Evaluation of two native succulent species that can switch from C_3 to CAM in salty and dry soils of Lake Urmia

Ghader Habibi*
Biology Department, Payame Noor University, 19395-3697 Tehran, I. R. of Iran

Abstract
Due to the drying trend of Urmia Lake, climate change and frequent occurrence of droughts in the region, verification of photosynthetic flexibility in the floral elements of Lake Urmia is important. In this work, the ability of *Rosularia elymaitica* and *Zygophyllum fabago* species to shift from C_3 to Crassulacean acid metabolism (CAM), as well as survival and productivity of these plants, were studied in both salty and dry soils of Lake Urmia. The results showed that while salinity alone was not able to induce functional CAM expression in both species, the drought alone induced a low level of nocturnal acid accumulation in both species, which were similar to acid fluctuations in CAM-cycling pathway, as an initial stage of CAM. The result indicated that *Z. fabago* species have a high tolerance to combined drought (during the 30 days of water deficit and salt around 7±0.42 dSm^{-1}) stresses in salty and dry soils of the Lake Urmia, as compared to *R. elymaitica* plants. This higher tolerance was correlated with up-regulation of phosphoenolpyruvate-carboxylase (PEPC) activity and maintenance of higher photochemical functioning. As a result, this research introduces *Z. fabago* as an important climate-resilient crop, which can switch from C_3 to CAM in salty and dry soils of Lake Urmia.

Keywords: CAM induction, drought stress, Lake Urmia, salt stress, photochemical activity, photosynthetic flexibility

* Corresponding Author: gader.habibi@gmail.com

Copyright©2017, University of Isfahan. This is an Open Access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution License (http://creativecommons.org/licenses/BY-NC-ND/4.0), which permits others to download this work and share it with others as long as they credit it, but they cannot change it in any way or use it commercially.
DOI. 10.22108/ijpb.2020.123202.1217

زیست‌شناسی گیاهی ایران، سال دوازدهم، شمارهٔ چهل و ششم، زمستان ۱۳۹۹، صفحهٔ ۱۰۹-۹۵
تاریخ دریافت مقاله: ۱۳۹۹/۰۷/۲۸
تاریخ بررسی مجدد: ۱۳۹۹/۱۲/۲۹
تاریخ پذیرش نهایی: ۱۳۹۹/۰۴/۰۷

ارزیابی دو گونه گوشتی بومی با توان القا CAM در خاک های شور و خشک حوضه دریاچه ارومیه

قادر حبیبی*
دانشیار، گروه زیست‌شناسی، دانشگاه پیام نور، تهران ۳۶۹۷ – ۱۹۳۹۵، تهران، ایران

چکیده

باتوجه‌به خشک‌شدن دریاچه ارومیه و تغییرات اقلیمی حاصل از آن، مطالعه انعطاف‌پذیری فتوسنتزی گونه‌های بومی در خاک اطراف دریاچه اهمیّت یافته است. در این پژوهش توان گذر از مسیر فتوسنتزی C_3 به مسیر متابولیسم اسید کراسولاسه‌ای (CAM) در دو گونه ناز طوقه‌ای (*Rosularia elymaitica*) و قیچ (*Zygophyllum fabago*) رشدیافته در خاک‌های شور و خشک خاک حوضه دریاچه مطالعه شده است. درحالی‌که، هیچ‌کدام از گونه‌های گوشتی مورد مطالعه در این پژوهش، در پاسخ به شوری انعطاف‌پذیری فتوسنتزی نشان ندادند، اعمال خشکی تنها باعث افزایش انباشت اسیدیته شبانه در هر دو گونه شد. انباشت اسیدیته شبانه جزیی در این دو گونه در پاسخ به خشکی تنها، نشان‌دهنده ظهور درجه پایینی از القاء مسیر CAM موسوم به مسیر CAM-cycling بود. کشت گونه‌ها در خاک منطقه آغداش واقع در حوضه دریاچه ارومیه نشان داد که گونه قیچ نسبت به گونه ناز طوقه‌ای، مقاومت بالایی به تنش توأم شوری و خشکی (۳۰ روز اعمال خشکی و شوری ۰/۴۲±۷ دسی‌زیمنس) دارد. مقاومت بالای گیاه قیچ به تنش توأم شوری و خشکی، با حفظ مؤثر فعالیت فتوشیمیایی فتوسنتز و فعالیت آنزیم پپ‌کربوکسیلاز (PEPC) همراه بود. در نتیجه به نظر می‌رسد گیاه قیچ با حفظ انعطاف‌پذیری فتوسنتزی در شرایط سخت می‌تواند گزینه مناسبی برای کشت در مناطق خشک و شور اطراف دریاچه ارومیه باشد.

واژه‌های کلیدی: القاء متابولیسم اسید کراسولاسه، تنش شوری، دریاچه ارومیه، تنش خشکی، فعالیت فتوشیمیایی، انعطاف‌پذیری فتوسنتزی

* نگارندهٔ مسؤول: نشانی پست الکترونیک: gader.habibi@gmail.com، شمارهٔ تماس: ۰۴۴۴۵۳۲۲۷۰۲

Copyright©2017, University of Isfahan. This is an Open Access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution License (http://creativecommons.org/licenses/BY-NC-ND/4.0), which permits others to download this work and share it with others as long as they credit it, but they cannot change it in any way or use it commercially.

مقدمه

گیاهان CAM انعطاف‌پذیری درخور توجهی در مسیر فتوسنتزی خود بسته به شرایط محیطی نشان می‌دهند و در شرایط خشکی و شوری با در پیش گرفتن مسیر (Crassulacean acid metabolism) CAM، بهره‌وری استفاده از آب را افزایش می‌دهند (Borland *et al*., 2015; Habibi, 2016). چرخه CAM در طی چهار مرحله انجام می‌گیرد (Winter, 2019). طی مرحله I که در شب اتفاق می‌افتد، دی‌اکسیدکربن اتمسفری و تنفسی توسط آنزیم فسفوانول پیروات کربوکسیلاز (PEPC) سیتوزولی تثبیت می‌شود. در زمان طلوع خورشید، مرحله II چرخه CAM آغاز می‌شود و طی آن بی‌فسفر شدن PEPC شروع می‌شود و مقدار فعالیت آن کاهش می‌یابد. همزمان با بی‌فسفر شدن آنزیم فسفوانول پیروات کربوکسیلاز، فعالیت آنزیم ریبولوز ۱و۵- بیس‌فسفات کربوکسیلاز (Rubisco) افزایش می‌یابد. طی مرحله III روزنه‌ها بسته می‌شوند و فعالیت آنزیم‌های NADP–مالیک‌آنزیم و NAD–مالیک‌آنزیم افزایش می‌یابد و دکربوکسیلاسیون PEP به پیروات انجام می‌شود و به‌این‌ترتیب فشار دی‌اکسیدکربن افزایش و غلظت بالایی از آن توسط چرخه کالوین تثبیت می‌شود و اسکلت کربنی لازم برای مرحله I شکل می‌گیرد. البته در گیاهانی که به‌خوبی آبیاری شده‌اند، دکربوکسیلاسیون اسیدهای آلی از مرحله II شروع می‌شود. سرعت تنفس نوری به‌ویژه طی مرحله II و در شروع مرحله III که مالات زیادی در واکوئل‌ها انباشته شده است، کاهش می‌یابد. با اتمام دکربوکسیلاسیون، روزنه‌ها دوباره باز می‌شوند و تثبیت دی‌اکسیدکربن اتمسفری از طریق مسیر C_3 در طی مرحله IV (غروب) انجام می‌گیرد. با تولید مالات شبانه، آنزیم PEPC مهار می‌شود (Winter, 2019). البته باید توجه داشت که در اثر خشکی الگوی فازهای یادشده تغییر می‌کند و مدت مرحله II به یک ساعت کاهش می‌یابد. در طی مرحله IV تولید مولکول‌های ROS به‌علت تولید اکسیژن در مجاورت روزنه‌ها و کاهش غلظت دی‌اکسیدکربن افزایش نشان می‌دهد که خود باعث افزایش سرعت تنفس نوری می‌شود. گیاهان از نظر مسیر فتوسنتزی CAM در دو گروه اصلی قرار می‌گیرند (Winter, 2019): (۱) CAM اجباری (Obligate CAM) که در این گروه تثبیت دی‌اکسیدکربن در هر دو گروه گیاهان شاهد و دچار تنش خشکی در طی شب روی می‌دهد (مانند کاکتوس و آلوئه‌ورا)، (۲) CAM اختیاری (Facultative CAM) که این گیاهان در شرایط پُرآبی و کم‌آبی مسیرهای فتوسنتزی متفاوتی را در پیش می‌گیرند. در این گیاهان با تأثیر عوامل القاکننده مسیر CAM مثل خشکی و شوری، پیشرفت فرآیند گذر از مسیر C_3 یا C_4 به CAM و الگوی تبادل دی‌اکسیدکربن در طی چهار فاز رخ می‌دهد که حالت‌های مختلفی از القاء CAM را در گیاهان نمایان می‌سازد (Winter, 2019). انعطاف‌پذیری فتوسنتزی با اعمال تنش‌های خشکی، شوری و نوری در تعدادی از گونه‌های حدواسط C_3/CAM اثبات شده است. این گیاهان در شرایط پُرآبی مسیر فتوسنتزی C_3 و در شرایط کم‌آبی مسیر فتوسنتزی CAM را در پیش می‌گیرند و در نتیجه به بهترین شیوه کارآیی بهره‌وری آب را بهبود می‌بخشند (Borland *et al*., 2015; Liu *et*

(*al.*, 2018). به‌علت کارآیی بهره‌وری آب بالا در این گیاهان، اخیراً تلاش‌های زیادی برای انتقال ژن‌های CAM از طریق مهندسی ژنتیک طی پروسه مهندسی CAM برای تولید گیاهان مقاوم به کم‌آبی و دارای کارآیی بهره‌وری آب بالا شده است (Heyduk *et al.*, 2018; Amin *et al.*, 2019). درجه القاء CAM در گونه‌های حدواسط C_3/CAM در شرایط آب‌وهوایی یک منطقه خاص جغرافیایی (مثل آب‌وهوای ایران) می‌تواند از انعطاف‌پذیری فتوسنتزی همان گونه‌های CAM در مناطق دیگر دنیا متفاوت باشد.

هدف این پژوهش، انتخاب گونه‌هایی با توان رشد در محیط شور و خشک همزمان با حفظ انعطاف‌پذیری فتوسنتزی بود. متأسفانه تاکنون پژوهش‌هایی در مقیاس وسیع و به‌عنوان غربال‌گری امکان القای مسیر CAM در دنیا کمتر انجام شده است و به‌علت انحصاری و یا بومی بودن تعداد زیادی از گونه‌های مناطق خشک و شور در فلور ایران، این شناخت می‌تواند در آینده با بهره‌گیری از دانش بیوتکنولوژی به بهبود کشاورزی در مناطق خشک، نیمه‌خشک و بیابانی و افزایش رشد و تولیدات گیاهی در زمین‌هایی با خشکی‌های فصلی و متناوب ایران منجر شود. ازطرف‌دیگر، باتوجه‌به خشک شدن دریاچه ارومیه و تغییرات اقلیمی حاصل از آن، مطالعه انعطاف‌پذیری فتوسنتزی برای انتخاب گونه‌های مناسب برای کشت در خاک اطراف دریاچه پُراهمیت به نظر می‌رسد. در این پژوهش سعی شده است دو گونه گوشتی بومی ایران که توان رشد در شرایط شور و خشک خاک دریاچه را دارند، شناسایی و مطالعه شوند. برای این منظور، گونه ناز طوقه‌ای (*Rosularia elymaitica*) و قیچ (*Zygophyllum fabago*) برای پژوهش حاضر انتخاب شدند. علت انتخاب این گونه‌ها در این پژوهش، داشتن حداقل دو شرط بود: (۱) همگی جزو فلور طبیعی و بومی منطقه آذربایجان ایران باشند و مقاومت نسبی به خشکی یا شوری نشان دهند و (۲) قابلیت القاء مسیر فتوسنتزی CAM و انعطاف‌پذیری فتوسنتری در آنها یا در گونه‌های نزدیک به آنها بررسی شده باشد. بررسی منابع نشان داد که هر چند در جنس *Zygophyllum* انعطاف‌پذیری فتوسنتزی به‌صورت کامل بررسی نشده است، انتقال از مسیر فتوسنتزی C_3 به CAM-cycling در ناز طوقه‌ای خشکی‌دیده گزارش شده است (Habibi and Hajiboland, 2011).

در همه پژوهش‌های یادشده در بالا، پاسخ گونه‌ها به تنش‌ها به‌صورت جداگانه مطالعه شده است. ولی باتوجه‌به اینکه گیاهان در طبیعت با چندین تنش به‌صورت همزمان مقابله می‌کنند، پاسخ گونه‌های انتخاب‌شده به تنش‌های ترکیبی (تنش توأم شوری و خشکی) هم در شرایط آزمایشگاهی و هم در شرایط رویشگاه طبیعی بررسی شد. برای دستیابی به این اهداف، این پژوهش در قالب دو آزمایش انجام شد. در آزمایش اول، تأثیر سطوح مختلف خشکی و شوری به‌مدت یک‌ماه بر شاخص‌های تحمل به تنش (درصد کاهش عملکرد و مقدار مالون‌دی‌آلدئید) و شاخص‌های درجه القاء CAM (تغییرات شبانه‌روزی اسیدیته و فعالیت آنزیم پپ‌کربوکسیلاز) در دو گونه مطالعه شد تا میزان تحمل گیاهان انتخاب‌شده به تنش شوری و خشکی

همزمان با حفظ انعطاف‌پذیری فتوسنتزی مشخص شود. در آزمایش دوم، گیاهان در خاک منطقه آغداش واقع در حوضه دریاچه ارومیه با شوری (۷±۰/۴۲ دسی‌زیمنس) کشت شدند تا پس از ارزیابی شاخص‌های تحمل به تنش شوری و خشکی و شاخص‌های تعیین‌کننده القاء فتوسنتز CAM در محیط طبیعی، گونه مناسب‌تر برای کشت در خاک‌های خشک و شور حوضه دریاچه ارومیه معرفی شود. ارزیابی گونه‌های مناسب‌تر برای کشت در خاک‌های خشک و شور حوضه دریاچه ارومیه، اقدامی مؤثر برای افزایش پوشش گیاهی اطراف دریاچه خواهد بود.

مواد و روش‌ها

انتخاب گونه‌های مطالعه‌شده و طراحی آزمایش‌ها

گیاهان کامل ناز طوقه‌ای همراه ریشه و اندام هوایی مناسب، از دامنه‌های کوه میشو داغ واقع در جاده تبریز-مرند، جمع‌آوری و به آزمایشگاه منتقل شدند. نمونه‌های یادشده، در خاک جمع‌آوری‌شده از حوضه اطراف دریاچه ارومیه کشت شدند. بذرهای گیاه قیچ از محوطه دانشگاه تبریز جمع‌آوری و کشت شدند. دو گونه انتخاب‌شده به اتاق رشد زیر روشنایی لامپ مهتابی با شدت نور ۳۵۰ $\mu mol\ m^{-2}\ s^{-1}$، فتوپریود ۱۶ ساعت روشنایی و ۸ ساعت تاریکی، رطوبت روز ۷۵ و شب ۶۵ درصد و دمای روز ۲۵ و شب ۱۷ درجه سانتیگراد منتقل شدند (Habibi and Hajiboland, 2010).

در آزمایش اول که به‌منظور تعیین میزان تحمل گیاهان انتخاب‌شده به تنش شوری و خشکی همزمان با حفظ انعطاف‌پذیری فتوسنتزی انجام شد، باتوجه‌به وجود گرادیان شوری در خاک‌های اطراف دریاچه، برای اطمینان از مقدار تحمل گونه‌های مطالعه‌شده، ابتدا خاکی با EC پایین (۶۰/۵ درصد ماسه، ۸/۷ درصد سیلت، ۳۰/۸ درصد ذرات رس، ۲۹/۵ درصد کربنات‌کلسیم، ۰/۴۵ درصد ازت، ۲/۵ درصد کربن و اسیدیته حدود ۸/۱) از مناطق اطراف دریاچه انتخاب شد. برای این منظور خاک منطقه شامات واقع در ۲۰ کیلومتری روستای آغداش با فاصله ۸ کیلومتری از مصب رودخانه زرینه‌رود در عمق ۳۰ سانتی‌متری جمع‌آوری و به آزمایشگاه انتقال یافت. مقدار EC این خاک با استفاده از EC متر حدود ۲/۶۰±۰/۲۶ اندازه‌گیری شد. سپس با افزودن نمک کلرید سدیم و رسم منحنی رگرسیون، به EC دلخواه در خاک دست یافتیم که برای هر گیاه با استناد به مقالات متفاوت بود. این کار با استفاده از روش توصیف‌شده در کارهای پیشین (Habibi, 2017) انجام گرفت. پس از پُر کردن گلدان‌ها از خاک مورد نظر و رساندن EC آنها به مقدار مورد نظر، گیاهان در خاک گلدان‌های آماده به تعداد مناسب کشت شدند. سطوح تیمارهای خشکی و شوری بر اساس میزان تحمل گیاهان مورد مطالعه و با استفاده از آخرین منابع موجود (Mulry *et al*., 2015: Alam *et al*., 2014)، تعیین گردید.

در آزمایش دوم، برای ایجاد شرایط رشد طبیعی یکسان برای همه گونه‌ها، ابتدا خاک منطقه آغداش با شوری بالا (۷±۰/۴۲ دسی‌زیمنس) انتخاب شد و دو گونه به این خاک منتقل شدند. میزان شوری خاکی که برای کشت گیاهان شاهد انتخاب شد با استفاده از EC متر در محدوده ۲/۶۰±۰/۲۶ اندازه‌گیری شد. همچنین، تیمار خشکی یکسان

به‌صورت قطع آبیاری به مدت ۳۰ روز برای همه گونه ها اعمال گردید.

تعیین شاخص درصد کاهش عملکرد، محتوی نسبی آب و تغییرات اسیدیته شبانه‌روزی

شاخص درصد کاهش عملکرد بر اساس روش Alam و همکاران (۲۰۱۴) محاسبه شد. محتوی نسبی آب برگ‌ها با استفاده از وزن تر(Fw)، وزن خشک (Dw) و وزن اشباع (Sw) و بر اساس رابطه زیر که توسط Lara وهمکارانش (۲۰۰۳) ارائه شده است، به‌دست آمد:

$$RWC=100\times (Fw-Dw)/(Sw-Dw)$$

برای تعیین اسیدیته، نمونه‌های برگی پس از توزین توسط ازت مایع خرد شده و سپس به‌مدت ۱۰ دقیقه در آب مقطر جوشانده شدند. افزودن آب مقطر تا رسیدن به حجم نهایی دو میلی‌لیتر ادامه یافت و سپس تیتراسیون با سود (NaOH) ۱۰ میلی‌مولار تا رسیدن به اسیدیته ۷ انجام شد (Lara *et al*., 2003). برای تعیین اسیدیته شبانه، برگ‌ها ۳۰ دقیقه پس از شروع روشنایی در اتاق رشد (ساعت ۶ صبح) و برای اسیدیته روزانه ۳۰ دقیقه پس از شروع تاریکی در اتاق رشد (ساعت ۱۰ شب) برداشت شدند. برای یکنواختی نتایج، از جفت برگ‌های دوم و سوم بهره گرفته شد.

سنجش شاخص‌های فلورسانس کلروفیل

برای تعیین فلورسانس کلروفیل، از دستگاه فلورسانس‌سنج (PEA, Hansatech Instruments Ltd., King's Lynn, Norfolk, PE 32 1JL, &Engl) استفاده شد. شاخص‌های فلورسانس کلروفیل در برگ‌های سازش‌یافته با تاریکی (به مدت حداقل ۲۰ دقیقه) شامل F_0 (فلورسانس پایه) و F_m (فلورسانس بیشینه) اندازه‌گیری شد. شاخص‌های زیر در اندازه‌گیری‌های فلورسانس اولیه مورد استفاده قرار گرفت: شدت فلورسانس بیشینه (F_m)، شدت فلورسانس در ۵۰ میکروثانیه به‌عنوان فلورسانس پایه، شدت فلورسانس در ۳۰۰ میکروثانیه ($F_{300\mu s}$)، نسبت فلورسانس متغیر (V) و شدت فلورسانس در ۲ میلی‌ثانیه (مرحله J) که نشانگر F_J است. سپس محاسبات لازم برای به‌دست آوردن بیشینه عملکرد کوانتومی فتوسیستم II (F_v/F_m)، انجام شد (Strasser *et al*., 2004).

سنجش رنگیزه‌های برگ

برای سنجش مقدار رنگیزه‌ها، نمونه‌های گیاهی با آب دوبار تقطیر شستشو و روی کاغذ صافی خشک شدند. پس از اندازه‌گیری وزن تر (تقریباً ۲۰۰ میلی‌گرم)، نمونه‌ها در داخل ورقه آلومینیومی قرار گرفتند و در ازت مایع تا زمان سنجش نگهداری شدند. استخراج رنگیزه با استفاده از حلال استون روی یخ و با هاون چینی سرد انجام شد. غلظت کلروفیل و کاروتنوئیدها پس از ۲۴ ساعت استخراج در استن ۱۰۰ درصد به‌وسیله اسپکتروفتومتر تعیین شد. جذب در ۶۶۲، ۶۴۵ و ۴۷۰ نانومتر اندازه‌گیری و غلظت کلروفیل‌های *a*، *b* و کاروتنوئیدها طبق فرمول‌های زیر محاسبه شد (Lichtenthaler and Wellburn, 1985).

$$Chl_a = 11.75\ A_{662} - 2.350\ A_{645}$$
$$Chl_b = 18.61\ A_{645} - 3.960\ A_{662}$$
$$Ca_{x+c} = 1000\ A_{470} - 2.270\ Chl_a - 81.4\ Chl_b/22$$

Chl_a= کلروفیل a، Chl_b= کلروفیل b، Ca_{x+c}= کاروتنوئید کل، A= جذب در طول موج موردنظر

سنجش فعالیت آنزیم فسفوانول پیروات کربوکسیلاز (PEPC)

برای تعیین فعالیت آنزیم PEPC، عصاره برگی ابتدا با بافر ۵۰ میلی‌مولار تریس- HCl با اسیدیته ۸/۲ و حاوی ۰/۵ مولار ساکارز و ۲ میلی‌مولار

دی‌تیوتریتول (DTT) استخراج شدند. پس از سانتریفیوژ g۱۵۰۰۰ به‌مدت ۱۵ دقیقه، روشناور برای تعیین فعالیت استفاده شد. محلول واکنش شامل ۵۰ میلی‌مولار تریس- HCl با اسیدیته ۸/۲، ۱۵ میلی‌مولار $MgCl_2$، ۱۰ میلی‌مولار $NaHCO_3$، ۲ میلی‌مولار فسفوانول پیروات (PEP)، ۰/۱۵ میلی‌مولار NADH و ۱۰ واحد (U) آنزیم مالات‌دهیدروژناز بود (Groenhof *et al*., 1988). کاهش جذب در اثر اکسیداسیون NADH در طول موج ۳۴۰nm اندازه‌گیری شد و یک واحد فعالیت آنزیم معادل اکسیداسیون ۱ میکرومول NADH در دقیقه در نظر گرفته شد.

سنجش مالون‌دی‌آلدئید

سنجش مالون‌دی‌آلدئید (MDA) به‌عنوان معیاری برای بررسی میزان پراکسیداسیون لیپیدها بر اساس روش Boominathan و Doran (۲۰۰۲) صورت گرفت. عصاره گیاهی در محلول ۰/۱٪ (W/V) تری‌کلرو استیک‌اسید (TCA) استخراج شد و به‌مدت پنج دقیقه در g۱۰۰۰۰ سانتریفیوژ شد. نسبت ۱ به ۴ از روشناور با محلول ۲۰٪ از TCA حاوی ۰/۵٪ تیوباربیتوریک اسید در لوله آزمایش باهم مخلوط شد و به‌مدت ۳۰ دقیقه در حمام آب گرم با دمای ۹۵ درجه سانتیگراد قرار گرفت. سپس لوله‌ها سریعاً در یخ سرد شده و به‌مدت ۱۵ دقیقه در g۱۰۰۰۰ سانتریفیوژ شدند. همزمان با عصاره‌های گیاهی محلول‌های استاندارد در محدودهٔ صفر تا ۱۰۰ نانومول از ۱،۱،۳،۳- تترا اتوکسی‌پروپان تهیه شده و جذب نمونه‌ها در ۵۳۲ nm توسط اسپکتروفتومتر مورد اندازه‌گیری قرار گرفت. در نهایت مقدار MDA نمونه‌ها بر حسب واحد $nmol\ g^{-1}\ FW$ محاسبه شد.

سنجش پتاسیم و سدیم

ابتدا نمونه‌ها با استفاده از کلریدریک‌اسید و نیتریک‌اسید به نسبت ۳ به ۱ هضم شدند و پس از رقیق‌سازی مقدار عناصر با استفاده از دستگاه نشر اتمی (ICP-AES, INTEGRA XL2, GBC; Australia) موجود در شرکت کلرپارس تبریز اندازه‌گیری شدند.

تجزیه‌وتحلیل آماری داده‌ها

آزمایش‌ها به‌صورت طرح کاملاً تصادفی طرح‌ریزی و به اجرا در آمد. هر تیمار دارای ۴ تکرار مستقل بود. میانگین و انحراف معیار (SD) داده‌ها و همچنین رسم نمودارها به‌وسیلهٔ نرم‌افزار Excel انجام شد. برای تجزیه و تحلیل آماری از نرم‌افزار Sigma Stat نسخه 3.5 استفاده شد. برای مقایسه میانگین تیمارها از آزمون Tukey در سطح احتمال $p\leq ۰/۰۵$ استفاده شد.

نتایج.و بحث

آزمایش اول: تعیین میزان تحمل گیاهان انتخاب‌شده به تنش شوری و خشکی همزمان با حفظ انعطاف‌پذیری فتوسنتزی

در این پژوهش، برای تعیین سطوح تحمل به شوری و خشکی گونه‌های مورد مطالعه، دو نکته مورد توجه قرار گرفت: (۱) بالاترین سطح تحمل به شوری و خشکی که باعث کاهش کمتر از ۵۰ درصدی عملکرد گردید، برای هر گونه مشخص شد و (۲) بالاترین سطح تحمل به شوری و خشکی که باعث ایجاد بیشترین تغییرات اسیدیته شبانه‌روزی شد، برای هر گونه تعیین گردید. افزایش مالون‌دی‌آلدئید به‌عنوان محصول پراکسیداسیون لیپیدهای غشا یک شاخص تعیین‌کننده وقوع تنش اکسیداتیو در سطح سلولی است (Habibi, 2014).

از این‌رو مقدار این شاخص به‌عنوان یک نشانگر مهم تنش اکسیداتیو و میزان تحمل به شوری در این پژوهش مورد توجه قرار گرفت. همچنین در این آزمایش، بر اساس یافته‌های Freschi و همکاران (۲۰۱۰)، دو شاخص شامل تغییرات شبانه‌روزی اسیدیته (اختلاف اسیدیته شبانه و روزانه) و فعالیت آنزیم پپ‌کربوکسیلاز (PEPC) به‌عنوان شاخص‌های تعیین القا و بیان CAM مورد استناد قرار گرفتند (Holtum *et al*., 2017).

پاسخ گیاه ناز طوقه‌ای به شوری و خشکی و ارزیابی انعطاف‌پذیری فتوسنتزی

شوری ۳ دسی‌زیمنس تغییر معنی‌داری بر مقدار وزن خشک اندام هوایی ناز طوقه‌ای نداشت. افزایش شوری به ۹ دسی‌زیمنس، تنها باعث افت ۳۲ درصدی عملکرد گیاه شد (جدول ۱). اعمال تیمار شوری در سطح ۱۲ باعث افت معنی‌دار عملکرد به میزان بیش از ۴۵ درصد گردید. افزایش شوری به سطح ۱۵ باعث خشکیدگی کامل گیاه گردید. افزایش شوری به سطح ۹ باعث افزایش معنی‌دار مقدار مالون‌دی‌آلدئید نسبت به شاهد شد. بررسی شاخص تعیین‌کننده میزان انعطاف‌پذیری فتوسنتزی و میزان القا فتوسنتز CAM یعنی تغییرات اسیدیته شبانه‌روزی در گیاهان شوری‌دیده ناز طوقه‌ای نشان داد که افزایش شوری از سطح ۹ دسی‌زیمنس تا ۱۲ دسی‌زیمنس ضمن کاهش عملکرد گیاه، تغییری در مقدار اسیدیته شبانه‌روزی ایجاد نمی‌کند. ولی باتوجه‌به اینکه کاهش عملکرد گیاه در تیمار شوری ۱۲ دسی‌زیمنس پایینتر از ۵۰ درصد بود، این سطح از شوری به‌عنوان میزان تحمل به شوری ناز طوقه‌ای تعیین گردید.

جدول ۱- تأثیر اعمال سطوح مختلف شوری به‌مدت یک‌ماه بر شاخص‌های تحمل به تنش (درصد کاهش عملکرد و مقدار مالون‌دی‌آلدئید) و شاخص درجه القا CAM (تغییرات شبانه‌روزی اسیدیته) در گیاه *Rosularia elymaitica*. میانگین‌هایی که حداقل یک حرف مشترک داشته باشند، تفاوت معنی‌داری با یکدیگر ندارند (آزمون توکی در سطح ۹۵٪)

Table 1. Effects of different levels of salt stress on the percentage of yield loss (%) and maloendialdehyde (MDA) content, and as well as on CAM expression parameters including dusk/dawn (Δ) titratable acidity in *Rosularia elymaitica* plants. Data of each parameter followed by the same letter are not significantly different ($p<0.05$, Tukey test)

Yield loss (%)	MDA (nmol g^{-1} DW)	Δ Titratable acidity (μmol g^{-1} FW)	تیمارها
۰/۰۰±۰/۰۰^{d}	۱۰/۳±۱/۱^{c}	۰/۵۰±۰/۰۸^{a}	شاهد
۰/۰۰±۰/۰۰^{d}	۱۱/۲±۲/۱^{bc}	۰/۵۲±۰/۱۱^{a}	EC۳
۱۴/۲±۲/۱^{c}	۱۲/۰±۱/۹^{bc}	۰/۶۳±۰/۱۳^{a}	EC۶
۳۲/۱±۴/۵^{b}	۱۵/۶±۲/۷^{ab}	۰/۵۵±۰/۰۹^{a}	EC۹
۴۵/۱±۶/۰^{a}	۱۷/۶±۲/۵^{a}	۰/۴۸±۰/۱۴^{a}	EC۱۲
–	–	–	EC۱۵

بررسی درصد کاهش عملکرد ناز طوقه‌ای در شرایط خشکی نشان داد که افزایش شدت تنش آبی از ۴۰ به ۲۰ درصد ظرفیت مزرعه، باعث افت ۱۱ و ۵۵ درصدی وزن خشک اندام هوایی نسبت به شاهد شد (جدول ۲) که با افزایش معنی‌دار میزان مالون‌دی‌آلدئید در تیمار ۲۰ درصد ظرفیت مزرعه همراه بود. بیشترین انباشت اسیدیته شبانه در رژیم آبیاری ۴۰ و ۳۰ درصد ظرفیت مزرعه به‌دست آمد (۱۰ تا ۱۱ برابر شاهد). پس از یک‌ماه اعمال تنش، بالاترین سطح تحمل خشکی این گیاه رژیم آبیاری ۳۰ درصد ظرفیت مزرعه تعیین شدکه با افزایش اسیدیته شبانه همراه بود. مقایسه میزان تغییرات اسیدیته شبانه‌روزی ناز طوقه‌ای با سایر گونه‌های قابل القا تیره کراسولاسه یعنی گونه سدوم آلبوم و *Sedum uniflorum* نشان داد که خشکی باعث ظهور درجه پایینی از فعالیت CAM یعنی متابولیسم CAM-cycling در گونه ناز طوقه‌ای شده است (Castillo, 1996; Martin *et al*., 2019). در حالت CAM-cycling گاز CO_2 در طی روز جذب می‌شود و روزنه‌ها در شب بسته‌اند، ولی این گیاهان الگوی نوسان شبانه‌روزی اسیدیته را نشان می‌دهند. در گیاهان CAM-cycling نوسان شبانه‌روزی شبیه نوسان اسیدیته گیاهان CAM است، ولی الگوی تبادل CO_2 آنها شبیه به الگوی تبادل گاز گیاهان C_3 است (Habibi and Ajori, 2015; Habibi, 2016). ناز طوقه‌ای در خاک‌های کم‌عمق و سنگلاخ‌های ارتفاعات شمال غرب ایران می‌روید و در نتیجه در معرض خشکی‌های فصلی قرار می‌گیرد. انتقال از مسیر فتوسنتزی C_3 به CAM-cycling ممکن است در شرایط سخت رویشگاه برای حفظ بقا این گونه نقش مهمی را ایفا کند (Habibi and Hajiboland, 2011).

جدول ۲- تأثیر اعمال سطوح مختلف خشکی به‌مدت یک‌ماه بر شاخص‌های تحمل به تنش (درصد کاهش عملکرد و مقدار مالون‌دی‌آلدئید) و شاخص درجه القا CAM (تغییرات شبانه‌روزی اسیدیته) در گیاه ناز طوقه‌ای. میانگین‌هایی که حداقل یک حرف مشترک داشته باشند، تفاوت معنی‌داری با یکدیگر ندارند (آزمون توکی در سطح ۹۵٪)

Table 2. Effects of different levels of drought stress on the percentage of yield loss (%) and maloendialdehyde (MDA) content, and as well as on CAM expression parameters including dusk/dawn (Δ) titratable acidity in *Rosularia elymaitica* plants. Data of each parameter followed by the same letter are not significantly different ($p<0.05$, Tukey test)

Yield loss (%)	MDA (nmol g^{-1} DW)	Δ Titratable acidity (µmol g^{-1} FW)	% of FC
۰/۰۰±۰/۰۰^{d}	۱۱/۵±۱/۳^{b}	۰/۶۳±۰/۱۰^{c}	۸۰
۰/۰۰±۰/۰۰^{d}	۱۰/۸±۱/۸^{b}	۰/۵۷±۰/۰۷^{c}	۷۰
۰/۰۰±۰/۰۰^{d}	۱۲/۳±۲/۱^{ab}	۰/۶۰±۰/۱۴^{c}	۶۰
۰/۰۰±۰/۰۰^{d}	۱۱/۹±۱/۷^{ab}	۲/۳۵±۰/۴۲^{b}	۵۰
۱۱/۲±۱/۷^{c}	۱۳/۲±۳/۵^{ab}	۶/۵۸±۰/۸۵^{a}	۴۰
۲۹/۰±۳/۸^{b}	۱۳/۰±۲/۶^{ab}	۷/۰۲±۰/۵۵^{a}	۳۰
۵۵/۲±۸/۴^{a}	۱۷/۳±۳/۰^{a}	۱/۲۸±۰/۱۷^{c}	۲۰

پاسخ گیاه قیچ به شوری و خشکی و ارزیابی انعطاف‌پذیری فتوسنتزی

بررسی درصد کاهش وزن خشک اندام هوایی تیمارهای شوری نسبت به شاهد در گیاه قیچ نشان داد که افزایش شوری از سطح ۹ دسی‌زیمنس تا ۱۲دسی‌زیمنس باعث افت ۴۹ درصدی عملکرد گیاه می‌شود. اعمال تیمار شوری در سطوح بالاتر از ۱۲ باعث افت معنی‌دار عملکرد به‌میزان بیش از ۵۰ درصد گردید (جدول ۳). افزایش شوری به سطح ۱۲ باعث افزایش معنی‌دار مقدار مالون‌دی‌آلدئید نسبت به شاهد شد. بررسی شاخص تعیین‌کننده میزان انعطاف‌پذیری فتوسنتزی و میزان القا فتوسنتز CAM یعنی تغییرات اسیدیته شبانه‌روزی در گیاهان شوری‌دیده قیچ نشان داد که هیچ یک از سطوح شوری نتوانسته است باعث تغییر معنی‌دار در مقدار این شاخص گردد (جدول ۳). در نتیجه، میزان تحمل به شوری گیاه قیچ، ۱۲ دسی‌زیمنس تعیین شد (Alam *et al*., 2014).

جدول ۳- تأثیر اعمال سطوح مختلف شوری به مدت یک‌ماه بر شاخص‌های تحمل به تنش (درصد کاهش عملکرد و مقدار مالون‌دی‌آلدئید) و شاخص درجه القاء CAM (تغییرات شبانه‌روزی اسیدیته) در گیاه قیچ. میانگین‌هایی که حداقل یک حرف مشترک داشته باشند، تفاوت معنی‌داری با یکدیگر ندارند (آزمون توکی در سطح ۹۵٪)

Table 3. Effects of different levels of salt stress on the percentage of yield loss (%) and maloendialdehyde (MDA) content, and as well as on CAM expression parameters including dusk/dawn (Δ) titratable acidity in *Zygophyllum fabago* plants. Data of each parameter followed by the same letter are not significantly different ($p<0.05$, Tukey test).

Yield loss (%)	MDA (nmol g^{-1} DW)	Δ Titratable acidity (μmol g^{-1} FW)	تیمارها
۰/۰۰±۰/۰۰^{c}	۲۵/۶±۳/۸^{b}	۰/۰۷±۰/۰۱^{a}	شاهد
۰/۰۰±۰/۰۰^{c}	۲۳/۸±۴/۲^{b}	۰/۰۹±۰/۰۳^{a}	EC۳
۵/۳۳±۱/۰^{bc}	۲۴/۶±۳/۷^{b}	۰/۲۰±۰/۱۱^{a}	EC۶
۱۷/۳±۸/۲^{b}	۳۳/۵±۵/۷^{ab}	۰/۱۶±۰/۰۸^{a}	EC۹
۴۹/۷±۹/۱^{a}	۴۱/۳±۶/۸^{a}	۰/۱۱±۰/۰۹^{a}	EC۱۲
۶۲/۷±۹/۷^{a}	۳۹/۷±۴/۳^{a}	۰/۰۷±۰/۰۴^{a}	EC۱۵

بررسی درصد کاهش عملکرد این گیاه در شرایط خشکی نشان داد که با افزایش شدت تنش آبی از ۷۰ درصد ظرفیت مزرعه به ۴۰ درصد ظرفیت مزرعه، تغییر معنی‌داری در مقدار وزن خشک اندام هوایی نسبت به شاهد حاصل نمی‌شود (جدول ۴). اعمال آبیاری در محدوده ۳۰ درصد ظرفیت مزرعه (خشکی شدید) تنها باعث افت ۳۰ درصدی عملکرد گردید که با افزایش معنی‌دار میزان مالون‌دی‌آلدئید در این تیمار همراه نبود. با افزایش شدت تنش آبی از ۷۰ درصد ظرفیت مزرعه به ۳۰ درصد ظرفیت، شاهد افزایش انباشت اسیدیته شبانه بودیم و بیشترین انباشت اسیدیته شبانه‌روزی (۶/۳) در رژیم آبیاری ۳۰ درصد ظرفیت مزرعه مشاهد شد. بنابراین، باتوجه‌به القا درجات پایین فتوسنتز CAM در این تیمار، رژیم آبیاری ۳۰ درصد ظرفیت مزرعه به‌عنوان تیمار بهینه جهت القا

CAM در این گیاه در شرایط خشکی تعیین شد. افزایش تنش خشکی از ۳۰ به ۲۰ درصد ظرفیت مزرعه باعث انباشت اسیدیته شبانه‌روزی شد. بر اساس تجربیات پیشین، مراجعه به منابع و مقایسه میزان تغییرات اسیدیته شبانه‌روزی گیاه قیچ خشکی‌دیده با میزان تغییرات اسیدیته شبانه‌روزی در گونه‌های حدواسط شناخته‌شده مقاوم به شوری مانند *Mesembryanthemum crystallinum* (Matsuoka *et al*., 2018)، نتایج به‌دست آمده در این پژوهش تنها ظهور متابولیسم CAM-cycling را در این گونه اثبات می‌کنند. مقاومت خوب این گیاه به تنش خشکی و شوری همزمان با انعطاف‌پذیری جزیی فتوسنتزی این نوید را می‌دهد که قابلیت انتقال از مسیر فتوسنتزی C_3 به CAM-cycling در شرایط سخت رویشگاه‌های پیرامون دریاچه ارومیه، مزیت مهمی برای حفظ بقا این گونه در این شرایط دشوار باشد.

القا مسیر فتوسنتزی CAM در پاسخ به اعمال شوری در *Mesembryanthemum crystallinum* (Matsuoka *et al*., 2018) و همچنین در *Sedum uniflorum* (Martin *et al*., 2019) گزارش شده است. بر خلاف انتظار، هیچ‌کدام از گونه‌های گوشتی مطالعه‌شده در این پژوهش در پاسخ به شوری انعطاف‌پذیری فتوسنتزی نشان ندادند.

جدول ۴- تأثیر اعمال سطوح مختلف خشکی به‌مدت یک‌ماه بر شاخص‌های تحمل به تنش (درصد کاهش عملکرد و مقدار مالون‌دی‌آلدئید) و شاخص درجه القا CAM (تغییرات شبانه‌روزی اسیدیته) در گیاه قیچ. میانگین‌هایی که حداقل یک حرف مشترک داشته باشند، تفاوت معنی‌داری با یکدیگر ندارند (آزمون توکی در سطح ۹۵٪)

Table 4. Effects of different levels of drought stress on the percentage of yield loss (%) and maloendialdehyde (MDA) content, and as well as on CAM expression parameters including dusk/dawn (Δ) titratable acidity in *Zygophyllum fabago* plants. Data of each parameter followed by the same letter are not significantly different ($p<0.05$, Tukey test).

Yield loss (%)	MDA (nmol g^{-1} DW)	Δ Titratable acidity (μmol g^{-1} FW)	% of FC
۰/۰۰±۰/۰۰^{c}	۲۳/۴±۳/۳^{a}	۰/۱۰±۰/۰۲^{e}	۸۰
۰/۰۰±۰/۰۰^{c}	۲۲/۱±۲/۸^{a}	۰/۸۸±۰/۰۶^{d}	۷۰
۰/۰۰±۰/۰۰^{c}	۲۵/۰±۴/۲^{a}	۰/۷۸±۰/۰۴^{de}	۶۰
۰/۰۰±۰/۰۰^{c}	۲۶/۳±۴/۸^{a}	۱/۰۵±۰/۰۳^{d}	۵۰
۴/۳±۱/۱^{c}	۲۵/۸±۳/۴^{a}	۴/۶۰±۰/۱۳^{b}	۴۰
۲۳/۰±۳/۱^{b}	۲۷/۶±۴/۵^{a}	۶/۳۰±۰/۷۷^{a}	۳۰
۵۰/۱±۶/۹^{a}	۲۸/۷±۵/۱^{a}	۲/۸۸±۰/۲۱^{c}	۲۰

آزمایش دوم: کشت گونه‌ها در خاک حوضه دریاچه ارومیه در رویشگاه طبیعی

در این آزمایش، برای ایجاد شرایط رشد طبیعی یکسان برای همه گونه‌ها، ابتدا خاک منطقه آغداش با شوری بالا (۷±۰/۴۲ دسی‌زیمنس) انتخاب شد و همه شش گونه به این خاک منتقل شدند. میزان شوری خاکی که برای کشت گیاهان شاهد انتخاب گردید با استفاده از EC متر در محدوده ۲/۶۰±۰/۲۶ اندازه‌گیری شد. همچنین، تیمار خشکی یکسان به‌صورت قطع آبیاری به مدت ۳۰

روز برای همه گونه‌ها اعمال گردید. شاخص‌های درصد کاهش عملکرد، مقدار مالون‌دی‌آلدئید، نسبت پتاسیم به سدیم، کلروفیل کل و بیشینه عملکرد کوانتومی فتوسیستم II برای ارزیابی تحمل به تنش شوری و خشکی و شاخص‌های تغییرات شبانه‌روزی اسیدیته (اختلاف اسیدیته شبانه و روزانه) و فعالیت آنزیم پپ‌کربوکسیلاز (PEPC) به‌عنوان شاخص‌های تعیین‌کننده القا فتوسنتز CAM در محیط طبیعی سنجش شدند (جدول ۵ و ۶).

کشت گیاه ناز طوقه‌ای در خاک حوضه دریاچه ارومیه در رویشگاه طبیعی

بیشترین کاهش درصد عملکرد در تیمار توأم شوری و خشکی به‌دست آمد (بالای ۵۰ درصد) (جدول ۵) و در انتهای آزمایش گیاهان این تیمار خشک شدند. اعمال شوری تنها، باعث افزایش انباشت مالون‌دی‌آلدئید شد. بیشینه عملکرد کوانتومی فتوسیستم II تحت تأثیر تیمار خشکی تنها و شوری تنها قرار نگرفت. نسبت پتاسیم به سدیم در برگ‌های خشکی‌دیده گیاه ناز طوقه‌ای افزایش معنی‌دار نشان داد که با کاهش معنی‌دار کلروفیل کل همراه بود. درحالی‌که اعمال تنش شوری تنها نتوانست تغییر معنی‌داری در تغییرات اسیدیته شبانه‌روزی ایجاد کند، اعمال تیمار خشکی تنها باعث افزایش چشمگیر اسیدیته شبانه گردید. الگوی تغییرات فعالیت آنزیم پپ‌کربوکسیلاز منطبق بر الگوی تغییرات اسیدیته شبانه‌روزی بود (جدول ۵). شاخص F_v/F_m یکی از شاخص‌های مهم برای تعیین مقاومت به انواع تنش‌ها است (Rousseau *et al.*, 2013). تنش شوری از عوامل مهم محدودکننده رشد رویشی و زایشی اکثر گیاهان است (Mosleh Arany *et al.*, 2018; Fazeli *et al.*, 2018). با افزایش شدت تنش شوری در روز سی‌ام، مقدار MDA زیاد شد و افزایش شاخص پراکسیداسیون لیپیدها در شرایط تنش نشان داد که شوری اعمال‌شده پس از ۳۰ روز در این پژوهش باعث تنش اکسیداتیو شده است. کاهش نسبت پتاسیم به سدیم برگی نشان‌دهنده مقاومت اندک ناز طوقه‌ای به تنش شوری است، زیرا حفظ نسبت بالای پتاسیم به سدیم در شرایط تنش شوری یکی از شاخص‌های مقاومت به شوری است (Hniličková *et al.* 2019). باتوجه‌به مقاومت کم این گیاه به شوری، بیشترین کاهش درصد عملکرد در تیمار توأم شوری و خشکی به‌دست آمد (بالای ۵۰ درصد) و در انتهای آزمایش گیاهان این تیمار خشک شدند.

کشت گیاه قیچ در خاک حوضه دریاچه ارومیه در رویشگاه طبیعی

مقایسه درصد کاهش عملکرد گیاه قیچ تحت تنش با گیاهان شاهد نشان داد که افت عملکرد گیاه قیچ در تیمار توأم شوری و خشکی حدود ۲۸ درصد بود (جدول ۶). بیشینه عملکرد کوانتومی فتوسیستم II و مقدار مالون‌دی‌آلدئید تحت تأثیر تیمار خشکی تنها قرار نگرفتند. مقدار کلروفیل کل در تیمارهای شوری تنها، خشکی تنها و تیمار توأم شوری و خشکی کاهش معنی‌داری نشان داد. نسبت پتاسیم به سدیم برگی و مقدار کلروفیل برگ‌های شوری‌دیده گیاه قیچ کاهش معنی‌داری نشان داد. اعمال تیمار خشکی باعث افزایش جزئی و معنی‌دار اسیدیته شبانه گردید. الگوی تغییرات فعالیت آنزیم پپ‌کربوکسیلاز منطبق بر الگوی تغییرات اسیدیته شبانه‌روزی بود و بیشترین میزان فعالیت این آنزیم

در تیمارهای خشکی تنها و تیمار توأم شوری و خشکی مشاهده شد.

بر اساس یافته‌های Wang و همکاران (۲۰۲۰)، هرچند گیاهان جنس قیچ تحمل بالایی به شوری و خشکی دارند ولی *Z. fabago* در مقایسه با *Z. brachypterum* و *Z. obliquum* تحمل کمی به شوری دارد و شدت‌های بالای شوری (۲۰۰ میلی‌مولار) باعث افت چشگیر رشد و عملکرد این گونه می‌شود. کاهش کلروفیل در تنش توأم شوری و خشکی در این پژوهش با نتایج Mulry و همکاران (۲۰۱۵) در گیاه *پورتولاکا اولراسه* تطابق داشت. بیشترین کاهش مقدار کلروفیل کل در تیمار تنش توأم شوری و خشکی به‌دست آمد که این کاهش با افت معنی‌دار عملکرد (وزن خشک اندام هوایی) در این تیمار پس از گذشت ۳۰ روز از اعمال تیمار کاملاً همخوانی داشت. عدم تغییر معنی‌دار بیشینه عملکرد کوانتومی فتوسیستم II و مقدار مالون‌دی‌آلدئید نشان‌دهنده مقاومت بالای گیاهان قیچ به تنش توأم شوری و خشکی بود. به‌عبارت‌دیگر، گیاه قیچ سازوکارهای لازم برای حفاظت نوری در شرایط تنش توأم را دارا بود و عدم تغییر معنی‌دار شاخص پراکسیداسیون لیپیدها نشان‌دهنده عدم وقوع تنش اکسیداتیو بود. پس از ۳۰ روز اعمال خشکی، کاهش عملکرد قیچ در خاک شور (۷±۰/۴۲ دسی‌زیمنس) حوضه دریاچه ارومیه در شرایط طبیعی بیشتر از ۲۸ درصد نبود. در نتیجه این گیاه گزینه مناسبی برای کشت در خاک‌های خشک و شور حوضه دریاچه است.

جدول ۵- تأثیر خشکی ۳۰ روزه بر درصد کاهش عملکرد (٪)، مقدار مالون‌دی‌آلدئید (nmol g^{-1} DW)، نسبت پتاسیم به سدیم برگی، مقدار کلروفیل کل (mg g^{-1} FW)، بیشینه عملکرد کوانتومی فتوسیستم II (F_v/F_m)، تغییرات شبانه‌روزی اسیدیته (اختلاف اسیدیته شبانه و روزانه) و فعالیت آنزیم پپ کربوکسیلاز PEPC) در گیاه ناز طوقه‌ای کشت‌شده در خاک شور (۷±۰/۴۲ دسی‌زیمنس) حوضه دریاچه ارومیه در شرایط طبیعی. میانگین‌هایی که حداقل یک حرف مشترک داشته باشند، تفاوت معنی‌داری با یکدیگر ندارند (آزمون توکی در سطح ۹۵٪)

Table 5. Effects of 30 days water stress on the percentage of yield loss (%), maloendialdehyde (MDA) content, K/Na ratio, total chlorophyll, maximum quantum yield (F_v/F_m), and as well as on CAM expression parameters including dusk/dawn (Δ) titratable acidity, and the activities of phosphoenolpyruvate carboxylase (PEPC) in *Rosularia elymaitica* plants grown in natural habitats (the salinity level of 7±0.42 dS m^{-1}). Data of each parameter followed by *the same letter* are not significantly different ($P < 0.05$, Tukey test).

تیمارها	PEPC activity	Δ Acidity	F_v/F_m	Total Chl	K/Na	MDA	Yield loss
شاهد	۰/۸۶±۰/۱۳^{b}	۰/۸۵±۰/۱۲^{b}	۰/۸۳±۰/۰۵^{a}	۱۸/۳±۱/۷۴^{a}	۵/۲±۰/۴۱^{b}	۱۳/۴±۳/۱^{b}	۰/۰۰±۰/۰۰^{c}
شوری	۰/۹۲±۰/۱۷^{b}	۰/۹۶±۰/۱۷^{b}	۰/۸۰±۰/۰۷^{a}	۲۰/۶±۲/۴۴^{a}	۴/۱±۰/۲۱^{b}	۲۴/۲±۳/۰^{a}	۲۹/۱±۳/۷^{b}
خشکی	۲/۴۰±۰/۴۰^{a}	۶/۸±۱/۰^{a}	۰/۸۲±۰/۰۸^{a}	۱۱/۲±۱/۳۳^{b}	۵/۵±۰/۳۱^{a}	۱۵/۲±۳/۹^{b}	۱۰/۳±۲/۲^{c}
شوری+خشکی	–	–	–	–	–	–	۵۸/۲±۸/۷^{a}

نتیجه‌گیری کلی و پیشنهاد

در آزمایش اول، میزان تحمل به شوری قیچ و ناز طوقه‌ای، ۱۲ دسی‌زیمنس تعیین گردید. برای هر دو گونه بیشترین انباشت اسیدیته شبانه‌روزی، در رژیم آبیاری ۳۰ درصد ظرفیت مزرعه مشاهد شد که حاکی از ظهور درجه پایینی از فعالیت CAM یعنی

متابولیسم CAM-cycling در این گونه‌ها بود. در آزمایش دوم،کاهش بیش از ۵۸ درصدی عملکرد ناز طوقه‌ای کشت‌شده در خاک شور (۷±۰/۴۲ دسی‌زیمنس) حوضه دریاچه ارومیه در شرایط رویشگاه طبیعی پس از ۳۰ روز اعمال خشکی نشان داد که به‌علت مقاومت کم به شوری، این گیاه قادر به رشد در خاک‌های خشک و شور حوضه دریاچه نیست. البته باتوجه‌به اینکه خاک مناطق حوضه دریاچه ارومیه گرادیانی از شوری را نشان می‌دهد که هر ساله با ظهور خشکسالی‌ها متغیر است، توصیه می‌شود باتوجه‌به مقاومت مناسب به تنش خشکی تنها، کشت این گیاه در مناطقی با شوری کم انجام شود. گونه قیچ نسبت به ناز طوقه‌ای، مقاومت بالایی به تنش توأم شوری و خشکی نشان داد. مقاومت بالای گیاه قیچ به تنش توأم شوری و خشکی با حفظ مؤثر فعالیت فتوشیمیایی فتوسنتز و فعالیت آنزیم پپ‌کربوکسیلاز همراه بود. در نتیجه، گیاه قیچ ضمن مقاومت بالا به تنش شوری و خشکی، در شرایط سخت انعطاف‌پذیری فتوسنتزی بروز می‌دهد. از آنجایی که توان انعطاف‌پذیری فتوسنتزی در یک گیاه سازوکار مناسبی برای افزایش کارآیی بهره‌وری از آب در شرایط کم‌آبی محسوب می‌شود، به‌نظر می‌رسد گیاه قیچ می‌تواند گزینه مناسبی برای کشت در خاک‌های خشک و شور حوضه دریاچه باشد.

جدول ۶- تأثیر خشکی ۳۰ روزه بر درصد کاهش عملکرد (٪)، مقدار مالون‌دی‌آلدئید (nmol g^{-1} DW)، نسبت پتاسیم به سدیم برگی، مقدار کلروفیل کل (mg g^{-1} FW)، بیشینه عملکرد کوانتومی فتوسیستم II (F_v/F_m)، تغییرات شبانه‌روزی اسیدیته (اختلاف اسیدیته شبانه و روزانه) و فعالیت آنزیم پپ‌کربوکسیلاز (PEPC) در گیاه قیچ (*Zygophyllum fabago*) کشت‌شده در خاک شور (۷±۰/۴۲ دسی‌زیمنس) حوضه دریاچه ارومیه در شرایط طبیعی. میانگین‌هایی که حداقل یک حرف مشترک داشته باشند، تفاوت معنی‌داری با یکدیگر ندارند (آزمون توکی در سطح ۹۵٪)

Table 6. Effects of 30 days water stress on the percentage of yield loss (%), maloendialdehyde (MDA) content, K/Na ratio, total chlorophyll, maximum quantum yield (F_v/F_m), and as well as on CAM expression parameters including dusk/dawn (Δ) titratable acidity, and the activities of phosphoenolpyruvate carboxylase (PEPC) in *Zygophyllum fabago* plants grown in natural habitats (the salinity level of 7±0.42 dS m^{-1}). Data of each parameter followed by *the same letter* are not significantly different ($p<0.05$, Tukey test).

تیمارها	PEPC activity	Δ Acidity	F_v/F_m	Total Chl	MDA	K/Na	Yield loss
شاهد	۰/۸۵±۰/۱۰^{b}	۰/۶۱±۰/۲۲^{c}	۰/۸۲±۰/۰۳^{a}	۲۷/۳±۳/۲^{a}	۲۶/۳±۲/۱^{a}	۳/۹۳±۰/۳۲^{a}	۰/۰۰±۰/۰۰^{c}
شوری	۰/۷۷±۰/۱۳^{b}	۰/۷۶±۰/۳۷^{c}	۰/۷۹±۰/۰۲^{a}	۱۸/۳±۲/۱^{b}	۲۸/۳±۴/۰^{a}	۰/۹۵±۰/۱۴^{b}	۱۰/۷±۱/۷^{b}
خشکی	۱/۴۵±۰/۲۳^{a}	۸/۶±۱/۱^{a}	۰/۷۸±۰/۰۴^{a}	۱۵/۳±۲/۴^{b}	۲۵/۴±۳/۹^{a}	۳/۴۴±۰/۳۳^{a}	۸/۲۲±۱/۲^{b}
شوری+خشکی	۱/۳۸±۰/۲۱^{a}	۵/۶±۱/۳^{b}	۰/۷۷±۰/۰۱^{a}	۱۳/۳±۳/۶^{b}	۳۰/۲±۳/۷^{a}	۰/۸۷±۰/۴۱^{b}	۲۷/۹±۲/۱^{a}

سپاسگزاری

این پژوهش در قالب طرح مصوب صندوق حمایت از پژوهشگران و فناوران کشور (Iran national Science foundation) با کد ۹۶۰۰۸۶۳۷ انجام شده است و نگارندگان مقاله از حمایت مالی این صندوق سپاسگزاری می‌کنند.

References

Alam, M., Juraimi, A. S., Rafii, M. Y., Abdul Hamid, A. and Aslani, F. (2014) Screening of purslane (*Portulaca oleracea* L.) accessions for high salt tolerance. The Scientific World Journal e 627916.

Amin, A. B., Rathnayake, K. N., Yim, W. C., Garcia, T. M., Wone, B., Cushman, J. C. and Wone, B. W. (2019) Crassulacean acid metabolism abiotic stress-responsive transcription factors: a potential genetic engineering approach for improving crop tolerance to abiotic stress. Frontiers in Plant Science 10: 129-134.

Boominathan, R. and Doran, P.M. (2002) Ni induced oxidative stress in roots of the Ni hyperaccumlator, Alyssum bertoloni. New Phytologist 156: 202-205.

Borland, A. M., Wullschleger, S. D., Weston, D. J., Tuskan, G. A., Hartwell, J., Yang, X. and Cushman, C. (2015) Climate-resilient agroforestry: physiological responses to climate change and engineering of crassulacean acid metabolism (CAM) as a mitigation strategy. Plant, Cell and Environment 38: 1833-1849.

Castillo, F. J. (1996) Antioxidative protection in the inducible CAM plant *Sedum album* L. following the imposition of severe water stress and recovery. Oecologia 107: 469-477.

Groenhof, A. C., Bryant, J. A. and Etherington J. R. (1988) Photosynthetic changes in the inducible CAM plant *Sedum telephium* L. following the imposition of water stress. II. Changes in the activity of phosphoenolpyruvate carboxylase. Annals of Botany 62: 187-192.

Fazeli, A., Zarei, B. and Tahmasebi, Z. (2018) The effect of salinity stress and salicylic acid on some physiological and biochemical traits of Black cumin (*Nigella sativa* L.). Iranian Journal of Plant Biology 9(4): 69-84 (In persian).

Freschi, L., Rodrigues, M. A., Domingues, D. S., Purgatto, E., Van Sluys, M. A., Magalhaes, J. R., Kaiser, W. M. and Mercier, H. (2010) Nitric oxide mediates the hormonal control of crassulacean acid metabolism expression in young pineapple plants. Plant Physiology 152(4): 1971-1985.

Habibi, G. and Ajory, N. (2015) The effect of drought on photosynthetic plasticity in Marrubium vulgare plants growing at low and high altitudes. Plant Research 128: 987-994.

Habibi, G. and Hajiboland, R. (2011) Comparison of water stress and UV radiation effects on induction of CAM and antioxidative defense in the succulent *Rosularia elymaitica* (Crassulaceae). Acta Biologica Cracoviensia Series Botanica 53(2): 15-24.

Habibi, G. and Hajiboland, R. (2010) Photosynthetic characteristics and antioxidative responses in three species of Crassulaceae following drought stress. Journal of Sciences, Islamic Republic of Iran 21(3): 205-212.

Habibi, G. (2014) Hydrogen peroxide (H_2O_2) generation, scavenging and signaling in plants. In: Ahmad P, (ed.), Oxidative damage to plants: Antioxidant networks and signaling. Elsevier, USA, 557-574.

Habibi, G. (2017) Physiological, photochemical and ionic responses of sunflower seedlings to exogenous selenium supply under salt stress. Acta Physiologiae Plantarum 39(10): 213.

Habibi, G. (2016) The role of crassulacean acid metabolism induction in plant adaptation to water deficit. In: Ahmad, P. (ed) Water stress and crop plants: A sustainable approach. UK, Wiley, 12-23.

Heyduk, K., Ray, J. N., Ayyampalayam, S., and Leebens-Mack, J. (2018) Shifts in gene expression profiles are associated with weak and strong crassulacean acid metabolism. American Journal of Botany 105: 587-601.

Hniličková, H., Hnilička, F., Orsák, M. and Hejnák, V. (2019) Effect of salt stress on growth, electrolyte leakage, Na^+ and K^+ content in selected plant species. Plant, Soil and Environment 65(2): 90-6.

Holtum, J. A., Hancock, L. P., Edwards, E. J. and Winter, K. (2017) Optional use of CAM photosynthesis in two C_4 species, *Portulaca cyclophylla* and *Portulaca digyna*. Journal of Plant Physiology 214: 91-6.

Lara, M. V., Disante, K. B., Podesta, F. E., Andreo, C. and Drincovich, M. F. (2003) Induction of a crassulacean acid like metabolism in the C_4 succulent plant, *Portulaca oleracea* L.: physiological and morphological changes are accompanied by specific modifications in phosphoenolpyruvate carboxylase. Photosynthesis Research 77: 241-254.

Lichtenthaler, H. K. and Wellburn, A. R. (1985) Determination of total carotenoids and chlorophylls a and b of leaf in different solvents. Biochemical Society Transactions 11: 591-592.

Liu, D., Palla, K. J., Hu, R., Moseley, R. C., Mendoza, C., Chen, M., Abraham, P. E., Labbé, J. L., Kalluri, U. C., Tschaplinski, T. J. and Cushman, J. C. (2018) Perspectives on the basic and applied aspects of crassulacean acid metabolism (CAM) research. Plant Science 274: 394-401.

Martin, C. E., Chiang, J. M. and Lin, T. C. (2019) Effect of NaCl on the photosynthetic pathways of halophytic leaf succulent Sedum uniflorum. Biologia Plantarum 63(1): 33-37.

Matsuoka, T., Onozawa, A., Sonoike, K. and Kore-eda, S. (2018) Crassulacean acid metabolism induction in *Mesembryanthemum crystallinum* can be estimated by non-photochemical quenching upon actinic illumination during the dark period. Plant Cell Physiology 59(10): 1966-75.

Mosleh Arany, A., Rafiei, A., Tabande, A. and Azimzadeh, H. (2018) Morphological and physiological responses of root and leave in *Gleditschia caspica* to salinity stress. Iranian Journal of Plant Biology 9(4): 1-12. (In persian)

Mulry, K. R., Hanson, B. A. and Dudle, D. A. (2015) Alternative strategies in response to saline stress in two varieties of *Portulaca oleracea* (purslane). PLOS One 10(9): e0138723

Rousseau, C., Belin, E., Bove, E., Rousseau, D., Fabre, F. and Berruyer, R. (2013) High throughput quantitative phenotyping of plant resistance using chlorophyll fluorescence image analysis. Plant Methods 9: 1-13.

Strasser, R. J, Tsimilli-Michael, M. and Srivastava, A. (2004) Analysis of the chlorophyll a fluorescence transient. In: Papageorgiou, G. C. and Govindjee (eds.) Chlorophyll a fluorescence. Springer, Dordrecht, Netherlands, pp 321-362.

Wang, J., Jiang, X., Zhao, C., Fang, Z. and Jiao, P. (2020) Transcriptomic and metabolomic analysis reveals the role of CoA in the salt tolerance of *Zygophyllum* spp. BMC Plant Biology 20(1):1-4.

Winter, K. (2019) Ecophysiology of constitutive and facultative CAM photosynthesis. Journal of Experimental Botany 70(22): 6495-508.