

بررسی تحمل شوری در چند گونه از اکالیپتوس در شرایط آزمایشگاهی

محمد حسن عصاره^۱، تیمور رستمی شاهراجی^۲، آناهیتا شریعت^۳ و فخرالسادات رفیعی^۴

۱- عضو هیات علمی موسسه تحقیقات جنگلها و مراتع کشور، پست الکترونیک: asareh@rifr-ac.ir

۲- عضو هیات علمی دانشگاه گیلان.

۳- کارشناس ارشد موسسه تحقیقات جنگلها و مراتع کشور.

۴- دانشجوی کارشناسی ارشد رشته جنگلداری دانشگاه گیلان.

تاریخ دریافت: ۸۵/۹/۷ تاریخ پذیرش: ۸۵/۱۰/۲۰

چکیده

بیشتر مشکلات شوری در گیاهان عالی در اثر ازدیاد کلرید سدیم ایجاد می‌شود که در خاکهای نواحی خشک، ساحلی و منابع آب آنها گسترش یافته است. در این تحقیق چهار گونه اکالیپتوس شامل *E. microtheca*، *Eucalyptus camaldulensis*، *E. tetragona* و *E. kingsmillii* انتخاب گردید. به منظور بررسی تحمل شوری پنج تیمار نمک طعام (NaCl) شامل غلظتهای صفر (شاهد)، ۵۰، ۱۰۰، ۱۵۰ و ۲۰۰ میلی‌مولار در سه تکرار در قالب طرح فاکتوریل بر پایه کاملاً تصادفی انجام گرفت. نمونه‌برداری از برگهای انتهایی تیمارهای مختلف انجام شد و غلظت رنگیزه‌های گیاهی شامل کلروفیل کل، کلروفیل a و b، کاروتن، قند، پرولین و مولفه‌های رشد از جمله بیوماس، سطح برگ، میزان درصد رطوبت نسبی برگ (RWC)، میزان کمبود آب نسبت به حالت اشباع (WSD)، موجودی هر واحد سطح برگ (LWCA) و سطح ویژه برگی (SLA) و صفات ظاهری از جمله صفات پژمردگی، خشکیدگی و ریزش برگها اندازه‌گیری شد. افزایش تنش شوری به افزایش میزان پرولین، قندهای محلول و نیز افزایش پژمردگی، ریزش و خشکیدگی برگها و کاهش رنگیزه‌های گیاهی و مولفه‌های رشد در هر چهار گونه منجر گردید. در میان گونه‌های مورد بررسی بیشترین تحمل به شوری مربوط به *E. microtheca* می‌باشد که از نظر میزان پرولین، قندهای محلول، رنگیزه‌های گیاهی، SLA، LWCA، WSD بیشترین شاخص‌ها و از نظر صفات پژمردگی، ریزش و خشکیدگی برگها کمترین مقادیر را به خود اختصاص داد.

واژه‌های کلیدی: تنش شوری، اکالیپتوس، کلروفیل، پرولین، قندهای محلول، رشد.

مقدمه

حتی در پروونانس‌های گونه‌ها نیز مشاهده می‌شود. (Morabito et al., 1994). از آنجائی که تنوع بسیار زیادی در گونه‌های مختلف اکالیپتوس وجود دارد، بررسی تحمل شوری در گونه‌های مختلف می‌تواند ما را به انتخاب متحمل‌ترین گونه کمک کند.

شوری زیاد ناشی از کلرید سدیم حداقل سه نوع مشکل خاص در گیاهان ایجاد می‌کند: ۱- فشار اسمزی محلول بیرونی از فشار اسمزی سلولهای گیاهی فزونی

شوری مشکلات متعددی را بر رشد و توسعه گیاه به‌ویژه در گلیکوفیت‌ها از طریق تاثیرات منفی بر خصوصیات فیزیولوژیکی گیاه دارد (Shannon et al., 1994). گونه‌ها و واریته‌های یک جنس توانایی بسیار گسترده‌ای در تحمل نمک دارند. تحمل نمک اغلب به طور وسیعی حتی در گونه‌های بسیار نزدیک و

هر کدام از تیمارها به تنهایی نشان داد. Rawat & Banerjee (1998) اثر شوری NaCl را بر رشد، تولید وزن خشک و فتوستتوز برگ نهالهای *Eucalyptus camaldulensis* Dehnh و *Dalbergia sissoo* Roxb. در چهار سطح ۴۰، ۸۰، ۱۲۰ و ۱۶۰ میلی‌مولار در کشت گلدانی مورد بررسی قرار دادند. شوری تا سطح ۱۶۰mM تاثیری بر زنده‌مانی نهالها نداشت، اما در رشد و تولید وزن خشک بستگی به گونه و غلظت نمک داشت. NaCl تعداد برگها و وزن خشک همه مولفه‌های گیاه را کاهش داد. شوری همچنین باعث تحریک انگیزش تولید ماده خشک در تمام سطوح شوری در *E.camaldulensis* و فقط در سطح ۴۰mM در *D. sissoo* شد. این بررسی نشان داد که سطوح پایین نمک معمولاً باعث انگیزش رشد، تولید بیوماس و سرعت فتوستتوز در دو گونه می‌شوند و *E.camaldulensis* مقاومت به شوری بالاتری را نسبت به *D. sissoo* نشان داد. Prat & Fathi-Ettai (1989) تحمل نمک را در سه گونه اکالیپتوس شامل: *Eucalyptus camaldulensis*، *E.alba* و *E.microtheca* مورد بررسی قرار داد. نهالهای سه ماهه در گلخانه توسط محلولهایی تا شوری ۷۰۰ میلی‌مولار آبیاری شدند. محتوای مواد معدنی و قند بسیار تحت تاثیر مقادیر شوری قرار گرفت. مقدار پتاسیم و کلسیم به طور متنوعی تحت تاثیر شوری بود، در حالی که پروتئین‌های محلول، آمینواسیدها و مقدار قند افزایش یافت.

از دلایل بررسی تحمل گونه‌های اکالیپتوس نسبت به شوری این است که این گیاه دارای توان بالقوه عمده در احیای زمین‌های بی‌حاصل و حتی زمین‌های غرقابی و در درجه بعدی به طور وسیعی برای تولید ماده خام صنایع چوبی، سوخت چوبی و به‌عنوان علوفه استفاده می‌شود. در این تحقیق هدف تشخیص تحمل شوری و معرفی مناسبترین گونه برای احداث و یا احیای جنگل در زمین‌های تحت تاثیر نمک می‌باشد.

می‌گیرد که این خود مستلزم تنظیم اسمزی توسط سلولهای گیاهی به منظور اجتناب پسابیدگی (توانایی نگهداری آب در بافت Desiccation postponement) می‌باشد. ۲- برداشت و انتقال یونهای پتاسیم و کلسیم توسط سدیم اضافی دچار اختلال می‌شود. ۳- سطوح بالای سدیم و کلر اثرات سمی مستقیمی بر سیستم‌های غشایی و آنزیمی ایجاد می‌نماید. مشکل اسمزی در گیاهان تحت تنش خشکی نیز ایجاد می‌شود و از حدود ۱۰۰ سال پیش این اصطلاح وجود دارد که تنش شوری خود شکلی از خشکی فیزیولوژیکی می‌باشد (بسرا و بسرا، ۱۳۸۱). گیاهان عالی همانند جلبکها، تنظیم اسمزی سیتوپلاسمی را از طریق تجمع مواد آلی مختلف مانند گلیسین، بتائین، پرولین، قندها و سایر مواد ایجادکننده اسمز انجام می‌دهند و فشار اسمزی سیتوپلاسمی را بالا می‌برند (Yeo & Flowers, 1984). گیاهان عالی با یک چالش جدی دیگر در مورد تنظیم اسمزی مواجه هستند و آن واکوئل مرکزی بزرگ سلول گیاهی است که تنظیم کننده آماس و گسترش سلولی بوده و حداقل مقدار حجم مایع آن ۲۰ برابر سیتوپلاسم است (Jeschke, 1984).

تنوع ژنتیکی بین گونه‌ای برای تحمل شوری و همچنین تنوع ژنتیکی درون گونه‌ای برای تحمل شوری و غرقابی در جنس اکالیپتوس توسط (Marcar et al., 2002) گزارش شده است. آنها دو گونه *E. grandis* W.Hill و *E. globulus* Labill. subsp. *globulus* که از نظر چوب اهمیت تجاری دارند، ولی از نظر تحمل نمک، تحمل پایین یا متوسط را در مقابل نمک و ترکیب نمک و غرقاب نشان می‌دهند را مورد بررسی قرار دادند. آنها آزمایشهایی را جهت ارزیابی تنوع تحمل نمک و غرقاب در بین پروونانس‌های گونه‌های فوق انجام دادند. در تمامی آزمایشها از مخلوط NaCl، MgSO₄، MgCl₂ و CaCl₂ با نسبت مولی ۱۲:۲:۱ از Na، Mg، Ca و ۱:۸ از Cl:SO₄ استفاده شد. در هر دو گونه وزن خشک ساقه و بلندی با ترکیب نمک و غرقاب کاهش بیشتری نسبت به

مواد و روشها

موجودی هر واحد برگ LWCA، سطح ویژه برگي SLA، اندازه‌گیری کلروفیل a، b، کل، کاروتنوئیدها، قند و پرولین برداشت شدند و صفات ظاهری از جمله صفات پژمردگی، ریزش و خشکیدگی برگها اندازه‌گیری شد.

جدول ۱- ترکیب محلول غذایی مورد استفاده

(Heidari Sharif Abad, 1994)

نام محلول پایه	ماده شیمیایی	g/L
A	KNO ₃	۵۰/۵۵
B	Ca(NO ₃) ₂ .4H ₂ O	۱۱۷/۰۷
C	MgSO ₄ .7 H ₂ O	۴۹/۲۷
D	KH ₂ PO ₄	۲۷/۲۰
	Na ₂ MoO ₄ .2 H ₂ O	۰/۱۲
	CuSO ₄ .2 H ₂ O	۰/۸۰
E	ZnSO ₄ .7 H ₂ O	۰/۲۲
	MnCl ₂ .4 H ₂ O	۱/۸۱
	H ₃ BO ₃	۲/۸۶
	EDTA	۵/۹۹
F	FeSO ₄ .7 H ₂ O	۴/۹۸
G	K ₂ SO ₄	۴۳/۵۵

این آزمایش در گلخانه تحقیقاتی مرکز تحقیقات یزد انجام شد. متوسط دمای روزانه ۲۵ درجه سانتیگراد و متوسط دمای شبانه ۱۵ درجه سانتیگراد بود. چهار گونه *E.camaldulensis*، *Eucalyptus microtheca* و *E.tetragona* و *E.kingsmillii* برای این مطالعه انتخاب گردیدند. بذرها در درون سیلیس با اندازه‌های ۱-۲ میلی‌متر کاشته شدند. سیلیس‌ها از قبل کاملاً شسته و در درون آن استریل شدند. علت استفاده از سیلیس عاری بودن از هر گونه مواد غذایی و نمک می‌باشد، در نتیجه اثر متقابل مربوط به خاک حذف گردیده و تمام شرایط کاملاً کنترل خواهد شد. گلدانها نیز با استفاده از وایتکس ضدعفونی شدند. بعد از شروع جوانه‌زنی جهت آبیاری گلدانها از محلول غذایی (جدولهای ۱ و ۲) استفاده شد. بعد از گذشت سه ماه تیمارهای مختلف شوری شامل صفر (شاهد)، ۵۰، ۱۰۰، ۱۵۰ و ۲۰۰ میلی مولار نمک طعام (NaCl) در سه تکرار در قالب طرح فاکتوریل بر پایه کاملاً تصادفی انجام گرفت.

بعد از گذشت ۲۰ روز از اعمال تیمارها گیاهان به منظور اندازه‌گیری صفات بیوماس، وزن تر ریشه و ساقه، سطح برگ، میزان درصد رطوبت نسبی برگ RWC،

جدول ۲- ترکیبهای محلولهای غذایی (بر حسب میلی‌لیتر استوک غذایی یا گرم در لیتر)

محلول پایه	۰ میلی‌مولار	۱ میلی‌مولار	۲/۵ میلی‌مولار	۵ میلی‌مولار	۱۰ میلی‌مولار
محلول پایه A (میلی‌لیتر)	-	۰/۶۷	۱/۶۶	۳/۳۲	۶/۶۵
محلول پایه B (میلی‌لیتر)	-	۰/۶۷	۱/۶۶	۳/۳۲	۶/۶۵
محلول پایه G (میلی‌لیتر)	۵/۰	۴/۳۵	۳/۳۳	۱/۶۷	۰/۸۳
CaSO ₄ .2 H ₂ O	۰/۴۳	۰/۳۷	۰/۲۹	۰/۱۴	۰/۰۰

برای اندازه‌گیری میزان کل قندهای محلول از روش آنترون استفاده شد (Irigoyen et al., 1992). محتوی پرولین نیز بر اساس وزن تر با استفاده از روش Bates et al., (1973) انجام شد. رنگدانه‌های گیاهی نیز

تمامی محلولهای بالا (صفر، ۱، ۲/۵، ۵ و ۱۰ میلی‌مولار) محتوی ۵ میلی‌لیتر محلول پایه C، ۱/۲۵ میلی‌لیتر محلول پایه D، ۰/۵ میلی‌لیتر محلول پایه E و ۴ میلی‌لیتر محلول پایه F می‌باشند.

داده‌های حاصل از اندازه‌گیری صفات فیزیولوژیکی و مورفولوژیکی در نرم‌افزار SPSS 9 آنالیز شدند.

نتایج

اثر تنش خشکی بر رنگیزه‌های گیاهی

نتایج حاصل از تجزیه واریانس رنگیزه‌های گیاهی نشان داد که از نظر میزان کلروفیل کل، کلروفیل a، b و کاروتن میان چهار گونه و همچنین میان تیمارهای مختلف شوری اختلاف کاملاً معنی‌داری وجود دارد. همچنین اثر متقابل گونه × تیمار نیز کاملاً معنی‌دار می‌باشد و این موضوع بیانگر این است که روند تاثیر تیمارها در گونه‌های مختلف با یکدیگر متفاوت می‌باشد. جدول مقایسه میانگین چهار گونه از نظر کلروفیل کل و کلروفیل a، b و کاروتن در چهار گروه مجزا قرار داده شد. در شکل ۱ روند تغییرات کلروفیل کل در مقابل تیمارهای مختلف شوری بررسی شده است. در تیمار شاهد در هر چهار گونه مقدار رنگیزه گیاهی بالاتر از تیمارهای مختلف شوری می‌باشد و به ترتیب با افزایش مقدار شوری از میزان کلروفیل کاسته شده است. در جدول ۵ همبستگی صفات رنگیزه‌های گیاهی با سایر صفات بررسی شده است. مقدار کلروفیل کل با صفات SLA، RWC همبستگی مثبت و با صفات WSD، سطح برگ، پژمردگی، ریزش و خشکیدگی همبستگی منفی نشان داد. مقدار کاروتن نیز با قند همبستگی مثبت، ولی با صفات ظاهری گیاه همبستگی منفی نشان داد.

اثر تنش بر میزان پرولین و قندهای محلول

تنش خشکی غلظت پرولین و قند برگها را در هر چهار گونه افزایش داد (شکل‌های ۲ و ۳). همچنین تجزیه واریانس نیز نشان داد که میان گونه‌ها، تیمارها و نیز اثرات متقابل آنها همگی تفاوت کاملاً معنی‌دار از نظر آماری وجود دارد. همچنین با استفاده از آزمون دانکن، گونه‌ها از

با استفاده از روش استن استخراج شدند (Jason, 1978; Wintermans & Motes, 1965).

سطح ویژه برگگی (SLA: Specific Leaf Area)

(عشریه، ۱۳۷۹): این معیار از طریق رابطه زیر در هر زمان معین می‌تواند تعیین شود: (وزن ماده خشک برگ / سطح برگ در گیاه) = سطح ویژه برگگی SLA

موجودی آب هر واحد سطح برگ (LWCA: Leaf Water Content per unit leaf Area)

(عشریه، ۱۳۷۹): این معیار از طریق رابطه زیر در هر زمان محاسبه می‌شود:

سطح برگ / (وزن خشک برگ - وزن تر برگ) = LWCA

تعیین میزان درصد رطوبت نسبی برگ

(RWC: Relative Water Content) (مسعودسینکی،

۱۳۸۱): برای اندازه‌گیری RWC ساعت ۸ صبح (دما در

حدود ۱۷ درجه سانتیگراد) برگهای انتهایی گیاه که شامل

برگهای جوانتر بود به وزن ۱۰۰ میلی گرم برش داده شد.

بلافاصله توزین و به لوله‌های آزمایش دردار محتوی آب

مقطر وارد شدند و بعد از ۶ ساعت وزن آماس برگها

تعیین شد سپس برگها به داخل آون با دمای ۷۰ c درجه

سانتیگراد منتقل شده و بعد از ۴۸ ساعت وزن خشک

برگها بدست آمد. مقدار رطوبت نسبی برگها با استفاده از

رابطه زیر به دست آمد:

$$RWC = \frac{WF - WD}{WT - WD} * 100$$

WF: وزن تر برگها

WD: وزن خشک برگها

WT: وزن آماس برگها

تعیین میزان کمبود آب نسبت به حالت اشباع

(WSD: Water Saturation Deficient) (مسعود سینکی،

۱۳۸۱): $WSD = 100 - RWC$ برای محاسبه این مولفه از

فرمول فوق استفاده می‌شود که در اینجا میزان کمبود آب

نسبت به ۱۰۰٪ رطوبت برگ در نظر گرفته می‌شود.

اثر تنش شوری بر چهار گونه از نظر صفات بیوماس، سطح برگ، آماس و پژمردگی معنی دار بود. اثر تیمارهای مختلف شوری بر کلیه صفات، به غیر از بیوماس و LWCA معنی دار بود. به این مفهوم که تیمارهای مختلف شوری توانسته‌اند اختلاف معنی داری را از نظر بیشتر صفات ایجاد کنند. جدول مقایسه میانگین (جدول ۴)، گونه‌های مختلف را از نظر صفات آماس، بیوماس، خشکیدگی در دو گروه و از نظر سطح برگ در سه گروه تقسیم بندی نمود.

نظر مقدار پرولین به سه گروه و از نظر مقدار قندها به چهار گروه مستقل متمایز گشتند. همچنین جدول همبستگی صفات نشان داد که مقدار پرولین با مقادیر قند، آماس، WSD، پژمردگی، ریزش و خشکیدگی همبستگی مثبت و معنی دار و با RWC همبستگی منفی و معنی دار دارد. مقادیر قند نیز با میزان کاروتن، پرولین، آماس و WSD همبستگی مثبت و با RWC همبستگی منفی نشان داد. در شکل ۴ رابطه سه گانه پرولین، قند و RWC مشاهده می‌شود.

جدول ۳- میانگین مربعات حاصل از تجزیه واریانس اثر شوری بر *Eucalyptus camaldulensis*، *E.tetragona*، *E.microtheca* و *E.kingsmillii* در آزمایش فاکتوریل

صفات	منابع تغییرات	گونه	تیمار	گونه×تیمار	خطا
خشکیدگی		۰/۳۱ ns	۰/۲۹**	۰/۰۲۴ ns	۰/۰۱۸
ریزش		۰/۱۴ ns	۰/۱۱**	۰/۰۰۹۸ ns	۰/۰۰۷۹
پژمردگی		۰/۳۵**	۰/۱۰**	۰/۰۰۵۴ ns	۰/۰۰۳۸
بیوماس		۶/۸**	۱/۵ ns	۰/۰۳۶ ns	۱/۰۶
WSD		۰/۰۸۹ ns	۰/۱۳**	۰/۰۱۳**	۰/۰۵۳
RWC		۰/۲۹ ns	۰/۵۱**	۰/۰۳۹ *	۰/۰۱۶
LWCA		۰/۳۳ ns	۰/۱ ns	۰/۰۶۲ ns	۰/۰۶۶
SLA		۶۵۸ ns	۴۹۱۰**	۱۳۳۰ ns	۱۲۰۸
آماس		۰/۱۶**	۰/۱۷**	۰/۰۰۵ ns	۰/۰۰۴
سطح برگ		۸۰۹۰۴۷*	۵۳۱۳۰۳*	۲۸۵۳۰۲ ns	۰/۰۱۷
قند		۲۱۹۵۷**	**	۳۹۴۶۰**	۳۲۳
پرولین		۱/۶**	۲/۶**	۰/۲۳**	۰/۰۳۱
کاروتن		۱۰۷۳**	۲۹۳**	۱۷۴**	۰/۰۹
کلروفیل b		۱/۱**	۱/۷**	۰/۰۸**	۰/۰۰۵۳
کلروفیل a		۲/۹**	۱/۹**	۰/۰۱۰**	۰/۰۱۱
کلروفیل کل		۵/۳**	۵/۲**	۰/۰۲۴**	۰/۰۰۹۸

** : معنی دار در سطح ۱ درصد، * : معنی دار در سطح ۵ درصد، ns : معنی دار نیست.

جدول ۴- جدول مقایسه میانگین صفات مختلف ۴ گونه

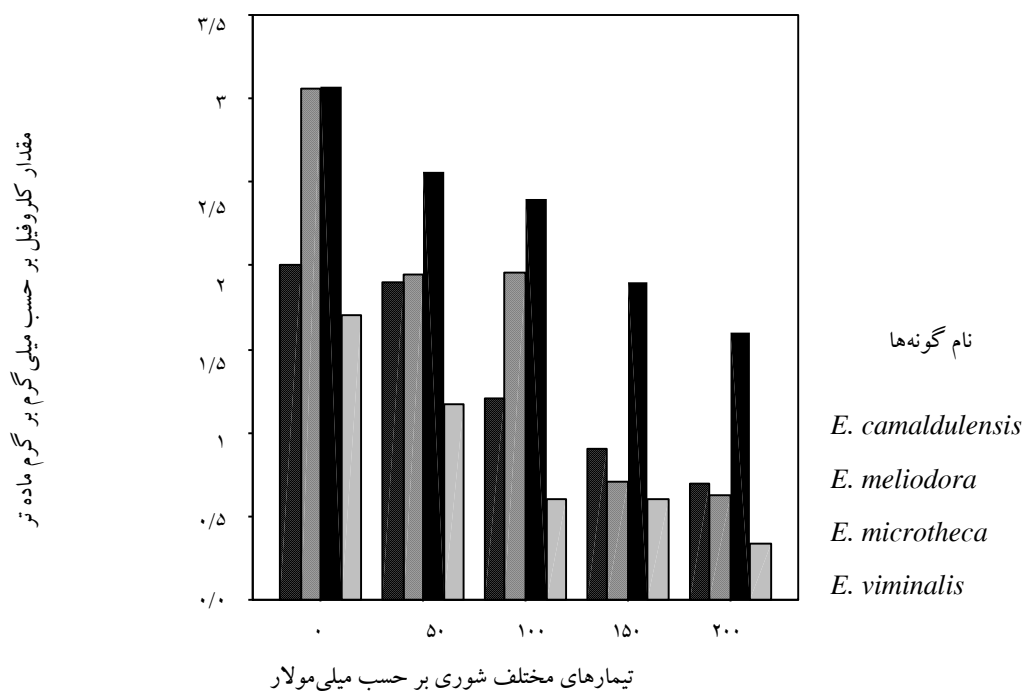
E.kingsmillii و *E.tetragona*، *E.microtheca*، *Eucalyptus camaldulensis* به روش دانکن

صفات منابع تغییرات	کلروفیل کل	کلروفیل a	کلروفیل b	کاروتن	پرویلین	قند	سطح برگ	آماس	SLA	LWCA	RWC	WSD	بیوماس	پژمردگی (%)	ریزش (%)	خشکیدگی (%)
<i>E. microtheca</i>	۲/۳ A	۱/۶۴ A	۱/۱۲ A	۲۲/۹ A	۱/۴۹ A	۱۵۱۴/۸ A	BC ۹۶۶/۲	۰/۱۵ AB	۷۹/۹۸ A	۱/۲۳ A	۱/۰۲ A	۰/۱۶ A	۱/۲۴ B	۶/۸ A	۶/۸ A	۱۲/۳ A
<i>E. camaldulensis</i>	۱/۳۴ C	۰/۸۷ C	۰/۸۰ C	۱۸/۳۲ C	۱/۱۵ B	۱۲۶۹/۹ B	۱۲۲۵/۳ AB	۰/۱۸ A	۶۴/۰۴ A	۱/۱۷ A	۱/۱۱ A	۰/۱۱ A	۲/۶ A	۹/۸ A	۸/۸ A	۱۹/۲ AB
<i>E. tetragona</i>	۰/۸۸ D	۰/۵۹ D	۰/۴۶ D	۲۰/۱۷ B	۰/۷۹ C	۱۲۱۷/۶ C	۱۳۶۷ A	۰/۲۰ A	۶۹/۸۵ A	۱/۱۳ A	۱/۰۶ A	۰/۱۶ A	۱/۲۴ B	۸/۱ A	۷/۵ A	۱۸/۲ AB
<i>E. kingsmillii</i>	۱/۶۶ B	۰/۹۶ B	۰/۹۱ B	۳/۹۶ D	۰/۸۲ C	۶۱۴/۱ D	۸۶/۲ C	۰/۱۲ B	۷۲/۸۰ A	۱/۱۳ A	۱/۱۲ A	۰/۱۳ A	۱/۲۸ B	۱۷ B	۱۳ A	۲۳/۴ B

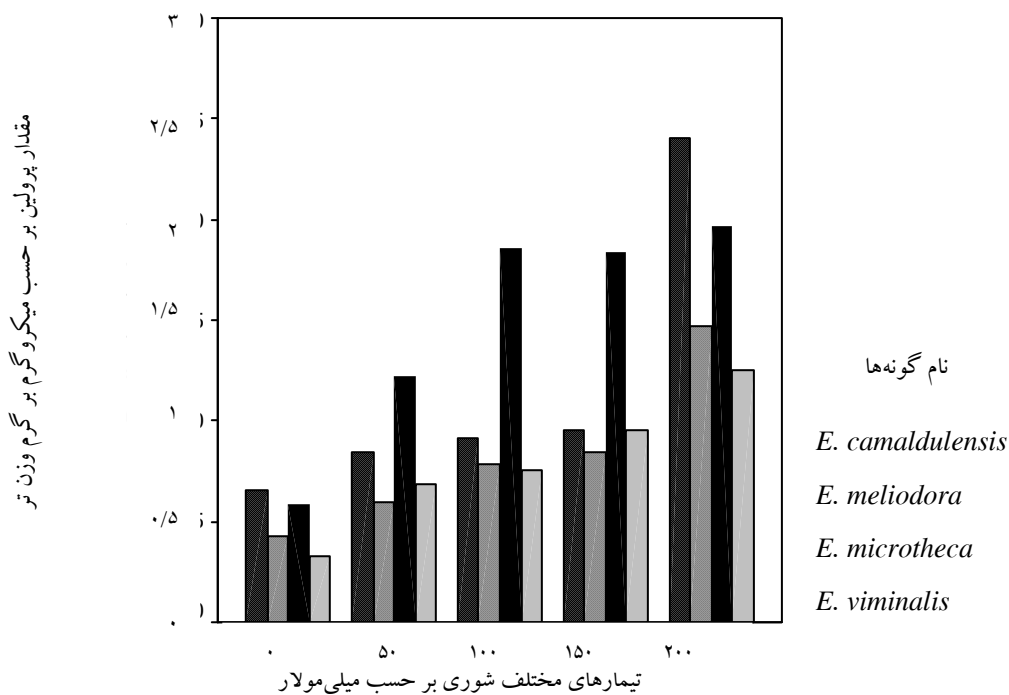
جدول ۵- همبستگی میان صفات مختلف در ۴ گونه اکالیپتوس تحت تنش شوری

صفات	کلروفیل کل	کاروتن	پرویلین	قند	آماس	SLA	RWC	WSD	سطح برگ	پژمردگی	ریزش	خشکیدگی
کلروفیل کل ۱	۰/۱۷ ^{ns}	۰/۱۷ ^{ns}	۰/۲۲ ^{ns}	۰/۱۵ ^{ns}	۰/۴۱ ^{ns}	۰/۳۲ *	۰/۴۷ ^{**}	۰/۳۰ *	۰/۵۲ ^{**}	۰/۵۱ ^{**}	۰/۵۹ ^{**}	
کاروتن ۱	۰/۰۳ ^{ns}	۰/۲۲ ^{ns}	۰/۴۲ ^{**}	۰/۱۰ ^{ns}	۰/۱۳ ^{ns}	۰/۲۰ ^{ns}	۰/۱۸ ^{ns}	۰/۴۹ ^{**}	۰/۲۶ *	۰/۲۵ *		
پرویلین ۱	۰/۰۲ ^{ns}	۰/۶۳ ^{**}	۰/۳۰ *	۰/۳۲ *	۰/۵۳ ^{**}	۰/۱۴ ^{ns}	۰/۱۴ ^{ns}	۰/۴۱ ^{**}	۰/۴۳ ^{**}	۰/۴۲ ^{**}		
قند ۱	۰/۴۲ ^{**}	۰/۶۳ ^{**}	۰/۳۵ ^{**}	۰/۱۷ ^{ns}	۰/۳۹ ^{**}	۰/۲۳ ^{ns}	۰/۲۳ ^{ns}	۰/۲۳ ^{ns}	۰/۰۴ ^{ns}	۰/۰۵ ^{ns}		
آماس ۱	۰/۱۰ ^{ns}	۰/۳۰ *	۰/۳۵ ^{**}	۰/۳۳ ^{**}	۰/۱۰ ^{ns}	۰/۳۳ ^{**}	۰/۰۱ ^{ns}	۰/۹۳ ^{**}	۰/۱۸ ^{ns}	۰/۳۱ *		
SLA ۱	۰/۱۳ ^{ns}	۰/۳۲ *	۰/۱۷ ^{ns}	۰/۳۳ ^{**}	۰/۲۳ ^{ns}	۰/۲۳ ^{ns}	۰/۲۳ ^{ns}	۰/۲۳ ^{ns}	۰/۲۱ ^{ns}	۰/۲۱ ^{ns}		
RWC ۱	۰/۲۰ ^{ns}	۰/۵۳ ^{**}	۰/۳۹ ^{**}	۰/۰۱ ^{ns}	۰/۲۳ ^{ns}	۱	۱	۱	۰/۲ ^{ns}	۰/۵۴ ^{**}		
WSD ۱	۰/۴۷ ^{**}	۰/۲۰ ^{ns}	۰/۵۳ ^{**}	۰/۳۹ ^{**}	۰/۰۱ ^{ns}	۰/۲۳ ^{ns}	۱	۱	۰/۲ ^{ns}	۰/۶۳ ^{**}		
سطح برگ ۱	۰/۳۰ *	۰/۱۸ ^{ns}	۰/۱۴ ^{ns}	۰/۹۳ ^{**}	۰/۲۱ ^{ns}	۰/۲۱ ^{ns}	۰/۲ ^{ns}	۱	۰/۰۲ ^{ns}	۰/۰۱ ^{ns}		
پژمردگی ۱	۰/۵۲ ^{**}	۰/۴۹ ^{**}	۰/۴۱ ^{**}	۰/۱۸ ^{ns}	۰/۱۸ ^{ns}	۰/۲۷ *	۰/۶۳ ^{**}	۰/۶۳ ^{**}	۱	۰/۷۵ ^{**}		
ریزش ۱	۰/۵۱ ^{**}	۰/۲۶ *	۰/۴۳ ^{**}	۰/۰۵ ^{ns}	۰/۳۱ *	۰/۲۱ ^{ns}	۰/۵۴ ^{**}	۰/۵۴ ^{**}	۰/۲۱ ^{ns}	۰/۷۵ ^{**}		
خشکیدگی ۱	۰/۵۹ ^{**}	۰/۲۵ *	۰/۴۲ ^{**}	۰/۰۷ ^{ns}	۰/۱۳ ^{ns}	۰/۲۲ ^{ns}	۰/۴۹ ^{**}	۰/۴۹ ^{**}	۰/۰۱ ^{ns}	۰/۶۲ ^{**}		

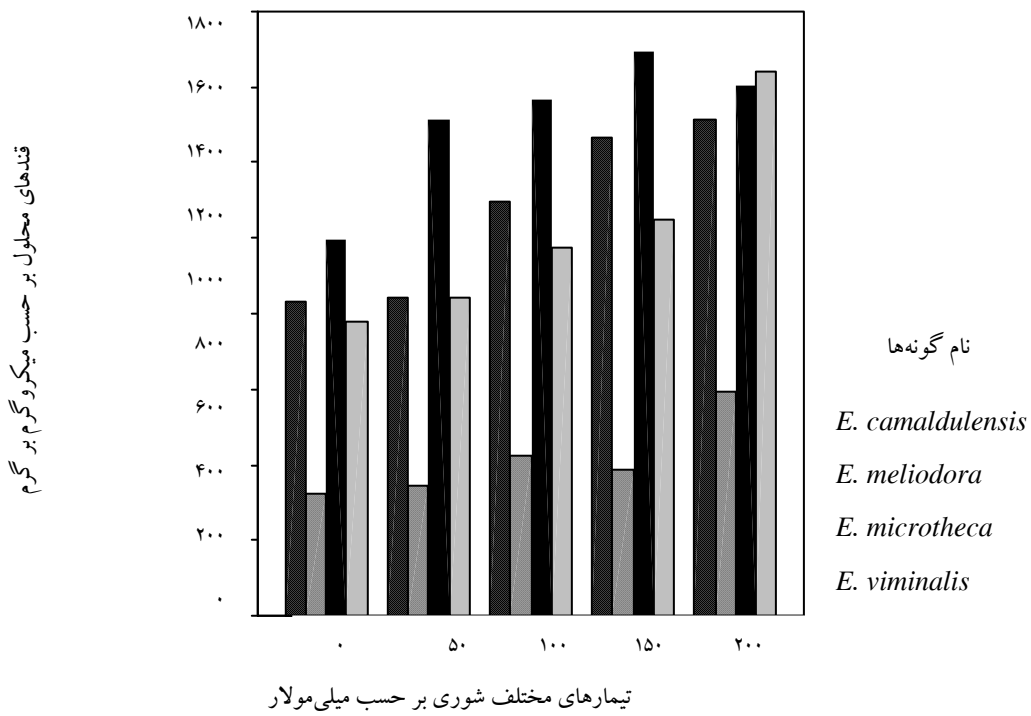
** : معنی دار در سطح ۱ درصد، * : معنی دار در سطح ۵ درصد، ns : معنی دار نیست.



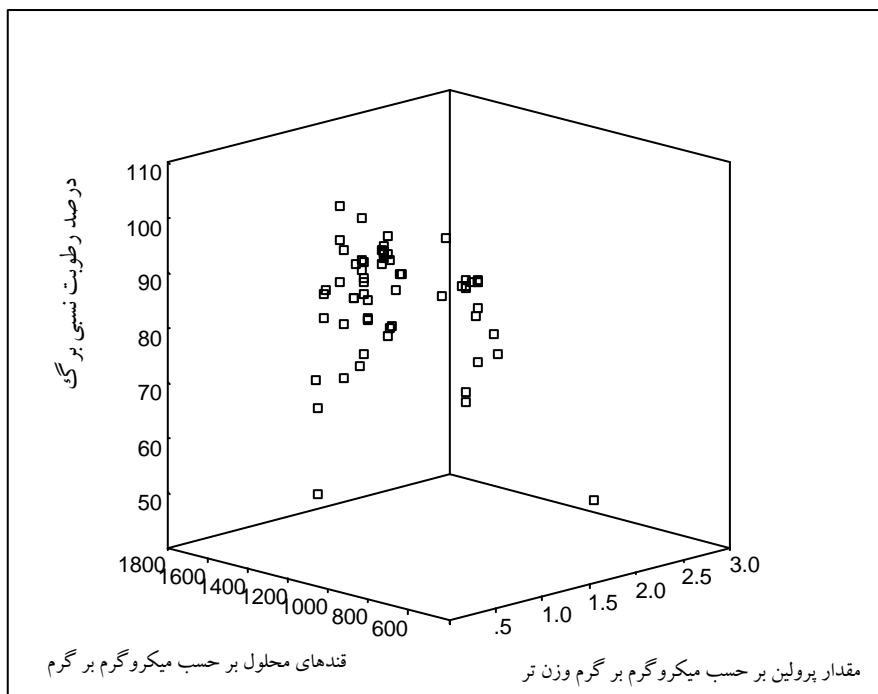
شکل شماره ۱- اثر تیمارهای مختلف تنش شوری بر مقدار کلروفیل کل در ۴ گونه اکالیپتوس



شکل شماره ۲- اثر تیمارهای مختلف تنش شوری بر پروتئین در ۴ گونه اکالیپتوس



شکل شماره ۳- اثر تیمارهای مختلف تنش شوری بر قندهای محلول در ۴ گونه اکالیپتوس



شکل ۴- اثر تیمارهای مختلف تنش شوری بر مقدار RWC، پرولین و قندهای محلول در ۴ گونه اکالیپتوس

بحث

یکی از اثرات شوری در گیاه کاهش فعالیت فتوسنتزی در آن است که موجب کاهش مقدار کلروفیل و کاهش جذب CO₂ و ظرفیت فتوسنتزی می‌گردد (Francisco et al., 2002). تنش شوری باعث کاهش معنی‌دار کلروفیل در هر چهار گونه شد. گونه *E. microtheca* در مقایسه با گونه‌های دیگر از نظر کلروفیل کل، کلروفیل a، کلروفیل b بیشتر از سه گونه مورد مطالعه بود. به نظر می‌رسد که کاهش غلظت کلروفیل به واسطه اثر کلروفیل‌لاز، پراکسیداز و ترکیبهای فنلی و در نتیجه تجزیه کلروفیل باشد (Bates et al., 1973). تفاوت‌های مشاهده شده در سنتز کلروفیل گیاهان مختلف به هنگام شوری نتیجه عمل مسیرهای مختلف سنتزی می‌باشد که با آنزیم‌های متفاوت همراه بوده و این آنزیم‌ها پاسخ‌های متفاوتی به خشکی نشان می‌دهند (Iyengar & Reddy, 1996). تاثیر معنی‌دار تنش بر غلظت کلروفیل در مرحله ابتدایی رشد گیاه به معنی کاهش توان بالقوه تولید و کاهش ظرفیت ذخیره سازی می‌باشد که در مورد گیاهی مانند اکالیپتوس که از چوب آن استفاده صنعتی و از برگ‌های آن اسانس گرفته می‌شود، می‌تواند بازده تولید را کاهش دهد.

تحت تنش شوری، غلظت پرولین در هر چهار گونه به شدت افزایش یافت. بیشترین مقدار پرولین در تیمار شوری ۲۰۰ میلی‌مولار در گونه *E. camaldulensis* مشاهده شد. البته با توجه به جدول مقایسه میانگین به روش دانکن میانگین پرولین در تیمارهای مختلف در گونه *E. microtheca*، دارای بیشترین مقدار است. افزایش پرولین نشان‌دهنده نقش این اسید آمینه در تنظیم اسمزی می‌باشد. تنظیم اسمزی در گیاهان سازوکار عمده اجتناب از تنش‌های آبی در محیط‌های خشک و شور است و به طور کلی به کاهش توان بالقوه اسمزی در اثر تجمع مواد محلول در شرایط تنش‌های خشکی و شوری اطلاق می‌گردد و شدت انجام آن به سرعت و میزان

توسعه تنش، نوع و سن اندام و تنوع ژنتیکی درون و بین گونه‌ای بستگی دارد (Bajji et al., 2001). علاوه بر تنظیم اسمزی، پرولین به عنوان یک محافظ در برابر تنش عمل می‌کند، بدین ترتیب که به طور مستقیم با ماکرومولکولها اثر متقابل داشته و از این طریق به حفظ شکل و ساختار طبیعی آنها تحت شرایط تنش کمک می‌کند (Kuznetsov & Shevyakova, 1999).

(Woodward & Bennet, 2005) نیز در تحقیقی افزایش مقدار پرولین را در کلونهای مقاوم به شوری *Eucalyptus camaldulensis* نشان دادند، درحالی‌که در کلونهای حساس هیچ افزایشی نسبت به شاهد در مقابل تنش شوری مشاهده نشد. طی یک تقسیم‌بندی گیاهان تحت تنش شوری به سه دسته با راهبرد مقاومت از طریق تجمع پرولین یا گلیسین بتائین و یا هر دو تقسیم شده‌اند (Larher et al., 1996). بررسی تجمع پرولین در آزمایش‌های آنها نشان داد که گونه‌های مقاومتر پرولین را به عنوان محلول سازشی در تنظیم و حفظ نیروی اسمزی استفاده می‌کنند. با توجه به تجمع بالای پرولین در گونه *E. microtheca* می‌توان به این نتیجه اذعان داشت که این گیاه از راهبرد تجمع پرولین در مقاومت به تنش شوری پیروی می‌کند. رضائی و همکاران (۱۳۸۳)، اثر شوری خاک را در دو رقم مقاوم پنبه به نام سای‌اکرا و نیمه مقاوم ساحل تحت چهار سطح شوری خاک با هدایت الکتریکی ۰/۶ (شاهد)، ۶/۳، ۱۲/۳ و ۱۶ (دسی‌زیمنس بر متر) مورد بررسی قرار دادند. تنش شوری به کاهش طول ساقه‌چه، ریشه‌چه، مقدار کلروفیل (a، b و a+b) در هر دو رقم منجر شد. افزایش القا شده در مقدار پرولین، قندهای محلول، پروتئین‌های محلول در رقم سای‌اکرا به طور معنی‌داری بالاتر بود.

قندهای محلول دسته دیگری از محافظت‌کننده‌های اسمزی هستند. تجمع کربوهیدرات‌های محلول در پاسخ به تنش‌های محیطی در ارتباط با تنظیم اسمزی و یا حفاظت غشاهای سلولی می‌باشد. محتوای قندهای محلول ممکن

می‌شود، در صورتی که گونه‌ها آب شیرین دریافت کنند به سرعت به شادابی اولیه باز می‌گردند.

در کل با توجه به صفات مختلف بررسی شده می‌توان این‌طور نتیجه‌گیری کرد که در میان گونه‌های مورد مطالعه *E.microtheca* نسبت به تیمارهای مختلف شوری متحمل‌تر می‌باشد.

منابع مورد استفاده

- بسرا، ا. اس. و بسرا، آر. ک. ترجمه: کافی، م. و مهدوی دامغانی، ع. م.، ۱۳۸۱. مکانیسم‌های مقاومت به تنش‌های محیطی در گیاهان. انتشارات دانشگاه فردوسی مشهد، ۴۶۶ صفحه.

- رضائی، م. ع.، خاوری‌نژاد، ر. و فهیمی، ح.، ۱۳۸۳. پاسخ فیزیولوژیک گیاه پنبه به شوری‌های مختلف خاک. پژوهش و سازندگی در زراعت و باغبانی، شماره ۶۲: ۸۱-۸۹.

- عشریه، ه.، ۱۳۷۹. بررسی بردباری و مقاومت به شوری دو گیاه *Cynodon* و *Agropyron cristatum* L. *dactylon*. پایان نامه کارشناسی ارشد زیست‌شناسی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد تهران شمال، ۲۸۳ صفحه.

- مسعودسینکی، ج.، ۱۳۸۱. بررسی جنبه‌های فیزیولوژیک مقاومت به خشکی و شوری در سورگوم. پایان نامه کارشناسی ارشد زراعت، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد علوم و تحقیقات، ۱۹۲ صفحه.

- Bajji, M., Lutts, S. and Kinet, J.M., 2001. Water deficit effects on solute contribution to osmotic adjustment as a function of leaf ageing in three durum wheat (*Triticum durum* Desf.) cultivars performing differently in arid conditions. *Plant Science*, 160: 669-681.

- Bates, I.S., Waldern, R.P. and Teare, I.D., 1973. Rapid determination of free prolin for water stress studies. *Plant and Soil*, 39: 205-207.

- Bohnert, H.J. and Jensen, R.G., 1996. Strategies for engineering water stress tolerance in plants. *Trends in Biotechnology*. Elsevier Science, 14: 89-97.

است روشی مفید در انتخاب گونه‌های مقاوم به شوری و خشکی باشد (Kerepesi, 1998).

قندهای الکلی (مانند گلیسرول، اینوزیتول و پینیتول) و قندهای ساده (اساسا فروکتوز و گلوکز) و قندهای مرکب (مانند ترهالوز و رافینوز فروکتانها) به عنوان تنظیم‌کننده‌های سازشی تولید می‌شوند (Bohnert & Jensen, 1996). تنظیم اسمزی می‌تواند به وسیله تبدیل پلی ساکاریدها (نشاسته و فروکتانها) به یکدیگر و الیگوساکاریدها (ساکارز و گلوکز) به یکدیگر کنترل شود، زیرا توان بالقوه اسمزی به تعداد مولکولهای ماده بستگی دارد (Hendry, 1993). عمل فیزیولوژیکی این قندها از اتصال بین غشاهای مجاور هم در طول دوره تنش از نگهداری لیپیدها و پایداری پروتئین‌ها از طریق ایجاد پیوندهای هیدروژنی با دنباله‌های خطی پروتئین‌ها، تنظیم ژن و تنظیم اسمزی ممانعت می‌کند (Ho et al., 2001).

Kaiser (1987) در مطالعه دیگری اثرات احتمالی افزایش تنش خشکی را به سه گروه تقسیم بندی می‌کند: ۱- در صورتی که مقدار RWC بین ۷۰-۱۰۰ درصد باشد: کاهش فتوسنتز به علت بسته شدن روزنه که به سرعت قابل برگشت است. ۲- در صورتی که مقدار RWC بین ۳۵-۷۰ درصد باشد: در شدت نور بالا، ظرفیت فتوسنتزی کاهش می‌یابد و فقط آبیگری مجدد، به کندی بهبود می‌یابد. علت اصلی می‌تواند ممانعت نوری باشد، از آنجایی که کربوکسیلاسیون، چرخه کالوین و تنفس نوری همگی کاهش می‌یابند، انتقال الکترون ظاهرا عامل محدودکننده تری است. ۳- در صورتی که مقدار RWC کمتر از ۳۵ درصد باشد: کاهش غیر قابل برگشت در ظرفیت به علت صدمه غشایی در کلروپلاست که به مرگ منجر می‌شود. در گونه‌های مورد بررسی مقدار RWC بین ۸۳ تا ۸۷ درصد متغیر بود و اختلاف معنی‌داری میان گونه‌ها مشاهده نشد. با توجه به اینکه تنش شوری به دلیل کاهش توان بالقوه اسمزی خود نوعی تنش خشکی محسوب

- Larher, F., rival-Garnier, N., Lemesle, P., Plasmman, M. and Bouchereau, A., 1996. The glycinbetaine inhibitory effect on the osmo induced prolin response of rape leaf discs. *Plant Science*, 113: 21-31.
- Marcar, N.E., Crawford, D.F., Saunders, A., Matheson, A.C. and Arnold, R.A., 2002. Genetic variation among and within provenances and families of *Eucalyptus grandis* W.Hill and *E.globolus* Labill. subsp. *globolus* seedlings in response to salinity and waterlogging. *Forest Ecology and management*, 162: 231-249.
- Morabito, D., Mills, D., Prat, D. and Dizengremel, P., 1994. Response of clones of *Eucalyptus microtheca* to NaCl *in vitro*. *Tree Physiol.*, 14: 201-218.
- Prat, D. and Fathi-Ettai, R.A., 1990. Variation in organic and mineral components in young *Eucalyptus* seedling under salin stress. *Physiologia Plantarum*, 79(3): 479-486.
- Rawat, J.S. and Banerjee, S.P., 1998. The influence of salinity on growth, biomass production and photosynthesis of *Eucalyptus camaldulensis* Dehnh. and *Dalbergia sissoo* Roxb. seedling. *Plant and Soil*, 205: 163-169.
- Shannon, M.C., Grieve, C.M. and Francois, L.E., 1994. Whole-plant response to salinity. In: Wilkson, R. and Marcel Dekker, E. (Eds.), *Plant Environment Interactions*. New York: 199-244.
- Wintermans, J.F.G.M. and Motes, A.D., 1965. Spectrophotometric characteristics of chlorophyll a and b and their pheophitin in ethanol. *Biochem. Biophys. Acta.*, 109: 440-452.
- Woodward, A.J. and Bennett, I.J., 2005. The effect of salt stress and abscisic acid on prolin production, chlorophyll content and growth of *in vitro* propagated shoots of *Eucalyptus camaldulensis*. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, 82(2): 189-200.
- Yeo, A.R. and Flowers, T.J., 1984. Mechanisms of salinity resistance in rice and their role as physiological criteria in plant breeding. In: Staples, R.C. and Toenniessen, G.H. (Eds.). *Salinity Tolerance in Plants: Strategies for Crop Improvement*, New York, John Wiley: 151-170.
- Francisco, G., Jhon, L., Jifon, S., Micaela, C. and James, P.S., 2002. Gas exchange, chlorophyll and nutrient contents in relation to Na and Cl accumulation in sunburst mandarin grafted on different root stock. *Plant Sci.*, 35: 314-320.
- Heidari Sharif Abad, H., 1994. Variation in the sensivity of nodulation and nitrogen fixation to nitrate in annual *Medicago* species. Ph.D. thesis, Waite Agricultural Research Institute. Glen Osmond, South Australia. 179 p.
- Hendry, G., 1993. Evolutionary origins and natural functions of fructans. *New Phytologist*, 123: 3-14.
- Ho, S., Chao, Y., Tong, W. and Yu, S., 2001. Sugar coordinately and differentially regulates growth and stress-related gene expression via a comp-lex signal transduction network and multiple control mechanisms. *Plant Physiology*, 46: 281-285.
- Irigoyen, J.J., Einerich, D.W. and Sanchez-Diaz, M., 1992. Water stress induced changes in concentrations of proline and total soluble sugars in nodulated alfalfa (*Medicago sativa*) plants. *Physiologia Plantarum*, 84(1): 58-60.
- Iyengar, E.R.R. and Reddy, M.P., 1996. Photosynthesis in highly salt-tolerant plants. In: Pessaraki, M. (Eds). *Handbook of photosynthesis*. Chapman and Hall, London: 897-909.
- Jason, A., 1978. Chlorophyll and carotenoid: *Handbook of physiological method*. Cambridge University Press, Cambridge, New York: 59-65.
- Jeschke, D., 1984. K^+ - NO_3^- exchange at cellular membranes, intercellular compartmetation of cations and salt tolerance. In: Staples, R.C: and Toenniessen, G.H. (Eds.) *Salinity Tolerance in Plants: Strategies for Crop Improvement*, New York: John Wiley: 37-66.
- Kaiser, W.M., 1987. Effect of water deficit on photosynthetic capacity. *Physiologia Plantarum*, 71: 142-144.
- Kerepesi, I., 1998. Osmotic and salt stresses induced differential alternation in water-soluble carbohydrate content in wheat seedling. *Journal Agric. Food chem.*: 5347-5354.
- Kuznetsov, V.V. and Shevyakova, N.I., 1999. Prolin under stress: Biological role, metabolism and regulation. *Russian Journal of Plant Physiology*, 46: 274-287.

Tolerance of few Eucalypt species to salinity in *Vitro*

M.H. Assareh¹, T. Rostami Shahraji², A. Shariat³ and F. Rafie⁴

1- Member of Scientific board, Research Institute of Forests and Rangelands, Iran.

E-mail: assareh@rifr-ac.ir

2- Member of Scientific board, Gilan University.

3- M.Sc., Research Institute of Forests and Rangelands, Iran.

4- M.Sc. Student of Forestry, Gilan University.

Abstract

Most of the salinity problems causes by NaCl distribution in dry lands, beaches and water resources. This research was carried out to estimate the salinity resistance of four Eucalyptus species: *Eucalyptus camaldulensis*, *E. microtheca*, *E. kingsmillii* and *E. tetragona*. Five NaCl level (0, 50, 100, 150 and 200 mM) treatments were used in three replication in a factorial experiment design based on completely randomized plots. Sampling were made from stamen leaves of different treatments and pigments (total chlorophyll, chlorophyll a and b, carotene, soluble sugar and prolin) and growth parameters (biomass, leaf area, relative water content, water saturation deficient (WSD), specific leaf area (SLA) and leaf water content per unit leaf area (LWCA)) and other characters including withering, falling and drying leaves were measured. Increased of salt stress leds to increased prolin, soluble sugar and withering, falling, drying leaves and decreased pigments and growth parameters in four species. Between the studied species, *E.microtheca* showed the most tolerant salt stress, although for prolin, soluble sugar, pigments, SLA, LWCA, WSD had the highest quantity and for the withering, falling and drying leaves had the lowest quantity.

Key words: salt stress, *Eucalyptus*, pigments, prolin, soluble sugar, growth.