مجله زیست فناوری گیاهان دارویی

سال چهارم، شماره دوم، پاییز و زمستان، ۱۳۹۷

ارزیابی برخی صفات فیزیولوژیکی و فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدان در گیاه دارویی گشنیز (*Coriandrum sativum* L.) در واکنش به تلقیح میکوریزایی تحت تنش شوری

محمد اسماعیل‌پور جهرمی*[1]، امید یونسی[2]

چکیده

تحقیق حاضر با هدف ارزیابی میزان نشت یونی، غلظت پرولین، غلظت مالون دی‌آلدئید و فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان در اندام هوایی و ریشه گیاه دارویی گشنیز در واکنش به تلقیح میکوریزایی تحت تنش شوری در گلخانه دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه تهران انجام شد. آزمایش بصورت فاکتوریل و در قالب طرح بلوک کامل تصادفی در سه تکرار اجرا گردید. تیمارهای آزمایشی عبارت از سه سطح تنش شوري شامل شاهد (بدون تنش)،۶۰ و ۱۲۰ میلي‌مولار نمک کلرید سدیم و دو سطح تلقیح میکوریزایی (تلقیح و عدم تلقیح قارچ میکوریزایی *Glomus mosseae*) بودند. صفات مورد ارزیابی شامل میزان نشت یونی، غلظت مالون دی‌آلدئید، غلظت پرولین و فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان سوپراکسیددیسمیوتاز، کاتالاز و گایاکول پراکسیداز بود. نتایج به دست آمده اثرات افزاینده تنش شوری بر صفات فیزیولوژیکی مورد ارزیابی را نشان داد. به نحوی که با افزایش شدت تنش شوری میزان نشت یونی، غلظت مالون دی‌آلدئید، غلظت پرولین به میزان قابل ملاحظه‌ای افزایش یافت. میزان این افزایش در ریشه‌ها بیشتر بود که بیانگر حساسیت بالاتر این اندام به تنش شوری می‌باشد. به کارگیری تیمار میکوریزایی موجب کاهش غلظت مالون دی‌آلدئید و میزان نشت یونی در شرایط تنش گردید. همچنین میزان پرولین گیاهان میکوریزایی از غیرمیکوریزایی پایین‌تر بود. تنش شوری موجب افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان گردید. فعالیت هر سه آنزیم مورد ارزیابی در ریشه بالاتر از اندام هوایی بود. شدت فعالیت آنزیم کاتالاز به مراتب از دو آنزیم دیگر بالاتر بود. اعمال تیمار میکوریزایی نقش مؤثری در ارتقاء رشد و فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان گشنیز به ویژه در شرایط تنش شدید شوري داشت. هر چند گیاهان میکوریزایی و غیرمیکوریزایی تفاوت چندانی از نظر آنزیم گایاکول پراکسیداز نشان ندادند.

کلمات کلیدی: آنزیم آنتی‌اکسیدان، پرولین، شوری، قارچ میکوریزا، گشنیز

*[1] نویسنده مسئول، عضو هیات علمی دانشگاه جهرم، فارس. ایمیل: msp62@yahoo.com

[2] دکتري تخصصی فیزیولوژي گیاهان زراعی، دانشگاه تهران، تهران

مقدمه

تنش شوري از تنش‌هاي غيرزيستي مهم است كه اثرات زيان‌باري بر عملكرد گياه و كيفيت محصول دارد. همه گونه‌هاي گياهي در محدوده‌اي از شوري كه هيچ اثر معني‌داري بر رشد نداشته باشند، رشد مي‌كنند، اما افزايش شوري در خارج از اين محدوده، باعث برهم خوردن تعادل يوني Na^+/K^+ شده و مشكلات متابوليكي متعددي ايجاد مي‌كند (Netodo al., 2004).

شوری همانند دیگر تنش‌های محیطی سبب تولید گونه‌های فعال اکسیژن در گیاه شده و تنش اکسیداسیونی را به دنبال دارد (Dat et al., 2000) که سبب آسیب رساندن به ساختارهای غشایی، پروتئین‌ها، اسیدهای نوکلئیک و کلروفیل می‌شود (Mittler, 2002). گیاهان در مواجهه با این اختلالات متابولیسمی با درجات مختلفی به تنش‌ها پاسخ می‌دهند. سیستم آنتی‌اکسیدانی گیاهان که آنزیم‌های نظیر کاتالاز و گایاکول پراکسیداز و مولکول‌های غیرآنزیمی نظیر کاروتنوئیدها را شامل می‌شوند، بخشی از توانایی گیاهان در تحمل تنش شوری به شمار می‌آیند. گیاهانی که سیستم آنتی‌اکسیدانی کارآمدتری دارند بهتر می‌توانند در برابر تنش‌های محیطی نظیر شوری مقاومت کنند (Nunez et al., 2003).

یکی دیگر از روش‌هاي متابوليسمي در واكنش به تنش اسمزي تجمع پرولين است (Islam et al., 2009). در جريان تنظيم اسمزي افزايش غلظت پرولين متداول‌ترين پاسخ گياهي است كه در شرايط تنش بروز مي‌نمايد. پرولين به سرعت تغييرات محيط آبي سلول را تنظيم مي‌كند و از طريق تنظيم اسمزي ازتلفات آب برگ‌ها جلوگيري به عمل مي‌آورد (Islam et al., 2009).

قارچ‌ها جزء مهمی از اکوسیستم‌های طبیعی هستند و در محیط‌های شور هم شناسایی شده‌اند (Paul et al., 2000). تحقیقات نشان داده است که قارچ‌های میکوریزای از طریق افزایش سطح جذب ریشه و جذب بهتر آب و عناصر غذایی از خاك باعث افزایش رشد و نمو گیاه میزبان می‌گردند. به طورکلی سازوکار اثر قارچ میکوریزایی بر سیستم آنتی‌اکسیدانتی گیاهان تلقیح شده تحت شرایط تنش شناخته شده نیست. اما می‌توان اظهار داشت که قارچ به طور مستقیم باعث خنثی شدن فعالیت رادیکال‌های آزاد اکسیژن در گیاه می‌شود. گزارش شده است که قارچ از طریق تاثیر بر فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدانی موجب کاهش اثرات سوء تنش شوری و افزایش رشد گیاه جو تحت تنش شوری می‌گردد (Younesi et al., 2013).

گشنيز گياهي است يكساله كه در طبقه‌بندي گياهان متعلق به تيرة چتريان مي‌باشد. گياه دارويي گشنيز به دليل داشتن ماده موثره (اسانس) و تركيب اصلي لينالول، داراي اهميت بسزايي در صنايع داروسازي، غذايي، آرايشي و بهداشتي مي‌باشد كه از جمله مي‌توان به خواص ضد اسپاسم و درد گشنيز اشاره داشت (Majnoun Hosseini and twelveImami, 2007).

بنابراین با توجه به مطالب مطرح شده، و با توجه به افزایش روزافزون زمین‌های شور و ثاثیر تنش شوری بر پارامترهای فیزیولوژیکی هدف از انجام پژوهش حاضر، ارزیابی تاثییر تنش شوری بر شاخصه‌های آسیب ناشی از شوری و نیز فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان در شرایط تنش در گیاه گشنیز بود.

مواد و روش‌ها

تحقيق حاضر با هدف ارزيابي نقش تلقيح ميكوريزايي بر ميزان نشت يوني، غلظت پرولين، غلظت مالون دي‌آلدئيد و نيز فعاليت آنزيم‌هاي آنتي‌اكسيداني كاتالاز، سوپراكسيد ديسميوتاز و گاياكول پراكسيداز گياه دارويي گشنيز تحت تنش شوری به صورت آزمون گلخانه‌ای در گلخانه دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه تهران در بهار ۱۳۹۰ اجرا گردید. آزمایش به صورت فاکتوریل در قالب طرح بلوک کامل تصادفی در سه تکرار اجرا گردید. تیمارهای آزمایشی عبارت از سه سطح تنش شوري شامل

شاهد (بدون تنش)، ۶۰ و ۱۲۰ میلي‌مولار نمک کلرید سدیم و دو سطح تلقیح (تلقیح و عدم تلقیح میکوریزایی) بودند. قارچ میکوریزایی مورد استفاده در این آزمایش *Glomus mosseae* بود. تیمار شوری از طریق آب آبیاری اعمال گردید.

بذر مورد نیاز برای اجرای آزمایش (تولید سال ۱۳۸۹) از موسسه پاکان بذر اصفهان تهیه گردید و پیش از اجرای طرح، یک پیش آزمایش جهت تعیین قوه نامیه انجام شده و قوه نامیه ۱۰۰ درصد مشاهده گردید. قارچ میکوریزایی لازم جهت اجرای تحقیق از موسسه تحقیقاتی واقع در منطقه اسدآباد همدان تأمین گردید.

براي اجراي تيمار تلقيح ۶۰ گرم خاک حاوی اسپور قارچ به گلدان‌های حاوی تیمار میکوریزا اضافه گردید. تعداد پنج بذر گشنیز پس از ضدعفونی در گلدان‌های بزرگ استوانه‌ای کشت گردید. خاک مورد استفاده برای اجرای طرح از مزرعه تحقیقاتی دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه تهران واقع در شهرستان کرج تهیه گردید. شوری خاک مذکور برابر ۱/۲۶ دسی‌زیمنس بر متر، بافت خاک متوسط تا سبک (لومی شنی) و میزان فسفر و پتاسیم خاک به ترتیب برابر ۹ و ۲۸۰ پی‌پی‌ام بود (جدول ۱). پیش از اجرای آزمایش خاک مورد استفاده برای پر کردن گلدان‌ها استریل گردید.

جدول ۱- خصوصیات فیزیکی و شیمیایی خاک مورد استفاده در آزمایش

	بافت خاک	قدرت نگهداری آب (درصد)	شوری (ds/m)	pH	کربن آلی	ازت کل	فسفر قابل جذب (ppm)	پتاسیم قابل جذب (ppm)
نمونه خاک مزرعه	لومی شنی	31	1.26	7.3	1.11	0.16	9	280

پس از استقرار کامل، بوته‌ها تنک شده و سه بوته در هر گلدان حفظ شد. با رسیدن رطوبت خاک به ۸۰ درصد ظرفیت زراعی، آبیاری گیاهان مطابق به تیمارهای شوری به صورت دستی صورت گرفت. گیاهان در گلخانه زیر نور طبیعی با میانگین دمای گلخانه در روز حدود ۲۵ درجه سانتی‌گراد و در شب در حدود ۱۷ درجه سانتی‌گراد رشد کردند. گیاهان رشد کرده در پایان مرحله رویشی بطور کامل از خاک خارج شدند.

برای تعیین درصد کلونیزاسیون ریشه از روش فیلیپس و هایمن (Phillips and Hayman, 1970) استفاده شد. بر اساس این روش ابتدا ریشه‌های تازها چندین بار در زیر آب جاری شستشو داده شد. در مرحله بعد برای بی‌رنگ کردن و نرم شدن بافت‌ها نخست آنها را در محلول هیدروکسید پتاسیم ۱۰ درصد به مدت ۲۴ ساعت در شرایط آزمایشگاه قرار گرفت. ریشه‌ها برای بی رنگ شدن کامل بافت‌ها به محلول حاوی آب اکسیژنه انتقال داده شده و به مدت دو ساعت در این محلول نگه‌داری شدند. سپس نمونه‌ها با آب مقطر شسته شد تا اثر آب اکسیژنه از بین برود. در مرحله بعد نمونه‌ها به مدت پنج دقیقه در محلول اسید کلریدریک یک درصد قرار داده شد تا آماده رنگ‌پذیری شوند. سپس ریشه‌ها مستقیماً از محلول اسیدی به محلول رنگی تریپن‌بلو یک درصد منتقل و به مدت ۱۰دقیقه در این محلول نگه‌داری شد.

تعیین درصد کلونیزاسیون بر اساس روش بیرمن و لیندرمن (Bierman and Linderman, 1981) انجام گرفت. بر اساس این روش ریشه‌های رنگ‌آمیزی شده به قطعات یک سانتی‌متری تقسیم شدند. هر قطعه ریشه بر روی لام و در داخل محلول لاکتوفنل در زیر میکروسکپ ارزیابی شد. میزان کلونیزاسیون با برآورد تعداد قطعات آلوده به ساختمان قارچی محاسبه شد.

برای سنجش میزان پرولین ۲ میلي‌لیتر از عصاره اندام هوایي و ریشه تازه گیاه در اسید سولفوسالیسیلیك ۳

درصد پس از صاف شدن به همراه ۲ میلي‌لیتر معرف نین هیدرین و ۲ میلي‌لیتر اسید استیك خالص در یك لوله آزمایش مخلوط شده و به مدت ۱ ساعت جوشانیده شد. به منظور توقف واکنش، نمونه‌ها سریع به ظرف محتوي آب و یخ انتقال داده شدند (به مدت ۲۰ دقیقه) و به هر نمونه ۴ میلي‌لیتر تولوئن اضافه شده و مخلوط گردیدند. جذب بخش رویي در طول موج ۵۲۰ نانومتر بدست آمد (Bates *et al*.,1973).

میزان نشت یونی با استفاده از روش koryo و همکاران (۲۰۰۰) انجام شد. در این روش ابتدا ۰/۱ گرم از اندام هوایی و ریشه توزین گردید. سپس ۱۰ میلی‌لیتر آب مقطر به آن اضافه شد و با گذاشتن درب ظروف به مدت ۲۴ ساعت در دمای آزمایشگاه قرار داده شد و سپس هدایت الکتریکی محلول حاصل با EC متر اندازه‌گیری شد (EC1). در مرحله بعد نمونه‌ها به مدت ۲۴ ساعت فریز شده و بعد از گذشت این مدت نمونه‌ها خارج و به آون با دمای ۶۰ درجه سانتی‌گراد منتقل شدند تا یخ آنها ذوب شود. نمونه‌ها را از آون خارج و بعد از اینکه دمای آنها با دمای محیط به تعادل رسید مجددا هدایت الکتریکی محلول اندازه‌گیری شد (EC2). در پایان با استفاده از فرمول زیر میزان نشت یونی محاسبه شد.

$$\text{نشت یونی} = (EC1/EC2) * 100$$

پراکسیداسیون لیپیدی غشاء بر اساس روش استوارت و بولی(Stewart and Bewley, 1980) اندازه‌گیری شد. بدین منظور ۰/۵ گرم از بافت تازه اندام هوایی و ریشه در ۱۰ میلی‌لیتر از محلول ۰/۱ درصد تری کلرواستیک اسید هموژن و به مدت ۱۰ دقیقه در ۱۵۰۰۰g سانتریفیوز گردیدد. ۲ میلی‌لیتر از محلول رویی حاصل با ۴ میلی‌لیتر از محلول ۲۰ درصد تری کلرواستیک اسید محتوی ۰/۵ درصد تیوباربیتوریک مخلوط شد. کمپلکس حاصل به مدت ۳۰ دقیقه در دمای ۹۵ درجه سانتی‌گراد نگهداری و سپس به حمام آب سرد منتقل شد. نمونه‌ها مجددا به مدت ۱۰ دقیقه در ۱۰۰۰۰g سانتریفیوژ شدند. جذب نمونه‌ها در طول موج ۵۳۲ و ۶۰۰ نانومتر ثبت گردید و میزان پراکسید شدن لیپیدها با استفاده از اختلاف بین طول موج‌های جذبی و ضریب خاموشی۱۵۵ میکرومول در سانتی‌متر به دست آمد.

برای استخراج پروتئین از بافر تریس گلیسین با اسیدیته ۸/۳ استفاده شد. نمونه‌های گیاهی پس از برداشت در دمای صفر درجه سانتی‌گراد با بافر هموژن شد و سپس در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد به مدت یک ساعت در ۲۰۰۰۰ دور دقیقه سانتریفوژ گردید.

برای اندازه‌گیری پروتئین نمونه‌ها از روش بردفورد (Bradford, 1976) استفاده شد. ۰/۱ میلی لیتر عصاره پروتئینی با ۵ میلی لیتر معرف بردفورد مخلوط و به مدت ۱۵ دقیقه در دمای آزمایشگاه باقی ماند و سپس جذب آن با دستگاه اسپکتروفتومتر در طول موج ۵۹۵ نانومتر اندازه‌گیری شد و بر اساس منحنی استاندارد رسم شده غلظت پروتئین محاسبه گردید.

سنجش فعالیت آنزیم کاتالاز به روش کک مک و هورست (Cakmak and Horst, 1991) انجام شد. برای سنجش فعالیت آنزیم کاتالاز ، ۰/۵ گرم از بافت تازه از اندام هوایی و ریشه به صورت جداگانه در نیتروژن مایع سائیده شد و در ۲/۵ میلی‌لیتر بافر فسفات سدیم ۲۵ میلی‌مولار با اسیدیته ۶/۸ عصاره گیری شد. مخلوط همگن حاصل در ۱۵۰۰۰ دور در دقیقه، به مدت ۱۵ دقیقه در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد سانتریفیوژ شده و سپس محلول روئی برای سنجش فعالیت آنزیم کاتالاز استفاده شد. با اضافه نمودن آب اکسیژنه با غلظت ۱۰ میلی‌مولار، تجزیه آب اکسیژنه با کاهش جذب نور در طول موج ۲۴۰ نانومتر به مدت یک دقیقه پیگیری شده و فعالیت آنزیمی به ازای تغییرات جذب بر میلی‌گرم پروتئین در دقیقه محاسبه شد.

سنجش فعالیت سوپراکسید دیسمیوتاز به روش گیانوپولیتیس و راس (Giannopolitis and Ries, 1977) انجام شد. برای بررسی فعالیت آنزیمی ۰/۵ گرم از بافت تازه از اندام هوایی و ریشه به صورت جداگانه در نیتروژن مایع سائیده شد و در ۳ میلی‌لیتر بافر HEPES-KOH با اسیدیته ۷/۸ حاوی EDTA ۰/۱ میلی‌مولار عصاره‌گیری شد. همگن حاصل در ۱۵۰۰۰ دور در دقیقه به مدت ۱۵

دقیقه در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد سانتریفوژ شد و محلول روئی برای سنجش فعالیت سوپراکسیددیسمیوتاز مورد استفاده قرار گرفت. مخلوط واکنش شامل HEPES-KOH ۵۰ میلی‌مولار بافر فسفات با اسیدیته ۷/۸ حاوی EDTA ۰/۱ میلی مولار، کربنات سدیم ۵۰ میلی مولار با اسیدیته ۱۰/۲، ال – ریبوفلاوین ۱۲ میلی مولار، نیتروبلوتترازولیوم ۷۵ میکرومولار، ریبوفلاوین ۱ میکرومولار و ۲۰۰ میکرولیتر عصاره آنزیمی بود. مواد فوق جهت جلوگیری از نفوذ نور و آغاز واکنش در لوله-های آزمایش پوشش‌دار مخلوط شد. سپس واکنش با اضافه نمودن عصاره آنزیمی آغاز گردید. در این حالت پوشش روی لوله‌ها برداشته شد و نمونه‌ها به مدت ۱۵ دقیقه در معرض نور لامپ فلورسنت ۱۵ وات قرار داده شدند و پس از این مدت جذب آنها در طول موج ۵۶۰ نانومتر با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر قرائت شد. همچنین از یک لوله آزمایش حاوی مخلوط واکنش به جزء عصاره آنزیمی به عنوان شاهد استفاده گردید. فعالیت آنزیمی به ازای تغییرات جذب بر میلی‌گرم پروتئین در دقیقه بیان شد.

سنجش فعالیت گایاکول پراکسیداز به روش قناتی و همکاران (Ghanati et al., 2002) انجام شد. برای بررسی فعالیت گایاکول پراکسیداز۰/۵ گرم از بافت تازه از اندام هوایی و ریشه به صورت جداگانه در نیتروژن مایع سائیده شد و در بافر فسفات پتاسیم ۰/۰۲ مولار و اسیدیته ۶/۸ در دمای ۴ درجه سانتی گراد عصاره‌گیری شده و سپس مخلوط همگن حاصل در ۱۲۰۰۰ دور در دمای ۲-۴ درجه سانتی گراد به مدت ۱۵ دقیقه سانتریفیوژ شده و محلول روئی جهت اندازگیری گایاکول پراکسیداز مورد استفاده قرار گرفت.

فعالیت آنزیمی با افزودن مقادیر مناسب از عصاره آنزیمی به مخلوط بافر، گایاکول با غلظت ۲۸ میلی مولار و پراکسید هیدروژن با غلظت ۵ میلی مولار که در کوت دستگاه اسپکتروفتومتر ریخته شده بود، آغاز گردید و به مدت یک دقیقه تغییرات جذب در طول موج ۴۷۰ نانومتر خوانده شد. فعالیت آنزیمی به ازای تغییرات جذب بر میلی‌گرم پروتئین در دقیقه بیان شد.

تجزیه تحلیل داده‌های حاصل از اندازه‌گیری صفات با استفاده از نرم افزار SAS (SAS Institute Inc., 1997) انجام گردید. قبل از تجزیه واریانس داده‌ها فرض نرمال بودن آنها بررسی شد. برای نرمال بودن داده‌ها از نرم افزار MINTAB استفاده گردید. مقایسه میانگین هر صفت به کمک آزمون چند دامنه‌ای دانکن در سطح احتمال ۵ درصد انجام شد.

نتایج و بحث

نتایج بدست آمده از این آزمایش بیانگر اثرات افزاینده تنش شوری بر میزان نشت یونی، غلظت پرولین، غلظت مالون دی‌آلدئید اندام هوایی و ریشه گیاه دارویی گشنیز بود. همچنین میزان فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان کاتالاز، سوپراکسیددیسمیوتاز وگایاکول پراکسیداز در شرایط تنش شوری افزایش یافت. اعمال تیمار میکوریزایی موجب بهبود شاخص‌های مورد ارزیابی که نمادهای از شدت آسیب گیاه و توان دفاعی در شرایط تنش هستند گردید.

بر اساس نتایج به دست آمده در این تحقیق تفاوت معنی‌دار سطوح تنش شوری و تیمار میکوریزایی به لحاظ میزان نشت یونی مشاهده گردید (جدول ۲). مقایسه سطوح تنش با آزمون دانکن در سطح احتمال یک درصد نشان داد که با افزایش شدت تنش شوری میزان نشت یونی به میزان قابل توجهي افزوده شد (جدول ۳). به نحوی که میزان نشت یونی در تیمار شوری ۱۲۰ میلی مولار به بالاترین میزان خود رسید. میزان نشت یونی در ریشه‌ها به مراتب بالاتر از اندام هوایی بود که نشان دهنده آسیب بیشتر غشاء سلول‌های بافت ریشه در شرایط تنش شوری می‌باشد. به طور کلی بروز تنش‌های محیطی باعث ایجاد تنش اکسیداسیونی و القای تولید رادیکال‌های اکسیژن در طی فرایند فتوسنتز و تنفس می‌گردد (Gar and Manchanda, 2008). این رادیکال‌های آزاد مستقیما به پروتئین‌ها، چربی‌ها، اسیدهای نوکلئیک و از همه

مهمتر به غشاء سلولی حمله کرده و سبب مرگ سلولی می شوند. تحقیقات Huang et al. (2005) نشان دادند که اعمال تنش می‌تواند موجب ناکارآمدی غشای سلولی گردد و به دنبال آن افزایش نفوذپذیری غشا برای الکترولیت‌ها را سبب شود.

به کارگیری تیمار میکوریزایی بر میزان نشت یونی اندام هوایی و ریشه تاثیر مثبت داشت و لذا اختلاف گیاهان میکوریزایی با گیاهان شاهد (تلقیح نشده) به لحاظ صفات مذکور معنی‌دار گردید. بیشترین میزان نشت یونی در ریشه گیاهان شاهد (تلقیح نشده) و کمترین میزان آن در اندام هوایی گیاهان میکوریزایی به دست آمد (جدول ۳). به نظر می‌رسد همزیستی میکوریزایی می‌تواند بواسطه کاهش تنش اکسیداتیو ناشی از تنش به محافظت گیاهان در برابر تنش شوری کمک کند (Younesi et al., 2013). بر اساس نتایج به دست آمده در این تحقیق غلظت پرولین اندام هوایی و ریشه تحت تنش شوری افزایش یافت (جدول ۲). اعمال اولین سطح شوری موجب افزایش قابل توجه پرولین در ریشه‌ها نسبت اندام هوایی گردید (جدول ۳). این روند افزایشی با تشدید تنش شوری در هر دو اندام مورد ارزیابی تداوم یافت ولیکن شدت افزایش پرولین در ریشه ها بالاتر بود. احتمالا افزایش بیشتر پرولین در ریشه نسبت به اندام هوایی بیانگر این مطلب است که ریشه مقاومت بیشتری از خود نشان می‌دهد چراکه اندام ریشه به طور مستقیم در معرض تنش شوری قرار دارد.

جدول ۲ - تجزیه واریانس (میانگین مربعات) اثر شوری بر میزان پراکسید هیدروژن، پرولین، مالون دی‌آلدئید و فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان دو گیاه دارویی

صفات	تکرار	شوری	تلقیح میکوریزایی	شوری × تلقیح میکوریزایی	خطای آزمایشی	ضریب تغییرات (درصد)
درجه آزادی	2	2	1	2	4	
نشت یونی اندام هوایی	34.685 **	26.547**	4.642*	0.627 *	1.35	14.25
نشت یونی ریشه	26.754 *	16.946**	16.356*	0.853*	2.86	25.76
پرولین اندام هوایی	11.322 **	19.735**	33.742**	0.975*	6.22	11.65
پرولین ریشه	35.875 *	7.156**	25.446**	0.646*	3.65	20.14
مالون دی آلدئید اندام هوایی	24.457*	2.268**	7.874*	1.876**	0.57	8.43
مالون دی آلدئید ریشه	21.876**	6.763**	8.974*	0.752*	1.35	6.75
فعالیت کاتالاز اندام هوای	8.357*	14.268**	2.257**	0.685**	2.24	10.24
فعالیت کاتالاز ریشه	7.367**	9.478**	3.764*	1.875*	6.9	7.67
فعالیت سوپراکسید دیسمیوتاز اندام هوایی	4.876*	6.279**	22.863*	2.257*	4.65	16.87
فعالیت سوپراکسید دیسمیوتاز ریشه	9.987**	22.358**	13.468*	1.639*	3.54	7.35
فعالیت گایاکول پراکسیداز اندام هوایی	7.878 **	36.85**	5.935 ns	2.765 ns	7.87	11.34
فعالیت گایاکول پراکسیداز ریشه	12.356 *	7.753**	5.236 ns	1.432ns	4.47	9.45

* و ** به ترتیب معنی دار در سطح احتمال ۵ و ۱ درصد و ns غیر معنی دار.

جدول ۳- اثر تنش شوری بر نشت یونی مالون دی‌آلدئید، پرولین و درصد کلونیزاسیون ریشه در گیاهان میکوریزایی و غیر میکوریزایی گشنیز.

تیمار		پرولین (میکروگرم بر گرم وزن تر)		محتوای مالون دی آلدئید (نانومول بر گرم وزن تر)		نشت یونی (درصد)		درصد کلونیزاسیون
		ریشه	اندام هوایی	ریشه	اندام هوایی	ریشه	اندام هوایی	
شاهد	بدون مایکوریزا	2.23e	1.8c	2.17d	1.44c	43.7d	36.3c	-
	با مایکوریزا	1.78f	1.1c	2.1d	1.2c	34.3e	27.7d	33.4a
شوری متوسط	بدون مایکوریزا	3.75c	2.36b	3.27b	2.76b	58.4b	46.5b	-
	با مایکوریزا	2.45d	1.83c	2.84c	1.87c	39.5e	33.2c	25.4b
شوری شدید	بدون مایکوریزا	6.34a	4.34a	4.35a	3.88a	۳67.3a	54.1a	-
	با مایکوریزا	5.21b	2.96b	3.43b	2.47b	51.7c	42.4b	19.5c

برای هر صفت حروف غیرمشابه نشانگر اختلاف معنی دار در سطح احتمال ۵ درصد براساس آزمون دانکن می‌باشد.

گیاهان براي غلبه بر تنش شوري داراي سازوکارهاي پیچیده‌اي هستند تا از آنها را در برابر تنش‌هاي اسمزی و یوني ناشي از شوري بالا محافظت کند. یکي از این سازوکارها تجمع محلول‌هاي سازگار یا حمایت کننده‌هاي اسمزي است (Katsuharaet al., 2005). در گیاهان یکی از مهمترین ترکیبات حمایت کننده اسمزي سازگار پرولین می‌باشد (Huang et al., 2005). معمولاً سطح

حمایت کننده‌هاي اسمزي در زمان در معرض قرار گرفتن تنش اسمزي بالاست تجمع پرولین رابطه مثبت و مستقیم با افزایش مقاومت به کم آبي ناشی از تنش‌هاي کم آبـي و شوري ایجاد شده در گیاه دارد. تجمع پـرولین ماننـد یـك اسـموتیکوم در حفاظـت سـاختمان مـاکرومولکول‌هـا در گیاهان میکوریزای چه در بخش ریشه چه در اندام هوایی در شرایط تنش از سـطح پـرولین پـایین‌تـری نسـبت بـه گیاهان شاهد برخوردار بودند (جدول ۳). مقایسه میانگین داده‌ها بیانگر کاهش میزان پرولین در شرایط تنش شـدید شوری در اندام هوایی و ریشه گیاهان میکوریزایی نسـبت به گیاهان شاهد (تلقیح نشده) بـود (جـدول ۳). بـه نظـر می‌رسد قارچ‌های میکوریزی در شرایط شور با نفوذ ریسه-های خود به ریشه‌های گیاه و محیط خاک اطـراف ریشـه موجب بهبود جذب آب و روابط آبی گیاه و تغذیه معـدنی می‌گردند و در نتیجه از شدت تـنش وارد شـده بـه گیـاه می‌کاهند. لذا در این حالت نیاز گیاه برای افزایش سـاخت پرولین به منظور تنظیم اسمزی کاهش مـی‌یابـد (et al., Paul 2000).

نتایج حاصل از این تحقیق افزایش معنی‌دار غلظت مـالون دی‌آلدئیـد در ریشـه و انـدام هـوایی را در شـرایط تـنش شوری نشان داد (جدول ۲). افـزایش غلظـت مـالون دی-آلدئید نشان دهنده افزایش پراکسیداسیون لیپیدهای غشا در شرایط تنش و نیز بیانگر میزان تخریـب غشـا سـلولی است. زیر ا این ترکیب تحـت تـأثیر تخریـب و پراکسـیده شدن غشا سلولی آزاد می‌شـود (Weisany et al., 2012). با توجه به نتایج به دست آمده با اعمال تـنش شـوری بـه ویـژه سـطح شـوری ۱۲۰ میلـی‌مـولار میـزان مـالون دی‌آلدئید در ریشه گشنیز نسبت انـدام هـوایی بـه میـان چشمگیری افزایش یافت کـه حـاکی از حساسـیت بـالاتر غشاهای سلولی ریشه به شـوری نسـبت بـه انـدام هـوایی می‌باشد.

پایداری غشاء از جمله خصوصیات فیزیولوژیک اسـت کـه تحت تاثیر تنش های محیطی قرار مـی گیـرد (Azari et al., 2011). در تنش هـای شـدید بعضـی از قسـمت هـای فسفولیپیدهای دو لایه ای غشاء حالت هگزاگونـال (شـش

محیطي که تعادل یوني آن بهم خورده است، عمل مي‌کند. افزایش پرولین منجر به حفظ تورم و کاهش خسارت غشاء در گیاهان مي شود. بدین ترتیب با روش تنظـیم اسـمزي، سازگاري به تنش کم آبي و شوري افزایش مي‌یابد(Huang et al., 2005).

وجهی) پیدا کرده و سـاختار غشـاء بـه سـاختار منفـذدار تبدیل می‌شود و نشت مـواد رخ مـی‌دهـد(Azari et al., 2011). به طورکلی تـنش‌هـای محیطـی از طریـق ایجـاد رادیکال‌های آزاد اکسیژن در داخل سـلول باعـث افـزایش پراکسیداسیون چربی‌ها و در نهایت کاهش پایداری غشـاء سلول، نشت مواد سیتوپلاسـمی از آن و افـزایش هـدایت الکتریکی در گیاهان مختلف می‌شوند (Esfandari et al., 2007). مالون دی آلدئید به عنوان یک نشانگر بیولوژیـک برای ارزیابی میزان پراکسیداسیون لیپیدها یـا آسـیب بـه غشای سلولی و غشای انـدامک‌هـا اسـتفاده مـی‌شـود. در ژنوتیپ های حساس و متحمل گندم تتراپلوئید نیز شوری منجر به افزایش غلظت مالون دی‌آلدئید شد که بـا نتـایج این آزمایش مطابقت دارد(Esfandari et al., 2007).

در ارزیـابی گیاهـان میکـوریزایی کـاهش میـزان مـالون دی‌آلدئید ریشه و اندام هوایی نسبت به گیاهان شـاهد در شرایط تنش شوری مشـاهده گردید(جـدول ۳). کمتـرین میزان مالون دی‌الدئید در شرایط عدم شوری اندام هـوایی گیاهان میکوریزایی به دست آمد. با اعمـال سـطوح تـنش میـزان مـالون دی‌آلدئیـد افـزایش یافـت. هرچنـد رونـد افزایشی در گیاهان میکوریزایی در اندام هوایی کندتر بـود که آسیب کمتر غشاهای سلولی در شرایط تنش را نشـان می دهند.

در تحقیـق حاضـر فعالیـت آنـزیم‌هـای آنتـی‌اکسـیدانی سوپراکسید دیسمیوتاز، کاتـالاز و گایـاکول پراکسـیداز در شرایط تنش شوری مورد بررسی قرار گرفت. اثرات متقابل شوری و تیمار میکوریزا بـر فعالیـت آنـزیم‌هـای کاتـالاز و سوپراکسید دیسمیوتاز اندام هوایی و ریشه معنـی‌دار بـود (جـدول ۲). بـا افـزایش درجـه شـوری، فعالیـت آنـزیم سوپراکسید دیسمیوتاز و کاتالاز در گیاهان میکـوریزایی و غیرمیکوریزایی افزایش یافت (جدول ۴). بالاترین فعالیـت

این آنزیم‌ها در شوری ۱۲۰ میلی‌مولار مشاهده گردید. میزان این افزایش در گیاهان میکوریزایی بیش از گیاهان غیرمیکوریزایی بود. هر چند گیاهان میکوریزایی و غیرمیکوریزایی تفاوت چندانی از نظر آنزیم گایاکول پراکسیداز در هیچیک از سطوح تنش نشان ندادند.

جدول ۴- اثر تنش شوری روی فعالیت آنزیم‌های سوپراکسید دیسمیوتاز ، کاتالاز و گایاکول پراکسیداز در گیاهان میکوریزایی و غیرمیکوریزایی

تیمار		سوپراکسید دیسمیوتاز (واحد آنزیمی بر میلی‌گرم پروتئین در دقیقه)		کاتالاز (واحد آنزیمی بر میلی‌گرم پروتئین در دقیقه)		پراکسیداز (واحد آنزیمی بر میلی‌گرم پروتئین در دقیقه)	
		ریشه	اندام هوایی	ریشه	اندام هوایی	ریشه	اندام هوایی
شاهد	بدون مایکوریزا	2.25e	2.42e	0.66d	0.55c	1.13c	0.83C
	با مایکوریزا	3.32d	2.26e	0.93d	0.78c	1.23c	0.92c
شوری متوسط	بدون مایکوریزا	4.63c	3.38d	1.72c	1.53b	2.37b	1.23b
	با مایکوریزا	5.88b	4.76C	2.24b	1.83b	2.42b	b1.32
شوری شدید	بدون مایکوریزا	6.33b	5.27b	2.46a	2.23a	3.64a	2.16a
	با مایکوریزا	7.18a	6.22a	2.86a	2.73a	3.57a	2.2a

برای هر صفت حروف غیرمشابه نشانگر اختلاف معنی دار در سطح احتمال ۵ درصد براساس آزمون دانکن می‌باشد.

بر اساس نتایج به دست آمده با افزایش درجه شوری فعالیت آنزیم‌های کاتالاز و سوپراکسید دیسمیوتاز به نحو چشمگیری در اندام هوایی و ریشه افزایش یافت (جدول ۴). بالاترین میزان فعالیت آنزیمی در تنش شدید شوری به دست آمد. شدت فعالیت آنزیم کاتالاز به مراتب از آنزیم سوپراکسید دیسمیوتاز بالاتر بود. میزان فعالیت هر دو آنزیم در ریشه‌ها بالاتر از اندام هوایی بود. کاتالاز (Harinasut el al., 2003) اصلی‌ترین آنزیم مهار کننده پراکسید هیدروژن و از مهمترین آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان در گیاهان محسوب می‌شود و تنش شوری در بسیاری از گیاهان موجب افزایش فعالیت آنزیم کاتالاز گردیده است که این نتیجه در تحقیق حاضر در ارتباط با فعالیت کاتالاز اندام هوایی و ریشه مشاهده گردید. بالا بودن فعالیت کاتالاز اندام هوایی در مقایسه با ریشه شاید بر اثر کاهش فتوسنتز گیاه و تجمع میزان بیشتر پراکسید هیدروژن در مقایسه با ریشه باشد. افزایش فعالیت آنزیم-های آنتی‌اکسیدان در شرایط تنش می‌تواند به عنوان شاخصی برای افزایش تولید رادیکال‌های آزاد اکسیژن در نظر گرفته شود. هرچند در پاره‌ای موارد کاهش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان در شرایط تنش گزارش شده است (Bhattacharjee and Mukherjee, 2002).

بر اساس نتایج به دست آمده اعمال تیمار میکوریزایی موجب افزایش سطح فعالیت هر دو آنزیم کاتالاز و سوپراکسید دیسمیوتاز بویژه در ریشه ها گردید(جدول ۴). به طورکلی سازوکار اثر قارچ میکوریزایی بر سیستم آنتی‌اکسیدانتی گیاهان تلقیح شده تحت شرایط تنش شناخته شده نیست. اما می تواند اظهار داشت که قارچ به طور مستقیم باعث خنثی شدن فعالیت رادیکال‌های آزاد اکسیژن در گیاه می شود (Younesi et al., 2013). گزارش شده است که قارچ از طریق تاثیر بر فعالیت آنزیم های آنتی اکسیدانی موجب کاهش اثرات سوء تنش شوری و افزایش رشد گیاه تحت تنش شوری می گردد(Younesi et al., 2013).

تنش شوری افزایش معنی‌دار فعالیت آنزیم گایاکول پراکسیداز اندام هوایی و ریشه را به همراه داشت (جدول ۲). به نحوی که با اعمال اولین و دومین سطح شوری

روند افزایشی فعالیت آنزیمی نسبت به تیمار شاهد (عدم تنش) مشاهده گردید (جدول ۴). میزان فعالیت آنزیم در ریشه‌ها و به ویژه در شرایط تنش شدید شوری بالاتر از اندام هوایی بود. اعمال تلقیح میکوریزایی تاثیر چندانی بر سطح فعالیت آنزیم گایاکول پراکسیداز نداشت و اختلاف معنی‌داری میان گیاهان میکوریزایی و غیرمیکوریزایی در هیچیک از سطوح تنش مشاهده نگردید. آنزیم گایاکول پراکسیداز گیاهی در فعالیت های متابولیکی نظیر پاسخ به تنش‌های غیرزیستی نقش دارد (Molazemet al., 2010). یکی از نقش‌های پراکسیداز، مشارکت در سیستم دفاعی سلول و سم‌زدایی اکسیژن‌های واکنش‌گر است که موجب حذف آب اکسیژنه تولیدی توسط عوامل تنش‌زا می‌گردد. گایاکول پراکسیداز در مقایسه با کاتالاز میل ترکیبی بیشتری برای حذف پراکسید هیدروژن دارد (Mittler, 2002). بالا بودن میزان فعالیت پراکسیدازی گیاه ممکن است با میزان تحمل تنش‌ها در آن ها ارتباط داشته باشد.

بر اساس نتایج بدست آمده در این تحقیق تنش شوری موجب افزایش کلیه شاخصه‌های ناشی از آسیب گیاه و نیز آنزیم‌های سیستم دفاعی گیاه گردید. باتوجه به نتایج حاصله میزان آسیب وارد شده به ریشه‌ها بالاتر از اندام هوایی بود که دلیل آن می‌تواند مواجه مستقیم ریشه‌ها با شرایط تنش‌زا باشد. به کارگیری قارچ میکوریزایی سبب تخفیف اثرات تنش شوری، کاهش میزان شاخصه‌های آسیب و افزایش توان آنتی‌اکسیدانی گیاه گردید. تاثیر تلقیح میکوریزایی بر صفات مورد ارزیابی ریشه‌ها بالاتر اندام هوایی بود. هر چند گیان میکوریزایی و غیرمیکوریزایی تفاوت چندانی از نظر آنزیم گایاکول پراکسیداز در ریشه و اندام هوایی نشان ندادند.

منابع

Azari, A., Modares Sanavi, S.A.M. and Askari, H. (2011). Effect of salt stress on morphological and physiological traits of two species of rapeseed (*Brassica napus*). Iranian Journal of Field Crop Science, 14(2), 121-135.

Bates, L.S., Waldren, R.P. and Teare, I.D. (1973). Rapid determination of free proline for water-stress. Plant and Soil, 39, 205-207.

Bhattacharjee, S. and Mukherjee, A.K. (2002). Salt stress induced cytosolute accumulation, antioxidant response and membrane deterioration in three rice cultivars during early germination. Seed Science and Technology, 30, 279-287

Bierman, B. and Linderman, R. (1981). Quantifying vesicular arbuscular mycorrhizae: Proposed method towards standardization. New Phytologist, 87, 63-67.

Bradford, M. (1976). A rapid and sensitive method for the quantification of microgram quantities in utilizing the principle of protein dye binding. Analytical Biochemistry, 72, 254-284.

Cakmak, I. and Horst, W. (1991). Effect of aluminium on lipid peroxidation, superoxide dismutase, catalase and peroxidase activities in root tip of soybean (*Glycine max*). Plant Physiology, 83, 463-468.

Dat, J., Vandenabeele, S., Vranova, E., Van Montagu, M., Inze, D. and Van Breusegem, F. (2000). Dual action of the active oxygen species during plant stress responses. Cellular and Molecular Life Sciences, 57, 779-795.

Esfandiari, E., Shakiba, M.R. and Mahboob, S. H. (2007). Water stress, antioxidant enzyme activity and lipid peroxidation in wheat seedling. Journal of Food, Agriculture and Environment, 5, 149-153.

Garg, N. and Manchanda, G. (2008). Effect of arbuscular mycorrhizal inoculation on salt-induced nodule senescence in *Cajanus cajan* (pigeonpea). Journal of plant growth, 27(2), 115-124.

Ghanati, F., Morita, A. and Yokota, H. (2002). Induction of suberin and increase of lignin content by excess Boron in Tabacco cell. Plant Nutrition, 48, 357-364.

Giannopolitis, C. and Ries, S. (1977). Superoxide dismutase. I. Occurence in higher plant. Plant Physiology, 59, 309-314.

Harinasut, P., Poonsopa, D., Roengmongkol, K. and Charonsataprom, R. (2003). Salinity effects on antioxidant enzymes in Mulberry cultivar. Science Asia, 29, 109-113.

rapid assessment of infection. Transactions of the British Mycological Society, 55, 158-161.

SAS Institute. 2004. SAS/STAT user's guide. SAS Institute, Cary.

Stewart, R.R.C. and Bewley, JD. (1980). Lipid peroxidation associated with accelerated aging of soybean axes. Plant Physiology, 65, 245–248.

Weisany, W., Sohrabi, Y., Heidari, Gh., Siosemardeh, A. and Ghassemi-Golezani, K. (2012). Changes in antioxidant enzymes activity and plant performance by salinity stress and zinc application in soybean (*Glycine max* L.). Plant Omics Journal, 5, 60-67.

Younesi, O., Moradi, A. and Namdari, A. (2013). Influence of arbuscular mycorrhiza on osmotic adjustment compounds and antioxidant enzyme activity in nodules of salt-stressed soybean (*Glycine max*). Acta agriculturae Slovenica, 101(2), 219-230

Huang, C., He, W., Gua, J., Change, X., Su, P. and Zhang, L. (2005). Increased sensitivity to salt stress in an ascorbate-deficient *Arabidopsis* mutant. Journal of Experimental Botany, 56(422), 3041-3049.

Islam, M.M., Hoque, M.A., Okuma, E., Banu, M.N., Shimoishi, Y., Nakamura, Y. and Murata, Y. (2009). Exogenous proline and glycinebetaine increaseantioxidant enzyme activities and confer tolerance to cadmium stress in cultured tobacco cells. Journal of Plant Physiology, 166, 1587-1597.

Katsuhara, M., Otsuka, T. and Ezaki, B. (2005). Salt stress-induced lipid peroxidation is reduced by glutathione S-transferase, but this reduction of lipid peroxides is not enough for a recovery of root growth in *Arabidopsis*. Plant Sciences, 169(2), 369-373.

Koyro, H.W. (2000). Effect of high NaCl-salinity on plant growth, leaf morphology and ion composition in leaf tissues of *Beta vulgaris* ssp. Maritime. Journal of Applied Botany, 74, 67-73.

Majnoun Hosseini, N. and Twelve Imams, Q. (2007). Agriculture and production of some herbs and medicinal plants, Tehran University Press.

Mittler, R. (2002). Oxidative stress, antioxidants and stress tolerance. Trends Plant Sciences, 7, 405–410.

Molazem, D., Qurbanov, E.M. and Dunyamaliyev, S.A. (2010). Role of proline, Na and chlorophyll content in salt tolerance of corn (*Zea mays* L.). Aejaes, 9, 319-324.

Netondo, G.F., Onyango, J.C. and Beck, E. (2004). Crop physiology and metabolism. Sorghoum and salinity: I. Response of growth, water relation and ion accumulation to NaCl salinity. Crop Society of America, 44, 797-805.

Nunez, M., Mazzafera, P., Mazorra, L.M., Siquira, W.J. and Zullo, M.A. (2003). Influence of a brassinosteroid analogue on antioxidant enzymes in rice grown in culture medium with NaCl. Plant Biology, 47, 67-70.

Paul, M., Hasegawa Bressan, R.A., Zhu, J.K. and Bohnert, H.J. (2000). Plant cellular and molecular response to high salinity. Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology, 51, 463-499.

Phillips, J. and Hayman, D. (1970). Improved procedures for clearing roots and staining parasitic and vesicular arbuscular mycorrhizal fungi for

Journal of Medicinal Plants Biotechnology

2019 Vol 4, No 2, Autumn & Winter

Evaluation of some physiological traits and activity of antioxidant enzymes of coriander (*Coriandrum sativum* L.) in response to inoculation of mycorrhiza under salinity stress

Mohammad Esmailpoor Jahromi[1]*, Omid Younesi[2]

Abstract

The aim of this study was to evaluate the ionic leakage, proline concentration, malondialdehyde concentration and antioxidant enzymes activity in aerial parts and root of coriander plan t in response to mycorrhizal inoculation under salinity stress in greenhouse of Faculty of Agriculture and Natural Resources, Tehran University.The experiment was a factorial based on randomized complete block design with three replications. The treatments consisted of three levels of salinity including control (without stress), 60 and 120 millimolar sodium chloride salt and two levels of mycorrhizal inoculation (inoculation and inoculation of *Glomus mosseae* mycorrhiza). The evaluated traits included ion leakage, malondialdehyde concentration, proline concentration and antioxidant activity of superoxide dismutase, catalase and guaiac peroxidase. The results show that increasing salinity effects on physiological traits were evaluated. So, with increasing salinity stress, ion leakage, malondialdehyde concentration, proline concentration increased significantly. This increase was higher in the roots, indicating higher sensitivity of this roots to salt stress. Application of mycorrhizal treatment reduced the concentration of malondialdehyde and ion leakage in stress conditions. Also, the amount of proline in mycorrhizal plants was lower than non-mycorrhizal. Salinity stress increased the activity of antioxidant enzymes. The activity of all three enzymes evaluated was higher in the root than the shoot. The activity of the enzyme catalase was significantly higher than the other two enzymes. The application of mycorrhizal treatment has an important role in promoting the growth and activity of coriander antioxidant enzymes, especially under severe stress conditions. However, mycorrhizal and non-mycorrhizal giants did not differ significantly in terms of the enzyme guaiac peroxidase.

Keywords: Catalase, Coriander, Dismutase superoxide, Mycorrhizal fungus, Peroxidase, Proline, Salinity

[1] Corresponding author: University of Jahrom, Fars, Iran. Email: msp62@yahoo.com
[2] University of Tehran, Tehran, Iran.