و خشک، ارتفاع ساقه و تعداد برگ در اندام هوایی مشاهده شد. در مطالعه انجام شده، علی‌رغم تغییرات معنی‌دار تعداد برگ در تیمارهای مختلف که یک روند منظم نبود، وزن خشک برگ‌ها تغییر معنی‌داری نشان نداد. بنابراین به نظر می‌رسد که تغییر تعداد برگ‌ها نتوانسته بر میزان فتوسنتز تاثیر بگذارد. با اینحال اندازه‌گیری سطح برگ می‌توانست سبب قضاوت بهتری در این زمینه (ارتباط با وزن خشک) باشد.

نتایج بدست آمده حاکی از عدم تاثیر شوری محیط بر مقدار رنگیزه‌ها داشت. تنش اکسیداتیو ناشی از تنش‌های غیرزیستی از جمله شوری عامل مهمی در تخریب ماکرومولکول‌های حیاتی از جمله رنگیزه‌ها می‌باشد. از طرفی تنش‌هایی همچون شوری سبب افزایش هورمون‌هایی مانند آبسیزیک‌اسید و اتیلن می‌شوند که این هورمون‌ها سبب فراتنظیمی ژن آنزیم کلروفیلاز و متعاقبا تخریب کلروفیل می‌شوند. همچنین فعالیت بیشتر آنزیم گلوتامات کیناز (اولین آنزیم مسئول بیوسنتز پرولین) نسبت به گلوتامات لیگاز (اولین آنزیم مسئول بیوسنتز کلروفیل) و انحراف ذخیره گلوتاماتی به سمت بیوسنتز ترکیباتی همچون پرولین، و نیز عدم جذب مناسب پتاسیم و منیزیم (در رقابت با سدیم)، عدم بیوسنتز رنگیزه‌هایی همچون کلروفیل را در بر دارد (Orabi et al., 2010). در تحقیقات انجام گرفته قبلی، تغییرات مقدار رنگیزه‌ها در ژنوتیپ‌های مختلف و درجات مختلف شوری، الگوهای متنوعی را نشان داده است. در بررسی انجام شده توسط چاپارزاده و زرندی (Chaparzadeh and Zarandi, 2011) بر بر روی دو رقم کلزا (*Brassica napus*) عدم تغییر معنی‌دار مقدار کلروفیل، کاروتنوئید و نسبت کلروفیل a به b در رقم Hyola 308 در مقابل کاهش رنگبزه‌ها در رقم Sarigol مشاهده شد که موافق با نتایج بدست آمده و حاکی از تحمل نسبی تنش شوری در رقم مزبور بوده است. با اینحال بر خلاف نتایج بدست آمده و در گزارشات معدودی، افزایش میزان رنگیزه‌ها و بویژه کاروتنوئید در برخی ارقام متحمل نیز گزارش شده است (Dadkhah, 2011). متعاقبا در بسیاری از گزارشات.مانند پژوهشی

که احسانزاده و همکاران (Ehsanzadeh et al., 2009) بر روی تعدادی از ژنوتیپ‌های گندم انجام دادند، کاهش مقدار رنگیزه‌ها در ژنوتیپ‌های حساس به اثبات رسیده است.

پرولین و کربوهیدرات‌های محلول ساده نه تنها به‌عنوان سازگارکننده‌های اسمزی بلکه به عنوان ترکیبات محافظت‌کننده از ماکرومولکول‌ها بویژه محافظت از پروتئین‌ها در برابر دناتوره شدن و غشاءهای زیستی مطرح هستند (Ashraf and Foolad, 2007; Van den Ende and Valluru, 2008). همچنین این متابولیت‌ها به عنوان مولکول‌هایی با توانایی آنتی‌اکسیدانی و ترارسانی علامت بویژه در تحریک بیان ژن‌های برخی آنزیم‌های دفاعی- بیشتر در مورد کربوهیدرات‌ها- مطرح هستند (Van den Ende and Valluru, 2008). نتایج پژوهش حاضر نشان از افزایش پرولین و قندهای محلول کل در شوری های ۸ و ۱۲ دسی‌زیمنس بر متر داشت. تجمع حفاظت‌کننده‌های اسمزی نظیر پرولین، قندهای محلول، قند-الکل‌ها و سایر آمینواسیدها در گونه‌های مختلف تحت تاثیر میزان مقاومت آن‌ها به تنش می‌باشد و در ارقام مقاوم نسبت به حساس تجمع بیشتری نشان می‌دهد (Ashraf and Foolad, 2007). با اینحال افزایش مقدار پرولین که عمدتا به علت افزایش بیان و فعالیت پرولین ۵- کربوکسیلات سنتاز و نیز کاهش فعالیت پرولین‌اکسیداز است، همیشه موید رابطه مقاومت رقم مورد مطالعه با تنش شوری نیست بلکه می‌تواند یک نشانه از آسیب ناشی از این تنش نیز باشد (Ashraf and Foolad, 2007). موافق با نتایج بدست آمده، افزایش مقدار پرولین در ارقام مختلف جو، گندم و برنج (Ashraf and Foolad, 2007) و نیز افزایش مقدار کربوهیدرات‌های محلولی نظیر سوکروز، گلوکز و فروکتوز طی بروز شوری در تحقیقات گذشته (Yin et al., 2010) با نسبت بیشتر در ارقام متحمل به حساس مشاهده شده است. با وجود اینکه افزایش پرولین و قندهای محلول در رقم عدس الملک مورد مطالعه می‌تواند دلیلی برای تحمل بهتر تنش شوری باشد، مشاهدات نشان داده است که افزایش توام چند حفاظت‌کننده اسمزی در یک آزمایش نیز می‌تواند نشانه‌ای بر حساسیت نسبی بیشتر یک رقم به کاهش پتانسیل آب محیط خود باشد (Munns and Tester, 2008).

افزایش گونه‌های فعال اکسیژن در تنش شوری نتیجه هر دو عامل اسمزی و یونی است که باعث پراکسیداسیون لیپیدها و در نتیجه تجمع مالون‌دی‌آلدهید در سلول‌ها می‌شود که خود یک رادیکال خطرناک است. گیاهان برای پالایش انواع این رادیکال‌های فعال، سازوکارهای آنزیمی و غیرآنزیمی را در کده‌های مختلف سلول و آپوپلاست بکار می‌گیرند (Gill and Tuteja, 2010). در پژوهش انجام شده، یک همبستگی منفی بین مقدار مالون‌دی‌آلدهید با فعالیت آنزیم‌های کاتالاز و پراکسیداز وجود دارد به طوریکه در بالاترین سطح شوری (۱۲ دسی‌زیمنس بر متر)، افت فعالیت آنزیمی توام با افزایش مقدار مالون‌دی‌آلدهید مشاهده می‌شود که می‌تواند دلیلی بر ناپایدار شدن آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان تحت حضور یون‌های سدیم و کلر در گیاهان نیمه‌حساس یا حساس باشد (Caverzan et al., 2016). علی‌رغم افزایش میزان فلاونوئید و آنتوسیانین در شوری ۱۲ دسی‌زیمنس بر متر، حداکثر توان آنتی‌اکسیدانی (جاروب رادیکال DPPH) در شوری ۸ دسی‌زیمنس بر متر مشاهده شد.در پژوهش انجام‌گرفته، افزایش فعالیت آنزیم‌های کاتالاز و پراکسیداز -که آنزیم‌های مخصوص جاروب پراکسید هیدروژن هستند- موازی با افزایش فعالیت سوپراکسید دیسموتاز- اولین سد دفاع آنتی‌اکسیدانی در برابر گونه‌های فعال اکسیژن - می‌باشند. به علت میل پایین به سوبسترا (در حد

میلی‌مولار) برداشت موثر پراکسید هیدروژن توسط هر دو آنزیم کاتالاز و پراکسیداز نیاز به غلظت بالای این آنزیم‌ها دارد. بنابراین در گیاهانی که یک مقاومت نسبی یا حساسیت کمتری به تنش‌های خشکی و شوری دارند، بیان و فعالیت این آنزیم‌ها در سطوح خشکی و شوری متوسط و بالا به یک میزان قابل قبول خواهد رسید (Caverzan et al., 2016; Abogadallah, 2010).

همچنین تجمع ترکیبات فنلی نظیر فلاونوئیدها در واکوئل سلول‌های اپیدرمی برگ با توجه به ارتباط نزدیکی که با آنزیم‌های پراکسیداز دارند باعث افزایش فعالیت آن‌ها و ایجاد توان حداکثری جاروب رادیکال‌های اکسیژنی و بویژه آب اکسیژنه می‌شود. مطابق با پژوهش انجام شده، مطالعات گذشته یک همبستگی مثبت مابین افزایش ترکیباتی نظیر فلاونوئیدها و آنتوسیانین ها با میزان قدرت جاروب رادیکال DPPH نشان داده است (Aliabadi-Farhani et al., 2009). همچنین در تایید تغییرات مقدار آنتوسیانین در بررسی انجام گرفته، گزارش‌ها حاکی از افزایش میزان آنتوسیانی در گیاهان متحمل به شوری می‌باشد (Wahid and Ghazanfar, 2006). بنابراین همانطور که در مورد فلاونوئیدها ذکر گردید، حفظ یا افزایش مقدار آنتوسیانین -با داشتن خواص آنتی‌اکسیدانی- در رقم عدس الملک مورد مطالعه می‌تواند در جهت افزایش بردباری به شوری موثر باشد.

نتیجه‌گیری نهایی

نتایج این تحقیق نشان داد که تنش شوری توانست صفات مورفولوژیک بخش هوایی گیاه عدس الملک شامل تعداد برگ، وزن تر و خشک ساقه، قطر و ارتفاع ساقه را تحت تاثیر قرار دهد که عمدتا به صورت کاهش معنی‌دار بودند. با این حال وزن خشک برگ و کلیه صفات رویشی بررسی شده بخش ریشه طی کاربرد تیمارهای متفاوت شوری تغییر معنی‌داری نشان ندادند که این نشان دهنده حساس بودن بیشتر بخش هوایی نسبت به بخش ریشه در این گیاه بوده است. عدم تغییر معنی‌دار وزن خشک برگ توام با عدم تغییرات معنی‌دار محتوای اندازه‌گیری شده رنگیزه‌ها و نسبت آنها بود. با اینحال با افزایش شوری در محیط و بویژه در شوری‌های ۸ و ۱۲ دسی‌زیمنس بر متر توام با افزایش حفاظت کننده های اسمزی، محتوای فلاونوئیدها، آنتوسیانین‌ها و فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان بوده است. بنابراین رقم عدس‌الملک مورد مطالعه توانسته بویژه با تقویت مکانیسم‌های محافظتی بیوشیمیایی و آنتی‌اکسیدانی خود، با شوری محیط مقابله کند. بنابراین در یک جمع‌بندی کلی، با توجه به تغییرات نسبی معنی‌دار شاخص‌های مورفولوژیک و بیوشیمیایی رقم عدس المک مورد مطالعه و افزایش معنی‌دار برخی شاخص‌های حفاظتی آنتی‌اکسیدانی بویژه در تیمارهای ۸ و ۱۲ دسی‌زیمنس بر متر، می‌توان رقم گیاه دارویی مورد مطالعه را یک رقم نیمه‌حساس به شوری معرفی نمود. مشابه نتایج بدست آمده، شریفی و همکاران (Sharifi et al., 2012) عدم تغییرات معنی‌دار صفات موفولوژیک در مقابل تغییرات معنی‌دار صفات بیوشیمیایی نظیر محتوای رنگیزه‌ها و پرولین و فعالیت آنتی‌اکسیدان‌های آنزیمی شامل کاتالاز و پراکسیداز را در ارقام نیمه متحمل و متحمل گندم مشاهده نمودند.

References

1. Abe, N., Murata, T. and Hirota, A. 1998. Novel 1, 1-diphenyl-2-picryhy- drazyl-radical scavengers, bisorbicillin and demethyltrichodimerol, from a fungus. Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry, 62: 661-662.
2. Abogadallah, G.M. 2010. Antioxidative defense under salt stress. Plant Signal Behavior, 5(4):369-374.
3. Aebi, H.E. 1984. "Catalase in vitro". Method's Enzymology, 105:121-126.
4. Aghaei, K., Barzli, M., Jafarian, V. and Shekari, F. 2016. Study of some physiological and biochemical responses in *Artemisia dracunculus* under water deficit stress. Journal of Plant Process and Function, 6 (19): 16-24.
5. Amin, G.h. 2005. The m ost common traditional herbal plants of Iran. Tehran: ethics and history of medicine research center,pp.240.
6. Ashraf, M. and Foolad, M.R. 2007. Roles of glycine betaine and proline in improving plant abiotic stress resistance. Environmental and Experimental Botany, 59(2): 206–216.
7. Azari, A., ModaresSanavi, S.A.M., Askari, H., Ghanati, F., Naji, A.M. and Alizadeh, B. 2012. Effect of salt stress onmorphological and physiological traits of two species of rapeseed (*Brassica napus* and B. rapa). Iranian Journal of Crop Sciences, 14(2):121-135.
8. Bates, L.S., Waldren, R.P. and Teare, I.D. 1973. Rapid determination of free proline for water-stress studies. Plant Soil, 39(1):205-207.
9. Caverzan, A., Casassola, A. and Brammer, S.P. 2016. Antioxidant responses of wheat plants under stress. Genetic molecular and Biology, 39(1):1-6.
10. Chance, B. andMaehly, A. 1955."Assay of catalase and peroxidase". Method of Enzymology, 2: 764-817.
11. Chaparzadeh, N. and Zarandi Miandoab, L. 2011. The effects of salinity on pigments content and growth of two canola (*Brassica napus*) cultivars. Journal of Plant Biology, 3(9): 13-26.
12. Dadkhah, A. 2011. Effect of salinity on growth and leaf photosynthesis of two sugar beet cultivers. Journal of Agricultural science and Technology, 13:1001-1012.
13. Dkhil, B. B. and Denden, M. 2010. Salt stress induced changes in germination, sugars,starch and enzyme of carbohydrate metabolism in *Abelmoschuses culentus* L. (Moench.) seeds. African Journal of Agricultural Research, 5(6): 408-415.
14. Dubios, M., Gilles, K.A., Hamilton, J.K., Rebers, P.A. and Smith, F. 1956. Colorimetric method for determination of sugars and related substances. Analytical Chemistry, 28(3): 350-356.
15. Ehsanzadeh, P., Nekoonam, M.S., Azhar, J.N., Pourhadian, H. and Shaydaee, S. 2009. Growth, chlorophyll and action concentration tetraploid wheat on a solution high in sodium chloride salt:hulled versus free-threshing genotypes. Journal of Plant Nutrition, 32(1): 58-70.
16. Fathi Azad, F., AlafAkbari, N., Zakheri, A., Andalib, S., Maleki Dizaji, N., Gharah Baghian, A., Ghorbani Haghjou, A., Fakhrjou, A. and Garjani, A.R. 2010. Hypolipidemic and antioxidant effects of *Securigerase curidaca* L. seed in high fat fed rats. Pharmaceutical Science, 15(4): 293-301.
17. Filippo, L., Moretti, A. and Lovat, A. 2002. Seed yield, yield components oil content and essential oil and composition of *Nigella sativa* L. and *Nigella damascene* L. Industrial Crop and Products, 15(1): 59-69.
18. Garjania, A., Fathizad, F. and Zakheri, A. 2009. The effect of total extract of *securigerase curidaca* (L.) seeds on serum lipid profiles, antioxidant status, and vascular function inhypercholesterolemic rats. Journal of Ethnopharmacology, 126(3): 525-532.
19. Ghorbani, A., Moradi Marjaneh, R., Rajaei, Z. and Hadizadeh, M.A.R. 2014. Effects of *Securigerase curidaca* extract on lipolysis and adipogenesis in diabetic rats. Cholesterol, Article ID 582106, 1-5.

20. Giannopolitis, C.N. and Ries, S.K. 1977. Superoxide dismutase I. Occurrences in higher plants. Plant Physiology, 59(2): 309-414.
21. Gill, S.S. and Tuteja, N. 2010. Reactive oxygen species and antioxidant machinery in abiotic stress tolerance in crop plants. Plant Physiology and Biochemistry, 48(12): 909-930.
22. Heath, R.L. and Packer, L. 1968. Photoperoxidation in isolated chloroplast I. Kinetics and stoichiometry of fatty acid peroxidation. Archives of Biochemistry and Biophysics, 125(1): 189-198.
23. Lichtenthaler, H.K. and Wellburn, W.R. 1983. Determination of total carotenoids and chlorophylls *a* and *b* of leaf extracts in different solvents. Biochemical Society Transactions, 11(5): 591-592.
24. Mard, S.A., Bahari, Z., Eshaghi, N. and Farbood, Y. 2008. Antiulcerogenic effect of *Securigera securidaca* L. seed extract on various experimental gastric ulcer models in rats. Pakistan Journal of Biological Sciences, 11(23): 2619-2623.
25. Moslehi, Sh., Najafi, P., Tabatabaei, S.H. and Noumahnad, N. 2011. Effect of soil moisture stress on yield and growth indexes of greenhouse Cucumber. Journal of Water and Soil, 25(4): 770-775.
26. Munns, R. and Tester, M. 2008. Mechanisms of Salinity Tolerance, Annual Review of Plant Biology, 59: 651–681.
27. Pouramir, M., Shahaboddin, M.E., Moghadamnia, A.A. and Parastouei, K. 2011. To study the effects of *Securigera securidaca* (L.) seed against alloxan-induced hyperglycemia. Journal of Medicinal Plant Research, 5(14): 3188-3191.
28. Rao, M.V., Paliyath, G. and Ormrod, D.P. 1996. Ultraviolet-B- and ozone-induced biochemical changes in antioxidant enzymes of *Arabidopsis thaliana*. Plant Physiology, 110(1): 125-136.
29. Sharifi, P., Amirnia, R., Majidi, E., Hadi, H., roustaii, M., Nakhoda, B., Alipoor, H.M. and Moradi, F. 2012. Relationship between drought stress and some antioxidant enzymes with cell membrane and chlorophyll stability in wheat lines. African Journal of Microbiology Research. 6(3), 617-623.
30. Nogues, S. and Baker, N.R. 2000. Effect of drought on photosynthesis in Mediterranean plants grown under enhanced UV-B radiation. Journal of Experimental Botany, 51(348):1309 - 1317.
31. Orabi, S.A., Salman, S.R. and Shalaby, A.F. 2010. Increasing resistance to oxidative damage in cucumber (*Cucumis sativus* L.) plants by exogenous application of salicylic acid and paclobutrazol. World Journal Agriculture of Science 6(3): 252-259.
32. Sameni, H-R., Jadidi, M., Sadeghi, S.,Sharifi, S. and Taherian, A.A. 2016. Effects of hydroalchoholic extract of *Securigera securidaca* L. seed on acute, chronic and visceral pain in male albino mice. Koomesh, 17(2): 288-296.
33. Van denEnde, W. and Valluru, R. 2008. Sucrose, sucrosyl oligosaccharides, and oxidative stress: scavenging and salvaging? Journal of Experimental Botany, 60 (1) 9-18.
34. Wang, W-B., Kim, Y-H., Lee, H-S., Kim, K-Y., Deng, X-P. and Kwak, S-S. 2007. Analysis of antioxidant enzyme activity during germination of alfalfa under salt and drought stresses. Plant Physiology and Biochemistry, 47(7): 570-577.
35. Wang, C.J., Yang, W., Wang, C., Gu, C., Niu, D.D., Liu, H.X., Wang, Y.P. and Guo, J.H. 2012. Induction of drought tolerance in cucumber plants by a consortium of three plant growth promoting rhizobacterium strains. PlOS, 7(12): 1-12.
36. Wahid, A. and Ghazanfar, A. 2006. Possible involvement of some secondary metabolites in salt tolerance of sugarcane. Journal of Plant Physiology, 163(7): 723-730.
37. Wakeela, A., Asif, A.R., Pitann, B. and Schubert, S. 2010. Proteome analysis of sugar beet (*Beta vulgaris* L.) elucidates constitutive adaptation during the first phase of salt stress. Journal of Plant Physiology, 168(6): 519-526.

(Solanumlycopersicum L. cv. 'Micro-Tom') fruits in an ABA- and osmotic stress-independent manner. Journal of Experimental and Botany, 61(2):563-574.

38. Yin, Y.G., Kobayashi, Y., Sanuki, A., Kondo, S., Fukuda, N., Ezura, H, Sugaya, S. and Matsukura, C. 2010. Salinity induces carbohydrate accumulation and sugar-regulated starch biosynthetic genes in tomato

The study of salinity stress influence on some morphological, biochemical and antioxidant responses of *Securigera securidaca* L.

Mirvakili, F.[1], Mosleh, A.[2], Sarafraz-Ardakani, M.R.[3*], Sodaeizadeh, H.[4]

[1]M.Sc student, Department of Environmental Sciences, Faculty of Natural Resources & Desert Studies, Yazd University, Yazd, Iran.

[2]Full Professor, Department of Environmental Sciences, Department of Biology, Faculty of Natural Resources & Desert Studies, Yazd University, Yazd, Iran.

[3]Assistant Professor of Plant Science, Department of Biology, Faculty of Science, Yazd University, Yazd, Iran

[4]Assistant Professor, Department of Arid Land and Desert Management, Faculty of Natural Resources & Desert Studies, Yazd University, Yazd, Iran.

Received Time: 2017/5/3 Accepted Time: 2018/1/13

Abstract

In this research in order to study of stress influence (4, 8 and 12 ds/m of NaCl) on some morphological, biochemical and antioxidant activity of *Securigera securidaca* L. based on a randomized complete design with three replications, the seeds of plant were provided from Esfahan Pakan Bazr Institute and were grown in growth chamber located in Yazd University during September, 2014. Biochemical and antioxidant traits were measured spectrophotometrically. Results were showed that some morphological traits significantly decreased when salinity were increased. The pigments content were not significantly affected by different levels of salinity. Proline, total soluble sugar, flavonoid and anthocyanin content significantly increased in highest level of salinity in compared with other salinity and control treatments. Malondialdehyde (MDA) significantly increased in salinity of 12 ds/m while the most significant activity of DPPH scavenging and superoxide dismutase (SOD), peroxidase (POX) and catalase (CAT) enzymes were showed in salinity of 8 ds/m. in concluded, due to non-significant changes of morphological, biochemical and antioxidant traits in salinity of 4 ds/m especially, it may be suggested that *Securiger securidaca* L. is a semi-tolerant genotype under salt stress.

***Keywords*:** Anthocyanin, Antioxidant Enzymes, DPPH scavenging, Flavonoid, Salt Stress, *Securigear securidaca* L.