**مجله علوم گیاهان زراعی ایران**
دوره ۴۱، شماره ۲، ۱۳۸۹ (۳۹۳-۳۸۵)

# بررسی اثر تنش خشکی بر فعالیت آنزیم‌های فسفاتاز اسیدی و قلیایی در محور جنینی بذر دو رقم گندم نان در مراحل اولیه جوانه‌زنی

**فرخ‌لقا رازقی یدک[1] و رضا توکل افشاری[2]***
**۱، ۲، دانشجوی سابق کارشناسی ارشد و دانشیار پردیس کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه تهران**
**(تاریخ دریافت: ۸۸/۵/۱۵- تاریخ تصویب: ۸۸/۱۱/۱۱)**

## چکیده

**مقاومت به خشکی در مرحله جوانه‌زنی بذر و مراحل اولیه رشد گیاهچه برای بقاء و رشد آن در زمین‌هایی که با کمبود آب مواجهند مهم است. آنزیم‌های فسفاتاز به طور وسیعی در گیاهان یافت می‌شوند. فسفاتازها دفسفریلاسیون فسفات آلی و تبدیل آن به فسفات معدنی را بر عهده دارند. آزمایش جوانه‌زنی در دو رقم گندم نان (سرداری و الوند) در پتانسیل‌های مختلف پلی اتیلن گلایکول (۰، ۴-، ۸-، ۱۲-، ۱۶- بار) انجام گرفت. تنش خشکی باعث کاهش صفات جوانه‌زنی در هر دو رقم سرداری و الوند گردید. به منظور بررسی فعالیت آنزیم‌های فسفاتاز (اسیدی و قلیایی) در بذرهای مقاوم و حساس به خشکی در شرایط تنش خشکی آزمایشی به صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار انجام شد. فاکتورهای آزمایش شامل رقم (سرداری و الوند)، تنش خشکی (۰، ۴-، ۸-، ۱۲- و ۱۶- بار) و زمان آبگیری (۶، ۱۲ و ۱۸ ساعت) بود. نتایج نشان داد که تنش خشکی سبب افزایش آنزیم‌های فسفاتاز (اسیدی و قلیایی) گردید و با افزایش سطح تنش تا ۱۲- بار فعالیت این آنزیم‌ها افزایش یافت. این افزایش فعالیت آنزیم در رقم مقاوم به تنش خشکی (سرداری) بیشتر از رقم حساس (الوند) بود. فعالیت فسفاتاز اسیدی و قلیایی در هر دو رقم مقاوم و حساس به خشکی با افزایش زمان آبگیری افزایش یافت. در این آزمایش بیشترین میزان فعالیت آنزیم فسفاتاز اسیدی و قلیایی مربوط به ۱۸ ساعت آبگیری بود و فعالیت فسفاتاز اسیدی در محور جنینی از فسفاتاز قلیایی بیشتر بود.**

**واژه‌های کلیدی:** **تنش خشکی، آنزیم فسفاتاز، بذر، گندم نان، جوانه‌زنی.**

### مقدمه

از بین همه تنش‌های محیطی، تنش خشکی بیش از هر عامل دیگری رشد گیاه و تولید محصولات زراعی را محدود می‌کند (Hsiao, 1973; Huang, 2000; Huang et al., 2000). جوانه‌زنی حساس‌ترین مرحله به تنش‌های محیطی در استقرار گیاه می‌باشد. جوانه‌زنی شامل یکسری وقایع است که با جذب آب بوسیله بذر خشک شروع می‌شود و با طویل شدن محور جنین خاتمه می‌یابد (Bewley, 1997).

یکی از اساسی‌ترین نیازهای بذر برای جوانه‌زنی و استقرار گیاهچه فراهم بودن آب مورد نیاز در خاک می‌باشد. چون شرایط تنش‌زا سبب اختلال و تغییر فعالیت‌های گیاهی می‌شوند، بنابراین ممکن است این تنش‌ها به عنوان ابزاری برای مطالعه بیوشیمیایی و فیزیولوژیکی در گیاه مورد استفاده محققان قرار گیرند (Grattan & Grieve, 1999). تعدادی از راهکارها که

* نویسنده مسئول: رضا توکل افشاری تلفن: ۰۲۶۱-۲۲۴۶۰۷۴ E-mail: tavakkol@ut.ac.ir

Archive of SID
www.SID.ir

سبب سازگاری گیاه به تنش‌هایی مثل خشکی، شوری، سرما و گرما می‌شوند بر رشد و تولید گیاه اثر می‌گذارند (Sarapatka et al., 2004). در طی بروز این تنش‌ها گیاه خود را به وسیله ساز و کارهای فیزیولوژیک و بیوشیمیایی سازگار می‌کند (Sarapatka et al., 2004). سازگاری در این تنش‌ها با تنظیم متابولیت ها که منجر به تغییر آنزیم‌های مختلف می‌شود در ارتباط است (Ehsanpour & Amini, 2003). در میان این آنزیم‌ها فسفاتازها مهمترین آنزیم‌هایی هستند که فرایندهای فیزیولوژیک مثل تنظیم فسفات محلول را بر عهده دارند (Sharma et al., 2004).

آنزیم‌های فسفاتاز در فضای درون و برون سلول فعالیت دارد و نقش آن دفسفریلاسیون فسفات آلی و تبدیل آن به فسفات معدنی است. همچنین فسفات یک ترکیب ضروری در ساختار مولکول‌های DNA،RNA، فسفولیپیدهای دیواره سلولی،ATP و اجسام فیتین در بذر جوانه نزده است (Sharma et al., 2005). فسفاتازها با توجه به pH بهینه برای فعالیت خود به فسفاتاز اسیدی و قلیایی تقسیم می‌شوند. آنزیم‌های فسفاتاز نقش فیزیولوژیک مهمی را در سازگاری بذرهای در حال جوانه‌زنی در شرایط متغیر محیطی دارند (Lee, 2000; Ehsanpour & Amini, 2003). تحت شرایط تنش و اثر هورمون‌های گیاهی معمولا این آنزیم‌ها افزایش می‌یابند (Sharma et al., 2005). فعالیت الکالین فسفاتاز با کاهش کلسیم، فسفر، عناصر کم‌مصرف و آهن افزایش می‌یابد علت این افزایش، نگهداری فسفر معدنی در سطح بهینه می‌باشد تا فرایندهای حیاتی گیاه انجام گیرد. بنابراین مطالعه این آنزیم‌ها و عوامل موثر بر فعالیت آنزیم امری ضروری به نظر می‌رسد (Sharma et al., 2005). این تحقیق به منظور بررسی اثر تنش خشکی بر آنزیم‌های فسفاتاز در مراحل اولیه جوانه‌زنی بذر گندم انجام گرفته است.

## مواد و روش‌ها

این پژوهش در آزمایشگاه بذر گروه زراعت و اصلاح نباتات دانشکده علوم و مهندسی دانشگاه تهران در سال ۱۳۸۶ اجرا گردید. ارقام مورد بررسی شامل سرداری (پاییزه و تیپ رشد زمستانه) و الوند (پاییزه و تیپ رشد بینابین) بودند که در سال ۱۳۸۴ تولید شده بود.

به منظور ارزیابی مقاومت به خشکی ارقام گندم نان در مرحله جوانه‌زنی، آزمایشی به صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی در سه تکرار انجام شد. تیمارهای آزمایش شامل دو رقم بذر گندم (سرداری و الوند) و تیمار تنش خشکی از طریق ایجاد پتانسیل خشکی با استفاده از پلی اتیلن گلایکول[1] ۶۰۰۰ (تهیه شده از شرکت مرک[2] آلمان) و از روش زیر در ۵ سطح (۰، ۴-، ۸-، ۱۲- و ۱۶- بار) تهیه شد (Burlyn & Kaufman, 1973).

$$\Psi s = -c\ (1/18\times10^{-2}) - c^2\ (1/18\times10^{-4}) + ct\ (2/67\times10^{-4}) + c^2t\ (8/39\times10^{-7})$$

که در آن:

Ψs: پتانسیل اسمزی (بار)

c: غلظت (گرم بر لیتر)

t: دما (درجه سانتی‌گراد)

آزمایش بصورت کشت در ظروف پتری‌دیش استریل یکبار مصرف به قطر ۹/۵ سانتی‌متری انجام شد. کاغذهای صافی درون پتری‌ها به مدت ۲ ساعت در آون در دمای ۱۸۰ درجه سانتی‌گراد استریل شدند. محلول‌های تهیه شده به مدت یک ساعت در دمای ۱۲۰ درجه سانتی‌گراد و فشار یک اتمسفر اتوکلاو شدند.

بذرها به مدت سه دقیقه در هیپو کلرید سدیم ۲/۵ درصد استریل شدند. سپس سه بار با آب مقطر استریل شسته شدند. درون هر پتری حدود ۵ میلی‌لیتر از محلولهای مورد نظر ریخته شده و پتری‌ها درون ژرمیناتور (ساخت شرکت گروک ایران) در شرایط تاریکی در درجه حرارت ۲۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۸ روز قرار داده شدند. برای هر پتری‌دیش ۲۵ بذر به عنوان یک تکرار از یک تیمار در نظر گرفته شد.

جهت تعیین سرعت جوانه‌زنی ارقام گندم در پتانسیل‌های خشکی ایجاد شده تا پایان روز هشتم آزمایش، تعداد بذور جوانه زده برای هر تکرار روزانه ثبت

1. Carbox-Polyethylen-glycol-(CH2oH) nCH2oH
2. Merck

Archive of SID

www.SID.ir

شد. داده‌های حاصل از شمارش بذور جوانه زده در آخرین روز شمارش برای محاسبه درصد جوانه‌زنی استفاده گردید. برای محاسبه شاخص جوانه‌زنی، سرعت جوانه‌زنی و بنیه بذر به ترتیب از رابطه (۱)، (۲) و (۳) استفاده گردید (Walker-Simmons & Sesing, 1990; Belcher & Miller, 1974; Abdul Baki & Anderson, 1973). طول ریشه‌چه، ساقه‌چه و گیاهچه، وزن تر و وزن خشک ریشه‌چه نیز اندازه‌گیری شد.

۱) $GI=[7n_1+6n_2+5n_3+4n_4+3n_5+2n_6+1n_7]/\ 7\times N$

GI: شاخص جوانه‌زنی
n: بذر جوانه زده در هر روز
N: تعداد کل بذر

۲) $$Le=\frac{100[\sum ni]}{[\sum ni*ti]}$$

Le: سرعت جوانه‌زنی
ni: بذر جوانه زده در هر روز
ti: روز جوانه‌زنی

۳) شاخص بنیه = درصد جوانه‌زنی × طول گیاهچه (cm)

پس از اندازه‌گیری وزن تر ریشه‌چه اندازه‌گیری وزن خشک آنها در آون در دمای ۱۳۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱۸ ساعت انجام شد.

به منظور بررسی فعالیت آنزیم‌های فسفاتاز در بذرهای مقاوم و حساس تحت تنش خشکی آزمایش دیگری انجام گرفت. آزمایش به صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملا تصادفی با سه تکرار انجام شد. فاکتور اول رقم با دو سطح، فاکتور دوم خشکی با پنج سطح (پتانسیل ۰، ۴-، ۸-، ۱۲- و ۱۶- بار) و فاکتور سوم زمان آبگیری با سه سطح ۶ ، ۱۲ و ۱۸ ساعت بود.

ابتدا بذرها به مدت سه دقیقه در هیپو کلرید سدیم ۲/۵ درصد استریل شدند، سپس سه بار با آب مقطر استریل شسته شدند. هر تیمار در سه تکرار ۶۰ بذری انجام گرفت. بذرها روی کاغذ صافی استریل در درون پتری‌دیش استریل قرار داده شده و ۵ میلی‌لیتر از محلول با پتانسیل خشکی مورد نظر اضافه گردید. بذرها در سه سطح زمان آبگیری در درجه حرارت ۲۰ درجه سانتی‌گراد و در شرایط تاریکی قرار گرفتند. پس از زمان‌های تعیین شده آبگیری، جنین‌ها از بذرها جدا و تا زمان انجام آزمایش در ۲۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند.

محلول بافر استخراج پروتئین از جنین شامل آب مقطر استریل و۱۰۰ میلی‌مولار تریس[1] (تهیه شده از شرکت بیورد[2] آلمان) با اسیدیته برابر با ۷ بود. استخراج پروتئین جنین به منظور اندازه‌گیری آنزیم‌های فسفاتاز به روش (Lee, 2000) انجام گرفت. برای اندازه‌گیری فعالیت آنزیم اسید فسفاتاز از روش (Pan & Chen, 1988) استفاده شد. واکنش با افزودن ۵ میلی مولار پارا نیتروفنل فسفات[3] (تهیه شده از شرکت مرک[4] آلمان) و ۱۰۰ میلی‌مولار سدیم استات بافر (تهیه شده از شرکت مرک آلمان) با اسیدیته برابر با ۵/۴ به ۵ میکرولیتر نمونه استخراجی در اندازه کل ۲۰۰ میکرو لیتر شروع شد و این محلول برای هر تکرار آزمایشی به مدت ۳۰ دقیقه در دمای ۴۰ درجه سانتی‌گراد نگهداری شد. سپس به آن ۵۰ میکرولیتر KOH (تهیه شده از شرکت مرک آلمان) یک مولار اضافه شد. میزان جذب pNP آزاد شده در طول موج ۴۰۵ نانومتر اندازه‌گیری شد. برای فعالیت الکالین فسفاتاز، با افزودن ۱۰ میلی‌مولار پارانیترو فنل فسفات و ۱۰۰ میلی‌مولار Tris - HCl (تهیه شده از شرکت بیورد[2] آلمان) بافر با اسیدیته برابر با ۸/۳ به ۵ میکرو لیتر نمونه استخراجی در اندازه کل ۲۰۰ میکرو لیتر انجام شد. میزان جذب pNP آزاد شده در طول موج ۴۰۵ نانومتر اندازه‌گیری شد.

مقایسه میانگین‌ها با استفاده از روش حداقل تفاوت معنی‌دار (LSD) در سطح احتمال ۰/۰۱ انجام گرفت. برای کنترل فرضیات مورد نیاز برای تجزیه واریانس، مقایسه میانگین از نرم‌افزار آماری SAS و MSTAT–C و برای تجزیه همبستگی صفات از نرم‌افزار SPSS استفاده شد. به منظور نرمال کردن داده‌ها از نرم‌افزار MINITAB استفاده شد. برای محاسبات دیگر آماری از

1. Hydroxy methyl Aminomethan (Tris)
2. Biorad
3. P-nitrophenol phosphate (p-NPP)
4. Merck

Archive of SID

www.SID.ir

قبیل میانگین‌ها و رسم شکل‌ها از نرم‌افزار Excel استفاده شد.

## نتایج

نتایج تجزیه واریانس نشان داد که ارقام گندم در سطوح متفاوت پتانسیل خشکی از نظر درصد، شاخص و سرعت جوانه‌زنی، طول ریشه‌چه، ساقه‌چه و گیاهچه، وزن تر و وزن خشک ریشه‌چه و شاخص بنیه دارای اختلاف معنی‌دار بودند (جدول۱). نتایج حاصل از مقایسه میانگین اثر متقابل رقم و پتانسیل خشکی بر روی صفت درصد جوانه‌زنی نشان داد، که با افزایش سطح تنش خشکی میانگین درصد جوانه‌زنی در هر دو رقم کاهش یافته است (جدول ۲). تفاوت بین حداقل و حداکثر درصد جوانه‌زنی در شرایط تنش خشکی در رقم سرداری و الوند به ترتیب ۹۴ و۹۹ درصد بود. کاهش درصد جوانه‌زنی در رقم الوند نسبت به رقم سرداری محسوس‌تر بود. اثر متقابل رقم و پتانسیل خشکی بر روی صفات شاخص و سرعت جوانه‌زنی معنی‌دار شد، بطوریکه با اعمال تنش خشکی میانگین شاخص و سرعت جوانه‌زنی کاهش یافت.

اثر متقابل رقم و سطوح خشکی بر صفات بنیه بذر و طول ریشه‌چه معنی‌دار شده است (جدول۱). تفاوت بین حداقل و حداکثر بنیه بذر تحت تنش خشکی در رقم سرداری ۱۹۹/۶ و در رقم الوند ۲۰۱ بود. کاهش بنیه بذر در رقم الوند بیشتر از رقم سرداری بود.

اثر متقابل رقم و پتانسیل خشکی بر روی صفات وزن تر و وزن خشک ریشه‌چه معنی‌دار شد. تفاوت بین حداقل و حداکثر وزن تر و وزن خشک ریشه‌چه در شرایط تنش خشکی به ترتیب در رقم سرداری ۱۸/۳ و ۴/۲ میلی‌گرم و در رقم الوند به ترتیب ۲۱/۳ و ۴/۷ میلی گرم بود (نتایج نشان داده نشده است).

نتایج حاصل از تجزیه واریانس نشان می‌دهد که از نظر فعالیت آنزیم فسفاتاز اسیدی بین دو رقم، سطوح مختلف تنش خشکی و زمان مختلف آبگیری تفاوت معنی‌دار وجود دارد (جدول۳). رقم سرداری دارای فعالیت آنزیم فسفاتاز اسیدی بیشتری نسبت به رقم الوند بود. فعالیت آنزیم فسفاتاز اسیدی رقم سرداری ۸/۷۲ واحد بر میلی‌گرم پروتئین و میانگین فعالیت آنزیم فسفاتاز اسیدی رقم الوند ۶/۵۰ واحد بر میلی‌گرم پروتئین است. بذرها در سطح پتانسیل صفر (شاهد) فعالیت آنزیم فسفاتاز اسیدی کمتری نسبت به سایر سطوح پتانسیل خشکی نشان می‌دهد. سطح پتانسیل ۱۲- بار بیشترین فعالیت آنزیم فسفاتاز اسیدی را نسبت به سایر سطوح پتانسیل خشکی دارد یعنی تا پتانسیل خشکی ۱۲- بار فعالیت آنزیم اسید فسفاتاز افزایش و پس از آن کاهش یافت (شکل ۱- الف). بذرهای هر دو رقم در زمان ۶ ساعت آبگیری فعالیت آنزیم فسفاتاز اسیدی کمتری نسبت به سایر ساعات آبگیری نشان می‌دهند و ۱۸ ساعت آبگیری این آنزیم بیشترین فعالیت داشت (شکل۱- ب). به عبارت دیگر با افزایش زمان آبگیری میزان فعالیت آنزیم فسفاتاز اسیدی افزایش می‌یابد (شکل ۱- ج).

جدول۱ - جدول تجزیه واریانس برای صفات اندازه‌گیری شده در آزمایش جوانه‌زنی ارقام مختلف گندم نان در شرایط تنش خشکی

| منابع تغییرات | درجه آزادی | میانگین مربعات | | | |
|---|---|---|---|---|---|
| | | شاخص جوانه‌زنی | سرعت جوانه‌زنی | درصد جوانه‌زنی | بنیه بذر |
| رقم | ۱ | ۰/۰۷$^{**}$ | ۳۷۶/۶۵$^{**}$ | ۱۱۵۳/۲۰$^{**}$ | ۱۲۱۲/۲۰$^{**}$ |
| خشکی | ۴ | ۰/۹۳$^{**}$ | ۶۰۹۰/۰۳$^{**}$ | ۱۰۳۹۴/۰۱$^{*}$ | ۴۶۸۹۹/۹۱$^{**}$ |
| رقم × خشکی | ۴ | ۰/۰۰۳$^{**}$ | ۳۴/۶۲$^{**}$ | ۱۴۷/۴۵$^{**}$ | ۲۶۲/۶۸$^{**}$ |
| خطا | ۲۰ | ۰/۰۰۱ | ۰/۳۴ | ۱/۲۰ | ۲۶/۸۷ |
| ضریب تغییرات (٪) | | ۳/۵۸ | ۱/۶۶ | ۲/۰۷ | ۷/۱۳ |

*، ** به ترتیب معنی‌دار در سطح احتمال ۵ و ۱ درصد و ns غیر معنی‌دار

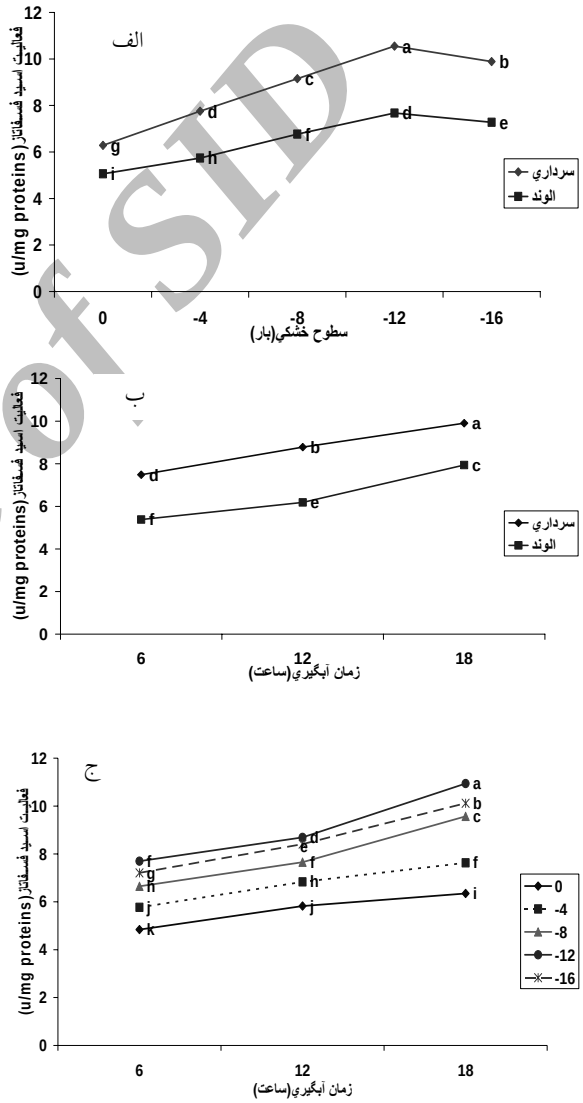
Archive of SID

www.SID.ir

جدول۲- مقایسه میانگین برخی صفات اندازه‌گیری شده ارقام گندم نان در آزمایش جوانه‌زنی تحت تنش خشکی

| پتانسیل خشکی | شاخص جوانه‌زنی | | سرعت جوانه رنی | | درصد جوانه‌زنی | | بنیه بذر | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| (بار) | سرداری | الوند | سرداری | الوند | سرداری | الوند | سرداری | الوند |
| ۰ | ۰/۹۵a | ۰/۹۱a | ۷۴/۳۳a | ۷۳/۳۳a | ۹۹/۰۰a | ۹۹/۰۰a | ۲۰۲/۷۳a | ۲۰۱/۰۲a |
| -۴ | ۰/۸۸a | ۰/۷۷b | ۶۸/۳۳b | ۵۷/۳۳c | ۹۷/۰۰a | ۸۴/۰۱b | ۱۴۳/۷۱b | ۱۱۰/۷۷c |
| -۸ | ۰/۳۷c | ۰/۳۰d | ۳۱/۱۰d | ۲۰/۳۳e | ۶۰/۰۰c | ۳۸/۳۱d | ۳۶/۶۷d | ۱۷/۶۷e |
| -۱۲ | ۰/۲۵d | ۰/۰۹e | ۱۶/۳۳f | ۶/۳۳g | ۳۵/۰۱e | ۱۳/۲۲f | ۹/۰۹ef | ۲/۳۵f |
| -۱۶ | ۰/۰۹e | ۰/۰۱f | ۲/۷۶h | ۰/۰۲i | ۵/۱۴g | ۰/۰۲h | ۳/۱۰f | ۰/۰۳f |
| LSD (۰/۰۱) | ۰/۰۷ | | ۱/۳۵ | | ۲/۵۴ | | ۱۲/۰۴ | |

میانگین های دارای حروف مشابه در هر ستون تفاوت معنی‌داری با هم ندارند.



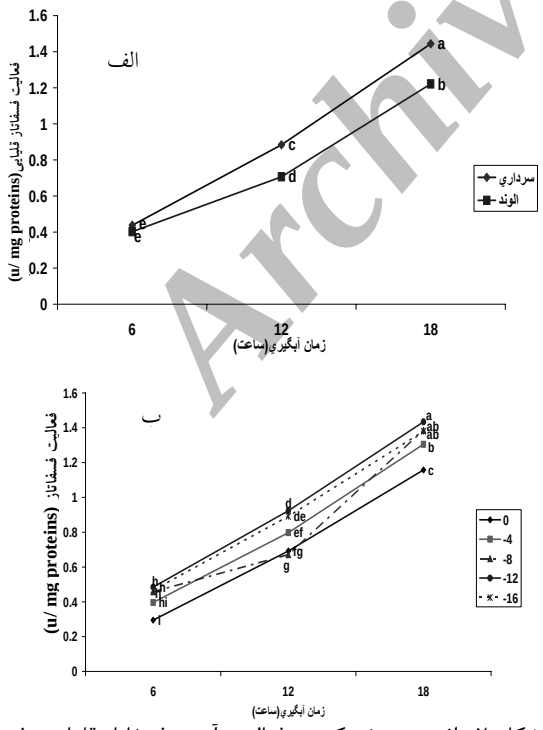

شکل ۱- اثر تنش خشکی بر فعالیت آنزیم اسید فسفاتاز بذر گندم نان در مرحله جوانه‌زنی

الف) اثر متقابل سطوح خشکی و رقم بر فعالیت آنزیم فسفاتاز اسیدی

ب) اثر متقابل زمان آبگیری و رقم بر فعالیت آنزیم فسفاتاز اسیدی

ج) اثر متقابل سطوح خشکی و زمان آبگیری بر فعالیت آنزیم فسفاتاز اسیدی

نتایج حاصل از تجزیه واریانس نشان می‌دهد که از نظر فعالیت آنزیم فسفاتاز قلیایی بین دو رقم، سطوح مختلف تنش خشکی و زمان مختلف آبگیری اختلاف معنی‌دار وجود دارد (جدول۳). رقم سرداری فعالیت فسفاتاز قلیایی بیشتری نسبت به رقم الوند داشت. فعالیت این آنزیم در رقم سرداری ۰/۹۲ واحد بر میلی‌گرم پروتئین و میانگین فعالیت آنزیم الکالین فسفاتاز رقم الوند ۰/۷۷ واحد بر میلی‌گرم پروتئین بود. در بذرهای هر دو رقم با افزایش زمان آبگیری میزان فعالیت فسفاتاز قلیایی افزایش یافت (شکل ۲- الف و شکل۲- ب). میانگین فعالیت فسفاتاز اسیدی و فسفاتاز قلیایی به ترتیب ۷/۶۱ و ۰/۸۴ واحد بر میلی‌گرم پروتئین بود. بنابراین میزان فعالیت فسفاتاز اسیدی در مقایسه با فعالیت فسفاتاز قلیایی بسیار بالا است.




شکل ۲- اثر تنش خشکی بر فعالیت آنزیم فسفاتاز قلیایی بذر گندم نان در مرحله جوانه‌زنی

الف) اثر متقابل زمان آبگیری و رقم بر فعالیت آنزیم فسفاتاز قلیایی

ب) اثر متقابل سطوح خشکی و زمان‌آبگیری بر فعالیت آنزیم‌فسفاتاز قلیایی

Archive of SID

www.SID.ir

جدول ۳- جدول تجزیه واریانس فعالیت آنزیم فسفاتاز اسیدی و قلیایی بذر گندم نان در آزمایش تنش خشکی

| منابع تغییرات | درجه آزادی | میانگین مربعات | |
|---|---|---|---|
| | | فعالیت فسفاتاز اسیدی | فعالیت فسفاتاز قلیایی |
| رقم | ۱ | ۱۱۱/۰۵۵$^{**}$ | ۰/۴۷۶$^{**}$ |
| سطوح خشکی | ۴ | ۳۵/۱۷۳$^{**}$ | ۰/۱۴۴$^{**}$ |
| زمان آبگیری | ۲ | ۴۶/۸۰۳$^{**}$ | ۶/۳۱۰$^{**}$ |
| رقم × سطوح خشکی | ۴ | ۱/۸۳۸$^{**}$ | ۰/۰۱۲ $^{ns}$ |
| رقم × زمان آبگیری | ۲ | ۰/۸۱۴$^{**}$ | ۰/۰۷۱$^{**}$ |
| سطوح خشکی × زمان آبگیری | ۸ | ۱/۱۳۳$^{**}$ | ۰/۰۱۹$^{**}$ |
| رقم × سطوح خشکی × زمان آبگیری | ۸ | ۰/۳۵۴$^{**}$ | ۰/۰۱۶$^{**}$ |
| خطا | ۶۰ | ۰/۰۱۸ | ۰/۰۰۵ |
| ضریب تغییرات (٪) | | ۱/۸۰۰ | ۸/۶۴۱ |

*، ** به ترتیب معنی‌دار در سطح احتمال ۵ و ۱ درصد و ns غیر معنی‌دار

جدول ۴- همبستگی بین صفات اندازه‌گیری شده در آزمایش جوانه‌زنی دو رقم گندم و فعالیت آنزیم‌های فسفاتاز در جنین بذر در پتانسیل‌های اسمزی ۱۲- و ۱۶- بار

| | | X1 | X2 | X3 | X4 | X5 | X6 | X7 | X8 | X9 | X10 | X11 |
|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|---|
| شاخص جوانه‌زنی | X1 | ۱ | | | | | | | | | | |
| سرعت جوانه‌زنی | X2 | ۰/۹۹۸$^{**}$ | ۱ | | | | | | | | | |
| درصد جوانه‌زنی | X3 | ۰/۹۸۶$^{**}$ | ۰/۹۸۸$^{**}$ | ۱ | | | | | | | | |
| بنیه بذر | X4 | ۰/۹۶۱$^{**}$ | ۰/۹۶۸$^{**}$ | ۰/۹۲۳$^{**}$ | ۱ | | | | | | | |
| وزن خشک ریشه‌چه | X5 | ۰/۹۸۸$^{**}$ | ۰/۹۸۸$^{**}$ | ۰/۹۷۳$^{**}$ | ۰/۹۶۹$^{**}$ | ۱ | | | | | | |
| وزن تر ریشه‌چه | X6 | ۰/۹۶۰$^{**}$ | ۰/۹۵۰$^{**}$ | ۰/۹۶۵$^{**}$ | ۰/۸۵۶$^{**}$ | ۰/۹۲۷$^{**}$ | ۱ | | | | | |
| طول گیاهچه | X7 | ۰/۹۷۹$^{**}$ | ۰/۹۸۵$^{**}$ | ۰/۹۵۷$^{**}$ | ۰/۹۸۸$^{**}$ | ۰/۹۸۳$^{**}$ | ۰/۸۹۷$^{**}$ | ۱ | | | | |
| طول ریشه‌چه | X8 | ۰/۹۸۶$^{**}$ | ۰/۹۹۱$^{**}$ | ۰/۹۷۲$^{**}$ | ۰/۹۷۷$^{**}$ | ۰/۹۷۷$^{**}$ | ۰/۹۲۲$^{**}$ | ۰/۹۹۷$^{**}$ | ۱ | | | |
| طول ساقه‌چه | X9 | ۰/۹۵۴$^{**}$ | ۰/۹۶۱$^{**}$ | ۰/۹۱۸$^{**}$ | ۰/۹۹۳$^{**}$ | ۰/۹۹۳$^{**}$ | ۰/۸۴۰$^{**}$ | ۰/۹۹۱$^{**}$ | ۰/۹۷۸$^{**}$ | ۱ | | |
| اسید فسفاتاز | X10 | ۰/۹۲۶$^{**}$ | ۰/۸۸۰$^{*}$ | ۰/۸۸۰$^{*}$ | ۰/۹۴۱$^{**}$ | ۰/۸۸۰$^{*}$ | ۰/۹۴۱$^{**}$ | ۰/۸۸۰$^{*}$ | ۰/۸۸۰$^{*}$ | ۰/۸۷۲$^{*}$ | ۱ | |
| الکالین فسفاتاز | X11 | ۰/۹۳۹$^{**}$ | ۰/۸۹۳$^{*}$ | ۰/۸۹۳$^{*}$ | ۰/۹۵۵$^{**}$ | ۰/۸۹۳$^{*}$ | ۰/۹۵۵$^{**}$ | ۰/۸۹۳$^{*}$ | ۰/۸۹۳$^{*}$ | ۰/۸۹۵$^{*}$ | ۰/۸۱۳$^{*}$ | ۱ |

* و **: به ترتیب معنی‌دار در سطح احتمال ۵ و ۱ درصد.

پاسخ آنزیم فسفاتاز اسیدی و قلیایی تحت تنش خشکی به ترتیب از یک روند خطی با $R^2$ = ۰/۸۵۶ و $R^2$ =۰/۸۱۰ پیروی می‌کنند. نتایج تجزیه همبستگی بین صفات جوانه‌زنی و آنزیم فسفاتاز در تیمارهای ۱۲- و ۱۶- بار پتانسیل شوری در جدول ۴ آمده است. فعالیت آنزیم فسفاتاز قلیایی همبستگی مثبت و بالایی با فعالیت آنزیم فسفاتاز اسیدی دارد و هر دو آنزیم همبستگی مثبت با تمام صفات گیاهچه دارند.

## بحث

بررسی تحمل به تنش خشکی در ارقام بذر گندم نان در مرحله جوانه‌زنی انجام گرفت و مشخص شد که تیمار خشکی سبب کاهش معنی‌دار درصد، سرعت و شاخص جوانه‌زنی، بنیه بذر، طول ریشه‌چه، ساقه‌چه و گیاهچه، وزن تر و خشک ریشه‌چه و ساقه‌چه می‌شود. این کاهش در رقم حساس بیشتر از رقم مقاوم بوده است. در شرایط تنش فرایندهای بیولوژیکی نیاز به انرژی بیشتری دارد تا مسیرهای بیوشیمیایی و فعالیت‌های فیزیولوژیکی ادامه یافته و رشد بدست آید. روند فعالیت‌های زیستی در شرایط محیطی بهینه رشد با شرایط تنش خشکی متفاوت خواهد بود، و در نتیجه رشد نیز در شرایط مذکور با هم تفاوت خواهد داشت.

در این آزمایش بذر رقم سرداری که به تنش خشکی مقاومتر بود، توانست با جذب سریعتر آب زودتر جوانه بزند و از سرعت جوانه‌زنی بالاتری برخوردار بود. نتایج نشان داد که سرعت جوانه‌زنی در ارقام مختلف بیشتر از درصد جوانه‌زنی تحت تاثیر تنش خشکی قرار گرفته است. چنین استنباط می‌شود که تنش خشکی ابتدا

Archive of SID

www.SID.ir

سرعت جذب آب توسط بذر را کاهش می دهد، ولی در مدت زمان بیشتر عمل جذب آب توسط بذر انجام می‌گیرد، در نتیجه بذر جوانه می زند. اما کاهش جذب آب باعث کاهش سرعت جوانه‌زنی می‌شود و بدین طریق سرعت جوانه‌زنی بیشتر از درصد جوانه‌زنی تحت تاثیر تنش خشکی قرار می گیرد. احتمالاً با افزایش تنش آب، پتانسیل اسمزی محلول نیز کاهش یافته، در نتیجه جذب آب توسط بذر به کندی صورت گرفته و جوانه‌زنی، ظهور ریشه‌چه و ساقه‌چه به تاخیر افتاده است.

وزن تر و خشک ریشه‌چه، طول ریشه‌چه، ساقه‌چه و گیاهچه ارقام مورد مطالعه در پتانسیل‌های مختلف خشکی کاهش یافت و این کاهش در رقم حساس بیشتر از رقم مقاوم بوده است (نتایج نشان داده نشده است). کاهش در وزن تر و خشک ریشه‌چه، طول ریشه‌چه، ساقه‌چه و گیاهچه به موازات منفی تر شدن پتانسیل آب بیشتر شد. این نتایج مشابه Jatai & Afzal (2001) و Basu et al. (2004) است. به نظر می‌رسد تنش آب از طریق کاهش پتانسیل اسمزی باعث کاهش میزان دسترسی بذر و گیاهچه به آب شده است و در تقسیم و تکثیر و رشد سلولی اختلال ایجاد کرده و سبب کاهش رشد طولی گیاهچه شده است (Sawan et al., 1998). در آزمایش Khadi et al. (1994) با آنکه بعضی گیاهچه‌ها دارای ابعاد طولی تقریبا مشابهی بودند، اما آن دسته از گیاهچه‌هایی که دارای طول ریشه‌چه بیشتری بودند توانستند شاخص بنیه بذر بالاتری ایجاد نمایند.

جوانه‌زنی بذر یکی از مهمترین موارد رشد و نموی است که به طور مشخص القاء تولید آنزیم‌های فسفاتاز و فیتاز را باعث می‌گردد (Barret-Lenard et al., 1982). در این تحقیق فعالیت فسفاتاز اسیدی و قلیایی در هر دو رقم مقاوم و حساس به خشکی با افزایش زمان آبگیری افزایش یافت، لیکن فعالیت فسفاتاز اسیدی به طور معنی‌داری از فسفاتاز قلیایی بیشتر بود. Sharma & Kaur (2007) گزارش کردند که تنش خشکی باعث افزایش فعالیت آنزیم فسفاتاز اسیدی در محور جنینی و آندوسپرم گندم شده است. افزایش فعالیت آنزیم‌های فسفاتاز در محور جنینی تحت تنش خشکی می‌تواند بیانگر این حقیقت باشد که انتقال فسفات تحت تنش خشکی دچار اختلال می‌شود. این اختلال سبب افزایش فعالیت آنزیم‌های فسفاتاز گشته و این آنزیم‌ها سبب رهاسازی فسفات محلول از ترکیبات نامحلول حاوی فسفات در داخل و خارج سلول می‌گردند. رهاسازی فسفات محلول می‌تواند در تنظیم پتانسیل اسمزی سلول نقش ایفا کند. همچنین Muray & Collier (2006) گزارش کردند در شرایط تنش خشکی فعالیت آنزیم فسفاتاز در دیواره سلولی و کمپلکس گلژی در گیاه نخود فرنگی نیز افزایش می‌یابد. بر اساس مشاهدات Olmos & Hellin (1997)، فسفاتاز اسیدی در شرایط تنش خشکی و شوری از طریق نگهداری سطوح معینی از فسفات معدنی، زمینه را برای انتقال فسفات به همراه یون هیدروژن از طریق نیروی حرکتی شیب پروتونی ایجاد می‌کند و در نتیجه تنظیم پتانسیل اسمزی داخل سلول را فراهم می‌کند. در گزارش Sharma & Kaur (2007) فعالیت اسید فسفاتاز در جنین بذر گندم در شرایط تنش خشکی به مدت دو و شش ساعت افزایش چشمگیری را نشان داد. تنظیم پتانسیل اسمزی سلول می‌تواند در بهبود سرعت جوانه‌زنی رقم مقاوم تاثیر معنی‌داری را داشته باشد. بر خلاف نتایج بدست آمده در این تحقیق، Sharma et al. (2004) پس از اندازه‌گیری آنزیم‌های فسفاتاز در جنین و آندوسپرم سورگوم در شرایط تنش شوری و خشکی مشاهده کردند که افزایش فعالیت فسفاتاز اسیدی و قلیایی تنها در شرایط تنش شوری وجود دارد. این مشاهدات می‌تواند بیانگر ارتباط فعالیت این آنزیم‌ها به نوع گیاه و شرایط تنش باشد.

برخی از پژوهشگران اختلاف فعالیت اسید فسفاتاز را به مقدار و جذب فسفر نسبت می‌دهند (Barret-Lenard et al., 1982). ممکن است واقعاً این موضوع در نتایج بدست آمده از این آزمایش نیز مؤثر بوده باشد. ولی برخی از مدارک علمی دلالت بر عدم دخالت نقل و انتقال و مصرف فسفر و فعالیت اسید فسفاتاز دارد. مشاهده شده وقتی ماده متیل جاسمونات (ایجاد پتانسیل خشکی) به محیط کشت برگ گیاه برنج اضافه می‌شود، بدون تغییر در میزان فسفر فعالیت اسید فسفاتاز افزایش می‌یابد (Shin, 1998). همچنین در این گزارش مشاهده شد تنش خشکی موجب افزایش فعالیت اسید فسفاتاز می‌شود ولی این افزایش فعالیت آنزیم همراه با کاهش میزان فسفر محیط خارج و یا داخل سلول نیست (Shin, 1998).

Archive of SID

www.SID.ir

نتایج این تحقیق نشان داد که آنزیم‌های فسفاتاز می‌توانند نقش مهمی را در افزایش تحمل بذر به شرایط تنش خشکی ایفا نمایند. فسفاتاز اسیدی با فعالیت بیشتر در محور جنینی نقش بارزتری را در مرحله جوانه‌زنی بذر گندم تحت تنش خشکی نشان داد. افزایش فعالیت فسفاتاز اسیدی می‌تواند بیانگر نقش این آنزیم در فراهم کردن فسفر قابل جذب برای سلول و تنظیم پتانسیل اسمزی آن برای جذب سریع‌تر آب باشد.

## سپاسگزاری

از معاونت پژوهشی دانشگاه تهران که بخشی از هزینه پژوهشی این پایان نامه را در قالب طرح نوع ششم به شماره ۷۱۰۱۰۲۷/۶/۰۷ فراهم نمودند تقدیر و تشکر می‌گردد.

## REFERENCES

1. Abdul- Baki, A. A. & Anderson, J. D. (1973). Vigour deterioration in soybean seeds by multiple criteria. *Crop Science*, 13, 630-633.
2. Barret-Lenard, E. G., Robson, A. D. & Greenway, H. (1982). Effect of phosphorus deficiency and water definition on phosphatase activity from wheat leaves. *Journal of Experimental Botany*, 33, 682-693.
3. Basu, S., Sharma, S. P. & Dadlani, M. (2004). Storability studies on maize (*Zea mayza* L.) parental line seeds under natural and accelerated ageing conditions. *Seed Science and Technology*, 32, 239-245.
4. Belcher, E. M. & Miller, L. (1974). Influence of substrate moisture level on the germination of sweet gnu and pine seed. Proceeding of the Association of Official Seed Analysis. *Turkish Journal of Botany*, 65, 88-89.
5. Bewely, D. J. (1997). Seed germination and dormancy. *Plant Cell*, 9, 1055-1060.
6. Burlyn, E. & Kaufman, M. R. (1973). The osmotic potential of polyethyleneglycole. *Plant Physiology*, 51, 914-916.
7. Ehsanpour, A. A. & Amini, F. (2003). Effect of salt and drought stress on acid phosphatase activities in *alfalfa (Medicago sativa)* explants under in vitro culture. *African Journal of Biotechnology*, 2, 133-135.
8. Grattan, S. R. & Grieve, C. M. (1999). Salinity- mineral nutrient relations in horticultural crops. *Scientia Horticulturae*, 78, 127-157.
9. Hsiao, T. C. (1973). Plant responses to environment. *Annual Review of Plant Physiology*, 24, 519-570.
10. Huang, B. (2000). *Plant environmental reactions*. Marcel Deker Inc., New York. Pp.39-64.
11. Huang, J, Hirji, R., Adam, L., Roswadowski, K. L. & Hammerlindl, J. L. (2000). Genetic engineering of glycine betaine production towards enhancing stress tolerance in plants. *Plant Physiology*, 122, 747-756.
12. Jatai, S. A. & Afzal, M. (2001). Seed deterioration study in pea, using accelerated ageing techniques. *Pakistan Journal of Biological Science*, 4, 1490-1494.
13. Khadi, B. M., Rarkasha, R. P., Yenjerappa, S. T., Janagoudar, B. S., Eshana, M. R. & Naik, R. B. (1994). Effects of crossing period on seed quality of a cotton hybrid. *Seed Research*, 22, 7-11.
14. Lee, T. M. (2000). Phosphate starvation induction of acid Phosphatase in *Ulva lactuca* L. *Botanical Bulletin of Academia Sinica*, 39, 29-32.
15. Murray, D. R. & Collier, M. D. (2006). Acid phosphatase activities in developing seeds of *Pisum satirum*. *Plant Biology*, 31, 227-238.
16. Olmos, E. & Hellin, E. (1997). Cytochemical localization of ATPase plasma membrane and acid phosphatase by cerium based in salt-adapted cell line of *Pisum sativum*. *Journal of Experimental Botany*, 48, 1529-1535.
17. Pan, S. M. & Chen, Y. R. (1988). The effects of salt stress on acid phosphatase activity of *Zea mays* seedling. *Botanical Bulletin of Academia Sinica*, 29, 33-38.
18. Sarapatka, B., Dudova, L. & Kroskova. M. (2004). Effect of pH and phosphate supply on acid phosphatase activity in cereal roots. *Biologia Bratislova*, 59, 127-131.
19. Sawan, Z. M., Gregg, B. R. & Yousef, E. (1998). Influence of nitrogen and fertilization and foliar – applied plant growth regulators and zinc on cotton seed yield, viability and seedling vigour. *Seed Science and Technology*, 26, 393-404.
20. Sharma, A. D., Thakur, M., Rana, M. & Singh, K. (2004). Effect of plant growth hormones and abiotic stresses on germination, growth and phosphates activities in *Sorghum biocolor* L. Moench seeds. *African Journal of Biotechnology*, 6, 308-312.
21. Sharma, A. D., Singh, N. & Kong, J. K. (2005). Short-term water logging-induced changes in phosphatase activities in shoots and roots of sorghum seedling: role of phosphatase during water logging in relation to phosphorus. *Plant Physiology*, 31, 71-79.
22. Sharma, A. D. & Kaur, R. (2007). Drought induced changes in acid phosphatase activities in wheat in relation with phosphorus. *Emirate Journal of Food and Agriculture*, 19, 31-38.

Archive of SID

www.SID.ir

23. Shin, C. Y. (1998). Induction of acid phosphatase in rice leaves under stress conditions. *Botanical Bulletin of Academia Sinica*, 39, 29-32.
24. Walker-Simmons, M. K. & Sesing, J. (1990). Effect of temperatuer on emberyonic wheat grain dormancy during development. *Journal of Plant Growth Regulation*, 9, 51-56.

Archive of SID

www.SID.ir