تحمل بنیادی گیاهچه‌های چهار روزه گندم به تنش خشکی طولانی مدت

پریسا کوباز[۱]، فائزه قناتی*[۱]، قاسم حسینی سالکده[۳]، منظر حیدری[۲]، فواد مرادی[۲] و رئوفه آل بویه[۲]

[۱]گروه علوم گیاهی، دانشکده علوم زیستی، دانشگاه تربیت مدرس، تهران، [۲] بخش فیزیولوژی مولکولی، پژوهشکده بیوتکنولوژی کشاورزی ایران و [۳]بخش ژنومیکس، پژوهشکده بیوتکنولوژی کشاورزی ایران.

(تاریخ دریافت: ۱۳۹۲/۰۶/۱۳؛ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۲/۱۰/۲۲).

چکیده:

پژوهش حاضر به منظور تعیین بنیادی بودن، مکانیسم و میزان تحمل به تنش خشکی در گیاه چه‌های ژنو تیپ‌های مختلف گندم انجام شد. در آزمایش اول، نحوه تأثیرگذاری تنش خشکی ایجاد شده با استفاده از پلی اتیلن گلیکول و مانیتول در غلظت‌های مختلف مورد بررسی قرار گرفت و سپس به دلیل اعمال تنش خشکی ملایم توسط این محلول‌ها، در بقیه آزمایش‌ها از روش قطع آبیاری کامل استفاده گردید. نتایج آزمون تعیین تحمل گیاهچه‌ها در سنین مختلف (۴،۳ و ۷ روزه) نشان داد که چهار روزگی آستانه تحمل گیاه چه‌های گندم به تنش خشکی شدید می‌باشد و تمامی ژنوتیپ‌ها می‌توانند بیشتر از سه هفته تنش را به خوبی تحمل نموده و احیا شوند.بر اساس نتایج، ژنوتیپ مرودشت به عنوان یک ژنوتیپ ایرانی دارای تحمل بنیادی به تنش خشکی انتخاب شده و نتایج حاصل از اعمال تنش در زمان‌های مختلف در آزمایش بعدی (۳۰-۱۰ روز) نشان داد که حتی طولانی ترین دوره تنش به خوبی توسط گیاهچه تحمل شده و مراحل رشد به خوبی ادامه دارد. این تحقیق همچنین افزایش میزان قندها در شرایط تنش و کاهش آنها در زمان آبیاری مجدد را نشان داد. استفاده از محیط‌های مختلف (دارای محلول غذایی یا آب مقطر، با یا بدون بذر) در شرایط تنش خشکی نقش بذر در القای تحمل را نشان داد و بر لزوم اتصال گیاهچه به بذر برای بروز تحمل به خشکی تاکید کرد.

واژگان کلیدی: تنش خشکی، گیاهان رستاخیزی، گیاهچه گندم

مقدمه:

تنش خشکی فرایند پیچیده‌ای است که نه تنها موجب فقدان آب می‌شود بلکه محدودیت مواد غذایی و تنش‌های شوری، اسمزی و اکسیداتیو را نیز به دنبال دارد. همچنین میزان نور برای گیاهان رشد یافته در شرایط طبیعی (در آب کافی) برای گیاهان تحت تنش خشکی زیاد بوده و به آن‌ها آسیب می‌رساند (Luna and Pastori, 2005; Salekdeh *et al.*, 2002). به جز تعداد کمی از گونه‌ها، تقریباً تمامی گونه‌های گیاهی (گیاهان حساس) هنگامی که محتوای آبی آن‌ها به ۲۰٪ حالت بهینه کاهش یابد از بین می‌روند. گیاهانی که می‌توانند با ۱۰٪ محتوای آبی زنده بمانند به عنوان گیاهان متحمل به خشکی طولانی مدت شناخته می‌شوند. افزایش توان گیاهان جهت تحمل به تنش‌های محیطی ناشی از کمبود آب و حضور املاح اضافی در خاک، از نظر تقلیل افت عملکرد، از دغدغه‌های اصلی در حوزه تولیدات کشاورزی

*نویسنده مسؤل، نشانی پست الکترونیکی: ghangia@modares.ac.ir

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2024-04-25]

[DOR: 20.1001.1.23222727.1393.3.7.8.1]

می‌باشد (Tweddle *et al*., 2003; Kong *et al*., 2010). گندم یک محصول استراتژیک است که بخش وسیعی از زمین‌های زیر کشت آن در مناطق خشک و نیمه‌خشک ایران قرار دارد. تحمل به خشکی در طی تکامل در رده‌های مختلف گیاهی دیده شده است. از آن جایی که صفات سازگار به خشکی، کمپلکس و چند ژنی هستند، شناسایی صفات ژنتیکی و فیزیولوژیکی در ارزیابی تحمل به خشکی اهمیت دارد (Salekdeh *et al*., 2009). نزدیک‌ترین تک لپه به گندم گیاه *Sporobolus stapfianus* از خانواده *Poaceae* یک گیاه رستاخیزی است که به عنوان یک منبع مطالعاتی چند بعدی برای تحقیق درباره تحمل به خشکی طولانی مدت تا کنون به کار برده شده است. از ویژگی‌های بارز این گیاه تحمل بافت‌های رویشی به خشکی طولانی مدت است. تجمع مولکول‌هایی که غشاها و پروتئین‌ها را در خشکی‌های طولانی مدت محافظت می‌کنند، مکانیسم‌های کاهش دهنده خطر تنش‌های اکسیداتیو و کاهش سنتز پروتئین در اواخر دوره تنش و همچنین وجود برخی از ژن‌های ارتولوگ خشکی تا کنون به عنوان دلایلی برای تحمل این گیاه به خشکی ذکر شده‌اند (Gaff *et al*., 2009). تجمع برخی آمینواسیدها و قندهای خاص نظیر سوکروز نیز از دیگر مکانیسم‌های پیشنهادی برای تحمل گیاهان رستاخیزی به خشکی‌های طولانی مدت ذکر شده است. امروزه مدارکی وجود دارد که نقش اصلی قندهای محلول را نه تنها در متابولیسم بلکه به عنوان سوبستراتی برای فرآیندهای بیوسنتزی و تولید انرژی، به عنوان محصولات فرآیندهای هیدرولیکی که در واکنش هورمون با قندها دخالت دارند، نشان می‌دهد (Gibson, 2005; Leprince *et al*., 2004).

دانه‌های بالغ گندم تحمل زیادی به خشکی نشان می‌دهند. در طی جوانه‌زنی که در بسیاری از گیاهان با خروج ریشه‌چه از بذر همراه می‌شود، تحمل به خشکی به سرعت از دست می‌رود. نرخ متابولیسم سوکروز در گندم، با سن گیاهچه تغییری نمی‌کند اما گیاهچه‌های مسن‌تر به خشکی حساس‌ترند (Bogdan and Zagdanska, 2006). علیرغم گسترش تنش خشکی در ایران، تا کنون بیشتر مطالعات انجام شده بر روی انتخاب لاین های متحمل گیاهان استراتژیک نظیر گندم متمرکز شده است. تحقیق حاضر به منظور درک هر چه بیشتر مکانیسم‌های فیزیولوژیک پاسخ به تنش خشکی در دانه رستهای گندم در روزهای مختلف، احیا پس از آبیاری مجدد و نقش بذر در این پاسخ انجام گرفته است.

مواد و روش‌ها:

مواد گیاهی، آزمون جوانه زنی و اعمال تنش خشکی به روش‌های مختلف: رقم مرودشت (ایرانی، حساس به خشکی آخر فصل) و لاین های ۱۶۸ و ۱۱ از ژنوتیپ‌های نسبتاً مقاوم به خشکی از سری Babax کشت شده در ایران از موسسه اصلاح و تهیه نهال و بذر تهیه شدند.

به منظور اعمال شرایط یکسان برای آزمون‌ها ابتدا بذور تمامی ارقام با الکل ۷۰٪ (یک دقیقه) و وایتکس تجاری ۵۰٪ (۱۵ دقیقه) ضدعفونی شد. بذرها پس از شستشو، با فواصل یکسان بر روی کاغذ صافی استریل در داخل ظروف یک‌بار مصرف، به مدت ۲۴ ساعت در شرایط تاریکی قرار گرفتند.پس از این دوره، تحت نور ۳۰۰ میکرومول فوتون بر مترمربع در ثانیه در اتاق روشن با دمای ۲۳ درجه سانتی‌گراد و روشنایی ۱۶ ساعت روز و ۸ ساعت تاریکی قرار گرفتند. نمونه‌ها یک روز در میان با آب مقطر و سه روز در میان با آب استریل (برای جلوگیری از آلودگی)، آبیاری و درصد جوانه زنی آن‌ها تعیین شد. به منظور اطمینان از یکسان بودن رشد گیاهچه‌ها از کدهای زادوکس (Zadox) برای انتخاب گیاهچه‌ها در آزمایشات بعدی استفاده شد (Simmons *et al*., 1995). گیاهچه های تقریباً یک اندازه ۳ روزه (کد ۱۰= ظهور برگ اول داخل غلاف)، ۴ روزه (کد ۱۱= ظهور حداقل ۵۰٪ برگ اول) و ۷ روزه (کد ۱۲=، برگ سوم در آستانه ظهور) برای آزمون‌های مختلف مورد استفاده قرار گرفت.

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2024-04-25]

[DOR: 20.1001.1.23222727.1393.3.7.8.1]

برای اطمینان از مناسب بودن شرایط اعمال تنش خشکی شدید و طولانی مدت و مقایسه با تنش‌های مورد استفاده برای خشکی از محیط موراشیگ و اسکوگ (MS) حاوی پلی اتیلن گلیکول (PEG) یا مانیتول (Mannitol)(۸۰۰-۰ میلی مولار) در ۴ سطح با pH=5.7 و آگار ۷/۵ گرم در لیتر استفاده شد. محلول‌ها در شیشه مربایی ریخته شده و اتوکلاو شدند. آزمایش در قالب یک طرح کامل تصادفی با ۳ تکرار و هر تکرار شامل ۵ گیاهچه کد ۱۱ ژنوتیپ‌های مرودشت و ۱۱ و ۱۶۸ انجام شد. میزان وزن خشک، وزن‌تر، وزن تورگید پس از ۲۴ ساعت و میزان محتوای نسبی آب (RWC) به منظور تعیین میزان تأثیر تنش اندازه گیری شد. کل اندام هوایی جدا شده و میزان RWC با روش Mishra و Choudhuri (۱۹۹۹) بر اساس رابطه زیر محاسبه گردید.

$$\text{محتوای آب نسبی بر حسب درصد} = \frac{(\text{وزن‌تر} - \text{وزن خشک})}{(\text{وزن آماس} - \text{وزن‌تر})} \times ۱۰۰$$

استفاده از غلظت‌های بالاتر مانیتول و پلی اتیلن گلیکول سمی بوده و نیز مانع جامد شدن آگار می‌گردید. استفاده از آن‌ها در غلظت‌های به کار رفته نیز قادر به ایجاد تنش شدید در گیاهچه‌ها نبود و حدود ۵۰٪ محتوای نسبی آب گیاهچه ها حفظ می‌شد. لذا در بقیه آزمایش‌ها، خشکی با قطع کامل آبیاری اعمال گردید.

آزمون تعیین تأثیر سن، ژنوتیپ و زمان‌های مختلف تنش: گیاهچه‌های ۳، ۴ و ۷ روزه ژنوتیپ های مرودشت (حساس به خشکی)، ۱۱ و ۱۶۸ در سه دوره زمانی (۳، ۴ و ۷ روز) با سه تکرار و ۱۰ نمونه در هر تکرار، تحت تنش خشکی با قطع کامل آبیاری در اتاق روشن تحت شرایط ذکر شده فوق قرار گرفتند. نمونه‌ها پس از طی دوره های تنش خشکی، مجدداً آبیاری شده و سه روز پس از آبیاری، درصد زنده مانی آن‌ها بر اساس توان ایجاد ریشه‌های جدید مورد مقایسه قرار گرفت. آزمون دیگری بر اساس نتایج آزمایش قبلی با استفاده از گیاهچه‌های کد ۱۱ روی هر ۳ ژنوتیپ با سه تکرار و هر تکرار با ۱۰ نمونه انجام شد. در این آزمون پنج زمان تنش (۱ تا ۵ هفته) مورد آزمون قرار گرفته و درصد زنده مانی سه روز پس از آبیاری (بر اساس ایجاد ریشه‌های جدید) محاسبه گردید. همچنین به منظور تعیین تحمل طولانی مدت تنش، کشت گیاهچه از ژنوتیپ مرودشت در اتاق روشن در سه تکرار و هر تکرار با ۱۰ نمونه در قالب طرح کاملاً تصادفی انجام شده و در ۳ زمان مختلف (بر اساس نتایج قبلی حاصل از حداکثر میزان تحمل) تنش خشکی اعمال گردید. میانگین طول ساقه، وزن خشک و تر و محتوای نسبی آب در زمان تنش و ۳ روز پس از آبیاری مجدد اندازه‌گیری شد.

تعیین نقش بذر در تحمل به تنش خشکی: گیاهچه‌های کد ۱۰ و ۱۱ ژنوتیپ مرودشت با اعمال تنش خشکی ۱۰ روزه (حاوی بذر و بدون بذر) در دو نوع محیط (آب و محیط MS/10) آبیاری شده و در دو نوبت (۳ و ۷ روز پس از آبیاری مجدد) طول ساقه و وزن تر آن ها به عنوان ملاک‌های رشد پس از تنش مورد بررسی قرار گرفتند. در آزمون‌های بدون بذر، از زمان اعمال تنش، بذر از گیاهچه به طور کامل به نحوی که به گیاهچه صدمه‌ای وارد نشود جدا گردید.

سنجش قندهای محلول: قندهای محلول گلوکز و مانوز در گیاهچه‌های ۴ روزه گندم ژنوتیپ مرودشت در شرایط کنترل، تنش خشکی (۱۰ و ۲۰ روز) و آبیاری مجدد (۳ و ۷ روز پس از آبیاری) اندازه گیری شد. بدین منظور از بافت تر گیاهی بر اساس روش تغییر یافته فنل-سولفوریک (AOAC, 1995) استفاده گردید. جذب استانداردهای گلوکز و مانوز (۱/۷۵-۰ میلی مولار) و نمونه‌ها توسط دستگاه اسپکتروفتومتر (Carry 300, USA) در طول موج‌های ۴۸۵ و ۴۹۰ نانومتر به ترتیب برای گلوکز و مانوز قرائت شد.

آنالیز آماری: پژوهش‌های انجام شده بر پایه طرح کامل تصادفی با سه تکرار و هر تکرار شامل ۵-۱۰ نمونه انجام شد. داده‌ها با استفاده از نرم افزار SPSS آنالیز شد و

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2024-04-25]

[DOR: 20.1001.1.23222727.1393.3.7.8.1]

مقایسه میانگین‌ها با استفاده از آزمون آنالیز واریانس یک طرفه و مقایسه حداقل اختلاف معنی دار (LSD) در سطح ۵ درصد انجام گرفت.

نتایج و بحث:

مشاهدات نشان داد که مانیتول و پلی اتیلن گلیکول هیچ‌کدام نتوانستند حتی در غلظت‌های بالاتر موجب ایجاد تنش شدید در گیاهچه‌ها شوند (شکل ۱). حداکثر کاهش محتوای آب نسبی در همه ارقام در نهایت ۵۰٪ شاهد بود (شکل ۱ c و f). وزن‌تر در هیچ‌کدام از غلظت‌ها کاهش معنی داری نشان نداد (شکل ۱ a و d) و وزن خشک تنها در محیط‌های حاوی مقادیر بالایPEG (۶۰۰ و ۸۰۰ میلی مولار) کاهش معنی داری نسبت به کنترل نشان داد (شکل ۱ b و e). بررسی اثرات تنش ایجاد شده با مانیتول نیز نتایجی مشابه PEG را نشان داد ولی اثرات تنش تا حدودی شدیدتر بوده و وزن خشک گیاهچه در ژنوتیپ‌های مرودشت و ۱۶۸ کاهش بیشتری را نسبت به PEG نشان داد. کاهش رشد گیاهچه‌های گندم تحت تنش با PEG در تحقیقات زیادی نشان داده شده است (Yang *et al*., 2004). دلیل این کاهش رشد می‌تواند به علت عدم جذب مواد غذایی در اثر کم آبی و کاهش رشد ریشه برای یافتن آب باشد و در نتیجه گیاه از رشد طبیعی باز می‌ماند. به دلیل تأثیر کم PEG و مانیتول در کاهش رشد، آنها نمی‌توانند در ایجاد تنش شدید نقش مؤثری داشته باشند و به همین علت در بقیه آزمایشات از اعمال تنش روی کاغذ صافی با قطع کامل آبیاری استفاده گردید.

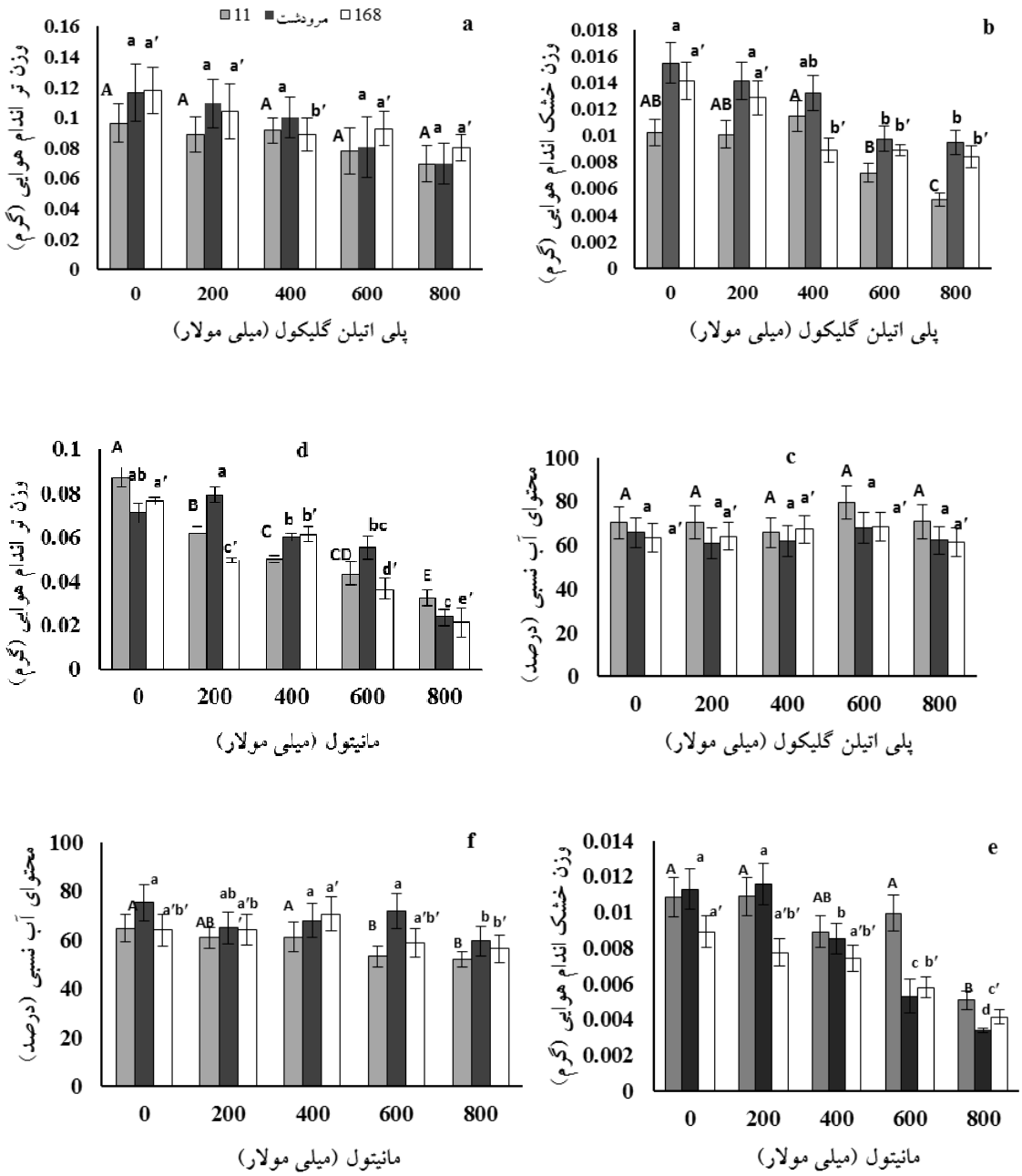
تأثیر سن گیاهچه و نقش ژنوتیپ‌های گندم در پاسخ به خشکی: گیاهچه‌های گندم سه و چهار روزه تنش خشکی را به خوبی تا ۷ روز تحمل کردند در صورتی که گیاهچه‌های ۷ روزه تنش را فقط به مدت ۲ روز به طور کامل تحمل کردند (جدول ۱). در این گیاهچه‌ها زمان‌های طولانی‌تر تنش سبب کاهش شدید درصد زنده مانی گردید. در صد زنده مانی این گیاهچه‌ها پس از ۴ و ۷ روز تنش خشکی به ترتیب به ۵۵٪ و ۲۰٪ کنترل کاهش یافت (جدول ۱). نتایج مشابهی بر روی برخی ارقام خارجی گندم گزارش شده است (Bogdan and Zaganska, 2004). به نظر می‌رسد که این تحمل ربطی به هتروتروف بودن گیاه نداشته باشد زیرا گیاهچه‌ها ۷ روزه نیز علیرغم ظهور برگ‌ها و انجام فتوسنتز هنوز هتروتروف بوده و به ذخایر بذر نیاز دارند.

تأثیر ژنوتیپ در تحمل گیاهچه‌ها ۴ روزه به دوره‌های مختلف تنش خشکی از ۱ تا ۵ هفته در جدول ۲ آورده شده است. همه ژنوتیپ‌ها تنش را تا ۳ هفته به خوبی تحمل نمودند و تنها در هفته‌های چهارم و پنجم کاهش معنی دار درصد زنده‌مانی آن‌ها مشاهده شد. افزایش نفوذ قارچ‌ها و وجود آلودگی بر روی گیاهچه پس از هفته‌های چهارم و پنجم می‌تواند یکی از عوامل کاهش زنده مانی گیاهچه‌ها باشد زیرا مشاهدات نشان داد تا زمانی که غلاف برگی سبز بماند گیاه می‌تواند تنش خشکی را تحمل نموده و احیا گردد، گرچه این برگشت به دلیل صدمات غشایی ایجاد شده کامل نبود (داده‌ها نشان داده نشده است). موارد مشابه توسط سایر محققین نیز گزارش شده است (Simova-Stoilova *et al*., 2006).

وابستگی میزان تحمل به خشکی در گیاهچه‌ها گندم به سن گیاهچه و نه ژنوتیپ آن، در گزارش‌های سایر محققین نیز اشاره شده است (Bogdan Zagdanska, 2009). نقش عوامل مهم دیگر در ایجاد این تحمل، از جمله نحوه اعمال تنش نیز مطرح شده است. به نظر برخی محققین چنانچه تنش به آرامی اعمال شود و کولئوپتیل سالم باقی بماند گیاهچه‌ها ۴ روزه در بیشتر ژنوتیپ‌ها تحمل زیادی به تنش نشان می‌دهند (Farrant *et al*., 2004). اما در مطالعه حاضر که برای اولین بار بر روی ژنوتیپ‌های ایرانی صورت گرفته است نشان داد که علیرغم تنش طولانی مدت و شدید، پاره شدن کولئوپتیل و خروج برگ اول از آن مانعی برای کاهش تحمل نبود.

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2024-04-25]

[DOR: 20.1001.1.23222727.1393.3.7.8.1]



شکل۱- تأثیر غلظت‌های مختلف پلی اتیلن گلیکول و مانیتول بر روی وزن خشک، وزن‌تر و محتوای آب نسبی گیاهچه های چهار روزه ژنوتیپ‌های مختلف گندم (مقادیر میانگین ۳ تکرار می‌باشد. در هر ژنوتیپ مقایسه بین دوره‌های مختلف تنش انجام شده و حروف یکسان بیانگر عدم اختلاف معنی‌دار در سطح ۵٪ با استفاده از آزمون حداقل میانگین مربعات است. همچنین حروف بزرگ ، کوچک و علامت دار به ترتیب مربوط به ژنوتیپ‌های ۱۱، مرودشت و ۱۶۸ می‌باشد).

مکانیسم‌های احتمالی تحمل: کاهش شدید محتوای آب نسبی (RWC) بیانگر تنش شدید خشکی در گیاهچه‌های ۴ روزه است (شکل ۲). شدت تنش میزان RWC را به ۱۰٪ (معادل تنش چند ماهه در گیاهان رستاخیزی) کاهش داد. اغلب گیاهان حتی ژنوتیپ‌های متحمل در این شرایط از بین می‌روند ولی گیاهچه‌های ۴ روزه همانند گیاهان

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2024-04-25]
[DOR: 20.1001.1.23222727.1393.3.7.8.1]

جدول ۱- رابطه بین تحمل گیاهچه های گندم با زمان‌های مختلف خشکی و سنین متفاوت گیاهچه در ژنوتیپ‌های مختلف.

		درصد زنده مانی		
	سن گیاهچه	۲ روز تنش	۴ روز تنش	۷ روز تنش
ژنوتیپ ۱۱	۳ روزه	۱۰۰±۰^{a}	۱۰۰±۰^{a}	۱۰۰±۰^{a}
	۴ روزه	۱۰۰ ±۰ ^{a}	۱۰۰±۰^{a}	۹۸±۱/۳^{a}
	۷ روزه	۹۱±۱/۲^{b}	۶۸±۱/۲^{b}	۵۷±۱/۱^{b}
ژنوتیپ۱۶۸	۳ روزه	۱۰۰±۰^{a}	۱۰۰±۰^{a}	۱۰۰±۰^{a}
	۴ روزه	۱۰۰ ±۰^{a}	۱۰۰±۰^{a}	۹۷±۲/۲^{a}
	۷ روزه	۹۵±۲/۴^{b}	۶۳±۱/۱^{b}	۳۳±۲/۶^{b}
ژنوتیپ مرودشت	۳ روزه	۱۰۰±۲/۹^{a}	۱۰۰±۰^{a}	۱۰۰±۰^{a}
	۴ روزه	۱۰۰ ±۰^{a}	۱۰۰±۰^{a}	۹۹±۳/۱^{a}
	۷ روزه	۹۰±۶/۲^{b}	۵۵/۳±۰/۶^{b}	۱۰±۰/۲^{b}

(مقادیر میانگین ۳ تکرار می‌باشد). در هر ژنوتیپ مقایسه بین دوره‌های مختلف تنش انجام شده و حروف یکسان بیانگر عدم اختلاف معنی‌دار در سطح ۵٪ با استفاده از آزمون حداقل میانگین مربعات است. همچنین حروف بزرگ، کوچک و علامت دار به ترتیب مربوط به ژنوتیپ‌های ۱۱، مرودشت و ۱۶۸ می‌باشد.

جدول ۲- تأثیر ژنوتیپ در تنش‌های مختلف خشکی روی گیاهچه‌های ۴ روزه گندم

	درصد زنده مانی					
	کنترل	۱ هفته تنش	۲ هفته تنش	۳ هفته تنش	۴هفته تنش	۵ هفته تنش
ژنوتیپ ۱۱	۱۰۰ ±۰^{a}	۱۰۰±۰^{a}	۱۰۰±۰^{a}	۹۵±۰^{a}	۵۰±۱/۶^{b}	۲۰±۱^{c}
ژنوتیپ ۱۶۸	۱۰۰ ±۰^{a}	۱۰۰±۰^{a}	۱۰۰±۰^{a}	۹۳±۲/۴^{ab}	۴۰±۱/۳^{b}	۲۲±۱/۲^{c}
ژنوتیپ مرودشت	۱۰۰ ±۰^{a}	۱۰۰±۰^{a}	۱۰۰±۰^{a}	۸۰±۱/۹^{b}	۵۰±۱/۲^{c}	۰ ± ۰/۰۲^{d}

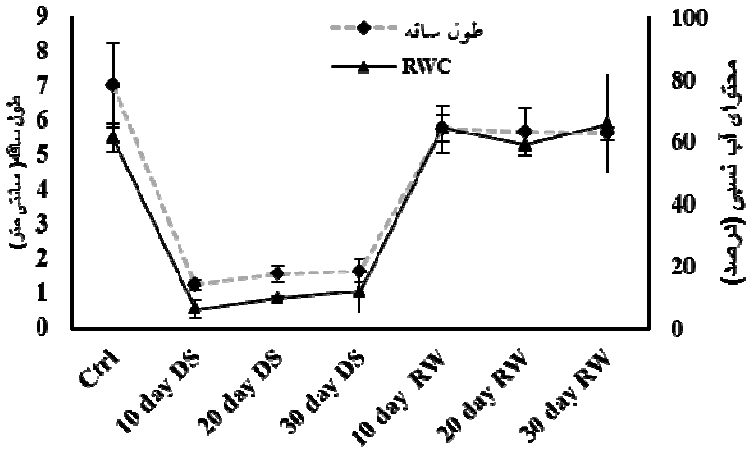
(مقادیر میانگین ۳ تکرار می‌باشد. در هر ژنوتیپ مقایسه بین دوره‌های مختلف تنش انجام شده و حروف یکسان بیانگر عدم اختلاف معنی‌دار در سطح ۵٪ با استفاده از آزمون حداقل میانگین مربعات است. همچنین حروف بزرگ، کوچک و علامت دار به ترتیب مربوط به ژنوتیپ‌های ۱۱، مرودشت و ۱۶۸ می‌باشد).

رستاخیزی پس از آبیاری مجدد احیا شده و می‌توانند به رشد خود ادامه داده و حتی به شرایط عادی قبل از تنش برگردند (شکل ۲ ، جدول ۳). مکانیسم این تحمل در بافت‌های رویشی گیاهان رستاخیزی بسیار پیچیده و جامع بوده و برای حفظ این گیاهان در برابر تنش‌های شدید به کار می‌رود (Farrant, 2000; Gaff, 1997; Oliver *et al*., 1998; Oliver *et al*., 2011).

اساس صدمات سلولی ایجاد شده در اثر تنش خشکی بین گیاهان رستاخیزی، گیاهچه‌های ۴ روزه گندم و حتی بذرهای در حال بلوغ مشابه است. تا کنون تنها نقش برخی عوامل موثر از جمله آنزیم‌های آنتی اکسیدان، LEA پروتئین‌ها، برخی آمینواسیدها و قندها مورد بررسی قرار گرفته است (Farrant *et al*., 2004). متابولیسم متفاوت قندهای محلول در سنین مختلف گیاهچه‌ها یکی از دلایلی است که برای این پاسخ‌های متمایز پیشنهاد شده است (Bogdan and Zagdanska, 2004, 2006). محققین با عرضه قندهای محلول نظیر گلوکز و مانوز به دانه رست های ۴ و ۶ روزه گندم مشاهده کرده‌اند که در محیط

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2024-04-25]

[DOR: 20.1001.1.23222727.1393.3.7.8.1]



شکل ۲- تأثیر زمان تنش و آبیاری مجدد بر محتوای آب نسبی و طول ساقه days DS نمایشگر تعداد روز های تحت تنش و days RW بیانگر نمونه‌های احیا شده پس از تنش است. (مقادیر میانگین ۳ تکرار است).

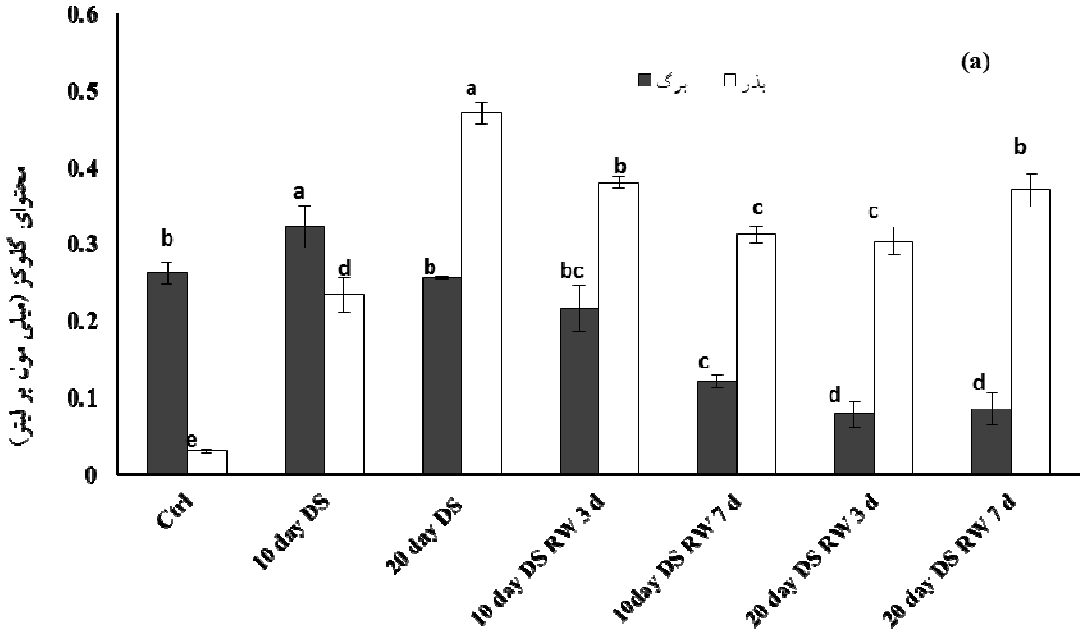
جدول ۳- تأثیر زمان تنش و آبیاری مجدد بر وزن خشک و تر گیاهچه‌های ۴ روزه گندم

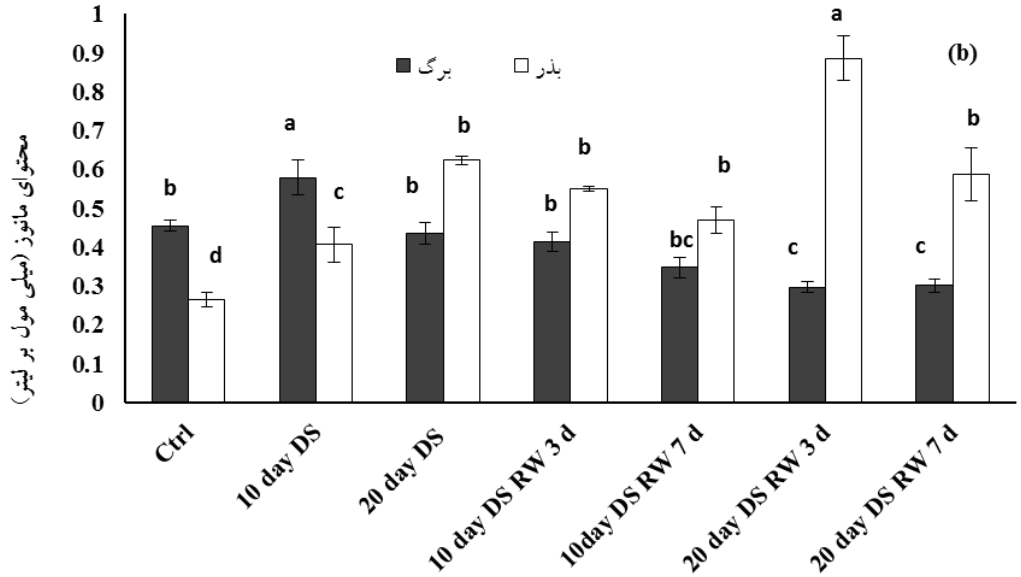
تیمار	وزن خشک	وزن‌تر
کنترل	۰/۰۰۱ ±۰/۰۰۰۲۴[b]	۰/۰۴۸ ±۰/۰۰۸۳[a]
۱۰ روز تنش	۰/۰۰۱ ±۰/۰۰۰۲۰[b]	۰/۰۰۱ ±۰/۰۰۲۳[b]
۲۰ روز تنش	۰/۰۰۱ ±۰/۰۰۰۲۴[b]	۰/۰۰۲ ±۰/۰۰۳۷[b]
۳۰ روز تنش	۰/۰۰۱ ±۰/۰۰۰۷۲[b]	۰/۰۰۳ ±۰/۰۰۲۳[b]
۱۰ روز آبیاری مجدد	۰/۰۰۵ ±۰/۰۰۰۶۹[a]	۰/۰۴۳ ±۰/۰۰۵۴[a]
۲۰ روز آبیاری مجدد	۰/۰۰۴ ±۰/۰۰۰۳۱[a]	۰/۰۳۵ ±۰/۰۰۰۹۱[ab]
۳۰ روز آبیاری مجدد	۰/۰۰۵ ±۰/۰۰۰۵۳[a]	۰/۰۴۱ ±۰/۰۰۳۲[a]

(مقادیر میانگین ۳ تکرار می باشد و حروف یکسان بیانگر عدم اختلاف معنی‌دار در سطح ۵٪ با استفاده از آزمون حداقل میانگین مربعات می‌باشد).

حاوی گلوکز،گیاهچه‌ها بقای بیشتری دارند. آنها نشان داده‌اند که در طی تنش، میزان سوکروز همگام با آنزیم سازنده آن (سوکروز فسفات سنتاز)، ابتدا افزایش یافته و سپس کمی کاهش می‌یابد ولی در زمان احیا مجدداً مقدار آن افزایش می‌یابد (Bogdan and Zagdanska, 2009). محققین دیگری با قرار دادن دانه رست‌های گندم در شرایط تاریکی در طی تنش خشکی افزایش سریع سوکروز طی ۲۴ ساعت اول تنش و سپس عدم تغییر آن را گزارش نمودند. از آنجا که این افزایش سوکروز با کاهش گلوکز و فروکتوز همراه بود که حاکی از مصرف آن‌ها برای سنتز سوکروز می‌باشد (Corbineau *et al*., 2004). بررسی قندهای گلوکز و مانوز در گیاهچه های ۴ روزه رقم مرودشت در مطالعه حاضر، نشان داد که میزان گلوکز گیاهچه طی تنش کوتاه مدت افزایش و سپس به میزان کنترل کاهش یافت. این روند نزولی پس از آبیاری مجدد نیز ادامه داشت (شکل ۳ a). مقدار گلوکز موجود در بذر طی تنش افزایش کاملاً معنی داری داشت ولی پس از آبیاری مجدد این مقدار کاهش یافت. افزایش تجمع

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2024-04-25]
[DOR: 20.1001.1.23222727.1393.3.7.8.1]



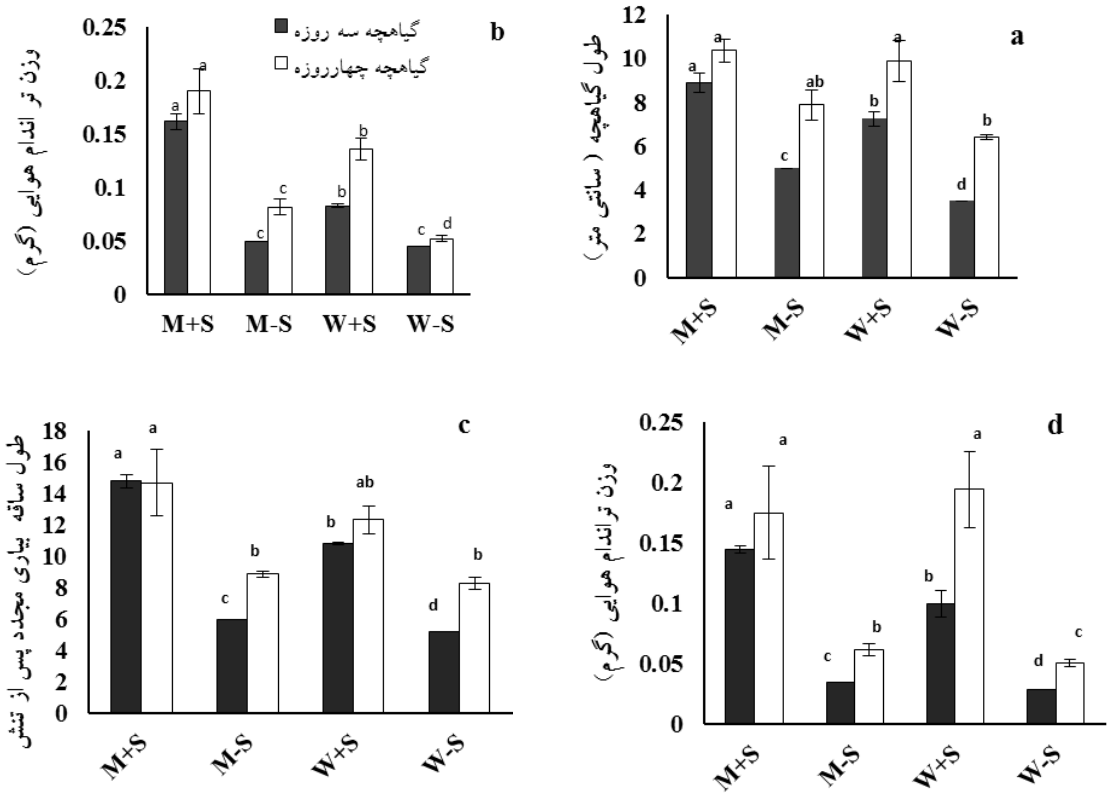


شکل ۳- روند تغییرات محتویات گلوکز (الف) مانوز (ب) در گیاهچه و بذر در زمان‌های مختلف تنش و آبیاری مجدد .days DS نمایشگر تعداد روز های تحت تنش و days RW بیانگر نمونه‌های احیا شده پس از تنش است. (مقادیر میانگین ۳ تکرار می باشد و حروف یکسان بیانگر عدم اختلاف معنی‌دار در سطح ۵٪ با استفاده از آزمون حداقل میانگین مربعات می‌باشد.)

گلوکز در بذر در شرایط تنش می‌تواند به دلیل شکسته شدن سوکروز به منظور تأمین انرژی و قند برای رشد پس از آبیاری مجدد باشد. پس از آبیاری نیز گلوکز به سرعت مورد استفاده گیاه قرار گرفته و کاهش یافت. محتویات مانوز در برگ و بذر تا حدود زیادی از همان روند گلوکز تبعیت کرد به جز در نمونه‌های سه روز پس از آبیاری

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2024-04-25]

[DOR: 20.1001.1.23222727.1393.3.7.8.1]



شکل ۴- نقش بذر در تحمل به خشکی پس از ده روز تنش خشکی و آبیاری مجدد.

وزن‌تر و طول گیاهچه سه روز (a، b) و هفت روز (c، d) پس از آبیاری مجدد. گیاهچه در محیط غذایی همراه بذر (M+S) گیاهچه در محیط غذایی بدون بذر (M-S)گیاهچه در آب مقطر همراه بذر (W+S)گیاهچه در آب مقطر بدون بذر (W-S). مقادیر میانگین ۳ تکرار می‌باشد و حروف یکسان بیانگر عدم اختلاف معنی‌دار در سطح ۵٪ با استفاده از آزمون حداقل میانگین مربعات می‌باشد).

مجدد تنش ۲۰ روزه که میزان مانوز به شکل چشمگیری افزایش معنی دار نشان داد (شکل ۳ b). افزایش مانوز در تنش‌های خشکی طولانی مدت توسط سایر محققین نیز گزارش شده است.(XiaoJian *et al*., 2009) این امر ممکن است به دلیل نقش پیش سازی مانوز برای بیو سنتز ترکیبات محافظی نظیر مانیتول و نیز لکتین‌های حاوی مانوز باشد (Hirano *et al*., 2000; Zhifang and Loescher, 2003).

تعیین نقش بذر در تحمل به تنش خشکی: نتایج نشان داد بذر نقش مهمی در تحمل به خشکی و احیا پس از آبیاری مجدد دارد و این تحمل در گیاهان سه و چهار روزه دقیقاً از یک روند تبعیت می‌کند. در تحقیقات دیگر اضافه کردن گلوکز به محیط گیاهچه‌های ۶ روزه متصل به بذر گندم سبب تحمل بیشتر به خشکی و به تأخیر افتادن مرگ آن‌ها شد (Bogdan and Zagdanska, 2009). اما در تحقیق حاضر رشد گیاهچه های جدا شده از بذر در محیط غذایی MS با وجود داشتن مواد معدنی مختلف و قند کاهش یافت و ریشه جدیدی نیز ایجاد نگردید. این نتایج تاکید می‌کند که محیط غذایی نتوانست جایگزین بذر شود و تأثیر معنی‌داری در ایجاد تحمل به تنش خشکی داشته باشد (شکل ۴). در حالی که گیاهچه‌های حاوی بذر حتی در محیط حاوی آب مقطر توانستند به خوبی علایم رشد مجدد را نشان داده و افزایش معنی داری در طول ساقه و وزن‌تر آن‌ها دیده شد (شکل ۴ c، d)؛ بنابراین به نظر می‌رسد که احتمالاً عوامل دیگری، به

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2024-04-25]

[DOR: 20.1001.1.23222727.1393.3.7.8.1]

غیر از منابع کربنی، در بذر حضور دارند که در ایجاد تحمل گیاهچه متصل به آن نقش دارند.

نتیجه گیری:

گیاهچه‌های گندم پس از رشد تا سن چهار روزگی (ظهور برگ دوم) می‌توانند نسبت به تنش کم آبی تحمل بنیادی داشته و مقادیر بسیار بالای تنش (محتوای نسبی آب کمتر از ده درصد) را همانند گیاهان رستاخیزی تحمل نمایند. از آنجا که این تحمل در گیاه رستاخیزی *S. Stapfianus* از خانواده گندم نیز وجود دارد به نظر می‌رسد مکانیسم تحمل در این گیاهان تا حدودی مشابه باشد. همچنین این مسئله حائز اهمیت است که گیاهچه تنها در صورت اتصال به بذر می‌تواند این تحمل را حفظ نماید. درک بهتری از مکانیسم این تحمل مستلزم مطالعه روابط بین بذر و گیاهچه در ابعاد مختلف سلولی و مولکولی در سطوح مختلف (ژن، ترانسکریپتوم و پروتئین) می‌باشد.

منابع:

AOAC (1995) Official method of analysis (16th ed.). Arlington, VA., USA: AOAC

Blum, A., Sinmena, B. and Ziv, O. (1980) An evaluation of seed and seedling drought tolerance screening tests in wheat Euphytica 29: 727-736.

Bogdan, J. and Zagdanska, B. (2004) Drought resistance of spring wheat during germination and seedling growth, (In Polish with English summary), Bull. IHAR 233: 73–80.

Bogdan, J. and Zagdanska, B. (2006) Changes in the pool of soluble sugars induced by dehydration at the heterotrophic phase of growth of wheat seedlings. Plant Physiology and Biochemistry 44: 787-794.

Bogdan, J. and Zagdanska, B. (2009) Alterations in sugar metabolism coincide with a transition of wheat seedlings to dehydration intolerance. Environmental and Experimental Botany 66: 186-194.

Corbineau, F.O., Berjak, P., Pammenter, N., Vinel, D., Picard, M. A. and Come, D. (2004) Reversible cellular and metabolic changes induced by dehydration in desiccation-tolerant wheat seedling shoots. Physiologia Plantarum 122: 28–38.

Farrant, J. M. (2000) Comparison of mechanisms of desiccation tolerance among three angiosperm resurrection plants. Plant Ecology 151: 29–39.

Farrant, J. M.; Bailly, C.; Leymarie, J.; Hamman, B.; Come, D.; Corbineau, F. (2004) Wheat seedlings as a model to understand desiccation tolerance and sensitivity. Physiologia Plantarum 120: 563-574.

Gaff, D. F. (1997) Mechanisms of desiccation tolerant 'resurrection'plants to water stress. In: Mechanisms of environmental stress resistance in plants (eds. Basra A. S, Basra R. K). Pp. 43–58. Harwood Academic Publishers, Amsterdam, The Netherlands.

Harwood Academic Publishers, Amsterdam, The Netherlands.

Gaff, D. F., Blomstedt, C. K., Neale, A. D., Le, T. N., Hamill, J. D., Ghasempour, H. R. and Hrabina, A. (2009) *Sporobolus stapfianus* Gandoger, a model desiccation-tolerant grass. Functional Plant Biology 36: 1-11.

Gibson, S. I. (2005) Control of plant development and gene expression by sugar signaling. Current Opinion Plant Biology 8: 93–102.

Hirano, K., Teraoka, T., Yamanaka, H., Harashima, A., Kunisaki, A., Takahashi, H. and Hosokawa, D. (2000) Novel mannose-binding rice lectin composed of some isolectins and its relation to a stress-inducible salT gene. Plant Cell Physiology 41: 258-67.

Kong, F. J., Oyanagi, A. and Komatsu S. (2010) Cell wall proteomics of wheat roots under flooding stress using gel-based and LC MS/MS-based proteomics approaches, Biochimica et Biophysica Acta 1804: 124-136.

Leprince, O., Satour, P., Ly-Vu, B. and Buitink, J. (2004) The role of sugars and hexose phosphorylation in regulating re-establishment of desiccation tolerance in germinated radicles of Cucumis sativa and *Medicago truncatula*. Physiologia Plantarum 64: 200–209.

Luna, C. and Pastori, G.(2005) Drought controls on H2O2 accumulation, catalase (CAT) activity and CAT gene expression in wheat. Journal of Experimental Botany 56: 417-423.

Mishra, A. and Choudhuri, M. A. (1999) Effects of salicylic acid on heavy metal-induced membrane deterioration mediated by lipoxygenase in rice. Biology Plant 42: 409-415.

Oliver, M. J., Woods A.J. andO'Mahony, P. (1998) 'To dryness and beyond' – preparation for the dried state and rehydration invegetative desiccation-tolerant plants. Plant Growth Regulation 24:193–210.

Oliver, M. J., Jain, R., Balbuena, T. S., Agrawal G., Gasulla, F. and Thelen, J. J.(2011) Proteome

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2024-04-25]

[DOR: 20.1001.1.23222727.1393.3.7.8.1]

Tweddle, J. C., Dickie, J. B., Baskin, C. C., and Baskin, J. M. (2003) Ecological aspects of seed desiccation sensitivity. Journal of Ecology 91: 294-304.

XiaoJian, H., FangYuan, Y., JianBing, L. and Jin, W. (2009) Effect of drought stress on soluble sugar content in needles of Pinus massoniana seedlings from different provenances. Journal of Nanjing Forestry University (Natural Sciences Edition) 33: 55-59

Yang, X. Q., Zhang, S. Q., Liang, Z. S. and Shan, Y. (2004) Effects of water stress onchlorophyll fluorescence parameters of different drought resistance waiter wheat cultivarsseedlings. Acta Botany Boreal. Occident. Sin., 24: 812-816.

Zhifang ,G. and Loescher, W. H. (2003) Expression of a celery mannose 6-phosphate reductase in *Arabidopsis thaliana* enhances salt tolerance and induces biosynthesis of both mannitol and a glucosyl-mannitol dimer. Plant, Cell and Environment, 26: 275–283.

analysis of leaves of the desiccation-tolerant grass, *Sporobolusstapfianus*, in response to dehydration. Phytochemistry 72: 1273-84.

Salekdeh, G., Siopongco, J., Wade, L. J., Ghareyazie, B. and Bennett, J. (2002) Proteomic analysis of rice leaves during drought stress and recovery. Proteomics 2: 1131-1145.

Salekdeh, G., Reynolds, M., Bennett, J. and Boyer, J. (2009) Conceptual framework for drought phenotyping during molecular breeding. Trends in Plant Science 14: 488-496.

Simmons, S. R., Oelke, E. A. and Anderson, P. M. (1995). Growth and Development Guide for Spring WheatUniversity of Minnesota Extention. U.S. States 800: 876-8636

Simova-Stoilova, L.,Vassileva, V., Petrova, T.,Tsenov, N.,Demirevska, K. and Feller, U.(2006) Proteolytic activity in wheat leaves during drought stress and recovery. General and Applied Plant Physiology 32: 92-100.

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2024-04-25]

[DOR: 20.1001.1.23222727.1393.3.7.8.1]