

تأثیر پرولین بر برخی ویژگی‌های فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی دو رقم گل حنا (*Impatiens walleriana*) تحت تنش شوری

فاطمه روزبهرانی^۱، صادق موسوی فرد^{۲*} و عبدالحسین رضایی نژاد^۳
۱، ۲ و ۳. دانشجوی کارشناسی ارشد، استادیار و دانشیار، دانشکده کشاورزی، دانشگاه لرستان
(تاریخ دریافت: ۱۳۹۸/۲/۲۶ - تاریخ پذیرش: ۱۳۹۸/۸/۱۸)

چکیده

به منظور مطالعه بررسی تأثیر محلول‌پاشی پرولین بر برخی ویژگی‌های فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی گل حنا، آزمایشی به صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار اجرا شد. عامل اول دو رقم گل حنا (*Accent premium salmon* و *Tempo orange*). عامل دوم محلول‌پاشی پرولین (شاهد (صفر)، ۵ و ۱۰ میلی‌مولار به صورت هفتگی) و عامل سوم تنش شوری در چهار سطح (شاهد (صفر)، ۲۰، ۴۰ و ۶۰ میلی‌مولار کلرید سدیم به صورت آبیاری سه روز یک‌بار (۹۰ درصد ظرفیت زراعی)) بود. نتایج نشان داد افزایش تنش شوری موجب کاهش معنی‌دار وزن تر و خشک برگ، ساقه، ریشه و کل بوته، تعداد گل، قطر گل، زمان باز شدن گل، محتوای کلروفیل a، کلروفیل b، کلروفیل کل، کارتنوئید و فعالیت آنزیم کاتالاز و از سوی دیگر باعث افزایش قابل توجهی در میزان محتوای پرولین درونی، فعالیت آنزیم‌های پراکسیداز و آسکوربات پراکسیداز در هر دو رقم گل حنا شد. در حالی که اعمال تیمار پرولین اثرات تنش را تعدیل کرد و هر دو غلظت پرولین موجب افزایش قابل توجهی در همه‌ی ویژگی‌های مورد مطالعه نسبت به شاهد شد. بیشترین فعالیت آنزیم کاتالاز و مقدار پرولین در رقم سالمون و بیشترین فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز در رقم تمپو مشاهده شد. به‌طور کلی نتایج حاصل از این مطالعه نشان داد تنش شوری در همه‌ی سطوح دارای اثرات منفی بر رشد و عملکرد در هر دو رقم گل حنا بود، در صورتی که کاربرد پرولین به‌ویژه در غلظت ۱۰ میلی‌مولار باعث کاهش اثرات منفی تنش شوری و افزایش مقاومت گیاه به تنش شوری شد.

واژه‌های کلیدی: آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان، تمپو، سالمون، کلرید سدیم.

Effect of proline on some physiological and biochemical characteristics of two cultivars of *Impatiens walleriana* under salt stress

Fatemeh Roozbahani¹, Sadegh Mousavi-Fard^{2*} and Abdolhossein Rezaei Nejad³

1, 2, 3. M.Sc. Student, Assistant Professor and Associate Professor, Faculty of Agriculture, Lorestan University, Khoramabad, Iran
(Received: May 16, 2019- Accepted: Nov. 09, 2019)

ABSTRACT

The aim of this study was to investigate the effect of foliar application of proline on some physiological and biochemical characteristics of two cultivars of *impatiens* under salinity stress. The experiment was a factorial based on a completely randomized design with three replications. The first factor was two cultivars of *impatiens* (*Accent Premium Salmon* and *Tempo Orange*), the second factor was foliar application of proline (0 as control, 5 and 10 mM were applied weekly) and the third factor was salinity stress at four levels (0 as control, 20, 40 and 60 mM sodium chloride were applied as irrigation (90% field capacity) every three day). The results showed that increasing salinity stress significantly reduced fresh and dry weight of leaf, stem, root and total plant, time of flower opening, flower diameter, number of flower, chlorophyll a, chlorophyll b, total chlorophyll, carotenoid content and catalase activity, and while significantly increased proline content, activity of peroxidase and ascorbate peroxidase enzymes in both cultivars of *impatiens*. Exogenous application of 5 and 10 mM proline have mitigated salinity stress effects and caused a significant increase in all of the studied characteristics. The highest activity of catalase and proline content was observed in *Salmon* cultivar, whereas the highest activity of ascorbate enzyme was observed in *Tampo* cultivar. In general, the results of this study indicated that all levels of salinity stress had negative effects on growth and yield of both *impatiens* cultivars, but proline application especially at a concentration of 10 mM reduced the effects of salinity stress and increased plant tolerance to stress.

Keywords: Antioxidant enzymes, *Salmon*, sodium chloride, *Tempo*.

* Corresponding author E-mail: Mousavifard.s@lu.ac.ir

مقدمه

گل حنا (*Impatiens spp*) گیاهی زینتی متعلق به تیره Balsaminaceae است که دارای گونه‌های مهمی مانند *I. walleriana*، *I. hawkeri* و *I. balsamina* می‌باشد. گونه *Impatiens walleriana* چندساله بوده که به‌عنوان یک‌ساله پرورش داده می‌شود (Ghasemi ghahsare & Kafi 2013). گیاهان این تیره به دلیل زیبایی و دوره گلدهی طولانی در سراسر دنیا به عنوان یکی از مهم‌ترین گیاهان گلدانی و فضای سبز بخصوص در حاشیه باغچه‌ها و تراس‌ها برای پوشانیدن شیب‌ها کشت می‌شود (Grey-Wilson, Pieshbin, 2016). گل حنا در ۲۵ سال اخیر از مهم‌ترین گیاهان گل‌دار گلدانی و فصلی محسوب می‌شود و جز گیاهان حساس به شوری و تجمع نمک می‌باشد (Dole & Wilkins, 2005).

شوری آب‌های آبیاری و خاک، یکی از مهم‌ترین عوامل محیطی محدودکننده تولید محصولات کشاورزی در سراسر جهان است و در طول ۲۰ سال گذشته به دلیل افزایش نیاز آبیاری در مناطق خشک و نیمه‌خشک، یکی از مشکلات عمده است (Colla et al., 2011; De Pascale et al., 2010; al., 2010). ایران با ۲۷ میلیون هکتار اراضی شور دارای رتبه نخست در آسیاست (Molazem & Azimi, 2011). این موضوع با از دست دادن حاصلخیزی و قابلیت کشت و کار اراضی به‌عنوان یک مسئله مهم اقتصادی به‌ویژه در محصولات باغبانی که حساس به شوری هستند مطرح است (Hussain et al., 2010).

افزایش شوری به‌ویژه NaCl در خاک یا آب باعث تغییراتی در فرایندهای مورفولوژیکی و فیزیولوژیکی گیاهان شده است که منجر به بازدارندگی رشد می‌شود (Alvarez & Sanchez-Blanco, 2014). به خوبی شناخته شده است که تنش شوری باعث کاهش تولید زیست‌توده در گیاهان زینتی می‌شود، هرچند که این اثر بسته به گونه‌ها و همچنین شدت و مدت زمان تنش‌های شوری متفاوت است (Alvarez & Sanchez-Blanco, 2014; Cassaniti et al., 2009). این کاهش به‌طور عمده مربوط به افت ظرفیت فتوسنتزی بوده که خود می‌تواند به دلیل کاهش محتوای کلروفیل باشد.

هنگامی که گیاه در شرایط شور رشد می‌کند، فعالیت فتوسنتزی آن کاهش یافته و در نتیجه میزان رشد و سطح برگ، محتوای کلروفیل a و کلروفیل b کاهش می‌یابد (Garcia-Caparros & lao, 2018). علاوه بر این قرار گرفتن گیاهان زینتی در معرض NaCl سبب کاهش محتوای نسبی آب، جلوگیری از سنتز کلروفیل و کاروتنوئید و کاهش جذب و انتقال مواد مغذی مانند K، Ca و Mg می‌شود (Rodriguez et al., 2005; Navarro et al., 2007; Gomez-Bellot et al., 2013; Alvarez & Sanchez-Blanco, 2014).

گیاهان برای مقابله با عوارض جانبی تنش شوری سازوکارهای متعددی اتخاذ می‌کنند، که تنظیم اسمزی یکی از این سازوکارهای مهم است (Chen & Jiang, 2009). یکی از پاسخ‌های عمومی سلول به تغییرات فشار اسمزی خارجی، تجمع متابولیت‌هایی است که قابلیت انحلال داشته، ولی متابولیسم طبیعی گیاه را مختل نمی‌کند (Orcutt & Nilsen, 2000). تجمع ترکیبات سازگار (اسمولیت‌ها) با بهبود تحمل گیاهان به شوری مرتبط است زیرا قادر به ایجاد تنظیم اسمزی، حفظ هموستازی یون‌ها و آب در شرایط تنش آب می‌باشد (Khan et al., 2014). مقدار پرولین آزاد در گیاهانی که در حد مطلوب آبیاری می‌شوند بسیار کم و در حدود ۰/۶-۰/۲ میلی‌گرم در گرم ماده خشک است، اما مقدار این ماده پس از کاهش آب بافت‌ها به ۴۰-۵۰ میلی‌گرم در هر گرم ماده خشک افزایش می‌یابد (Heuer, 2003). کاربرد خارجی مولکول‌های محافظت‌کننده اسمزی مانند پرولین، یک روش سازگار با محیط‌زیست است که کاهش عملکرد ناشی از شوری آب و خاک را بهبود می‌بخشد. عملکرد اصلی این مولکول افزایش مقاومت به تنش شوری در گیاهان با حفظ پتانسیل اسمزی، بهبود وضعیت تغذیه و فعال شدن سیستم‌های آنتی‌اکسیدانی می‌باشد (Heuer, 2003). همچنین به عنوان یک اسمولیت مهارکننده رادیکال آزاد، دهنده الکترون، تثبیت‌کننده ماکرومولکول‌ها، تنظیم اسیدیته سیتوزول و یکی از اجزای دیواره سلولی می‌باشد (Matysik et al., 2002). استفاده از پرولین به‌طور موفقیت‌آمیز برای کاهش اثر مضر شوری در چندین

نشان داده شده است. با در نظر گرفتن ظرفیت زراعی خاک، آبیاری به صورت سه روز یکبار صورت گرفت. در مرحله‌ی دو برگ حقیقی (سه هفته بعد از کاشت) تا انتهای آزمایش تیمار شوری اعمال گردید. در طی آزمایش به منظور جلوگیری از تجمع نمک و افزایش بیش از حد EC گلدان‌ها، آبشویی (آب معمولی آبیاری) به میزان ۱ لیتر برای هر گلدان، هر دو هفته یکبار انجام شد. در زمان گلدهی اندازه‌گیری ویژگی‌های مورد مطالعه انجام شد.

جدول ۱. برخی خصوصیات شیمیایی محیط کشت مورد استفاده

Parameter	Unit	Result
Electrical conductivity (EC)	(dS/m)	0.41
pH	-	7.95
P	(mg/kg)	2.08
K	(mg/kg)	270.37
N	%	0.05
C	%	1.278

ویژگی‌های مورد بررسی شامل تعداد و قطر گل، زمان باز شدن گل، وزن تر و خشک برگ، ساقه، ریشه و کل بوته، کلروفیل a، کلروفیل b، کلروفیل کل، کاروتنوئید، محتوای پرولین، فعالیت آنزیم کاتالاز، پراکسیداز و آسکوربات پراکسیداز بود.

شمارش تعداد گل با شروع گلدهی، شروع و تا پایان آزمایش ادامه یافت. اندازه‌گیری قطر گل توسط کولیس دیجیتالی و واحد آن بر حسب میلی‌متر محاسبه شد. زمان باز شدن گل بر حسب تعداد روز و از زمان کاشت تا مرحله باز شدن گل محاسبه شد. وزن تر برگ، ساقه، ریشه و کل بوته به وسیله ترازوی دیجیتال اندازه‌گیری شد. سپس گیاهان در آون به مدت ۴۸ ساعت با دمای ۸۰ درجه سانتی‌گراد خشک گردید و وزن خشک آن‌ها اندازه‌گیری شد.

برای اندازه‌گیری و سنجش میزان کلروفیل و کاروتنوئید از روش Lichtenthaler (1987) استفاده شد و با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر، جذب محلول در طول موج‌های ۴۷۰، ۶۶۲ و ۶۴۵ نانومتر اندازه‌گیری شد. در نهایت میزان کلروفیل (Chla) a، کلروفیل (Chlb) b، کلروفیل کل (Total Chl) و کاروتنوئید (Car) بر حسب میلی‌گرم در گرم برگ تازه

محصول خوراکی مانند خربزه و گوجه‌فرنگی استفاده شده است (Heuer, 2003; Kaya et al., 2007). برخی گزارش‌ها نشان داده است که کاربرد خارجی پرولین موجب محافظت اسمزی، افزایش میزان آنتی‌اکسیدان‌ها، افزایش میزان فعالیت سوپر اکسید دیسموتاز و پراکسیداز و بهبود رشد گیاه تحت تنش شوری می‌شود (Garcia-Caparrros & lao, 2018).

پرولین از جمله اسمولیت‌ها است که کاربرد برون‌زای آن در کاهش تنش شوری در گیاهان مؤثر بوده است (Zheng et al., 2015). از آنجا که پژوهشی در مورد کاربرد برون‌زای پرولین روی گیاه زینتی حنا تحت تنش شوری گزارش نشده است لذا پژوهش حاضر به منظور بررسی اثر این ماده بر برخی ویژگی‌های بیوشیمیایی دو رقم گل حنا تحت تنش شوری انجام گرفت.

مواد و روش‌ها

این پژوهش در طی زمستان ۱۳۹۵ و بهار ۱۳۹۶، در گلخانه تحقیقاتی دانشکده کشاورزی دانشگاه لرستان انجام شد. این مکان در محدوده ۳۳ درجه و ۲۶ دقیقه عرض شمالی و ۴۸ درجه و ۱۵ دقیقه طول شرقی و در ارتفاع ۱۱۴۸ متر از سطح دریا قرار دارد. آزمایش به صورت فاکتوریل در قالب طرح پایه کاملاً تصادفی با سه عامل و سه تکرار به صورت گلدانی (یک گیاه در هر گلدان) بود، اجرا شد. عامل اول شامل دو رقم گل حنا (Tempo orange و Accent premium salmon)، عامل دوم غلظت پرولین در سه سطح صفر (شاهد)، ۵ و ۱۰ میلی‌مولار بود که به صورت محلول‌پاشی هفتگی و یک هفته قبل از شروع تنش شوری روی شاخ و برگ‌های گیاه تا انتهای آزمایش (۹ بار) اسپری شد. عامل سوم غلظت کلرید سدیم در چهار سطح صفر (شاهد)، ۲۰، ۴۰ و ۶۰ میلی‌مولار بود که هر سه روز یکبار به صورت آب آبیاری اعمال شد. بذرهای F₁ دو رقم در گلدان‌های با قطر دهانه ۱۸ سانتی‌متر و ارتفاع ۲۰ سانتی‌متر، در بستر کاشت کشت حاوی ماسه، خاک زراعی و کود دامی پوسیده به نسبت ۱:۱:۱ کشت شد. خاک مورد استفاده دارای بافت لومی شنی بوده و برخی خصوصیات شیمیایی آن در جدول ۱

که ناشی از اکسیدشدن آسکوربات می‌باشد مقدار فعالیت آنزیم بر حسب میکرومول بر میلی‌لیتر آسکوربات اکسیدشده در دقیقه در میلی‌لیتر عصاره بیان شد. برای تجزیه و تحلیل داده‌های به‌دست‌آمده از نرم‌افزار SAS (Ver 9.4) استفاده شد. مقایسه میانگین صفات با استفاده از آزمون LSD و در سطح احتمال ۵ درصد انجام شد. برای رسم نمودارها از نرم‌افزار Minitab (نسخه ۱۸) استفاده گردید.

نتایج و بحث

ویژگی‌های زمان باز شدن گل، تعداد و قطر گل نتایج حاصل از تجزیه واریانس داده‌ها (جدول ۲) نشان داد اثر سطوح شوری، پرولین و اثر متقابل آنها بر تعداد گل و قطر گل معنی‌دار بود. از سویی به‌جز اثر رقم، اثر متقابل رقم و پرولین و اثر متقابل رقم، پرولین و شوری تمامی فاکتورهای مورد مطالعه اثر معنی‌داری بر ویژگی زمان باز شدن گل داشت (جدول ۲). نتایج مقایسه میانگین (جدول ۴) نشان داد که شوری اثر منفی بر گلدهی گل حنا داشته است. اعمال شوری در تمام سطوح مورد مطالعه، سبب کاهش زمان باز شدن گل، قطر و تعداد گل نسبت به نمونه شاهد شد؛ که بیشترین کاهش در این ویژگی‌ها در تنش شوری ۶۰ میلی‌مولار مشاهده شد. بررسی میانگین تیمارهای مورد مطالعه نشان داد که کاربرد پرولین سبب تعدیل اثرات شوری بر ویژگی‌های گلدهی مورد مطالعه شده است.

وزن تر و خشک برگ، ساقه، ریشه و کل بوته نتایج حاصل از تجزیه واریانس داده‌ها (جدول ۲) نشان داد که اثر سطوح شوری، پرولین و رقم بر وزن تر و خشک برگ، ساقه، ریشه و کل بوته در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار بود. با این وجود از بین اثرات متقابل عوامل مورد مطالعه تنها اثر متقابل شوری و پرولین بر ویژگی وزن خشک برگ، ریشه و کل بوته تأثیر معنی‌داری داشت. همچنین اثر متقابل رقم و شوری بر ویژگی وزن خشک ساقه و ریشه نیز معنی‌دار بود. نتایج مقایسه میانگین داده‌ها نشان داد که شوری اثر منفی بر رشد گل حنا داشته است به گونه‌ای که با افزایش غلظت سدیم کلرید ویژگی‌های وزن تر و خشک برگ، ساقه،

به ترتیب از طریق روابط (۱)، (۲)، (۳) و (۴) محاسبه شد:

$$\text{Chla (mg/g)} = (11.24 \times A662) - (2.04 C A645) \quad (1)$$

$$\text{Chlb (mg/g)} = (20.13 \times A645) - (4.19 \times A662) \quad (2)$$

$$\text{Total Chl (mg/g)} = \text{chl a} + \text{chl b} \quad (3)$$

$$\text{Car (mg/g)} = 1000 \times (A470 - 1.90 \text{ Chl a} - 63.14 \text{ Chl b}) / 214b \quad (4)$$

اندازه‌گیری پرولین آزاد برگ به روش Bates *et al.* (1973) انجام شد و جذب نوری محلول رویی واکنش از طریق دستگاه اسپکتروفتومتر در طول موج ۵۲۰ نانومتر با استفاده از محلول بلانک تولوئن خوانده شد و غلظت اسیدآمین پرولین آزاد نمونه با استفاده از یک منحنی استاندارد پرولین خالص تعیین گردید و میزان آن از رابطه (۵) و بر اساس میکرومول بر گرم وزن تر نمونه محاسبه شد.

$$\text{Proline } (\mu\text{mol g FW}^{-1}) = \frac{[(\mu\text{g Proline/ml} \times \text{ml toluene}/115.5)]}{[(\text{g samples}/5)]} \quad (5)$$

جهت اندازه‌گیری فعالیت آنزیم کاتالاز از روش Chance & Maehly (1955) استفاده شد و قرائت تغییرات جذب نور به فواصل ۱۰ ثانیه، به مدت دو دقیقه، در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد در طول موج ۲۴۰ نانومتر با دستگاه اسپکتروفتومتر، انجام شد؛ و مقدار فعالیت آنزیم بر حسب میزان آب اکسیژنه غیرفعال شده در یک دقیقه در هر گرم وزن تازه بافت بیان شد.

برای اندازه‌گیری فعالیت آنزیم پراکسیداز به روش MacAdam *et al.* (1992)، تغییرات جذب نور به فواصل ۱۰ ثانیه، به مدت دو دقیقه، در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد در طول موج ۴۷۵ نانومتر با دستگاه اسپکتروفتومتر قرائت گردید. در نهایت، مقدار فعالیت آنزیم بر حسب میزان آب اکسیژنه غیرفعال شده در یک دقیقه در هر گرم وزن تازه بافت بیان شد.

فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز طبق روش Nakano & Asada (1981) اندازه‌گیری شد. اساس این روش کاهش جذب نور در طول موج ۲۹۰ نانومتر است

بیش از حد به انرژی را در سلول‌های در حال تقسیم و رشد و نمو رفع می‌نماید (Trovato *et al.*, 2008). نتایج سایر مطالعات انجام‌شده نشان داد که کاربرد پرولین سبب زود گلدهی و افزایش تعداد گل شد (Mattioli *et al.*, 2008; Saxena *et al.*, 2008) که با نتایج به‌دست‌آمده در این مطالعه همخوانی داشت.

نتایج به دست آمده از مطالعه حاضر نشان داد که با اعمال تنش شوری در هر دو رقم حنا (تمپو و سالمون)، ویژگی‌های وزن تر و خشک برگ، ساقه، ریشه و کل بوته کاهش یافت. در حالی که کاربرد پرولین، اثر منفی تنش شوری را بهبود بخشید و به طور معنی‌داری از شدت روند کاهش ویژگی‌های اشاره شده جلوگیری نمود. مطالعات نشان داده است که تنش شوری باعث کاهش تولید زیست‌توده در گیاهان زینتی می‌شود، اگرچه تأثیر آن بستگی به نوع گونه گیاهی و شدت و مدت زمان تنش شوری دارد (Alvarez & Sanchez-Blanco, 2014; Cassaniti *et al.*, 2009). کاهش وزن تر اندام در هنگام تنش شوری به علت افزایش غلظت نمک‌های محلول محیط رشد ریشه می‌باشد که سبب منفی‌تر شدن پتانسیل اسمزی محیط و در نتیجه موجب کاهش جذب آب شده که در نهایت منجر به کاهش تقسیم و طویل شدن سلول‌ها در ناحیه رشد می‌گردد بنابراین کاهش وزن تر کاملاً طبیعی و مورد انتظار است (Hasegawa *et al.*, 2000; Manchanda & Garg, 2008). نتایج مطالعات نشان داد که تحت تأثیر شوری در گل حنای گینه‌نو، وزن تر و خشک ریشه کاهش یافت (Mohammadi *et al.*, 2016). نتایج مطالعه‌ای روی گل آهار نشان داد که با افزایش شوری ناشی از کلرید سدیم وزن تر و خشک ساقه و ریشه به‌طور معنی‌داری کاهش یافت (Talebi *et al.*, 2015). بررسی اثر شوری بر گیاه همیشه‌بهار نشان داد که شوری پارامترهای رشد را کاهش داد (Jabarzade *et al.*, 2017). نتایج پژوهشی روی گیاه پروانش نشان داد که تنش شوری سبب کاهش معنی‌دار وزن تر و خشک اندام هوایی نسبت به تیمار شاهد شد که مشابه نتایج حاصل از این پژوهش بود (Abdolmohammadi & Omid, 2017). افزایش وزن تر و خشک حنا در پی کاربرد خارجی پرولین تحت تنش، ممکن است به علت نقش پرولین در تنظیم اسمزی باشد که موجب بهبود

ریشه و کل بوته کاهش یافتند که میزان کاهش در شوری ۶۰ میلی‌مولار بیشتر بود (جدول ۴). بررسی میانگین تیمارهای مورد مطالعه نشان داد که کاربرد پرولین در تعدیل اثرات شوری مفید بود و توانست تا حدودی از شدت اثرات شوری بکاهد. همچنین رقم تمپو نسبت به رقم سالمون وزن تر و خشک ساقه و کل بوته بیشتر و وزن تر و خشک برگ کمتری داشت (جدول ۴).

نتایج به‌دست‌آمده در این مطالعه نشان داد که زمان باز شدن گل، تعداد و قطر گل تحت تنش شوری کاهش معنی‌داری داشت؛ که نشان‌دهنده تأثیر تنش شوری بر گلدهی گل حنا است. در حالی که در این مطالعه با کاربرد خارجی پرولین، تعداد و قطر گل افزایش ولی زمان باز شدن گل نسبت به نمونه شاهد کاهش یافت و سبب زود گلدهی شد که این اثر می‌تواند به تغییر در غلظت هورمون‌هایی که به‌طور مستقیم در گلدهی نقش دارند، مانند آبسزیک اسید و جاسمونیک اسید مربوط باشد (Rogers, 2013). شواهدی وجود دارد که تنش ترکیباتی شبیه اسید آبسزیک (Tanimoto *et al.*, 1985) و پرولین (Deotale *et al.*, 1988; Virupakshi *et al.*, 2002) را القاء می‌کند که بر گلدهی مؤثر است. گلدهی و تکثیر بخشی از استراتژی بقا برای فرار از شرایط تنش‌زاست و انباشت پرولین تحت تنش شوری منجر به افزایش غلظت نسبتاً بالای این آمینواسید تا ۱۰ برابر غلظت طبیعی می‌شود (Chiang & Dadekar, 1995) در حالی که در انتقال به گلدهی پرولین در نهایت ۲ تا ۳ برابر می‌شود (Mattioli *et al.*, 2008).

نتایج مطالعات سایرین نشان می‌دهد که اختلاف معنی‌داری در قطر گل و تعداد انشعاب گل حنا رقم گینه‌نو تحت تنش شوری (نسبت به نمونه شاهد) وجود دارد (Mohammadi *et al.*, 2016) و تعداد گل روی بوته و قطر گل اطلسی ایرانی تحت تنش شوری، به‌شدت کاهش می‌یابد (Bayat *et al.*, 2012) که این نتایج با نتایج به‌دست‌آمده همخوانی داشت. در این مطالعه با کاربرد خارجی پرولین تعداد و قطر گل افزایش یافت و زمان باز شدن گل کاهش بیشتری یافته است که نشان می‌دهد پرولین به‌عنوان یک مولکول سیگنال‌دهنده در انتقال به مرحله گل‌دهی عمل کرده و در طول گلدهی، نمو جنین و سایر فرآیندهای رشد، نیاز

رشد گیاه می‌شود (Bartha et al., 2015). تأثیر مثبت پرولین در افزایش وزن خشک ساقه و ریشه در گیاهان زینتی *Viburnum lucidum* L. و شیشه‌شور (*Callistemon citrinus*) (Cirillo et al., 2016) مطابقت دارد. سینوتوس (*Ceanothus thyrsiflorus*) و گل گرویلیا (*Grevillea juniperina*) (Cassaniti et al., 2009) تحت تنش شوری گزارش شده است که با نتایج این پژوهش مطابقت دارد.

جدول ۲. نتایج تجزیه واریانس اثر شوری، رقم و پرولین بر زمان باز شدن، قطر گل و تعداد گل، وزن تر و خشک برگ، ساقه، ریشه و کل بوته گل حنا

Table 2. Results of variance analysis effect of salinity, cultivar and proline on time of flower opening, flower diameter, number of flowers, fresh and dry weight of leaf, stem, root and total plant of *Impatiens walleriana*

Source of variatoin	df	Mean of Square										
		Number of flower	Flower diameter	Time of flower opening	Leaf fresh weight	Leaf dry weight	Stem fresh weight	Stem dry weight	Root fresh weight	Root dry weight	Total fresh weight	Total dry weight
Cultivar	1	0.014 ^{ns}	2.125 ^{ns}	1.39 ^{ns}	3.789 ^{**}	0.325 ^{**}	51.58 ^{**}	0.674 ^{**}	2.48 ^{**}	0.14 ^{**}	46.375 ^{**}	0.398 ^{**}
Proline	2	267.17 ^{**}	122.78 ^{**}	370.5 ^{**}	37.627 ^{**}	0.897 ^{**}	56.58 ^{**}	0.823 ^{**}	11.87 ^{**}	0.354 ^{**}	287.08 ^{**}	5.93 ^{**}
Salinity	3	185.6 ^{**}	806.4 ^{**}	779.52 ^{**}	68.927 ^{**}	0.548 ^{**}	34.91 ^{**}	0.895 ^{**}	22.14 ^{**}	0.19 ^{**}	356.9 ^{**}	4.46 ^{**}
Proline × Cultivar	2	26.89 ^{**}	16.8 ^{**}	3.389 ^{ns}	0.689 ^{ns}	0.004 ^{ns}	0.7 ^{ns}	0.0028 ^{ns}	0.149 ^{ns}	0.0015 ^{ns}	2.98 ^{**}	0.00467 ^{ns}
Salinity × Cultivar	3	1.27 ^{ns}	3.65 ^{ns}	30.83 ^{**}	0.171 ^{ns}	0.001 ^{ns}	0.2 ^{ns}	0.012 ^{**}	0.005 ^{ns}	0.0034 ^{**}	0.067 ^{ns}	0.0071 ^{ns}
Proline × Salinity	6	0.167 ^{ns}	1.25 ^{ns}	8.46 ^{**}	0.416 ^{ns}	0.00897 ^{**}	0.22 ^{ns}	0.0042 ^{ns}	0.0146 ^{ns}	0.0027 ^{**}	0.6 ^{ns}	0.04 ^{**}
Cultivar × Proline × Salinity	6	1.37 ^{ns}	1.73 ^{ns}	6.28 ^{ns}	0.367 ^{ns}	0.0029 ^{ns}	0.19 ^{ns}	0.005 ^{ns}	0.047 ^{ns}	0.001 ^{ns}	0.6 ^{ns}	0.005 ^{ns}
Error	48	1.08	3.73	2.86	0.35	0.0029	0.306	0.0039	0.117	0.00117	0.8	0.0078
CV%	-	8.08	6.2	2.4	6.524	6.334	6.27	6.46	7.89	8.19	4.02	4.27

ns, *, **, Non-significant and significant at 5 and 1% of probability levels, respectively. *ns, *, **: نبود تفاوت معنی‌دار و تفاوت معنی‌دار به ترتیب در سطح احتمال ۰/۰۵ و ۰/۰۱

جدول ۳. نتایج تجزیه واریانس اثر شوری، رقم و پرولین بر برخی ویژگی‌های فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی گل حنا
Table 3. Results of variance analysis effect of salinity, cultivar and proline on some physio-biochemical characteristics of *Impatiens walleriana*

Source of variatoin	df	Mean of Square							
		Chlorophyll a	Chlorophyll b	Total chlorophyll	Carotenoids	Catalase	Peroxidase	Ascorbate peroxidase	Proline
Cultivar	1	0.216 ^{ns}	0.026 ^{ns}	0.391 ^{ns}	0.032 ^{ns}	8.78	11.65 ^{ns}	0.0199	571/19
Proline	2	23.418 ^{**}	3.61 ^{**}	45/32 ^{**}	1.262 ^{**}	15.5 ^{**}	1184.02 ^{**}	0.01299 ^{**}	2269/14 ^{**}
Salinity	3	59.412 ^{**}	14.76 ^{**}	133.16 ^{**}	6.279 ^{**}	23.36 ^{**}	609.02 ^{**}	0.0096 ^{**}	386/32 ^{**}
Proline × Cultivar	2	2.062 ^{**}	0.33 ^{**}	0.739 ^{**}	0.016 ^{ns}	0.11	44.19 ^{**}	0.0001 ^{ns}	8.6 ^{**}
Salinity × Cultivar	3	1.821 ^{**}	0.149 ^{ns}	1.473 ^{**}	0.096 ^{ns}	0.038 ^{ns}	2.89 ^{ns}	0.00017 ^{**}	25.18 ^{**}
Proline × Salinity	6	1.486 ^{**}	0.239 ^{**}	1.777 ^{**}	0.031 ^{ns}	0.088 ^{**}	9.64 ^{**}	0.00006 ^{ns}	24.45 ^{**}
Cultivar × Proline × Salinity	6	0.776 ^{**}	0.0619 ^{ns}	0.468 ^{**}	0.0085 ^{ns}	0.026 ^{ns}	5.59 ^{ns}	0.000119 ^{**}	5.77 ^{**}
Error	48	0.126	0.0944	0.2	0.048	0.027	3.01	0.000033	1.19
CV%	-	4.06	8.5	3.65	6.015	4.605	6.92	3.68	5.91

ns, *, **, Non-significant and significant at 5 and 1% of probability levels, respectively. *ns, *, **: نبود تفاوت معنی‌دار و تفاوت معنی‌دار به ترتیب در سطح احتمال ۰/۰۵ و ۰/۰۱

جدول ۴. مقایسه میانگین اثر رقم، پرولین و شوری بر زمان باز شدن گل، قطر گل، تعداد گل، وزن تر و خشک برگ، ساقه و کل بوته گل حنا
Table 4. Mean comparison effect of cultivar, proline and salinity on time of flower opening, flower diameter, number of flowers, fresh and dry weight of leaf, stem, root and total of *Impatiens walleriana*

Treatment		Number of flowers	Flower diameter (mm)	Time of flower opening (day)	Leaf Fresh weight (g)	Leaf dry weight (g)	Stem fresh weight (g)	Stem dry weight (g)	Root fresh weight (g)	Root dry weight (g)	Total fresh weight (g)	Total dry weight (g)
					Tempo	Salmon	0	20	40	60	0	5
Cultivar	Tempo	12.89 ^a	31.32 ^a	70.69 ^a	8.84 ^b	0.782 ^b	9.677 ^a	0.898 ^a	4.528 ^a	0.461 ^a	23.04 ^a	2.141 ^a
	Salmon	12.86 ^a	30.98 ^a	70.97 ^a	9.3 ^a	0.917 ^a	7.984 ^b	0.704 ^b	4.157 ^b	0.373 ^b	21.43 ^b	1.993 ^b
Salinity (mM)	0	16.55 ^a	38.48 ^a	78.3 ^a	11.31 ^a	1.047 ^a	10.319 ^a	1.032 ^a	5.645 ^a	0.503 ^a	27.28 ^a	2.583 ^a
	20	14.05 ^b	34.64 ^b	74.2 ^b	9.86 ^b	0.924 ^b	9.464 ^b	0.887 ^b	4.730 ^b	0.482 ^a	24.06 ^b	2.293 ^b
	40	11.89 ^c	27.96 ^c	66.89 ^b	8.31 ^c	0.784 ^c	8.459 ^c	0.781 ^c	3.955 ^c	0.406 ^b	20.72 ^c	1.971 ^c
	60	9 ^d	23.5 ^d	63.9 ^d	6.78 ^d	0.644 ^d	7.079 ^d	0.504 ^d	3.04 ^d	0.276 ^c	16.9 ^d	1.421 ^d
Proline (mM)	0	15.12 ^a	32.6 ^a	75.3 ^a	7.77 ^c	0.639 ^c	7.101 ^c	0.588 ^c	3.535 ^c	0.277 ^c	18.4 ^c	1.503 ^c
	5	14.45 ^b	32.3 ^a	69.08 ^b	9.17 ^b	0.891 ^b	9.357 ^b	0.886 ^b	4.676 ^a	0.482 ^a	23.2 ^b	2.26 ^b
	10	9.04 ^c	28.55 ^b	68.08 ^c	10.26 ^a	1.019 ^a	10.033 ^a	0.928 ^b	4.817 ^a	0.491 ^a	25.11 ^a	2.439 ^a

* میانگین‌های دارای حرف یکسان، بر اساس آزمون LSD در سطح احتمال ۰/۰۵ معنی‌دار نیستند. * Means followed by the same letter are not significant at P≤0.05, according to LSD Test.

جدول ۵. مقایسه میانگین اثر رقم، پرولین و شوری بر برخی ویژگی‌های فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی گل حنا
Table 5. Mean comparison effect of cultivar, proline and salinity salinity on some physio-biochemical characteristics of *Impatiens walleriana*

Treatments	Chl a (mg gFW ⁻¹)	Chl b (mg gFW ⁻¹)	Total Chl (mg gFW ⁻¹)	Carotenoids (mg gFW ⁻¹)	CAT ($\mu\text{mol min}^{-1}$ gFW ⁻¹)	POX ($\mu\text{mol min}^{-1}$ gFW ⁻¹)	APX ($\mu\text{mol min}^{-1}$ gFW ⁻¹)	Proline ($\mu\text{mol gFW}^{-1}$)
Cultivar								
Tempo	8.685 ^a	3.59 ^a	12.276 ^a	3.659 ^a	3.206 ^b	24.68 ^a	0.173 ^a	15.645 ^b
Salmon	8.795 ^a	3.628 ^a	12.424 ^a	3.617 ^a	3.904 ^a	25.485 ^a	0.139 ^b	21.278 ^a
Salinity (mM)								
0	10.86 ^a	4.69 ^a	15.555 ^a	4.357 ^a	4.8 ^a	18.34 ^d	0.131 ^d	12.828 ^d
20	9.417 ^b	3.85 ^b	13.271 ^b	3.85 ^b	4.055 ^b	23.069 ^c	0.146 ^c	17.049 ^c
40	8.058 ^c	3.36 ^c	11.423 ^c	3.327 ^c	3.214 ^c	26.85 ^b	0.162 ^b	20.274 ^b
60	6.624 ^d	2.53 ^d	9.154 ^d	3.017 ^d	2.15 ^d	32.07 ^a	0.185 ^a	23.69 ^a
Proline (mM)								
0	7.756 ^c	3.25 ^c	11.01 ^c	3.4 ^c	2.664 ^c	17.69 ^c	0.129 ^c	7.49 ^c
5	9.731 ^a	4.02 ^a	13.75 ^a	3.65 ^b	3.77 ^b	25.89 ^b	0.168 ^b	21.87 ^b
10	8.732 ^b	3.56 ^b	12.29 ^b	3.86 ^a	4.227 ^a	31.669 ^a	0.171 ^a	26.02 ^a

* میانگین‌های دارای حرف یکسان، بر اساس آزمون LSD در سطح احتمال ۰/۰۵ معنی‌دار نیستند.

* Means followed by the same letter are not significant at $P \leq 0.05$, according to LSD Test.

کارتونوئید شد و تیمار گیاهان با پرولین مقدار کلروفیل a، b، کلروفیل کل و کارتونوئید را در هر دو رقم افزایش داد. کلروفیل برگ یکی از مهم‌ترین ویژگی‌های فیزیولوژیکی می‌باشد که نشان‌دهنده شرایط مطلوب گیاه بوده که به آب قابل دسترس گیاه و سطح تغذیه بستگی دارد (Dawood *et al.*, 2014). افزایش غلظت Na و Cl در بافت گیاهی می‌تواند تنش اکسیداتیو را افزایش دهد که موجب آسیب به ساختار کلروپلاست و در نتیجه از بین رفتن کلروفیل شود (Khosravinejad & Farboondia, 2008). نتایج مطالعات Abdolmohammadi & Omid (2017) در گل پروانش و همچنین Shaki *et al.* (2018) در گیاه گلرنگ (*Carthamus tinctorius* L.) نشان داد که تحت تنش شوری میزان کلروفیل و کارتونوئید کاهش یافته که با نتایج این پژوهش همسو است. در این پژوهش با اعمال پرولین، رنگدانه فتوسنتزی در گیاهان تحت تنش شوری افزایش یافت که می‌تواند ناشی از تحریک بیوسنتز کلروفیل و یا کاهش تخریب آن باشد و همچنین به حذف بیشتر ROS توسط پرولین و سایر ترکیبات آنتی‌اکسیدان نسبت داده می‌شود (Abdelhamid *et al.*, 2013). علاوه بر این کاربرد خارجی پرولین موجب افزایش کلروفیل کل شد که به دلیل افزایش میزان انتشار دی‌اکسید کربن بوده که باعث افزایش نرخ فتوسنتزی می‌شود (Ali *et al.*, 2007; Sharkey *et al.*, 2007). نتایج پژوهشی روی گیاه زینتی *Viburnum lucidum* L. نشان داد که

ویژگی‌های فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی

رنگیزه‌های فتوسنتزی و کارتونوئید

نتایج حاصل از تجزیه واریانس (جدول ۳) نشان داد که اغلب عوامل مورد مطالعه و اثرات متقابل آن‌ها تأثیر معنی‌داری بر محتوای کلروفیل a، b و کلروفیل کل داشت. نتایج نشان داد که تنش شوری محتوای کلروفیل a، b و کل را کاهش داد در حالی که تیمار گیاهان با پرولین موجب افزایش محتوای کلروفیل a، b و کلروفیل کل شد که این روند در هر دو رقم یکسان بود. همچنین غلظت ۵ میلی‌مولار عملکرد بهتری نسبت به غلظت ۱۰ میلی‌مولار بر محتوای کلروفیل a، b و کل در هر دو رقم مورد مطالعه داشت (جدول ۵). بیشترین مقدار کلروفیل a و کلروفیل کل در رقم سالمون در تیمار شوری صفر (شاهد) و پرولین ۵ میلی‌مولار و کمترین میزان در این رقم و در تیمار شوری صفر (شاهد) و عدم محلول‌پاشی پرولین (شاهد) مشاهده شد (شکل ۱).

در بررسی نتایج مقدار کارتونوئید مشاهده شد که تنها شوری، پرولین و رقم تأثیر معنی‌داری بر این ویژگی داشت (جدول ۲). نتایج مقایسه میانگین نشان داد با افزایش غلظت سدیم کلرید از ۰ به ۶۰ میلی‌مولار در هر دو رقم از میزان کارتونوئید کاسته شد و کمترین مقدار کارتونوئید در غلظت ۶۰ میلی‌مولار مشاهده شد. کاربرد پرولین موجب تعدیل آثار تنش شوری شد و میزان کارتونوئید را افزایش داد (جدول ۵).

نتایج این پژوهش نشان داد که تنش شوری موجب کاهش محتوای کلروفیل a، b، کلروفیل کل و

نتایج پژوهش Cirillo *et al.* (2016) نشان داد که کاربرد خارجی پرولین باعث افزایش محتوای پرولین در گیاه برنج تحت تنش شوری شد که با نتایج این پژوهش مطابقت دارد. همچنین Kaya *et al.* (2006) گزارش دادند که با کاربرد پرولین، میزان پرولین برگ به‌طور معنی‌داری افزایش یافت.

فعالیت آنزیم کاتالاز

نتایج تجزیه واریانس نشان داد که همه‌ی عوامل مورد مطالعه به‌جز اثر متقابل رقم و شوری و اثر متقابل سه‌گانه تأثیر معنی‌داری بر فعالیت آنزیم کاتالاز داشت (جدول ۳). در این پژوهش با اعمال شوری ۲۰، ۴۰ و ۶۰ میلی‌مولار به ترتیب، ۱۵/۵۰، ۳۳/۰۵ و ۵۵/۲۱٪ نسبت به شاهد فعالیت آنزیم کاتالاز کاهش معنی‌داری یافت. ولی کاربرد غلظت‌های ۵ و ۱۰ میلی‌مولار پرولین، به ترتیب ۲۹/۴۱ و ۵۸/۶۷٪ فعالیت آنزیم کاتالاز را در مقایسه با شاهد افزایش داد. رقم سالمون عملکرد بهتری نسبت به رقم تمپو داشت (جدول ۵).

فعالیت آنزیم پراکسیداز

نتایج تجزیه واریانس (جدول ۳) نشان داد که اثرات اصلی شوری و پرولین و همچنین اثرات متقابل رقم در پرولین و شوری در پرولین در سطح احتمال یک درصد بر فعالیت آنزیم پراکسیداز معنی‌دار بود. نتایج مقایسات میانگین نشان داد، تنش شوری در تمام سطوح مورد مطالعه توأم با محلول‌پاشی پرولین فعالیت آنزیم پراکسیداز را افزایش داد؛ در غلظت‌های ۲۰، ۴۰ و ۶۰ میلی‌مولار کلرید سدیم فعالیت این آنزیم به ترتیب به میزان ۲۵/۷۸، ۴۶/۴۱ و ۷۴/۸۷٪ نسبت به گیاه شاهد افزایش یافت. همچنین کاربرد پرولین ۵ و ۱۰ میلی‌مولار، به ترتیب موجب افزایش ۴۶/۳۵ و ۷۹/۰۲ درصدی فعالیت آنزیم پراکسیداز نسبت به شاهد شد (جدول ۵).

فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز

نتایج تجزیه واریانس (جدول ۳) نشان دهنده اثر معنی‌دار همه‌ی عوامل مورد مطالعه بر فعالیت این آنزیم است، ولی اثر متقابل رقم و شوری و اثر متقابل سه‌گانه تأثیر

کاربرد پرولین مقدار کلروفیل و کاروتنوئید را تحت شرایط تنش شوری افزایش داد (Cirillo *et al.*, 2016). Dawood *et al.* (2014) گزارش دادند که تنش شوری باعث کاهش معنی‌دار محتوای کاروتنوئید گردید و کاربرد پرولین مقدار کاروتنوئید را افزایش داد که با نتایج حاصل از این پژوهش همخوانی دارد.

پرولین

در این پژوهش اثرات اصلی و متقابل تمامی عوامل مورد مطالعه بر محتوای پرولین معنی‌دار ($P \leq 0.01$) بود (جدول ۳). با توجه به نتایج مقایسه میانگین، میزان پرولین با افزایش شوری در سطوح ۲۰، ۴۰ و ۶۰ میلی‌مولار نسبت به شاهد به ترتیب ۳۲/۹۰، ۵۸/۰۴ و ۸۴/۷٪ افزایش یافت. همچنین اعمال پرولین، موجب افزایش قابل توجهی در میزان پرولین برگ شد به‌طوری که کاربرد غلظت ۵ و ۱۰ میلی‌مولار پرولین، به ترتیب به میزان ۱۹۱/۹۳ و ۲۴۷/۳٪ باعث افزایش محتوای پرولین در مقایسه با شاهد شد (جدول ۵). بیشترین محتوای پرولین برگ در رقم سالمون، در تنش شوری ۶۰ میلی‌مولار با کاربرد پرولین ۱۰ میلی‌مولار و کمترین آن در شاهد رقم تمپو مشاهده شد (شکل ۲).

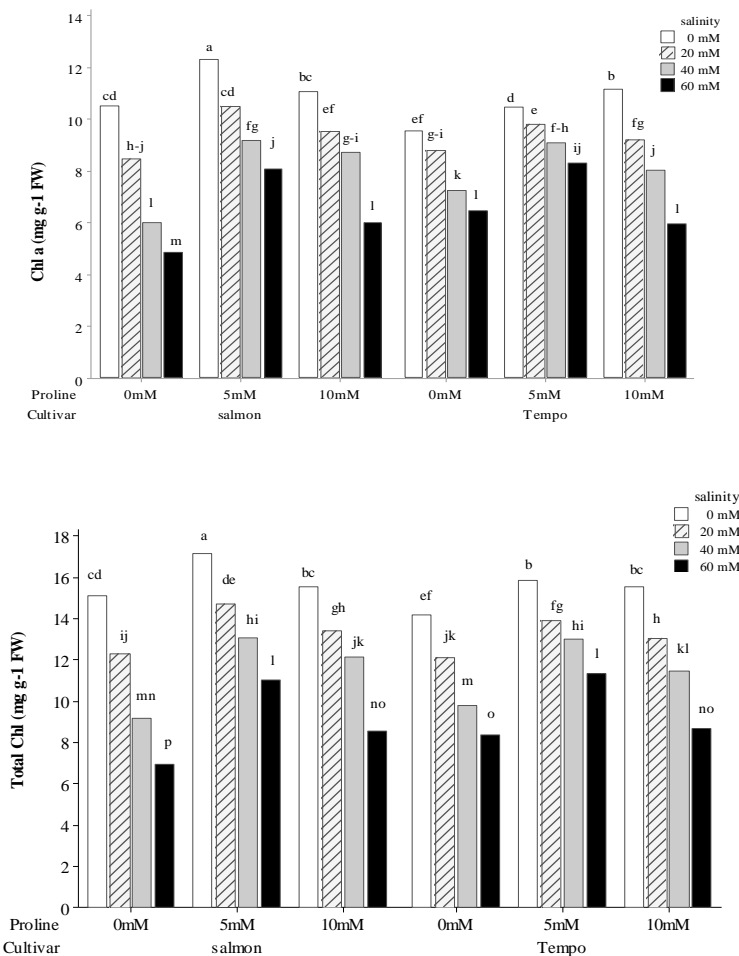
در پژوهش حاضر مشاهده شد که با افزایش میزان شوری ناشی از کلرید سدیم، میزان پرولین افزایش یافت و کاربرد خارجی پرولین نیز موجب افزایش محتوای پرولین شد. تجمع پرولین یک شاخص مهم فیزیولوژیکی برای پاسخ گیاهان به تنش شوری است که در شرایط تنش بیش از سایر آمینواسیدها تجمع می‌یابد (Abdelhamid *et al.*, 2013) که می‌تواند به علت افزایش سنتز یا کاهش تخریب آن و یا هر دو باشد که به نوع گونه و میزان تنش بستگی دارد (Kavi-Kishor *et al.*, 2005). کاربرد پرولین موجب جذب رادیکال‌های آزاد و محافظت از سلول‌های گیاهی در مقابل اثرات نامطلوب شوری با حفظ پتانسیل اسمزی می‌شود (Okuma *et al.*, 2004; Ashraf & Foolad, 2007). کاربرد پرولین در تمام سطوح شوری، میزان غلظت پرولین درونی را به‌طور معنی‌داری افزایش داد که این نتایج مشابه نتایج پژوهشی روی آفتابگردان بود (Wu *et al.*, 2015).

سلول‌های گیاهی می‌شود. متابولیسم H_2O_2 وابسته به عملکرد آنزیم‌های مختلف آنتی‌اکسیدانی مانند کاتالاز و پراکسیداز در سلول‌های گیاهی است و پرولین به‌طور مؤثری H_2O_2 را با افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی در گیاهان تحت تنش شوری، سم‌زدایی می‌کند (Hoque *et al.*, 2016; Kim *et al.*, 2005).

در پژوهش حاضر اعمال پرولین موجب افزایش سیستم دفاع آنتی‌اکسیدانی آنزیمی شامل فعالیت آنزیم‌های کاتالاز، پراکسیداز و آسکوربات پراکسیداز تحت تنش شوری شد که با نتایج Khedr *et al.* (2003) و Hoque *et al.* (2007) همسو بود. پرولین برون‌زا قادر است به‌طور مؤثری اثر سمی H_2O_2 را با افزایش فعالیت آنزیم‌های کاتالاز، پراکسیداز و آسکوربات پراکسیداز تحت تنش شوری کاهش دهد (Hoque *et al.*, 2007; Hoque *et al.*, 2016).

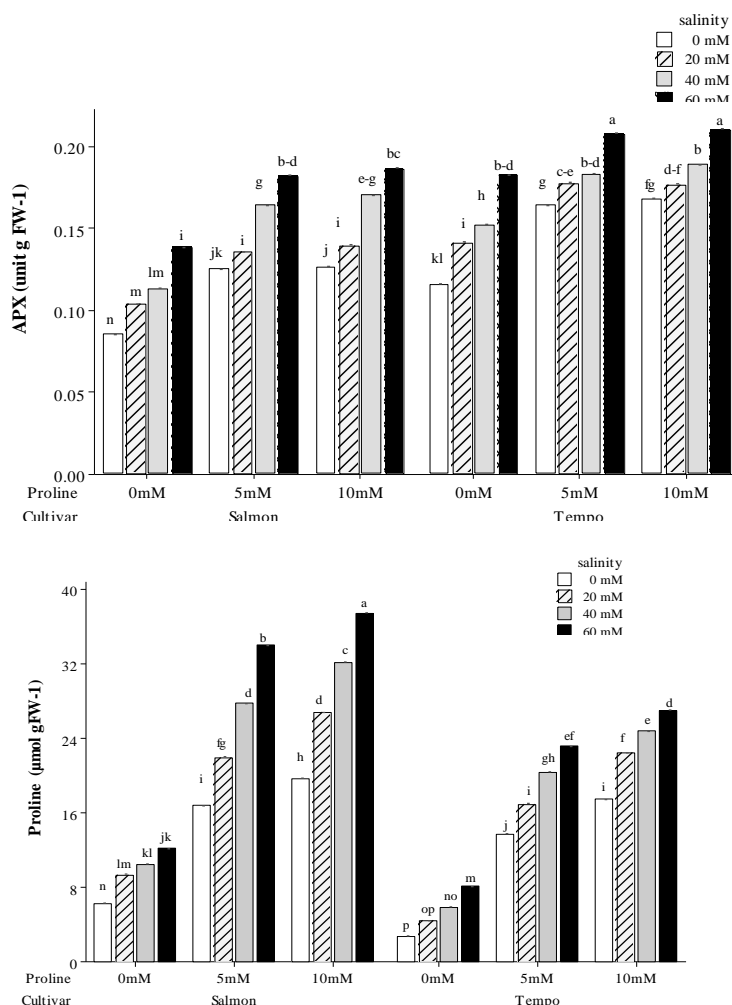
معنی‌داری نشد. نتایج مقایسه میانگین نشان داد که اعمال شوری همراه با محلول‌پاشی پرولین موجب افزایش فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز در هر دو رقم شد. بیشترین فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز در تیمار ۶۰ میلی‌مولار کلرید سدیم و غلظت ۵ و ۱۰ میلی‌مولار پرولین در رقم تمپو و کمترین فعالیت آن در شاهد رقم سالمون (بدون شوری و عدم محلول‌پاشی پرولین) مشاهده شد (شکل ۲).

در مطالعه حاضر فعالیت آنزیم‌های پراکسیداز و آسکوربات پراکسیداز تحت تنش شوری افزایش یافت، درحالی که فعالیت آنزیم کاتالاز کاهش یافت. نتایج مشابهی در گل آهار (Talebi *et al.*, 2015) و همچنین در کلزا (Ashraf & Ali, 2008) گزارش شده است. تنش شوری باعث تجمع گونه‌های فعال اکسیژن (ROS) از جمله پراکسید هیدروژن (H_2O_2) در



شکل ۱. مقایسه میانگین اثر متقابل رقم، پرولین و شوری بر کلروفیل a و کلروفیل کل گل حنا

Figure 1. Mean comparison interaction effect of cultivar, proline and salinity on Chl a and Total Chl of *Impatiens walleriana*



شکل ۲. مقایسه میانگین اثر متقابل رقم، پرولین و شوری بر پرولین و آنزیم آسکوربات پراکسیداز گل حنا
Figure 2. Mean comparison interaction effect of cultivar, proline and salinity on proline and APX enzyme of *Impatiens walleriana*

توانایی اعمال این تغییرات و در نتیجه تنظیم اسمزی خود را از دست می‌دهد و حتی در نهایت با ادامه تنش شوری منجر به مرگ گیاه می‌شود، اما کاربرد برونزای پرولین به‌ویژه در غلظت ۱۰ میلی‌مولار حتی در سطوح بالای شوری (۶۰ میلی‌مولار) توانست با تنظیم اسمزی و افزایش فعالیت آنزیمی موجب بهبود رشد گل حنا شده و با تعدیل اثرات تنش شوری، سبب افزایش مقاومت به شوری در هر دو رقم شد.

سپاسگزاری

از اساتید محترم گروه علوم باغبانی و مسئولان دانشکده کشاورزی دانشگاه لرستان به دلیل مساعدت در اجرای این پژوهش، تشکر و قدردانی می‌گردد.

نتیجه‌گیری کلی

به‌طور کلی تنش شوری در همه سطوح مورد مطالعه، بر ویژگی‌های وزن تر و خشک برگ، ساقه، ریشه و کل بوته، کلروفیل a، b و کل، کارتنوئید و فعالیت آنزیم کاتالاز اثر منفی و کاهشی داشت در حالی که موجب افزایش فعالیت آنزیم پراکسیداز و آسکوربات پراکسیداز و محتوای پرولین برگ شد که روند در هر دو رقم گل حنا یکسان بود. بنابراین تنش شوری به‌ویژه در غلظت ۶۰ میلی‌مولار موجب کاهش رشد و عملکرد هر دو رقم شد. از آنجایی که سایر تغییرات متابولیک گیاه نظیر افزایش محتوای پرولین درونی به‌عنوان پاسخ موقت تحت شرایط شوری مطرح می‌باشد به گونه‌ای که با افزایش تنش شوری گیاه

REFERENCES

1. Abdelhamid, M. T., Rady, M. M., Osman, A. S. h. & Abdalla, M. A. (2013). Exogenous application of proline alleviates salt-induced oxidative stress in *Phaseolus vulgaris* L. Plants. *The Journal of Horticultural Science and Biotechnology*, 88, 439-446.
2. Abdolmohammadi, S. & Omid, J. (2017). The effect of salicylic acid on some morphological and physiological traits under salinity stress (*Catharanthus roseus*). *Agricultural Research Journal*, 9(3), 28-39. (in Farsi)
3. Ali, Q., Ashraf, M. & Athar, H. R. (2007). Exogenously applied proline at different growth stages enhances growth of two maize cultivars grown under water deficit conditions. *Pakistan Journal of Botany*, 39(4), 1133-1144.
4. Alvarez, S. & Sanchez-Blanco, M. J. (2014). Long-term effect of salinity on plant quality, water relations, photosynthetic parameters and ion distribution in *Callistemon citrinus*. *Plant Biology*, 16(4), 757-764.
5. Ashraf, M. & Ali, Q. (2008). Relative membrane permeability and activities of some antioxidant enzymes as the key determinants of salt tolerance in canola (*Brassica napus* L.). *Environmental and Experimental Botany*, 63(13), 266-273.
6. Ashraf, M. & Foolad, M. R. (2007). Roles of glycine betaine and proline in improving abiotic stress resistance. *Environmental and Experimental Botany*, 59, 206-216.
7. Bartha, C., Fodorpataki, L., Del Carmen Martinez-Ballesta, M., Popescu, O. & Carvajal, M. (2015). Sodium accumulation contributes to salt stress tolerance in lettuce cultivars. *Journal of Applied Botany and Food Quality*, 88, 42-48.
8. Bates, L., Waldren, R. & Teare, I. (1973). Rapid determination of free proline for water-stress studies. *Plant and Soil*, 39, 205-207.
9. Bayat, H., Namati, S. H., Tehranifar, A., Vahdati, N. & Selahvarzi Y. (2012). Effect of salicylic acid on growth and ornamental characteristics of Persian petunia (*Petunia hybrida*) under salt stress. *Journal of Science and Technology of Greenhouse Culture Soilless Culture Research Center*, 3(3), 43-51. (in Farsi)
10. Cassaniti, C., Leonardi, C. & Flowers, T. J. (2009). The effects of sodium chloride on ornamental shrubs. *Scientia Horticulturae*, 122(4), 586-593.
11. Chance B. & Maehly, A. C. (1955). Assay of catalases and peroxidases. *Methods in Enzymology*, 2, 764-775.
12. Chen, H. & Jiang, J. G. (2009). Osmotic responses of *Dunaliella* to the changes of salinity. *Journal of Cellular Physiology*, 219, 251-258.
13. Chiang, H. H. & Dadekar, A. M. (1995). Regulation of proline accumulation in *Arabidopsis thaliana* L. Heynh during development and in response to desiccation. *Plant, Cell & Environment*, (18), 1280-1290.
14. Cirillo, C., Roupael, Y., Caputo, R., Raimondi, G., Sifola, M. I. & De Pascale, S. (2016). Effects of high salinity and the exogenous application of an osmolyte on growth, photosynthesis, and mineral composition in two ornamental shrubs. *The Journal of Horticultural Science and Biotechnology*, 91(1), 14-22.
15. Colla, G., Roupael, Y., Leonardi, C. & Bie, Z. (2010). Role of grafting in vegetable crops grown under saline conditions. *Scientia Horticulturae*, 127(2), 147-155.
16. Dawood, M. G., Taie, H. A. A., Nassar, R. M. A., Abdelhamid, M. T. & Schmidhalter, U. (2014). The changes induced in the physiological, biochemical and anatomical characteristics of *Vicia faba* by the exogenous application of proline under seawater stress. *South African Journal of Botany*, 93, 54-63.
17. Deotale, R.D., Potkile, N.N. & Dhopte, A.M. (1988). Relative changes in free amino acid contents associated with boll shedding in upland cotton cultivars and hybrids. *Annual Review of Plant Physiol*, 1, 94-100.
18. De Pascale, S., Dalla Costa, L., Vallone, S., Barbieri, G. & Maggio, A. (2011). Increasing water use efficiency in vegetable crop production: from plant to irrigation systems efficiency. *HortTechnology*, 21(3), 301-308.
19. Dole, J. M. & Wilkins, H. (2005). Floriculture: principles and species by prentice-Hall Inc. *Simon and Areview, Annals of Botany*, 104.
20. Garcia-Caparros, P. & Lao, M. T. (2018). The effects of salt stress on ornamental plants and integrative cultivation practices. *Scientia Horticulturae*, 240, 430-439.
21. Ghasemi ghahsare, M. & Kafi, M. (2013). *Scientific and practical flowering*. Razavi Publications. (in Farsi)
22. Gomez-Bellot, M. J., Alvarez, S., Banon, S., Ortuno, M. F. & Sanchez-Blanco, M. J. (2013). Physiological mechanisms involved in the recovery of euonymus and laurustinus subjected to saline waters. *Agricultural Water Management*, 128, 131-139.
23. Grey-Wilson, C. (1980). *Impatiens of Africa*. CRC Press.
24. Hasegawa, P. M., Bressan, R. A., Zhu, J. K. & Bohnert, H. J. (2000). Plant cellular and molecular responses to high salinity. *Annual Review Plant Physiology and Plant Molecular Biology*, 51, 463-499.
25. Heuer, B. (2003). Influence of exogenous application of proline and glycine betaine on growth of salt-stressed tomato plants. *Plant Science*, 165, 693-699.

26. Hoque, A., Bhusan, D., Das, K. D., Hossain, M. K. & Murata, Y. (2016). Improvement of salt tolerance in rice (*Oryza sativa* L.) by increasing antioxidant defense systems using exogenous application of proline. *Australian Journal of Crop Science*, 10(1), 50.
27. Hoque, M. A., Okuma, E., Banu, M. N. A., Nakamura, Y., Shimoishi, Y. & Murata, Y. (2007). Exogenous proline mitigates the detrimental effects of salt stress more than exogenous betaine by increasing antioxidant enzyme activities. *Journal of Plant Physiology*, 164(5), 553-561.
28. Hussain, K., Nawaz, K., Majeed, A., Khan, F., Lin, F., Ghani, A. & Shahzad, A. (2010). Alleviation of salinity effects by exogenous applications of salicylic acid in pearl millet (*Pennisetum glaucum* (L.) R. Br.) Seedlings. *African Journal of Biotechnology*, 9(50), 8602-8607.
29. Jabarzade, M., Tehrani far, A., Amiri, J. & Abedi, B. (2017). Investigating on the protective role of nitric oxide in reducing the damages induced by salinity stress in (*calendula officinalis* L.cv Gitan Orange). *Journal of Horticulture (Agricultural Science and Technology)*, 30(2), 185-191. (in Farsi)
30. Kavi-Kishor, P. B., Sangam, S., Amrutha, R. N., Sri Laxmi, P., Naidu, K. R., Rao, K. R. S. S., Rao, S., Reddy, K. J., Theriappan, P. & Sreeniv, N. (2005). Regulation of proline biosynthesis, degradation, uptake and transport in higher plants: its implications in plant growth and abiotic stress tolerance. *Current Science*, 88, 424-438.
31. Kaya, C., Tuna, A. L., Ashraf, M. & Altunlu, H. (2007). Improved salt tolerance of melon (*Cucumis melo* L.) by the addition of proline and potassium nitrate. *Environmental and Experimental Botany*, 60(3), 397-403.
32. Kaya, M. D., Okcu, G., Atak, M., Cikili, Y. & Kolsarici, O. (2006). Seed treatment to overcome salt and drought stress during germination in sunflower (*Helianthus annuus* L.). *European Journal of Agronomy*, 24, 291-295.
33. Khan, A., Iram, I., Iftikhar, A., Humera, N. & Maria, N. (2014). Role of Proline to Induce Salinity Tolerance In sunflower (*Helianthus annus* L.). *Science Technology and Development*, 33 (2), 88-93.
34. Khedr, A. H. A., Abbas, M. A., Wahid, A. A. A., Quick, W. P. & Abogadallah, G. M. (2003). Proline induces the expression of salt-stress-responsive proteins and may improve the adaptation of *Pancreaticum maritimum* L. to salt-stress. *Journal of Experimental Botany*, 54(392), 2553-2562.
35. Khosravinejad, H. F. R. & Farboondia, T. (2008). Effect of salinity on photosynthetic pigments, respiration and water content in barley varieties. *Pakistan Journal of Biological Sciences*, 11, 2438-2442.
36. Kim, S. Y., Lim, J. H., Park, M. R., Kim, Y. J., Park, T. I., Seo, Y. W. & Yun, S. J. (2005). Enhanced antioxidant enzymes are associated with reduced hydrogen peroxide in barley roots under saline stress. *BMB Reports*, 38(2), 218-224.
37. Lichtenthaler, H. K. (1987). Chlorophylls and Carotenoids: Pigments of Photosynthetic membranes. *Methods in Enzymology*, 148, 350-383.
38. Lutts, S., Kinet, J. M. & Bouharmont, J. (1996). NaCl-induced senescence inleaves of rice (*Oryza sativa* L.) cultivars differing in salinitary resistance. *Annals of Botany*, 78 (3), 389-398.
39. MacAdam, J. W., Nelson, C. J. & Sharp, R. E. (1992). Peroxidase activity in the leaf elongation zone of tall fescue: I. Spatial distribution of ionically bound peroxidase activity in genotypes differing in length of the elongation zone. *Plant Physiology*, 99(3), 872-878.
40. Manchanda G. & Garg, N. (2008). Salinity and its effects on the functional biology of legumes. *Acta Physiologiae Plantarum*, 30, 595-618.
41. Mattioli R., Marchese D, D., Angeli S., Altamura M. M., Costantino P. & Trovato, M. (2008). Modulation of intracellular proline levels affects flowering time and inflorescence architecture in *Arabidopsis*. *Plant Molecular Biology*, 66, 277-288.
42. Matysik, J., Alai, B. B. & Mohanty, P. (2002). Molecular mechanisms of quenching of reactive oxygen species by proline under stress in plants. *Current Science*, 82, 525-532.
43. Mohammadi, L., Reezi, S. & Barzegar, R. (2016). Application of mycorrhizal fungi (*Glomus mosseae*) on reducing of salinity effect in New Guinea impatiens. *Crops Improvement*, 18(2), 289-301. (in Farsi)
44. Molazem, D. & Azimi, J. (2011). Effect of different levels of salinity on Leaf characteristics and chlorophyll content of commercial varieties of maize (*Zea mays* L.). *Australian Journal of Basic and Applied Science*, 5, 1718-1722.
45. Nakano, Y. & Asada, K. (1981). Hydrogen peroxide is scavenged by ascorbate- specific peroxidase in Spanish chloroplasts. *Journal of Plant and Cell Physiology*, 22(5), 867-880.
46. Navarro, A., Banon, S., Olmos, E. & Sanchez-Blanco, M. D. J. (2007). Effects of sodium chloride on water potential components, hydraulic conductivity, gas exchange and leaf ultrastructure of *Arbutus unedo* plants. *Plant Science*, 172(3), 473-480.
47. Okuma, E., Murakami, Y., Shimoishi, Y., Tada, M. & Murata, Y. (2004). Effects of exogenous application of proline and betaine on the growth of tobacco cultured cells under saline conditions. *Soil and Plant Nutrition*, 50, 1301-1305.
48. Orcutt, D. M. & Nilsen, E. T. (2000). *The Physiology of Plants under Stress, Soil and Biotic Factors*. John Wiley & Sons.

49. Pieshbin, A. (2016). *Floriculture*. Ayyzh. (in Farsi)
50. Rodriguez, P., Torrecillas, A., Morales, M. A., Ortuno, M. F. & Sanchez-Blanco, M. J. (2005). Effects of NaCl salinity and water stress on growth and leaf water relations of *Asteriscus maritimus* plants. *Environmental and Experimental Botany*, 53(2), 113-123.
51. Rogers, H. J. (2013). From models to ornamentals: how is flower senescence regulated. *Plant Molecular Biology*, 82, 563-574.
52. Saxena, S. N., Kaushik, N. & Sharma, R. (2008). Effect of abscisic acid and proline on *in vitro* flowering in *Vigna aconitifolia*. *Biologia Plantarum*, 52, 181-183.
53. Shaki, F., Maboud, H. E. & Niknam, V. (2018). Penconazole alleviates salt-induced damage in safflower (*Carthamus tinctorius* L.) plants. *Journal of Plant Interactions*, 13 (1), 420-427.
54. Sharkey, T. D., Carl, J. B., Graham, D. F. & Singaas, E. L. (2007). Fitting photosynthetic carbon dioxide response curves for C3 leaves. *Plant Cell Environment*, 30, 1035-1040.
55. Talebi, F., Mortazavi, S. N. & Sharafi, E. (2015). Effect of salinity on some morphophysiological traits of *Zinnia elegans*. *Environmental Stresses in Crop Science*, 7(2), 277-279. (in Farsi)
56. Tanimoto, S., Miyazaki, A. & Harada, H. (1985). Regulation by abscisic acid of *in vitro* flower formation in *Torenia* stem segments. *Plant & Cell Physiology*, 26, 675-682.
57. Trovato, M., Mattioli, R. & Costantino, P. (2008). Multiple roles of proline in plant stress tolerance and development. *Rendiconti Lincei*, 19, 325-346.
58. Virupakshi, S., Manjunatha, B. R. & Naik, G. R. (2002). In vitro flower induction in callus from a juvenile explant of sugarcane, *Saccharum officinarum* L. var. CoC 671. *Currect Science Association*, 83, 1195-1197.
59. Wu, G. Q., Jiao, Q. & Shui, Q. Z. (2015). Effect of salinity on seed germination, seedling growth, and inorganic and organic solutes accumulation in sunflower (*Helianthus annuus* L.). *Plant, Soil and Environment*, 61(5), 220-226.
60. Zheng, J., Zhao, L., Wu, C., Shen, B. & Zhu, A. (2015). Exogenous proline reduces NaCl-induced damage by mediating ionic and osmotic adjustment and enhancing antioxidant defense in *Eurya emarginata*. *Acta Physiologiae Plantarum*, 37(9), 181.