

مقاله پژوهشی

تغییرات شاخص های رشدی و آناتومی گیاه اسفناج (*Spinacia oleracea* L.) تحت تنش شوری

لاله احمدی^۱، الهام محجل کاظمی^۲، هانیه محجل شجا^۱، مریم کلاهی^۳

^۱ گروه علوم گیاهی، سلولی و مولکولی، دانشکده علوم طبیعی، دانشگاه تبریز، تبریز، ایران.

^۲ پژوهشکده کشاورزی هسته ای، پژوهشگاه علوم و فنون هسته ای، کرج، ایران

^۳ گروه زیست شناسی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه شهید چمران اهواز، اهواز، ایران.

* (نویسنده مسئول مکاتبات): E.mohajel.k@gmail.com

تاریخ پذیرش: اسفند ۱۴۰۳

تاریخ دریافت: دی ۱۴۰۳

چکیده

شوری خاک ناشی از یون های کلرید سدیم، نوعی تنش غیرزیستی است که به طور منفی بر جنبه های مختلف رشد و توسعه گیاه تأثیر می گذارد. گیاه اسفناج، حساسیت متوسطی به شوری دارد و به عنوان منبعی غنی از ویتامین ها و مواد معدنی شناخته می شود. در این مطالعه، گیاهچه های اسفناج به مدت ۲۱ روز با غلظت های مختلف نمک (۰، ۵۰، ۱۵۰، ۲۵۰ و ۳۵۰ میلی مولار NaCl) تحت تیمار قرار گرفتند و تأثیر آن ها بر ویژگی های ریخت شناسی و تشریحی این گیاه بررسی شد. نتایج نشان داد که تنش شوری به طور معنی داری شاخص تحمل طول گیاه و شاخص تحمل وزن گیاه را با افزایش شوری کاهش داد، در حالی که افزایش جزیبی در شاخص تحمل وزن گیاه در غلظت های ۵۰ و ۱۵۰ میلی مولار NaCl مشاهده شد. علاوه بر این، قطر ریشه، قطر ناحیه آوندی ریشه، ضخامت کورتکس ریشه، قطر ساقه، قطر آوندهای چوبی ساقه، قطر رگبرگ میانی برگ و قطر آوند چوبی برگ با افزایش شوری کاهش یافتند. در غلظت های ۵۰ و ۱۵۰ میلی مولار NaCl، تغییرات معنی داری در ساختار بافت های اسفنجی و نردبانی مشاهده نشد، اما در غلظت های ۲۵۰ و ۳۵۰ میلی مولار NaCl، ضخامت بافت نردبانی افزایش و ضخامت بافت اسفنجی کاهش یافت. تعداد روزنه های سطح زیرین و رویی برگ ها در غلظت های ۵۰ و ۱۵۰ میلی مولار NaCl افزایش یافت، اما در سطوح شوری بالاتر کاهش پیدا کرد. نتایج نشان می دهد که این تغییرات ممکن است بر عملکردهای فیزیولوژیکی این گیاه تأثیر بگذارد و مقاومت به شوری را افزایش دهد.

کلیدواژه ها: اسفناج، شوری، ویژگی های تشریحی، روزنه.

مقدمه

طبقه بندی شده و رشد گیاهان را به طور چشمگیری کاهش می دهند [۱]. در این خاک ها، نمک هایی مانند کلرید (Cl^-)، سولفات (SO_4^{2-})، کربنات (CO_3^{2-}) و بی کربنات (HCO_3^-) و فلزات مختلفی نظیر سدیم (Na^+)، پتاسیم (K^+)،

شوری به عنوان یک تنش غیرزیستی، چالشی جدی برای رشد گیاه محسوب می شود. خاک هایی که حاوی ۴۰ میلی مولار NaCl (معادل ۴ دسی زیمنس بر متر) هستند، به عنوان خاک های شور

منیزیم (Mg^{2+}) و کلسیم (Ca^{2+}) یافت می‌شوند. با این حال، کلرید سدیم ($NaCl$) شایع‌ترین عامل شوری خاک است [۲]. شوری به عنوان یکی از مهم‌ترین عوامل تنش‌زا، با کاهش پتانسیل اسمزی محلول خاک، دسترسی گیاه به آب را محدود کرده و توانایی آن را در جذب آب مختل می‌کند. در شرایط شور، گیاهان برای حفظ فشار تورگر، معمولاً پتانسیل اسمزی خود را تنظیم می‌کنند [۳ و ۴]. علاوه بر این، شوری باعث ایجاد عدم تعادل یونی در سلول‌ها شده و غلظت کاتیون‌های K^+ و Ca^{2+} و آنیون NO_3^- را کاهش می‌دهد که این امر به مسمومیت یونی ناشی از تجمع Na^+ و/یا Cl^- منجر می‌شود [۵].

این تغییرات دارای ماهیت فیزیولوژیکی، ریخت شناسی و تشریحی هستند [۶]. در گیاه گندم، شوری به طور قابل توجهی سطح ریشه و سرعت طویل‌شدگی آن را کاهش داد و کاهش در طول محور اصلی ریشه‌های جدید، تراکم تارهای کشنده و طول آن‌ها در غلظت‌های بالای شوری مشاهده شده است [۷]. در گیاه گل گاوزبان (*Echium amoenum*)، شوری موجب کاهش طول ریشه، وزن خشک ریشه‌ها و ساقه‌ها و کل توده زیستی گیاه شد. این تأثیرات منفی با افزایش سطح شوری شدت بیشتری یافته‌اند [۸]. بسیاری از ویژگی‌های تشریحی در ارتباط با تحمل به شوری هستند [۹]. در گیاهان *Nitraria retusa* و *Atriplex halimus*، شوری در سطوح کم تا متوسط باعث تحریک رشد ریشه و ساقه شد، اما شوری بالا تغییرات قابل توجهی در ساختار این اندام‌ها ایجاد کرد. از جمله این تغییرات، کاهش مساحت قشر ریشه و سطح مقطع ساقه بود [۱۰]. در گیاه گندم، شوری باعث کاهش چشمگیری در سطح مقطع برگ، اندازه و تعداد رگبرگ‌ها شده و به‌ویژه بر رگبرگ‌های کوچک تأثیر می‌گذارد. این تغییرات تشریحی جریان آب و مواد مغذی را محدود کرده و توانایی گیاه را در حفظ رشد تحت شرایط شور کاهش می‌دهد [۱۱].

گیاه اسفناج (*Spinacia oleracea* L.) یکی از سبزیجات برگ سبز با ارزش غذایی بالا است که به طور گسترده در سراسر جهان کشت می‌شود و نقش مهمی در رژیم غذایی انسان دارد. این گیاه که در گذشته عضوی از خانواده *Chenopodiaceae* محسوب می‌شد [۱۲]، اکنون در خانواده *Amaranthaceae* طبقه‌بندی شده است [۱۳، ۱۴ و ۱۵].

تاکنون مطالعاتی در مورد تأثیر تنش شوری بر ویژگی‌های فیزیولوژیکی و ریخت‌شناسی گیاه اسفناج انجام شده است. با این حال، اطلاعات محدودی در مورد پاسخ‌های تشریحی گیاه اسفناج به شوری در دسترس است. در این مطالعه، تأثیر شوری بر ساختار تشریحی ریشه، ساقه و برگ این گیاه بررسی شد. هدف اصلی، ارزیابی واکنش آن به سطوح مختلف کلرید سدیم و تعیین میزان تحمل آن در برابر تنش شوری بود تا درک عمیق‌تری از تفاوت‌های موجود در سازوکارهای تحمل شوری به دست آید.

مواد و روش‌ها

کشت، شرایط رشد و اعمال تیمار

بذرهای گیاه اسفناج (*Spinacia oleracea* L.) با استفاده از هیپوکلریت سدیم ۱ درصد ضدعفونی شدند و پس از شستشو با آب مقطر، در محیط کشت حاوی ترکیب کوکوپیت و پرلیت اتوکلاو شده با نسبت ۱ به ۲ کاشته شدند. این بذرها در اتاق رشد کنترل‌شده‌ای با دمای 25 ± 5 درجه سانتی‌گراد در روز و ۱۶ تا ۱۸ درجه سانتی‌گراد در شب، دوره نوری ۱۲ ساعت روشنایی و ۱۲ ساعت تاریکی، و رطوبت نسبی ۶۰ تا ۷۵ درصد رشد داده شدند. پس از جوانه‌زنی، گیاهچه‌های یکنواخت در مرحله دو برگی انتخاب و به گلدان‌هایی با قطر ۱۲ سانتی‌متر و ارتفاع ۱۵ سانتی‌متر، حاوی مخلوط کوکوپیت و پرلیت با همان نسبت اولیه، منتقل شدند. سه روز پس از انتقال، گیاهان با محلول غذایی هوگلند حاوی غلظت‌های ۰، ۵۰، ۱۵۰، ۲۵۰ و ۳۵۰ میلی‌مولار $NaCl$ هر سه روز یکبار تیمار شدند. پس از ۲۱ روز تیمار، گیاهان جهت انجام مطالعات نهایی برداشت گردیدند.

تعیین شاخص تحمل

شاخص‌های تحمل به تنش بر اساس روابط ارائه شده توسط امین و همکاران (۲۰۱۴) محاسبه شدند [۱۶].

شاخص تحمل طول گیاه = (طول گیاه تحت تنش / ساقه + ریشه) / (طول گیاه کنترل (ساقه + ریشه)) * ۱۰۰
شاخص تحمل وزن خشک گیاه = (وزن خشک گیاه تحت تنش (ساقه + ریشه) / وزن خشک گیاه کنترل (ساقه + ریشه)) * ۱۰۰*

مشاهده‌های میکروسکوپی

برای آماده‌سازی نمونه‌ها جهت مطالعه میکروسکوپی، برش‌های نازکی از بافت تازه ساقه به‌صورت دستی تهیه و ابتدا در محلول هیپوکلریت سدیم و سپس در اسید استیک قرار داده شدند. این برش‌ها با رنگ‌های کارمن و سبز متیل رنگ‌آمیزی شده و به‌منظور بررسی‌های میکروسکوپی روی لام تثبیت گردیدند [۱۸].

در روش برش‌گیری با میکروتوم، بافت‌های ریشه و برگ گیاهان اسفناج در محلول تثبیت‌کننده فرمالین - اسید استیک - الکل (FAA) تثبیت شدند. نمونه‌های تثبیت‌شده پس از آب‌گیری متوالی در غلظت‌های مختلف الکل، سه‌بار در محلول زایلن قرار گرفتند. سپس این بافت‌ها در دمای ۶۰ درجه سانتی‌گراد در آون پارافین‌دهی شده و پس از قالب‌گیری، با استفاده از میکروتوم چرخشی (R JUNG HEIDELBERG)، آلمان برش‌هایی با ضخامت ۳۰ میکرون تهیه شدند. نمونه‌ها با سافرانین و فست گرین [۱۷] رنگ‌آمیزی و با میکروسکوپ فلورسانت (NOVEL-N800-F) مجهز به دوربین Truechrom Metrics بررسی شدند. برای اندازه‌گیری ساختارهای تشریحی مانند ضخامت پارانشیم اسفنجی، ضخامت پارانشیم نردبانی، قطر ریشه، قطر ساقه، قطر آوند چوبی و قطر رگبرگ‌ها از نرم‌افزار IS Capture استفاده گردید.

شمارش تعداد روزنه‌ها

برای شمارش تعداد روزنه‌ها، نمونه‌های برگ از قسمت‌های یکسان گیاهان مورد مطالعه جمع‌آوری شد. از لاک بی‌رنگ برای تهیه اسلاید موقت روزنه استفاده شد. در این روش لایه‌ای از لاک بی‌رنگ

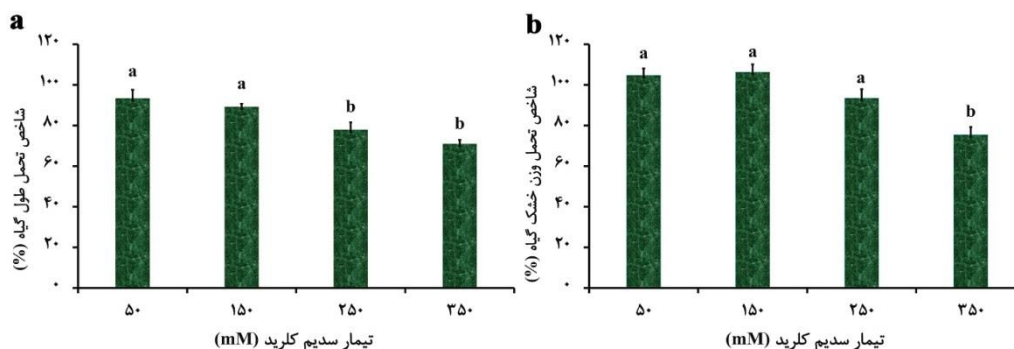
به طور یکنواخت بر روی سطوح برگ زده شد و پس از خشک شدن لاک با استفاده از چسب نواری اپیدرم کنده شد و یک اسلاید موقت ایجاد شد. از میکروسکوپ نوری برای مشاهده و شمارش روزنه‌ها در بزرگنمایی X10 و X40 استفاده شد [۱۹ و ۲۰].

آنالیز آماری

برای هر تیمار سه تکرار در نظر گرفته شد و داده‌ها به صورت میانگین $\pm$ استاندارد ارور (SE) گزارش شدند. مقایسه میانگین‌ها از طریق تجزیه واریانس یک‌طرفه ANOVA و با استفاده از آزمون چند دامنه‌ای دانکن انجام گرفت. اختلاف میانگین‌ها در سطح معنی‌داری $P < 0.05$ ارزیابی شد.

نتایج

برای فهم بهتر واکنش‌های ریخت‌شناسی گیاهچه‌های اسفناج در مواجهه با تنش شوری، شاخص تحمل طول و شاخص تحمل وزن خشک گیاه مورد اندازه‌گیری قرار گرفتند. نتایج تحلیل واریانس تفاوت بسیار معنی‌داری برای این دو شاخص نشان داد ($P < 0.05$). شاخص تحمل طول گیاه با افزایش شوری کاهش یافت. اثر شوری در غلظت ۲۵۰ و ۳۵۰ میلی‌مولار به ترتیب موجب کاهش ۲۲ و ۲۹ درصد شاخص تحمل طول گیاه شد. در حالی که شاخص تحمل وزن خشک گیاه در غلظت ۵۰ و ۱۵۰ میلی‌مولار به ترتیب ۴/۷۵ و ۶/۳۴ درصد به‌طور غیر معنی‌داری افزایش یافت اما شوری در غلظت ۲۵۰ و ۳۵۰ میلی‌مولار به ترتیب موجب کاهش ۴۹/۶ و ۵۵۶/۲۴ درصدی این شاخص گردید.



شکل ۱: تأثیر تنش شوری بر (a) شاخص تحمل طول گیاه (%) و (b) شاخص تحمل وزن خشک گیاه (%) در گیاه اسفناج. آنالیز با استفاده از آزمون واریانس یک‌طرفه (One-Way ANOVA) و آزمون دانکن انجام شده است. داده‌ها به‌صورت میانگین $\pm$ SE گزارش شده‌اند. ستون‌هایی که حروف مشابه دارند از نظر آماری تفاوت معنی‌داری ندارند ($P < 0.05$).

تأثیر تنش شوری بر ویژگی‌های تشریحی ریشه

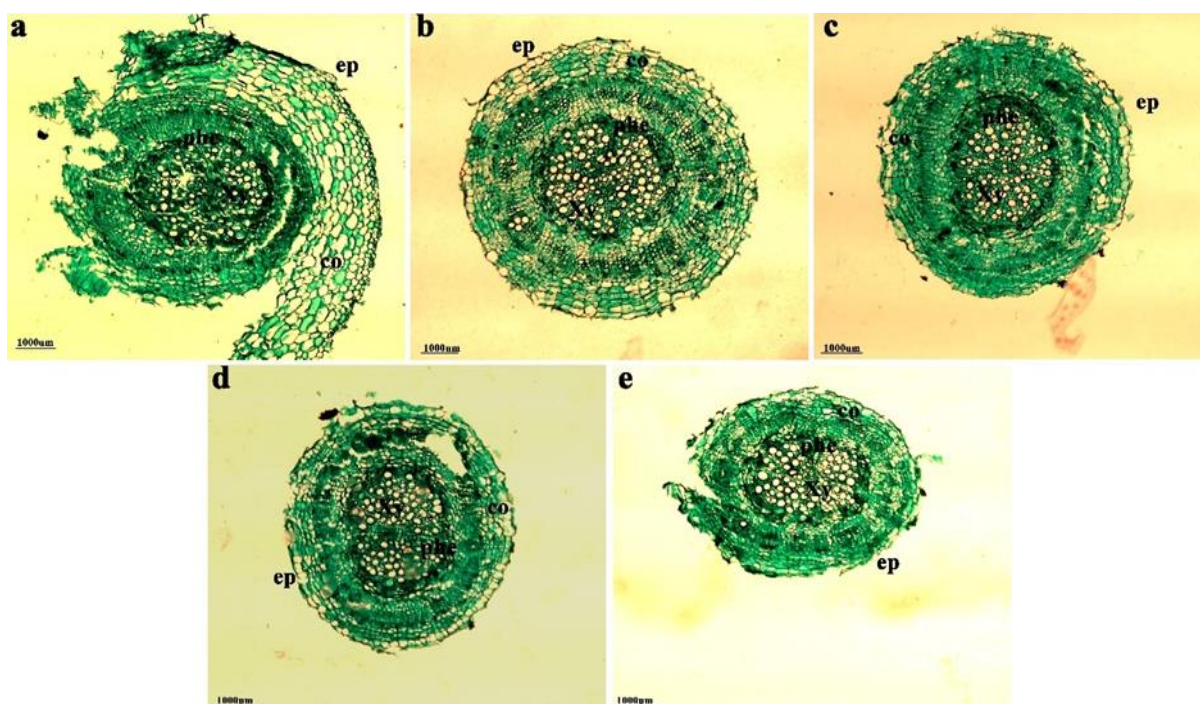
ریشه تقریباً دایره‌ای شکل بود. ناحیه پوست از سلول‌های پارانشیمی با شکل نامنظم تشکیل شده بود. فلونم به‌خوبی توسعه یافته بود و بخش مرکزی دارای ناحیه وسیعی از آوندهای چوبی بود. شایان ذکر است که آوندها به‌صورت شعاعی قرار گرفته بودند (شکل ۲).

همان‌طور که در شکل ۲ نشان داده شده است، با افزایش غلظت شوری، قطر ریشه به‌طور قابل‌توجهی کاهش یافته است. مقایسه میانگین داده‌ها در شکل ۳ نشان داد که افزایش غلظت شوری به ترتیب باعث کاهش قطر ریشه به میزان ۱۲/۲٪، ۱۳/۴٪، ۲۸/۱۷٪ و ۳۹/۵٪ و همچنین کاهش ضخامت ناحیه پوست ریشه به میزان ۳۷/۹۱٪، ۴۰/۵۰٪، ۵۹/۲٪ و ۶۳/۸۲٪ در گیاهان تیمار شده با ۲۵۰، ۱۵۰، ۳۵۰ و ۵۰ میلی‌مولار NaCl شده است. قطر استوانه آوندی در غلظت ۵۰ میلی‌مولار شوری تفاوت معنی‌داری با گیاهان کنترل نداشت؛ اما در غلظت‌های ۱۵۰، ۲۵۰ و ۳۵۰ میلی‌مولار NaCl، به ترتیب کاهش ۸/۹٪، ۲۳/۲۷٪ و ۳۳/۰۵٪ نسبت به گیاهان کنترل مشاهده شد.

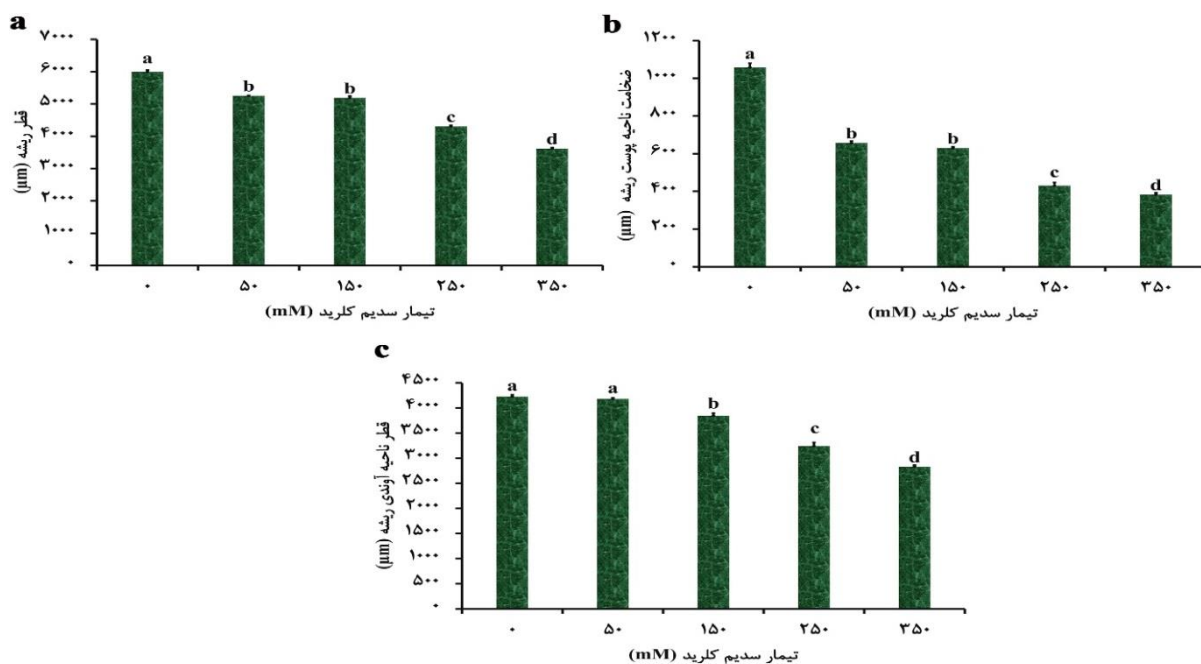
تأثیر تنش شوری بر ویژگی‌های تشریحی ساقه

در برش عرضی، ساقه به شکل بیضی دیده می‌شود. لایه خارجی اپیدرم دارای کرک‌های غده‌ای بود. در ناحیه پوست، چند لایه سلول‌های کلانشیمی زیر اپیدرم مشاهده شد. در استوانه آوندی، دسته‌های آوندی از نوع (کلاترال) بودند، به‌طوری‌که فلونم در سمت بیرونی بافت چوبی قرار داشت. بخش عمده مقطع ساقه نیز از مغز پارانشیمی تشکیل شده بود و در گیاهان کنترل و گیاهان تحت تیمار با ۵۰ و ۱۵۰ میلی‌مولار NaCl، حفره‌ای در مرکز ساقه مشاهده گردید.

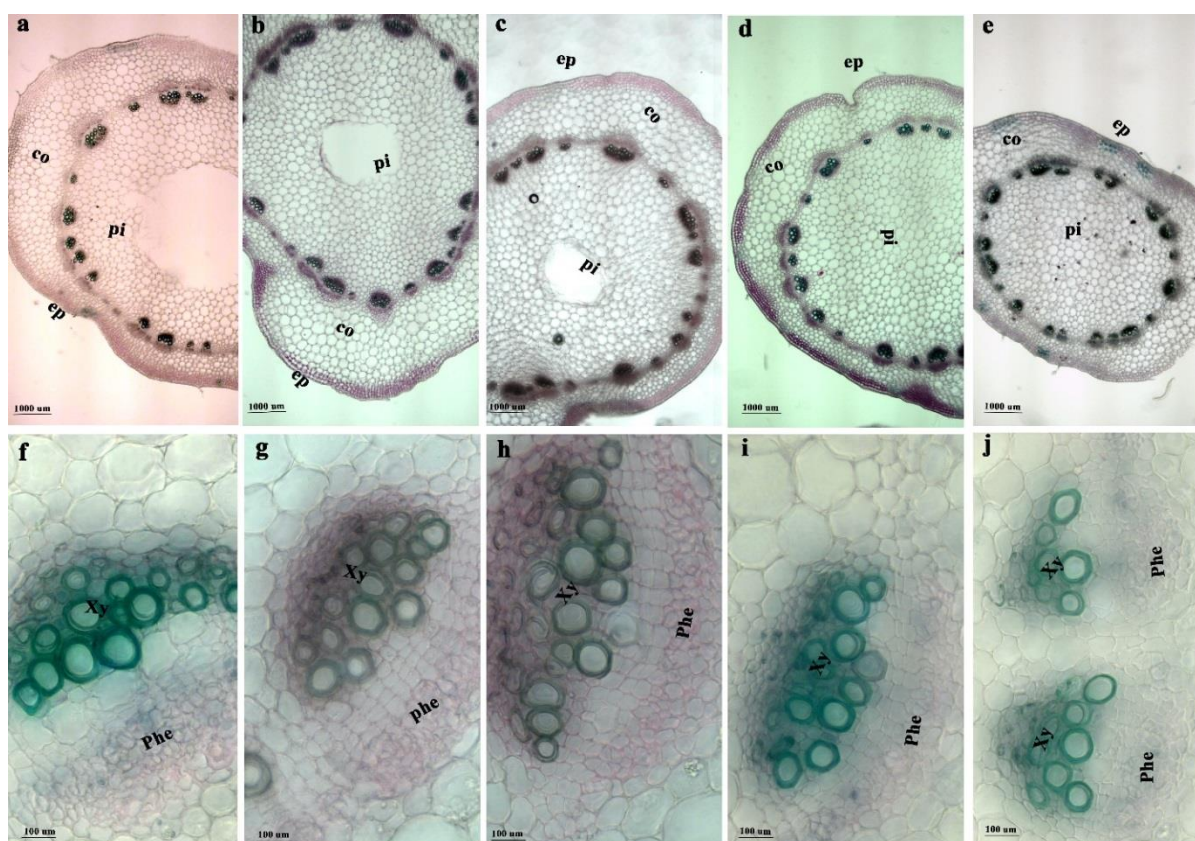
افزایش شوری منجر به کاهش معنی‌دار قطر ساقه و قطر آوند چوبی شد، اگرچه گیاهان تیمار شده با ۵۰ میلی‌مولار تفاوت معنی‌داری در صفت‌های بررسی‌شده نسبت به گیاهان کنترل نشان ندادند (شکل‌های ۴ و ۵، $P > 0.05$). کاهش قطر ساقه به میزان ۰/۶۶٪، ۸/۲۲٪ و ۳۳/۳۶٪ و کاهش قطر آوند چوبی به میزان ۱۳/۰۹٪، ۲۶/۱۹٪ و ۲۸/۴۳٪ به ترتیب در گیاهان تحت تیمار ۱۵۰، ۲۵۰ و ۳۵۰ میلی‌مولار مشاهده شد.



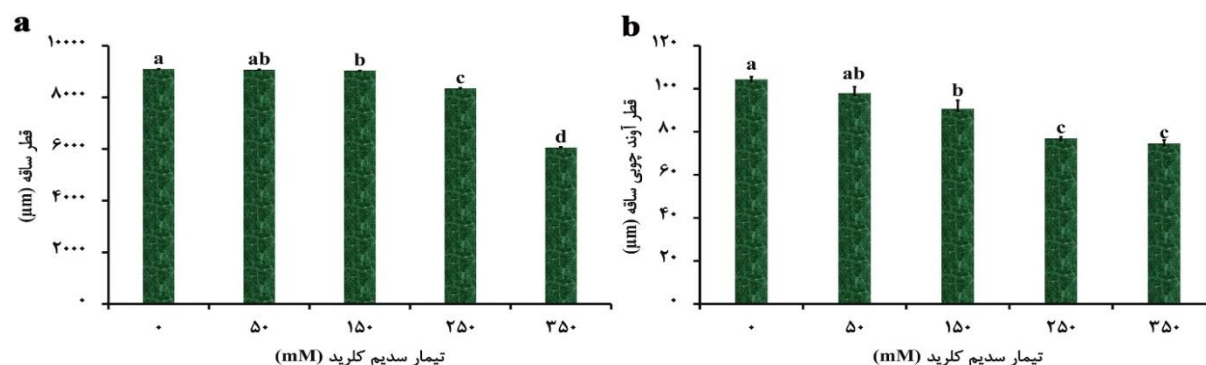
شکل ۲: تأثیر تنش شوری بر ویژگی‌های تشریحی ریشه گیاه اسفناج. a: ریشه گیاهان کنترل b: ریشه گیاهان تحت تیمار ۵۰ میلی‌مولار سدیم کلرید c: ریشه گیاهان تحت تیمار ۱۵۰ میلی‌مولار سدیم کلرید d: ریشه گیاهان تحت تیمار ۲۵۰ میلی‌مولار سدیم کلرید e: ریشه گیاهان تحت تیمار ۳۵۰ میلی‌مولار سدیم کلرید. تصاویر در بزرگمایی X4 هستند. رنگ آمیزی با فست گرین و سافرانین انجام شده است. مخفف‌ها: ep: اپیدرم co: پوست، pi: مغز phe: فلونم xy: گزیم.



شکل ۳: تاثیر تنش شوری بر (a) قطر ریشه (μm)، (b) ضخامت ناحیه پوست ریشه (μm)، قطر ناحیه آوندی ریشه (μm) در گیاه اسفناج. آنالیز با استفاده از آزمون واریانس یک طرفه (One-Way ANOVA) و آزمون دانکن انجام شده است. داده‌ها به صورت میانگین $\pm$ SE گزارش شده‌اند. ستون‌هایی که حروف مشابه دارند از نظر آماری تفاوت معنی داری ندارند ($P < 0.05$).



شکل ۴: تاثیر تنش شوری بر ویژگی‌های تشریخی ساقه. a و f: گیاهان کنترل، b و g: گیاهان تحت تیمار ۵۰ میلی مولار سدیم کلرید، c و h: گیاهان تحت تیمار ۱۵۰ میلی مولار سدیم کلرید، d و i: گیاهان تحت تیمار ۲۵۰ میلی مولار سدیم کلرید، e و j: گیاهان تحت تیمار ۳۵۰ میلی مولار سدیم کلرید. تصاویر a, b, c, d, e در بزرگنمایی X4 و تصاویر f, g, h, i, j در بزرگنمایی X10 هستند. رنگ آمیزی با کارمن زاجی و سبز متیل انجام شده است. مخفف‌ها: ep: اپیدرم، co: پوست، pi: مغز، phe: فلوم و xy: گزپلم.



شکل ۲: تاثیر تنش شوری (a) قطر ساقه (μm)، (b) قطر آوند چوبی ساقه (μm) در گیاه اسفناج. آنالیز با استفاده از آزمون واریانس یک طرفه (One-Way ANOVA) و آزمون دانکن انجام شده است. داده‌ها به صورت میانگین $\pm$ SE گزارش شده‌اند. ستون‌هایی که حروف مشابه دارند از نظر آماری تفاوت معنی‌داری ندارند ($P < 0.05$).

است (شکل ۸). در این پژوهش، نتایج بررسی روزنه‌های برگ گیاه اسفناج نشان داد که در غلظت‌های ۵۰ و ۱۵۰ میلی‌مولار، تعداد روزنه‌ها در هر دو سطح برگ افزایش یافته است. با این حال، تعداد روزنه‌ها در غلظت‌های ۲۵۰ و ۳۵۰ میلی‌مولار نسبت به گیاهان کنترل کاهش یافته است (شکل ۹). تصاویر میکروسکوپی نیز نشان دادند که اندازه سلول‌های نگهبان روزنه و منافذ روزنه در سطح زیرین برگ در غلظت‌های ۲۵۰ و ۳۵۰ میلی‌مولار کاهش یافته است، اما در سطح رویی برگ، اندازه سلول‌های اپیدرمی در این غلظت‌ها افزایش نشان داد (شکل ۸).

بحث

شوری یکی از تنش‌های محیطی است که رشد و توسعه گیاهان را به‌طور قابل‌توجهی تحت تأثیر قرار می‌دهد. در این پژوهش، تأثیر تنش شوری بر شاخص‌های تحمل طول ریشه، وزن خشک گیاه و تغییرات ساختاری در ریشه، ساقه و برگ اسفناج بررسی شد. نتایج نشان داد که با افزایش شوری، شاخص تحمل طول ریشه کاهش می‌یابد. ریشه به‌عنوان نخستین نقطه تماس گیاه با خاک، به دلیل افزایش فشار اسمزی و کاهش جذب آب و مواد مغذی تحت تنش شوری قرار می‌گیرد [۲۱]. این وضعیت، همراه با تخصیص انرژی از رشد به حفظ تعادل اسمزی و یونی، منجر به کاهش رشد بخش‌های هوایی و شاخص تحمل وزن خشک گیاه می‌شود [۲۲]. مطالعات پیشین نیز کاهش طول گیاه در شرایط شوری را تأیید کرده‌اند. به‌عنوان مثال، در *Rocket* و *Mentha canadensis* L. چنین تأثیراتی مشاهده شده است [۲۳ و ۲۴]. با این حال، در بررسی حاضر، گیاهانی که تحت تیمار با ۵۰ و ۱۵۰ میلی‌مولار NaCl قرار داشتند، افزایش جزئی در شاخص

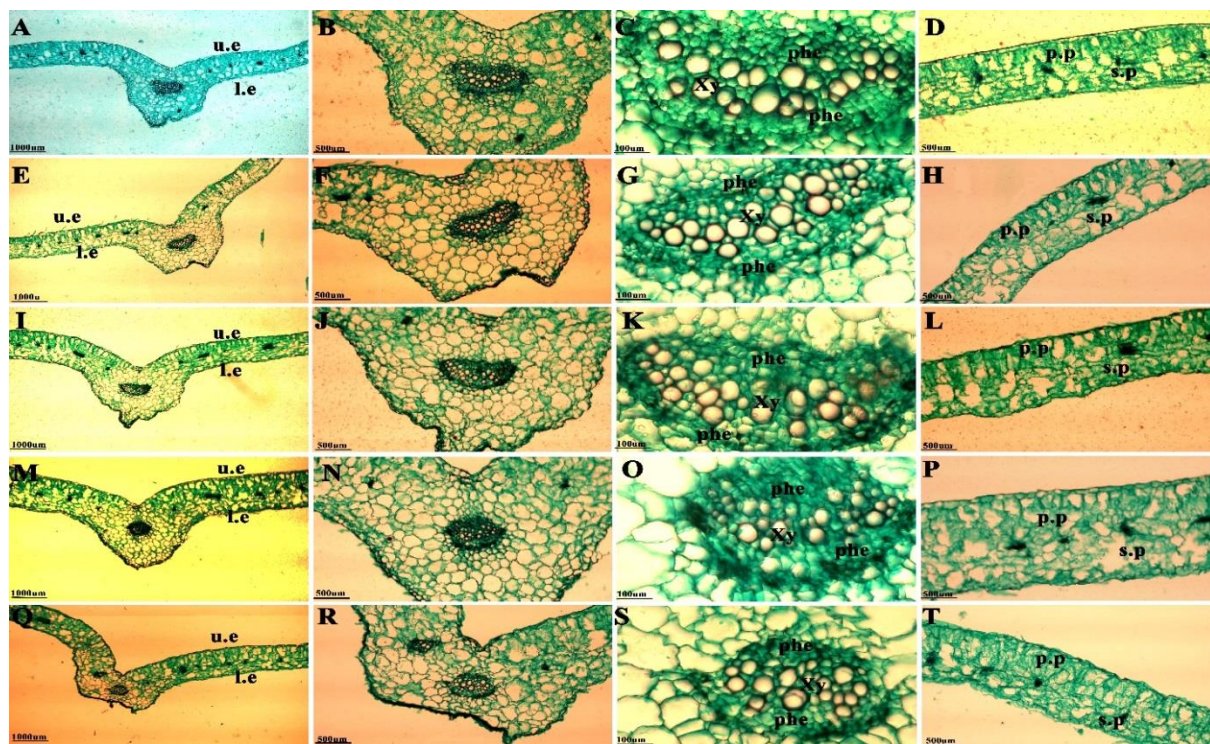
تأثیر تنش شوری بر ویژگی‌های تشریحی برگ

برش عرضی برگ تهیه شده از پهنک، اپیدرم تک‌لایه‌ای را در هر دو سطح نشان می‌دهد که از سلول‌های مستطیل‌شکل پارانشیمی تشکیل شده است. مزوفیل برگ به پارانشیم نردبانی و اسفنجی تفکیک شده است؛ پارانشیم نردبانی شامل سلول‌های بلند و کشیده است که به سمت اپیدرم فوقانی جهت‌گیری دارند، در حالی که پارانشیم اسفنجی با فضاهای بین‌سلولی بیشتر به سمت اپیدرم تحتانی قرار گرفته است (شکل ۶).

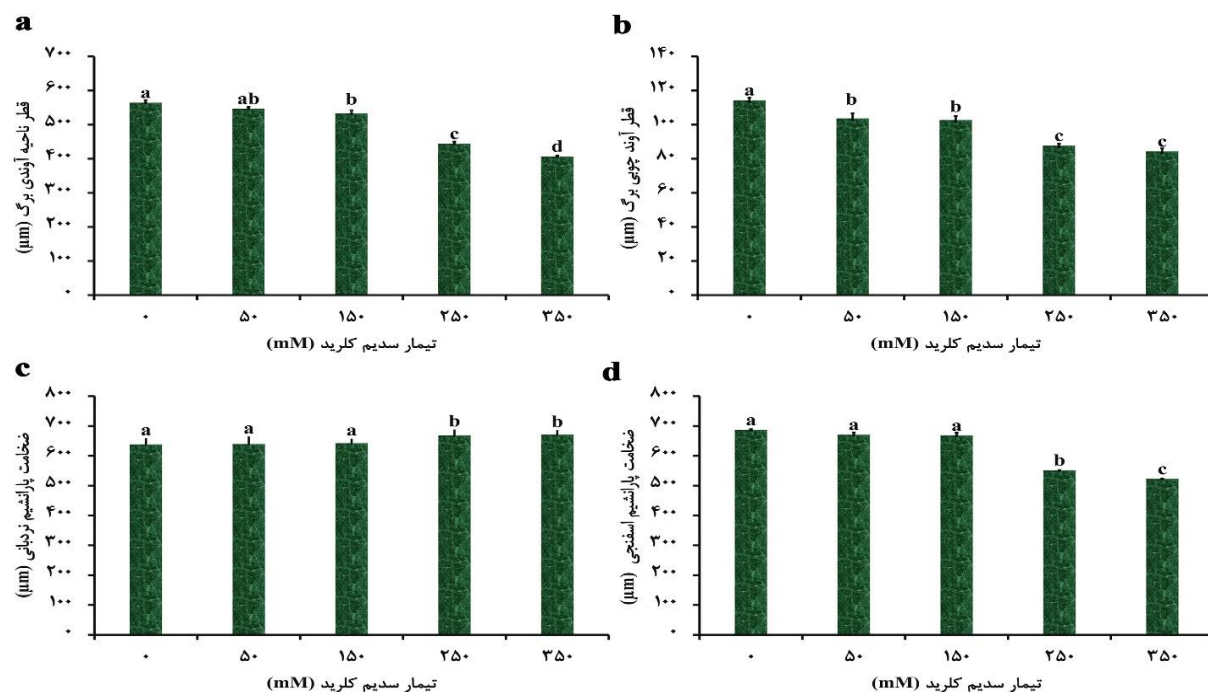
در اثر تنش شوری، تغییرات چشمگیری در قطر رگبرگ میانی، قطر آوند چوبی و ضخامت پارانشیم نردبانی و اسفنجی در گیاهان مورد مطالعه مشاهده شد. مقایسه میانگین داده‌ها نشان داد که افزایش سطح شوری موجب کاهش قطر رگبرگ میانی گردیده است، به‌طوری‌که این کاهش در گیاهان تحت تیمار ۵۰ میلی‌مولار معنی‌دار نبود. قطر آوند چوبی نیز با افزایش شوری کاهش یافت و در تیمارهای ۵۰، ۱۵۰، ۲۵۰ و ۳۵۰ میلی‌مولار به ترتیب ۹/۳۲٪، ۱۰/۱۹٪، ۲۳/۳۲٪ و ۲۶/۲۳٪ کاهش داشت. ضخامت بافت پارانشیم نردبانی و اسفنجی در گیاهان تحت تیمار ۵۰ و ۱۵۰ میلی‌مولار تغییر محسوسی نداشت، اما در گیاهان تحت تیمار ۲۵۰ و ۳۵۰ میلی‌مولار ضخامت پارانشیم نردبانی افزایش و پارانشیم اسفنجی کاهش یافته بود. در گیاهان تحت تیمار ۳۵۰ میلی‌مولار، فضای بین‌سلولی نیز نسبت به سایر گیاهان مورد بررسی کاهش نشان داد (شکل ۶ و ۷).

تأثیر تنش شوری بر روزنه‌های برگ گیاه اسفناج

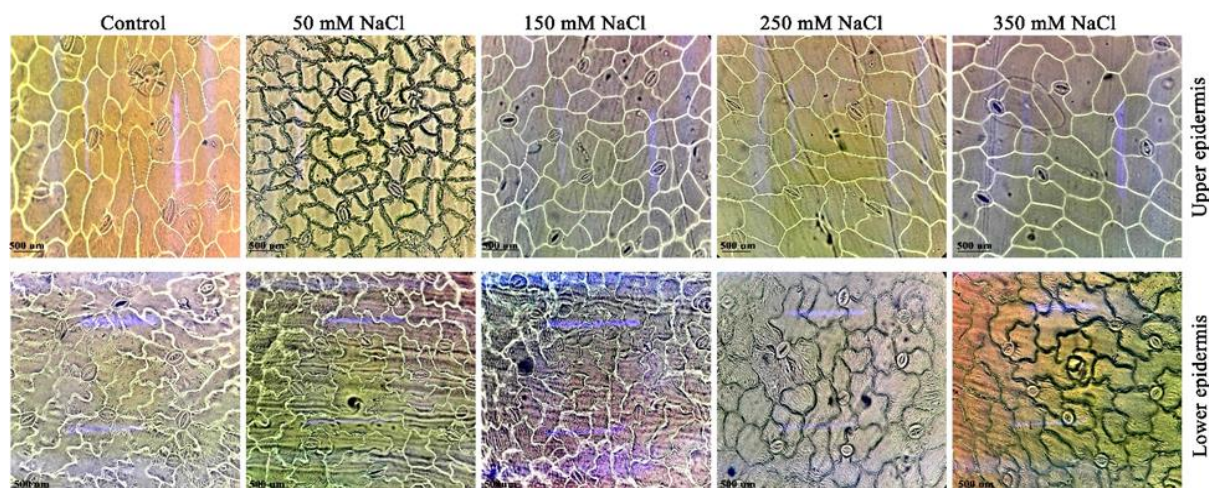
تیپ روزنه در برگ گیاه اسفناج از نوع آنموسیتیک است و تعداد روزنه‌ها در سطح زیرین برگ، در مقایسه با سطح رویی، بیشتر



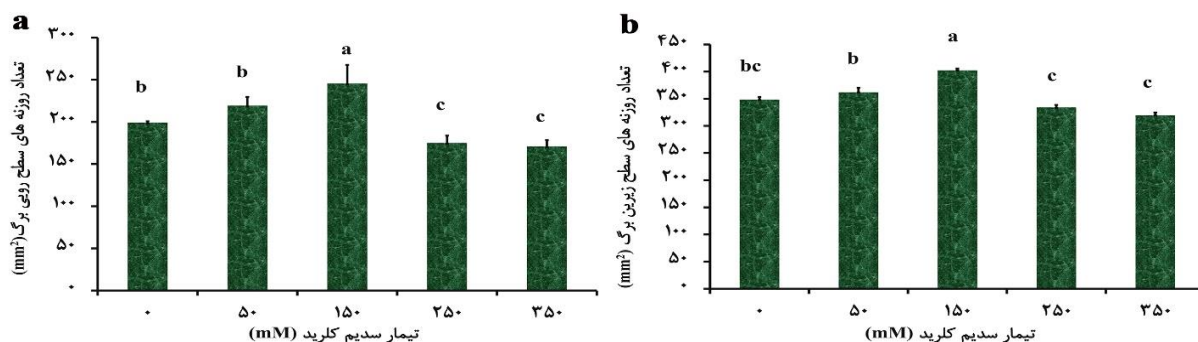
شکل ۶: تاثیر تنش شوری بر ویژگی‌های تشریخی برگ گیاه اسفناج. a, b, c, d: گیاهان کنترل. e, f, g, h: گیاهان تحت تیمار ۵۰ میلی مولار. i, j, k, l: گیاهان تحت تیمار ۱۵۰ میلی مولار. m, n, o, p: گیاهان تحت تیمار ۲۵۰ میلی مولار. q, r, s, t: گیاهان تحت تیمار ۳۵۰ میلی مولار. تصاویر a, e, i, m, q و d, h, l, p و t در بزرگنمایی X4، تصاویر b, f, g, j, n, o, r و c, e, k, s و s و o, k, g, e, تصاویر X10، تصاویر d, h, p و t در بزرگنمایی X10 هستند. رنگ آمیزی با فست گرین و سافرانین انجام شده است. مخفف‌ها: u.e: اپیدرم فوقانی، l.e: اپیدرم تحتانی، phe: فلوم Xy، گزیم، p.p: پارانشیم نردبانی، s.p: پارانشیم اسفنجی



شکل ۷: تاثیر تنش شوری بر (a) قطر ناحیه آوندی برگ (µm)، (b) قطر آوند چوبی برگ (µm)، (c) ضخامت پارانشیم نردبانی (µm)، (d) ضخامت پارانشیم اسفنجی (µm) برگ گیاه اسفناج. آنالیز با استفاده از آزمون واریانس یک طرفه (One-Way ANOVA) و آزمون دانکن انجام شده است. داده‌ها به صورت میانگین $\pm$ SE گزارش شده‌اند. ستون‌هایی که حروف مشابه دارند از نظر آماری تفاوت معنی داری ندارند ($P < 0.05$).



شکل ۸: تاثیر تنش شوری بر روزه‌های سطح رویی و زیرین برگ گیاه اسفناج X10.



شکل ۹: تغییرات تعداد روزنه در (a) سطح رویی و (b) سطح زیرین برگ گیاه اسفناج تحت تنش شوری. آنالیز با استفاده از آزمون واریانس یک طرفه (One-Way ANOVA) و آزمون دانکن انجام شده است. داده‌ها به صورت میانگین $\pm$ SE گزارش شده‌اند. ستون‌هایی که حروف مشابه دارند از نظر آماری تفاوت معنی‌داری ندارند ($P < 0.05$).

در گیاه *Cynodon dactylon* L. تحت شوری را گزارش کردند، همخوانی دارد [۲۸]. کاهش قطر ریشه می‌تواند سازگاری گیاه به شرایط شوری را بهبود بخشد، زیرا ریشه‌های باریک‌تر، خطر آبیولی در آوندهای چوبی را کاهش داده و ویژگی‌های هیدرولیکی مؤثرتری دارند [۲۹ و ۳۰]. همچنین، در گیاهان *Portulaca oleracea* L و *Spergularia marina* ضخامت پوست ریشه و آسیب‌پذیری کمتر برخی تیمارها در برابر شوری گزارش شده است [۳۱ و ۳۲]. آسیب تشریحی ریشه‌ها و برگ‌ها باعث تغییر در جذب برخی از ریز مغذی‌ها می‌شود [۳۳]. در این پژوهش، شوری باعث کاهش قطر ساقه و حذف حفره مغزی در غلظت‌های بالای NaCl شد. کاهش ضخامت بافت‌های چوبی و آبکشی و کاهش قطر آوندهای متاگزایلم در ساقه و برگ، هدایت آب و مواد معدنی را محدود می‌کند [۳۴]. این تغییرات با کاهش رشد ساقه تحت تنش شوری مرتبط است.

وزن خشک نشان دادند. این نتایج با یافته‌های Bano و همکاران (۲۰۲۱) مطابقت دارد، که افزایش جزئی وزن متوسط گیاهچه‌های اسفناج را به فعالیت کانال‌های غیروابسته به ولتاژ نسبت دادند؛ این کانال‌ها به عنوان مسیر اصلی جذب یون سدیم از طریق غشای پلاسمایی در شرایط شوری بالا شناخته می‌شوند [۲۵]. افزون بر این، بزرگ شدن واکنش‌ها برای ذخیره آب و تجمع یون Na^+ به عنوان مکانیسم‌های برای افزایش وزن خشک تحت تنش شوری شناخته شده‌اند [۲۶ و ۲۷].

تغییرات ساختاری در بافت‌های گیاهی یکی از استراتژی‌های مهم گیاهان برای بقا در محیط‌های شور است. نتایج این مطالعه نشان می‌دهد که برخی ویژگی‌های تشریحی ریشه با توجه به شدت شوری و مدت زمان مواجهه با آن دچار تغییرات معنی‌داری می‌شوند. نتایج نشان داد که تنش شوری باعث کاهش قطر ریشه، ضخامت ناحیه پوست و قطر ناحیه آوندی می‌شود. این تغییرات با یافته‌های Hameed و همکاران (۲۰۱۰) که کاهش قطر ریشه

ریشه و آوندهای چوبی، حذف حفره مغزی در ساقه، افزایش تراکم پارانشیم نردبانی، کاهش فضای بین سلولی در بافت اسفنجی و تغییر در تراکم و اندازه روزه‌ها از جمله سازگاری‌های ساختاری گیاه برای مقابله با تنش شوری بودند. این تغییرات به افزایش مقاومت گیاه به تنش شوری کمک کرده و توانایی آن را برای بقا در محیط‌های نامساعد بهبود می‌بخشند.

تشکر و قدردانی

بدینوسیله نویسندگان مراتب سپاس خویش را دانشگاه‌های تبریز و شهید چمران اهواز برای تامین هزینه‌های این پژوهش اعلام می‌نمایند.

Reference:

- [1] Acosta-Motos JR, Penella C, Hernández JA, Díaz-Vivancos P, Sánchez-Blanco MJ, Navarro JM, Gómez-Bellot MJ, Barba-Espín G. Towards a sustainable agriculture: Strategies involving phytoprotectants against salt stress. *Agronomy*. 2020 Feb 1;10(2):194.
- [2] Yadav S, Irfan M, Ahmad A, Hayat S. Causes of salinity and plant manifestations to salt stress: a review. *J. Environ. Biol.* 2011 Sep 1;32(5):667.
- [3] Safdar H, Amin A, Shafiq Y, Ali A, Yasin R, Shoukat A, Hussan MU, Sarwar MI. A review: Impact of salinity on plant growth. *Nat. Sci.* 2019;17(1):34-40.
- [4] Okon OG. Effect of salinity on physiological processes in plants. *Microorganisms in saline environments: strategies and functions*. 2019:237-62.
- [5] Tavakkoli E, Fatehi F, Coventry S, Rengasamy P, McDonald GK. Additive effects of Na⁺ and Cl⁻ ions on barley growth under salinity stress. *J Exp Bot.* 2011 Mar 1;62(6):2189-203.
- [6] Feng X, Hussain T, Guo K, An P, Liu X. Physiological, morphological and anatomical responses of *Hibiscus moscheutos* to non-uniform salinity stress. *Environ Exp Bot.* 2021 Feb 1;182:104301.
- [7] Robin AH, Matthew C, Uddin MJ, Bayazid KN. Salinity-induced reduction in root surface area and changes in major root and shoot traits at the phytomer level in wheat. *J Exp Bot.* 2016 Jun 1;67(12):3719-29.
- [8] Ramezani E, Sepanlou MG, Badi HA. The effect of salinity on the growth, morphology and physiology of *Echium amoenum* Fisch. & Mey. *Afr J Biotechnol.* 2011;10(44):8765-73.

تغییرات تشریحی در برگ، به‌ویژه افزایش بافت پارانشیم نردبانی همراه با کوتاه‌تر و متراکم‌تر شدن سلول‌ها در تیمارهای با غلظت بالای NaCl، مشاهده شد. یافته‌های Yuan و همکاران (۲۰۱۵) در گیاه خیار نیز نشان‌دهنده کوچک‌تر شدن سلول‌های پارانشیم نردبانی و کاهش وضوح مرز میان بافت‌های نرده‌ای و اسفنجی تحت تنش شوری است [۳۵]. این تغییرات منجر به مهار توسعه جانبی برگ و افزایش ضخامت آن می‌شود. همچنین، کاهش فضای بین سلولی در بافت اسفنجی که توسط Garrido و همکاران (۲۰۱۴) و Corti و همکاران (۲۰۲۳) گزارش شده است [۳۶ و ۳۷]، به کاهش هدایت CO₂ در میان برگ و محدودیت فتوسنتز مرتبط است [۳۸].

تراکم و اندازه روزه‌ها نقش مهمی در حفظ تعادل آب و تنظیم تبادلات گازی گیاهان ایفا می‌کنند، به‌طوری‌که تغییرات در ویژگی‌های روزه‌ای به عنوان پاسخ‌های سازگاری گیاهان به تنش شوری محسوب می‌شود [۳۹ و ۴۰]. مشابه با نتایج این بررسی، در گیاه کینوا نیز تغییرات نامنظم تراکم روزه‌ها و افزایش آن در غلظت کم تنش شوری مشاهده شد [۴۱]. افزایش روزه‌ها در گیاهان تحت تیمار با غلظت کم شوری می‌تواند واکنشی برای سازگاری گیاهان به افزایش تعریق و جذب آب باشد [۴۲].

کاهش تراکم روزه‌ها در غلظت‌های ۲۵۰ و ۳۵۰ میلی مولار نیز می‌تواند سازوکاری برای بهینه کردن مصرف آب در غلظت بالای شوری باشد. همچنین، افزایش اندازه سلول‌های اپیدرمی در این تیمارها می‌تواند برای تنظیم اسمزی مفید باشد. با توجه به اینکه بیشتر حجم سلول‌های گلیکوفیت از واکوئل تشکیل شده است، افزایش اندازه‌ی سلول‌های اپیدرمی محتوای نسبی آب را بهبود می‌بخشد و فضای بیشتری برای جداسازی سدیم از اپیدرم برگ ایجاد می‌کند [۴۳]. مشابه این نتایج، در گیاه میخک (*Dianthus caryophyllus*) نیز شوری ۲۰۰ میلی مولار موجب کاهش اندازه و تعداد روزه‌ها شده بود که این نتایج نشان‌دهنده مکانیزم کاهش اتلاف آب از راه تعرق جهت مقاومت در مقابل تنش شوری است [۴۴ و ۴۵].

نتیجه‌گیری کلی

به‌طور کلی، نتایج این مطالعه نشان داد که شوری تغییرات ساختاری زیادی در ریشه، ساقه و برگ ایجاد می‌کند. کاهش قطر

- [9] Akcin TA, Akcin A, Yalcin E. Anatomical changes induced by salinity stress in *Salicornia freitagii* (Amaranthaceae). *Braz J Bot*. 2017 Dec;40:1013-8.
- [10] Boughalleb F, Denden M, Tiba BB. Anatomical changes induced by increasing NaCl salinity in three fodder shrubs, *Nitraria retusa*, *Atriplex halimus* and *Medicago arborea*. *Acta Physiol Plant*. 2009 Sep;31:947-60.
- [11] Hu Y, Fromm J, Schmidhalter U. Effect of salinity on tissue architecture in expanding wheat leaves. *Planta*. 2005 Apr;220:838-48.
- [12] Morelock TE, Correll JC. Spinach. In: *Vegetables I: Asteraceae, brassicaceae, chenopodiaceae, and cucurbitaceae* 2008 (pp. 189-218). New York, NY: Springer New York.
- [13] Ribera A, van Treuren R, Kik C, Bai Y, Wolters AM. On the origin and dispersal of cultivated spinach (*Spinacia oleracea* L.). *Genet Resour Crop Ev*. 2021 Mar;68:1023-32.
- [14] Ribera A, Bai Y, Wolters AM, van Treuren R, Kik C. A review on the genetic resources, domestication and breeding history of spinach (*Spinacia oleracea* L.). *Euphytica*. 2020 Mar;216(3):48.
- [15] Collins K, Zhao K, Jiao C, Xu C, Cai X, Wang X, Ge C, Dai S, Wang Q, Wang Q, Fei Z. SpinachBase: a central portal for spinach genomics. *Database*. 2019;2019: baz072.
- [16] Amin H, Arain BA, Amin F, Surhio MA. Analysis of growth response and tolerance index of *Glycine max* (L.) Merr. under hexavalent chromium stress. *Advancements in Life Sciences*. 2014 Aug 25;1(4):231-41.
- [17] Berlyn GP, Miksche JP. Botanical microtechnique and cytochemistry. 1976 Jan 1.
- [18] Słomka A, Gubernat M, Pliszko A, Bothe H. The unusual property of the sand violet, *Viola rupestris*, to cope with heavy metal toxicity. *Flora*. 2020 Oct 1;271:151663.
- [19] Zhu J, Yu Q, Xu C, Li J, Qin G. Rapid estimation of stomatal density and stomatal area of plant leaves based on object-oriented classification and its ecological trade-off strategy analysis. *Forests*. 2018 Oct 8;9(10):616.
- [20] Paul V, Pandey R, Anand A. Manual of ICAR Sponsored Training Programme for Technical Staff of ICAR Institutes on Physiological Techniques to Analyze the Impact of Climate Change on Crop Plants. ICAR-Indian Agricultural Research Institute (IARI). 2017.
- [21] Narsing Rao MP, Dong ZY, Xiao M, Li WJ. Effect of salt stress on plants and role of microbes in promoting plant growth under salt stress. *Microorganisms in saline environments: strategies and functions*. 2019:423-35.
- [22] Shrivastava P, Kumar R. Soil salinity: A serious environmental issue and plant growth promoting bacteria as one of the tools for its alleviation. *Saudi J Biol Sci*. 2015 Mar 1;22(2):123-31.
- [23] Yu X, Liang C, Chen J, Qi X, Liu Y, Li W. The effects of salinity stress on morphological characteristics, mineral nutrient accumulation and essential oil yield and composition in *Mentha canadensis* L. *Sci Hortic*. 2015 Dec 14;197:579-83.
- [24] Petretto GL, Urgeghe PP, Massa D, Melito S. Effect of salinity (NaCl) on plant growth, nutrient content, and glucosinolate hydrolysis products trends in rocket genotypes. *Plant Physiol Bioch*. 2019 Aug 1;141:30-9.
- [25] Bano S, Iqbal S, Naqvi B, Abbasi K, Siddiqui K, Sattar H, Aman A. Antioxidant enzymes and germination pattern: upshot of high salinity on soluble protein and average weight of *Spinacia oleracea* (spinach) seedlings. *Asian Food Science Journal*. 2021 Mar 20;20(3):112-22.
- [26] Muchate NS, Rajurkar NS, Suprasanna P, Nikam TD. NaCl induced salt adaptive changes and enhanced accumulation of 20-hydroxyecdysone in the in vitro shoot cultures of *Spinacia oleracea* (L.). *Sci Rep-UK*. 2019 Aug 29;9(1):12522.
- [27] Kim BM, Lee HJ, Song YH, Kim HJ. Effect of salt stress on the growth, mineral contents, and metabolite profiles of spinach. *J Sci Food Agr*. 2021 Jul;101(9):3787-94.
- [28] Hameed MA, Ashraf MU, Naz N, Al-Qurainy F. Anatomical adaptations of *Cynodon dactylon* (L.) Pers. from the Salt Range Pakistan to salinity stress. I. Root and stem anatomy. *Pak. J. Bot*. 2010 Jan 1;42(1):279-89.
- [29] Terletskaia N, Duisenbayeva U, Rysbekova A, Kurmanbayeva M, Blavachinskaya I. Architectural traits in response to salinity of wheat primary roots. *Acta Physiol Plant*. 2019 Sep;41(9):157.
- [30] Shoja HM, Khezriani T, Kolahi M, Kazemian M, Kazemi EM, Yazdi M. Response of Tomato (*Solanum lycopersicum* L.) Cultivars to Deficit Irrigation: Anatomical Changes and Catalase Gene Expression. *Journal of Agricultural Science & Technology*. 2024 Jul 1;26(4).
- [31] Akcin TA, Akcin A, Yalcin E. Anatomical adaptations to salinity in *Spergularia marina* (Caryophyllaceae) from Turkey. *Proceedings of the National Academy of Sciences, India Section B: Biological Sciences*. 2015 Jun;85:625-34.
- [32] Alam MA, Juraimi AS, Rafii MY, Abdul

- Hamid A. [Retracted] Effect of Salinity on Biomass Yield and Physiological and Stem-Root Anatomical Characteristics of Purslane (*Portulaca oleracea* L.) Accessions. *BioMed research international*. 2015;2015(1):105695.
- [33] Hasana R, Miyake H. Salinity stress alters nutrient uptake and causes the damage of root and leaf anatomy in maize. *KnE Life Sciences*. 2017 Jul 11;219-25.
- [34] Nassar RM, Kamel HA, Ghoniem AE, Alarcón JJ, Sekara A, Ulrichs C, Abdelhamid MT. Physiological and anatomical mechanisms in wheat to cope with salt stress induced by seawater. *Plants*. 2020 Feb 12;9(2):237.
- [35] Yuan Y, Zhong M, Shu S, Du N, He L, Yuan L, Sun J, Guo S. Effects of exogenous putrescine on leaf anatomy and carbohydrate metabolism in cucumber (*Cucumis sativus* L.) under salt stress. *J Plant Growth Regul*. 2015 Sep;34:451-64.
- [36] Garrido Y, Tudela JA, Marín A, Mestre T, Martínez V, Gil MI. Physiological, phytochemical and structural changes of multi-leaf lettuce caused by salt stress. *J Sci Food Agr*. 2014 Jun;94(8):1592-9.
- [37] Corti E, Falsini S, Schiff S, Tani C, Gonnelli C, Papini A. Saline stress impairs lipid storage mobilization during germination in *eruca sativa*. *Plants*. 2023 Jan 12;12(2):366.
- [38] Parida AK, Das AB, Mittra B. Effects of salt on growth, ion accumulation, photosynthesis and leaf anatomy of the mangrove, *Bruguiera parviflora*. *Trees*. 2004 Mar;18:167-74.
- [39] Ergin N, Kaya MD. Changes in stomatal properties of safflower cultivars under salinity. *Black Sea Journal of Agriculture*. 2023 Jun 3;6(3):246-53.
- [40] Peel JR, Mandujano Sánchez MC, López Portillo J, Golubov J. Stomatal density, leaf area and plant size variation of *Rhizophora mangle* (Malpighiales: Rhizophoraceae) along a salinity gradient in the Mexican Caribbean. *Revista de Biología Tropical*. 2017 Jun;65(2):701-12.
- [41] Yan HO, Shah SS, Zhao W, Liu FU. Variations in water relations, stomatal characteristics, and plant growth between quinoa and pea under salt-stress conditions. *Pak J Bot*. 2020 Feb 1;52(1):1-7.
- [42] Solmaz İ, Sari N, Dasgan Y, Aktas H, Yetisir H, Unlu H. The effect of salinity on stomata and leaf characteristics of dihaploid melon lines and their hybrids. *Journal of Food, Agriculture and Environment*. 2011 Jul 1;9(3&4):172-6.
- [43] Shabala S, Hariadi Y, Jacobsen SE. Genotypic difference in salinity tolerance in quinoa is determined by differential control of xylem Na⁺ loading and stomatal density. *J Plant Physiol*. 2013 Jul 1;170(10):906-14.
- [44] Kwon OK, Mekapogu M, Kim KS. Effect of salinity stress on photosynthesis and related physiological responses in carnation (*Dianthus caryophyllus*). *Horticulture, Environment, and Biotechnology*. 2019 Dec;60:831-9.
- [45] Yarsi G, Sivaci A, Dasgan HY, Altuntas O, Binzet R, Akhoundnejad Y. Effects of salinity stress on chlorophyll and carotenoid contents and stomata size of grafted and ungrafted galia C8 melon cultivar. *Pak. J. Bot*. 2017 Jan 1;49(2):421-6.

Changes in Growth Indices and Anatomy Traits of Spinach (*Spinacia oleracea* L.) under Salinity Stress

Ahmadi L.¹, Mohajel Kazemi E.^{1, 2*}, Mohajjel Shoja H.¹, Kolahi M.³

¹ Department of Plant, Cell and Molecular Biology, Faculty of Natural Sciences, University of Tabriz, Tabriz, Iran.

² Nuclear Agriculture School, Nuclear Science and Technology Research Institute (NSTRI), Atomic Energy Organization of Iran (AEQI), Karaj, Iran

³ Department of Biology, Faculty of Science, Shahid Chamran University of Ahvaz, Ahvaz, Iran.

* (Corresponding author): E.mohajel.k@gmail.com

Received: December 2024

Accepted: March 2025

Abstract

Soil salinization with sodium chloride ions is an abiotic stress that adversely affects many aspects of growth and development in plants. Spinach, which is moderately sensitive to salinity, is also a rich source of vitamins and minerals. In this study, spinach seedlings were irrigated with NaCl solutions at concentrations of 0, 50, 150, 250, and 350 mM for 21 days, followed by morphological and anatomical analyses. The results indicated that salinity stress significantly reduced plant length tolerance index and plant weight index as salinity increased, while a nonsignificant increase in the plant weight index was observed at 50 and 150 mM NaCl. Moreover, root diameter, root stele diameter, root cortex thickness, stem diameter, xylem vessel diameter of the stem, midvein diameter, and xylem vessel diameter within the midvein were reduced as increasing salinity. The spongy and palisade tissues did not show a significant change at 50 and 150 mM NaCl, but at 250 and 350 mM NaCl, the thickness of the palisade tissue increased, while the thickness of spongy tissue decreased. Additionally, the number of abaxial and adaxial stomata on the leaves significantly increased at 50 and 150 mM NaCl, but decreased at higher levels of salinity. Our results suggest that these changes may affect the plant's physiological functions and enhance salinity resistance.

Keywords: Spinach, Salinity, Anatomical features, stomata.