در
زراعت و باغبانی شماره ۷۴، بهار ۱۳۸۶
پژوهش سازندگی

بررسی مقاومت به شوری و خشکی چهار رقم جو(*Hordeum vulgaris* L.) در مرحله جوانه زنی

• **مهناز حیدری ریکان**
عضوهیأت علمی‌مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی امور دام آذربایجان غربی
• **رضا حیدری و • رشید جامعی**
اعضای هیأت علمی‌گروه زیست شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه ارومیه

تاریخ دریافت: مرداد ماه ۱۳۸۳ تاریخ پذیرش: خرداد ماه ۱۳۸۵

email: heidaririkan15@yahoo.com

چکیده

شـوری و خشـکی دو استرس فزآینده در خاک‌های منطقه بوده و یکی از راههای مقابله با آن انتخاب ارقام مقاوم است. به منظور بررسـی مقاومت به شوری وخشکی ارقام جو((*Hordeum vulgaris*)، چهار رقم رایج سهند، ماکویی،نقده وCB، مورد مطالعه قرار گرفت.سـطوح شـوری ۵،۱۰،۱۵ و ۲۰ گرم در لیتر NaCl و سطو ح خشـکی ۲۵،۵۰،۱۰۰و ۱۵۰ گرم در لیترگلوکز بودند.بـا توجه به نتایج حاصل، از بین ارقام، سـهند بـا بالاترین میانگین در صد جوانه زنی ۸۰ ٪ در سـطح۲۰گرم در لیتر شـوری و ۸۷ ٪ در سـطح ۱۵۰گرم خشـکی به عنوان رقم مقاوم و CB با پایین ترین میانگین در صد جوانه زنی ۲۷ ٪ در سـطح۲۰گرم در لیترشـوری و ۳۴ ٪ در سطح ۱۵۰گرم خشکی به عنوان رقم حسـاس برای انجام مراحل بعدی کار انتخاب شد. دو رقم بالا تحت تنش خشکی بر حسب ظرفیت مزرعه در سطوح آزمایشی.F.C و .F.C ۱/۲ و.F.C ۱/۴ کاشته شدند. قندهای محلول و پرولین سـاقه و ریشـه در سطح F.C.۱/۴، اختلاف معنی دار داشـته و در حالت کلی در رقم سهند تحت شـرایط خشـکی مقادیر پرولین ساقه و ریشه بسـیار بیشـتر از رقم CB بوده در مقابل تولید قندهای محلول رقم CB بالا بود. در بررسی فعالیت آنزیم آلفا آمیلاز بر اساس مقدار نشاسته تجزیه شده در گیاهچه‌های چهار روزه دو رقم فوق تحت شـوری و خشـکی اختلاف معنی دار بوده و عملکرد رقم سـهند تقریباً دو برابر آن در CB بود. اعمال تنش‌های خشـکی و شـوری به ترتیب در سـطوح ۵۰ و ۱۰۰ گرم در لیترگلوکز و ۷ و۱۴ گرم در لیتر NaCl به بذور در حال جوانه زنی منجر به تغییر در الگوی الکتروفورزی باندهای ۳،۱ و ۷ (۶۲/۷، ۴۳/۳۵ و ۲۶/۶۸ کیلو دالتون) پروتئین‌های قسـمت بذری شـد. بطوریکه عمده تفاوت‌ها در حضور یا عدم حضور باندها در محدوده ۴۳/۳۵ تا ۶۲/۷ کیلو دالتونی در سطح تیمارها بود که در این محدوده آنزیم‌های آلفا آمیلازی قرار می‌گیرند.اختلاف اصلی دو رقم در نمونه‌های شاهد و ۷ گرم در لیتر NaCl بود. این تفاوت می‌تواند بیانگر اختلاف معنی‌دار دو رقم در مرحله جوانه زنی باشد.

کلمات کلیدی: جو، تنش خشکی، شوری، پرولین، قند محلول، آلفا-آمیلاز، الکترو فورز

www.SID.ir

Pajouhesh & Sazandegi 74 pp: 134-142

Evaluation of resistance for drought and salinity in four barley (*Hordeum vulgaris* L.) cultivars in germination stage

By:M.Heidary,Natural Resources Research Center of West. Azarbdjan Province,R.Heidariy and R.Jameai, Department of Biology, Faculty of Science, University of Uromieh,Iran.

The salinity and drought are two increasing stress in region soils.So that the selection of resistant cultivars is necessary and the most important.In order to study salinity and drought resistant of barley four cultivars named Sahand , Makoii , Naghadeh and CB were selected. By using randomized complete block design seeds of all cultivars were planted. The salinity and drought levels were respectively 5,10 ,15& 20 gr/lit NaCl, ,25 ,50,100,150 gr/lit glucose.The results showed that in critical salinity (20 gr/lit NaCl) and drought (150 gr/lit) conditions the percentage germination of sahand and CB were respectively 80,27 &87,31. Then Sahand was resistant and CB sensitive cultivar. Sahand and CB were planted under field capacity F.C..Condition in three levels of F.C., 1/2 F.C.,1/4 F.C... After ten days concentration of free proline and soluble sugars in leaves and roots of seedling were determined. By increasing of drought stress, accumulation of proline and soluble sugars content leaves and roots of both cultivars were significantly increased.We experimented Alpha-amylas activity in four days seedlings that germinated under drought and salinity condition. Alpha- amylas activity in the Shand was higher than that in the CB..In electrophoresing (SDS-PAGE) of seedling protein of treatment under drought and salinity condition ,the most differences were in some bands with 62.7,43.35 and 28.68 KD molecular weight.

Key words: Barley, Salinity-stress, Drought-stress, Proline, Soluble sugars, Alpha- amylas, Electrophoresing

مقدمه

تنش‌های محیطی، مخصوصاً تنش آبی یکی از مهمترین عوامل محدود کننده تولیدات کشاورزی در دنیا است. گیاهان در مقابل خشکی از طریق تغییرات مورفولوژیکی، فیزیولوژیکی و متابولیکی در تمام اندامهای خود پاسخ می‌دهند (۸). بطور کلی گیاهچه‌های جوان به خشکی حساسترند و تفاوت‌های ژنتیکی در مقابله با خشکی ممکن است در گیاهچه آشکار شود و همین امر فرصت مفیدی برای به گزینی و انتخاب است (۲۵). گیاهان تحت استرس شوری و خشکی برای سازگاری، با انباشتن یک یا چند ماده آلی با وزن مولکولی کم، فشار اسمزی را پایین می‌آورند. تنظیم اسمزی همچنین می‌تواند به وسیله تبدیل پلی ساکاریدها (نشاسته و فروکتان‌ها) به یکدیگر و الیگوساکاریدها (ساکارز و گلوکز) کنترل شود، زیرا پتانسیل اسمزی ارتباط مستقیم با تعداد ملکولهای ماده حل شده دارد (۴، ۹، ۱۹، ۲۱، ۲۰، ۲۶). در دانه غلات انرژی برای جوانه زنی از طریق تجزیه کربوهیدرات‌ها (نشاسته) در اندوسپرم دانه تامین می‌شود. بیولوژی ملکولی و سلولی این فرایند با جزئیات زیادی در گونه‌های مختلف مورد مطلعه قرار گرفته است (۱۱). در جو، سنتز آنزیم‌های دست اندر کار در دانه بسیار منظم می‌باشد.لایه آلورون به عنوان یک مکان کنترل هورمونی برای القای چندین آنزیم عمل می‌کند (۳). یکی از آن آنزیم‌ها آمیلاز بوده که نقش بسیار مهمی را در شکستن نشاسته به عهده دارد. ایزوزیم‌های مختلفی از آن در غلاتی مانند جو و برنج گزارش شده است. این ایزوزیم‌ها را می‌توان به وسیله الکتروفورز ژل پلی آکریل آمید افقی از هم تفکیک کرد (۲۳،۷). نتایج آزمایشات برروی برنج نشان می‌دهد که فعالیت آلفا آمیلاز در حضور NaCl کاهش می‌یابد (۱۶). تغییر الگوی پروتئین‌های بخش بذری جو جوانه زده تحت استرس شوری و خشکی در ژل الکتروفورزی می‌تواند فرم‌های مقاوم آنزیم به استرس را نشان دهد (۱۰، ۱۲). بررسی توانایی ارقام مورد کاشت در منطقه، در مقابله با استرس خشکی و شوری از اهداف این مطالعه می‌باشد.

Archive of SID

www.SID.ir

مواد و روش‌ها

چهار رقم سهند، ماکویی، نقده و CB-۷۴-۲ در این تحقیق مورد بررسی قرار گرفتند. رقم سهند (توکاک) از ارقام دیم ومقاوم به خشکی است که مبدا اصلی آن کشور ترکیه بوده و یک رقم تجاری محسوب می‌شود. این رقم برای کشت در مناطق سرد دیم کاری کشور از سوی مرکز تحقیقات دیم مراغه معرفی شده است. جو ماکویی (استار) از سازمان خواربار جهانی دریافت شده و رقم نقده (دیم) بومی‌استان آذربایجان غربی است و بالاخره رقم CB-۷۴-۲ بومی‌ایران می‌باشد. به منظور بررسی اثر خشکی و شوری بر جوانه زنی ارقام مورد مطالعه از طرح آزمایشی بلوک‌های کامل تصادفی استفاده شد. چهار سطح خشکی بر اساس غلظتهای صفر (شاهد)، ۲۵، ۵۰، ۱۰۰و ۱۵۰ گرم در لیترگلوکز و چهار سطح شوری بر اساس غلظت‌های صفر(شاهد) ۵، ۱۰، ۱۵ و ۲۰ گرم در لیتر NaCl، آماده شد(۱). برای هر رقم در هر سطح سه پتری دیش (به منزله بلوک کامل تصادفی) محتوی ۵۰ بذر قرار داده شد. با شمارش بذرهای جوانه زده بعد از ۷۲ ساعت در صد جوانه زنی ارقام در آن سطح تعیین شد. در ارزیابی ارقام از بین چهار رقم، دو رقم سهند و CB به ترتیب به عنوان مقاوم و حساس تعیین شدند. به منظور بررسی‌های بیشتر سطوح تنش خشکی بر اساس ظرفیت مزرعه ایجاد شد. بر این اساس و بر حسب ظرفیت مزرعه سه سطح آزمایشی F.C. و F.C ۱/۲ و F.C ۱/۴ ایجاد کرده و به ترتیب هر دو روز یکبار ۲۰۰، ۱۰۰ و ۵۰ میلی لیتر آب به آنها اضافه شد(۱). هر ظرف(گلدان) را از وسط مرزبندی کرده ودر یک طرف رقم سهند ودر طرف دیگر رقم CB را با ۱۲ تکرار کاشته ودر مجموع ۳ بلوک کامل ایجاد شد.دو رقم وسطح تنش به صورت فاکتوریل ۳×۲ در قالب طرح پایه بلوکهای کامل تصادفی برای ارزیابی هر کدام از فاکتورها و اثرات متقابل آنها (بصورت ۶ تیمار) برروی صفات بیوشیمیایی غلظت پرولین، غلظت قندهای محلول در ریشه و ساقه مورد استفاده قرار گرفت (۶، ۸). بعد از ده روز جوانه‌ها از خاک خارج شده و پس از خشک نمودن برای انجام مطالعات بیو شیمیایی مورد استفاده قرارگرفت. برداشت نمونه برای انجام مطالعات بصورت کاملاً تصادفی از ردیف‌های ۱۲-۱ بود (دمای اتاق در روز ۲۰ درجه ودر شب ۹ درجه سانتیگراد بود).

برای سنجش فعالیت آلفاآمیلاز در سطوح شوری و خشکی ارقام مورد مطالعه جو (سهند وCB) در دو سطح خشکی ۵۰ و ۱۰۰ گرم در لیترگلوکز و در دو سطح شوری ۷ و۱۴ گرم در لیتر NaCl به اضافه شاهد، در داخل پتری دیش با تأمین آب مورد نیاز در داخل انکوباتور با دمای ثابت ۲۵ درجه سانتیگراد به مدت ۴ روز قرار داده شدند بعد از ۴ روز برای هر تیمار ۱۵ عدد بذر جوانه زده به صورت تصادفی از میان سه تکرار برداشته، ریشه چه و برگ‌های اولیه را به دقت از بذر جدا کرده و بذر درهاون چینی با افزودن ۱۰ میلی لیتر آب مقطر کاملاً سرد،له شد. در نهایت با استفاده از نشاسته ۱٪ و آنزیم آلفاآمیلاز خالص شده، فعالیت این آنزیم توسط اسپکتروفتومتر(Bosch & Lomb) در ۶۲۰ nm بررسی شد (۲). برا ی بررسی تغییرات ایجاد شده در سنتز پروتئین‌های قسمت بذرچه‌ای، الکتروفورز پروتئین‌ها (SDS-PAGE) با ژل زیرین ۱۵ درصد و ژل بالایی ۳ درصد انجام گرفت (۱۵).

نتایج

جوانه‌زنی

رقم سهند تحت شرایط هر دو نوع تنش، جوانه زنی بسیار بالایی را نشان داد، (در تنش حاد شوری یعنی،۲۰ گرم در لیتر NaCl، ۸۰ درصد و در تنش حاد خشکی یعنی ۱۵۰ گرم گلوکز در لیتر، ۸۷ در صد). در حالیکه رقم CB تحت هردو نوع تنش کمترین در صد جوانه زنی را در بین ارقام داشت. (در تنش حاد شوری ۲۷ در صد ودر تنش حاد خشکی ۳۱ در صد). بر اساس این نتایج(جدول ۱) رقم سهند به عنوان رقم مقاوم و رقم CB به عنوان رقم حساس در مرحله جوانه زنی تعیین شدند.

همچنان که جدول آنالیز واریانس (جدول ۲) و گروه‌های آزمون دانکن بر روی نمودارهای ۱ و ۲ نشان می‌دهند در بررسی اثر شوری و خشکی بر جوانه زنی ۴ رقم جو، فاکتور رقم (A) و هم فاکتور عامل مورد مطالعه (B) اثر معنی دار بر جوانه زنی دارند. بدین معنی که ارقام مورد مطالعه در سطوح مختلف عوامل مورد بررسی، از نظر جوانه زنی، تفاوت معنی داری با هم دیگر داشته و از طرف دیگر سطوح مختلف هر عامل نیز،با هم دیگر تفاوت معنی داری بر روی جوانه زنی نشان می‌دهند در نهایت اثرات متقابل A×B (رقم × عامل) نیز معنی‌دار بوده و تمامی این اختلاف‌ها در سطح احتمال کمتر از ۱ درصد می‌باشد.

تغییرات قندهای محلول و پرولین

با اعمال تنش خشکی به دو رقم سهند وCB به عنوان ارقام مقاوم و حساس تغییرات بیوشیمیایی که شامل غلظت پرولین وقندهای محلول در ساقه و ریشه دو رقم می‌باشند مورد ارزیابی قرار گرفت (جدول ۳).

آنالیز واریانس فاکتورهای بیوشیمیایی مورد مطالعه به هنگام تنش خشکی در (جدول ۴) آورده شده است. قندهای محلول در ساقه و ریشه ارقام بر اساس جدول آنالیز واریانس در فاکتور A (رقم زراعی) با هم اختلاف معنی دار دارند در فاکتور B یعنی در سطوح مختلف خشکی نیز این اختلاف معنی دار در ارقام دیده می‌شود. ارقام چه در ریشه و چه در ساقه در سطح شاهد با هم اختلاف معنی دار ندارند اما در سطح خشکی F.C ۱/۴گروه‌های آزمون دانکن کاملاً متفاوت بوده واختلاف کاملاً معنی دار است. ارقام در آزمایش مقادیر پرولین در ساقه و ریشه بر اساس جدول آنالیز واریانس با هم اختلاف معنی دار دارند این اختلاف در سطوح تنش یعنی فاکتور B و همچنین AB نیز دیده می‌شود. مقدار پرولین در ساقه سهند در سطح شاهد بالاتر از مقدار آن در CB است. این اختلاف در سطح خشکی F.C ۱/۴ نیز حفظ می‌شود به طوری که گروه دانکن ساقه سهند در سطح خشکی FC.A ۱/۴ و گروه دانکن ساقه B، CB می‌باشد. در قسمت ریشه برعکس ساقه، پرولین CB بیشتر بوده و مقدار میانگین آن دو برابر مقدار آن در ریشه سهند می‌باشد. اما در سطح خشکی F.C ۱/۴بر عکس سطح FC مقدار پرولین سهند بسیار بالا رفته و نزدیک به ۶/۷ برابر مقدار آن در شاهد می‌شود در حالی که مقدار پرولین ریشه CB، در ضمن افزایش حدود سه برابر، از رقم سهند عقب می‌ماند (نمودارهای (۳ و ۴).

فعالیت آلفا آمیلاز

درنتایج حاصل از سنجش فعالیت آمیلازی در بخش بذری گیاهچه‌های چهار روزه (جدول ۵) بر اساس جدول آنالیز واریانس(جدول

Archive of SID
www.SID.ir

جدول ۱: مقایسه درصد جوانه زنی بذور ارقام در سطوح مختلف عوامل مورد بررسی

سطوح مختلف عوامل مورد مطالعه		ارقام			
		سهند	ماکویی	نقده	CB
سطوح مختلف شوری	شاهد میانگین ± انحراف معیار	٪ ۹۸ ± ۰/ ۰۲	٪ ۸۴ ± ۰/ ۰۴	٪ ۹۰ ± ۰/ ۰۲	٪ ۹۴ ± ۰/ ۰۱
	۵ گرم در لیتر .میانگین ± انحراف معیار	٪ ۹۴ ± ۰/ ۰۴	٪ ۷۵ ± ۰/ ۰۱	٪ ۹۰ ± ۰/ ۰۲	٪ ۹۴ ± ۰/ ۰۱
	۱۰ گرم در لیتر .میانگین ± انحراف معیار	٪ ۹۲ ± ۰/۳ ۰	٪۶۴ ± ۰/ ۰۴	٪ ۸۹ ± ۰/ ۰۵	٪ ۸۳ ± ۰/ ۰۱
	۱۵گرم در لیتر .میانگین ± انحراف معیار	٪ ۸۵ ± ۰/ ۰۳۷	٪۵۷ ± ۰/ ۰۲	٪ ۷۷ ± ۰/ ۰۲	٪ ۵۷ ± ۰/ ۰۱
	۲۰گرم در لیتر .میانگین ± انحراف معیار	٪ ۸۰ ± ۰/ ۰۴	٪۳۸ ± ۰/ ۰۱	٪ ۵۷ ± ۰/ ۰۲	٪ ۲۷ ± ۰/ ۰۱
سطوح مختلف خشکی	شاهد میانگین ± انحراف معیار	٪ ۹۸ ± ۰/ ۰۱	٪ ۸۵ ± ۰/ ۰۱	٪ ۹۱ ± ۰/ ۰۲	٪ ۹۵ ± ۰/ ۰۱
	۲۵گرم در لیتر .میانگین ± انحراف معیار	٪ ۹۷ ± ۰/ ۰۱	٪۷۷ ± ۰/ ۰۱	٪ ۸۸ ± ۰/ ۰۲	٪ ۸۳ ± ۰/ ۰۱
	۵۰گرم در لیتر .میانگین ± انحراف معیار	٪ ۹۵ ± ۰/ ۰۲	٪ ۶۷ ± ۰/ ۰۲	٪ ۸۷ ± ۰/ ۰۳	٪ ۸۱ ± ۰/ ۰۲
	۱۰۰گرم در لیتر .میانگین ± انحراف معیار	٪ ۹۵ ± ۰/ ۰۱	٪ ۶۴ ± ۰/ ۰۱	٪ ۷۶ ± ۰/ ۰۵	٪ ۶۷ ± ۰/ ۰۱
	۱۵۰گرم در لیتر .میانگین ± انحراف معیار	٪ ۸۷ ± ۰/ ۰۲	٪ ۶۱ ± ۰/ ۰۱	٪ ۶۴ ± ۰/ ۰۵	٪ ۳۱ ± ۰/ ۰۱

جدول ۲: آنالیز واریانس بررسی اثر فاکتورهای رقم زراعی و سطوح عوامل و اثرات متقابل آنها در درصد جوانه زنی

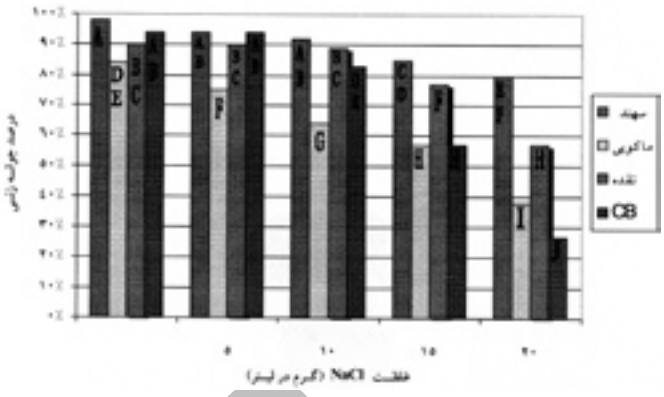
منابع تغییرات	درجه آزادی	میانگین مربعات	
		اثر شوری بر درصد جوانه زنی	اثر خشکی بر درصد جوانه زنی
تکرار	۲	۳/۴۶۷	۲۰/۸۶۷
فاکتورA (رقم زراعی)	۳	۱۹۳۸/۰۶۱□	۱۸۲۹/۶۶۱□
فاکتورB (سطح عامل موثر)	۴	۳۳۸۱/۹۵۸□	۲۰۰۱/۹۳۳
(اثر متقابل رقم* عامل) AB	۱۲	۲۷۲/۸۸۱□	۲۶۹/۸□
اشتباه	۳۸	۹/۶۶	۴/۶۰۴

** و * به ترتیب معنی‌دار در سطوح احتمال ۱ و ۵ درصد

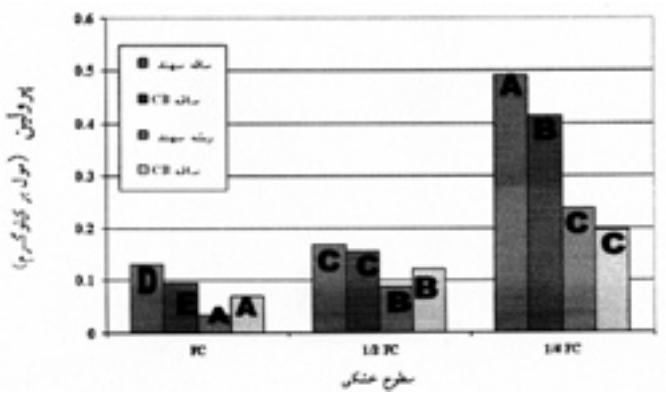
۶) و نمودارهای ۵ و ۶ دو رقم با هم اختلاف معنی دار داشته و سهند در گروه A دانکن وCB در گروه D قرار می‌گیرد در آزمایش اعمال تنش شوری ارقام در فاکتور B (سطح عامل موثر) نیز کاملاً معنی دار هستند. بطوریکه رقم سهند در سطوح مختلف شوری به ترتیب در گروهای A وB و C و رقم CB در گروههای D و E و F قرار می‌گیرند. شیب کاهش فعالیت در هر دو رقم تقریباً یکسان بوده هر دو به یک اندازه در اثر شوری کاهش یافتند.

در آزمایش سنجش میزان فعالیت آنزیم تحت استرس خشکی مشابه تنش شوری بر اساس جدول آنالیز واریانس (جدول ۶) و گروهها دانکن (نمودار ۵) اختلاف معنی دار بین دو رقم وهمچنین در سطوح مختلف خشکی دیده می شود.نکته جالب در مقایسه اثر این دو روش ایجاد تنش بر فعالیت آنزیم این است که در تنش خشکی شیب کاهش فعالیت در حین اینکه در دو رقم مشابه بوده اما بسیا ر تند است بطوریکه در تک تک سطوح به نصف مقدار آن در سطح شوری می‌رسد بطوریکه در رقم سهند میانگین فعالیت در شاهد ۰/۶۸۲ بوده که در سطح شوری ۱۴ گرم در لیتر به ۰/۴۷۷ تقلیل یافته است در حالیکه همین مقدار در شاهد در سطح تنش خشکی (۱۰۰ گرم در لیتر) به ۰/۲ واحد، یعنی به ۱/۳ میزان آن تقلیل یافته است این وضعیت در رقم CB نیز با کمی‌تفاوت دیده می‌شود.

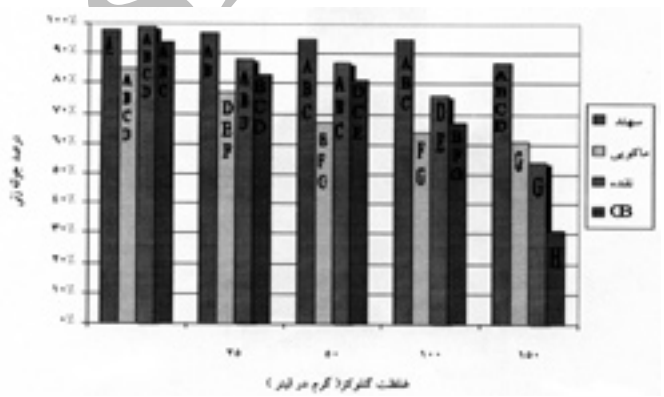
www.SID.ir



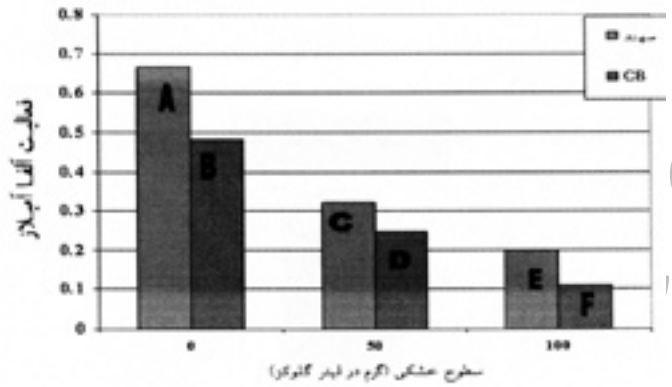
نمودار ۱- مقایسه درصد جوانه‌زنی چهار رقم جو در شرایط تنش
(حروف متفاوت روی ستون‌ها، بیانگر معنی‌دار بودن
تفاوت میانگین‌ها در سطح ۵٪ می‌باشد)



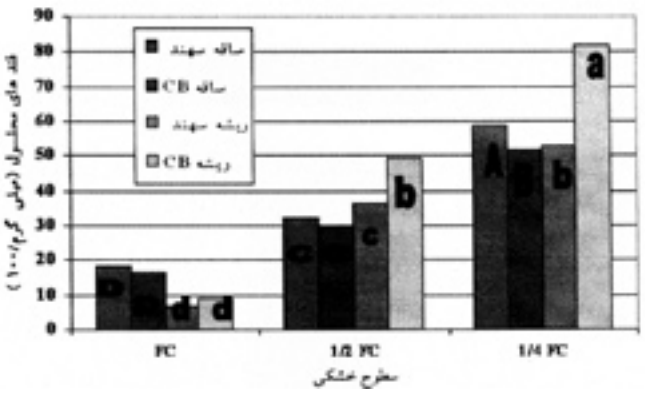
نمودار ۴- مقایسه تغییرات پرولین دو رقم در سطوح مختلف خشکی



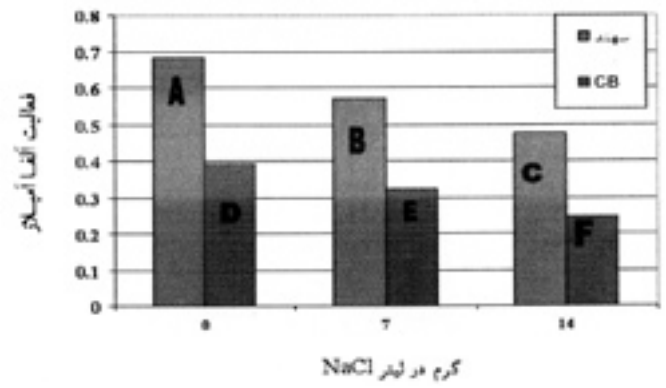
نمودار ۲- مقایسه درصد جوانه زنی چهار رقم جو در شرایط تنش خشکی



نمودار ۵- مقایسه تغییرات فعالیت آلفا آمیلاز دو رقم در سطوح مختلف خشکی



نمودار ۳- مقایسه تغییرات قندهای محلول دو رقم در سطوح مختلف خشکی



نمودار ۶- مقایسه تغییرات فعالیت آمیلاز دو رقم در سطوح مختلف شوری

www.SID.ir

جدول ۳: تغییرات کمی‌فاکتورهای بیوشیمیایی مورد مطالعه به هنگام اعمال تنش خشکی

رقم	سطح تنش	پرولین برگ	پرولین ریشه	قندهای محلول ساقه	قندهای محلول ریشه
		mM/kg dw	mM/kg dw	mg/۱۰۰g dw	mg/۱۰۰g dw
		میانگین ± انحراف معیار	میانگین ± انحراف معیار	میانگین ± انحراف معیار	میانگین ± انحراف معیار
سهند	FC	۰/۱۳۱	۰/۰۳۵	۱۸/۵۳	۶/۸۸
		± ۰/۰۰۲	± ۰/۰۰۳	± ۰/۶۹	± ۰/۴۸
	۱/۲ FC	۰/۱۶۹	۰/۰۸۹۷	۳۲/۴۴	۳۶/۴۵
		۰/۰۲	± ۰/۰۰۴	± ۱/۷۵	± ۲/۲۸
	۱/۴ FC	۰/۴۹۱	۰/۲۳۷	۵۸/۴۴	۵۲/۶۷
		± ۰/۰۱۷	± ۰/۰۱	± ۱/۹۹	± ۰/۴۸
CB	FC	۰/۰۹۶	۰/۰۷	۱۶/۶۳	۹/۱۳
		± ۰/۰۱۴	± ۰/۰۰۹	± ۰/۶۵	± ۰/۲۹
	۱/۲ FC	۰/۱۵۵	۰/۱۲۳	۳۰/۱۷	۴۹/۱۹
		± ۰/۰۰	± ۰/۰۲۸	± ۱/۲۸	± ۳/۸۴
	۱/۴ FC	۰/۴۱۳	۰/۱۹۷	۵۱/۴۲	۸۱/۸۵
		± ۰/۰۲	۰/۱۹۷	± ۰/۰۲	± ۶/۰۸

جدول ۴: آنالیزواریانس بررسی اثر فاکتورها(رقم زراعی وسطح تنش خشکی) واثرات متقابل آنها در فاکتورهای بیوشیمیایی

منابع تغییرات	درجه آزادی	میانگین مربعات			
		پرولین ساقه	پرولین ریشه	قندهای محلول ساقه	قندهای محلول ریشه
تکرار	۲	۰□	۰/۰۳	۰/۳۷۱	۳۶/۶۲۸□
فاکتورA (رقم زراعی)	۱	۰/۰۰۸□	۰/۰۳۶□	۶۲/۶۸۳□	۹۶۶/۸۲۷□
فاکتورB (سطح عامل موثر)	۲	۰/۱۰۲□	۰/۰۶۷□	۲۱۴۱/۵۷۲□	۵۳۳۷/۵۹۱□
(اثر متقابل رقم × عامل) AB	۲	۰/۰۰۲□	۰/۰۲۶□	۱۲/۲۳۶□	۲۷۲/۱۳۹□
اشتباه	۱۰	۰	۰/۰۳۶	۱/۸۵۱	۸/۰۴۶

**و* به ترتیب معنی دار در سطوح احتمال ۵ و۱درصد

جدول ۵- تغییرات فعالیت آلفا آمیلاز در قسمت بذری گیاهچه تحت تنش

فعالیت آلفا آمیلاز میانگین± انحراف معیار			
سطوح عوامل مورد مطالعه		سهند	CV
سطوح مختلف شوری (NaCl)	شاهد	۶۸۲/۰ ± ۰/۰ ۲۸	۰/ ۳۲۹ ± ۰/۰ ۲۲
	۷ گرم در لیتر	۵۷۱/۰ ± ۰/۰ ۱۸	۳۲۲/۰ ± ۰/۰
	۱۴ گرم در لیتر	۴۷۷/۰ ± ۰/۰	۲۴۶/۰ ± ۰/۰
سطوح مختلف خشکی (گلوکز)	شاهد	۶۶۷/۰ ± ۰/۰ ۱۷	۴۸۳/۰ ± ۰۳/۰
	۵۰ گرم در لیتر	۳۲۱/۰ ± ۰/۰ ۰۱	۲۴۶/۰ ± ۰/۰
	۱۰۰ گرم در لیتر	۲/۰ ± ۰/۰ ۱۵	۱۱/۰ ± ۰/۰ ۱۷

www.SID.ir
Archive of SID

الکتروفورز

با توجه به شکل ۱ و جدول ۷ ملاحظه می‌شود که اعمال تنش‌های شوری و خشکی به بذور در حال جوانه زنی منجر به تغییر در الگوی الکتروفورزی باندهای ۱، ۳ و ۷ (۶۲/۷، ۴۳/۳۵ و ۲۶/۶۸ کیلو دالتون) پروتئین شده است. البته تغییراتی نیز در ضخامت باندها در نمونه‌های مختلف نسبت به هم مشاهده می‌شود.

بحث

جو یکی از مقاوم‌ترین گیاهان زراعی به شوری است که سطح متوسط تحمل آن در حدود ۱۰/۲ گرم در لیتر NaCl است (۱۴، ۱۸) در تحقیقی که Flowersو همکاران بر روی ۲۴ ژنوتیپ جو انجام دادند قدرت تحمل رقم مقاوم سه برابر رقم حساس بود (۱۲). قدرت جوانه زنی رقم سهند نیز در بین چهار رقم نتیجه مشابه را نشان داد. البته باید توجه داشت که در شوری حاد (۲۰ گرم در لیتر) رقم سهند ۸۰ در صد ودر خشکی حاد (۱۵۰ گرم در لیتر) ۸۷ در صد جوانه زنی داشت که در مقایسه با کار دیگران در این زمینه بسیار قابل تامل است. در بررسی اسموریگولاتورها در ریشه وساقه دو رقم حساس ومقاوم در مرحله ده روزگی درتحت تنش خشکی براساس ظرفیت مزرعه به منظور بررسی سازگاری در شرایط کم آبی همانطوریکه انتظار می‌رفت (۱، ۵، ۱۳) میزان قندهای محلول در ریشه و ساقه هر دو رقم بسیا بالا رفت و این تغییرات در ریشه بسیار چشمگیر بود بطوریکه مقدارافزایش در سطح تنش F.C ۱/۴ در رقم CB ۸ برابر بود. در حالیکه در مورد پرولین میزان افزایش در ساقه ارقام چشمگیر بود بدین معنی که ارقام جو در شرایط تنش عمدتا قندهای محلول را در ریشه خود انباشته می‌کنند در حالیکه در ذرت (۲۲، ۲۴) و گندم (۱) عکس این بوده و پرولین بیشتر در ریشه انباشته می‌شود با توجه به نمودار(۳) میزان تراکم قند در رقم حساس به ۸ برابر مقدار اولیه آن رسید..آنزیم آلفاآمیلاز یکی ازفاکتورهای مهم در پیش برد فرایند جوانه زنی بوده که دارای چند ایزوزیم می‌باشد (۱۷، ۲۱) نتایج حاصل از مقایسه تغییرات فعالیت آنزیم آلفاآمیلاز در تحت تنش شوری و خشکی نشان می‌دهد که رقم سهند همیشه بر رقم CB برتری داشته، که این نتیجه با نتایج جوانه زنی کاملا مطابقت دارد. نقطه جالب توجه در مقایسه اثر دو روش ایجاد تنش بر روی فعالیت آنزیم در این است که در تنش خشکی شیب کاهش فعالیت در عین اینکه در دو رقم مشابه بوده اما نسبت به تنش شوری بسیار تند است. به عبارت دیگر خشکی دو برابر شوری فعالیت آنزیم را مهار می‌کند علت این امر را با توجه به کار Loreti و همکاران می‌توان چنین توجیه کرد که چون گلوکز خود محصول عمل این آنزیم بوده و وجود این ماده در محیط عمل آنزیم

شکل ۱: نتایج الکتروفورز پروتئین‌های قسمت بذری دانه رست‌های رقم سهند و CB

www.SID.ir

جدول ۶: آنالیز واریانس اثر فاکتورهای (رقم زراعی وسطح تنش) و اثرات متقابل آنها در فعالیت آلفا آمیلاز

منابع تغییرات	درجه آزادی	میانگین مربعات	
		فعالیت آلفا آمیلاز در شرایط شوری	فعالیت آلفا آمیلاز در شرایط خشکی
تکرار	۲	۰	۰/۰۰۱
فاکتورA (رقم زراعی)	۱	۰/۲۹۷□	۰/۰۶۱□
فاکتورB (سطح عامل موثر)	۲	۰/۰۴۶□	۰/۲۷۸□
(اثر متقابل رقم ×عامل) AB	۲	۰/۰۰۱□	۰/۰۰۵□
اشتباه	۱۰	۰/۰۰۱	۰

□و به ترتیب معنی دار در سطوح احتمال ۵ و۱درصد

جدول ۷: نتایج الکتروفورز پروتئین‌های قسمت بذری گیاهچه‌های چهار روزه دو رقم سهند و CB در شرایط

حرکت نسبی(RM)	وزن مولکولی (کیلو دالتون)	شماره ستون و تیمار											فاصله طی شده از ابتدای ژل	شماره باند
		۱۳	۱۲	۱۰	۹	۸	۶	۵	۴	۲	۱			
		CB	CB	CB	CB	CB	س	س	س	س	س			
		۱۰۰	۵۰	۱۴	۷	شاهد	۱۰۰	۵۰	۱۴	۷	شاهد			
۰/۱۴۶	۶۲/۷	*	*	*			*	*	*				۱/۳	۱
۰/۱۶۸	۵۷/۴۵	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*		۱/۵	۲
۰/۲۳۵	۴۳/۳۵	*	*	*			*		*				۲	۳
۰/۲۴۷	۴۱/۰۹	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*		۲/۵	۴
۰/۲۶۹	۳۷/۲۱	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*		۳	۵
۰/۲۹۲	۳۳/۴۷	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*		۴/۳	۶
۰/۳۲۵	۲۹/۶۸	*	*	*			*	*	*	*	*		۴/۸	۷
۰/۳۷	۲۳/۲	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*		۵	۸
۰/۴۹	۱۴/۶	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*		۵/۳	۹
۰/۵۹۵	۱۴/۴۴	*	*	*	*	*	*	*	*	*	*		۵/۵	۱۰

می‌تواند تولید آنزیم را به صورت پس خور کاهش دهد مطالعات آنها نشان می‌دهد که گلوکز نسخه برداری و سنتز پروتئین بی ثبات کننده mRNA آلفاآمیلازی را تحریک می‌کند (۱۷). بالا بودن در صد جوانه زنی ارقام در تنش خشکی نسبت به تنش شوری را نیز می‌توان با توجه به این واقعیت توجیه کرد لذا به نظر می‌رسد که در آزمایشات مطالعه تنش خشکی برای سنجش میزان فعالیت آنزیم آلفاآمیلاز بایستی به جای گلوکز از ترکیب دیگری استفاده شود.

با توجه به شکل ۱ ملاحظه می‌شود که اعمال تنشهای شوری و خشکی به بذور در حال جوانه زنی منجر به تغییر در الگوی الکتروفورزی باندهای ۱، ۳ و ۷ (۶۲/۷، ۴۳/۳۵ و ۲۶/۶۸ کیلو دالتون) شده است. فرضیه ی ما در انجام الکتروفورز این قسمت از بذور تحت تنش، این بود که تنش‌ها بر روی بیان ژنهای آنزیم‌ها بخصوص آنزیم‌های مهمی‌چون آمیلازها موثر خواهد بود چون در این قسمت از گیاهچه عمدتاً پروتئین‌های آنزیمی‌از لایه آلورون و به مقدار کمی‌از اسکوتلوم تولید و ترشح می‌شوند و از آنجایی که در شرایط مختلف همانطوری که در شکل (۱) مشاهده می‌گردد عمده تغییرات در حضور و عدم حضور باندها در محدوده ۴۳/۳۵ - ۶۲/۷ کیلو دالتونی بود. لذا استنباط می‌گردد که باندهای ظاهر شده در نمونه‌های تحت تنش، ناشی از تغییر در تولید نوع ایزوزیم‌های این گروه آنزیمی‌باشد.از طرفی می‌دانیم که وجود قندها در محیط رویشی (ایجاد کننده تنش خشکی) به عنوان سوبسترا عمل آمیلازها می‌تواند سطح تولید تعدادی از ایزوزیم‌های آمیلازی را با تشدید سنتز پروتئین بی ثبات کننده mRNA آمیلازی را کاهش دهد (۱۷). با قبول این فرضیه و با توجه به نتایج الکتروفورز رقم CB در شرایط تنش خشکی (۵۰ و ۱۰۰ گرم در لیتر گلوکز) می‌توان نتیجه گرفت که میزان این پروتئین در CB بیشتر از رقم سهند است و همین

www.SID.ir
Archive of SID

امـر می‌تواند کاهش فعالیت آمیلاز در CB وبه دنبال آن در صد جوانه زنی بسیار پایین CB در شرایط خشکی را توجیه کند. اما باید توجه داشت که برای چنین اسـتدلالی به طرح وتکرار آزمایشهای زیادی نیاز است.مشاهده نشـدن باند شـماره ۷ (۲۸/۶۸ کیلو دالتون) در نمونه‌های شاهد وتیمار ۷ گـرم در لیتر NaCl رقم CB مورد اختلاف عمده ای اسـت که بین دو رقم مشاهده می‌گردد.

سپاسگزاری

از کلیه افرادی که ما را در انجام این تحقیق یاری نموده اند کمال تشکر و قدر دانی را داریم.

منابع مورد استفاده

۱ - حیـدری، ر. و حیـدری‌زاده، م. ۱۳۸۰؛ ارزیابی مقاومت به خشـکی، شـوری، دما،تغییرات اسـیدیته و برسـی تغییـرات برخـی از شـاخصهای فیزیولوژیکی و بیوشـیمیایی در مرحله گیاهچه ای در چهار رقم گندم ایرانی. پایانامه کارشناسـی ارشد. دانشکده علوم، دانشگاه ارومیه.

۲ - نوجوان، م. ۱۳۷۷؛ آزمایش‌های فیزیولوژی گیاهی (۱)، ۳۰، دانشگاه ارومیه.

3- Akazawa,T.,Mitsui ,T. and Hayashi , M. , 1988; In the biochemistry of ح‌lants. Vol. 14 , ed. P. K. Stumpf and E. E. Conn. Academic press , New York, P. 456

4- Aziz,I.and M.A.Khan ,2001; Experimental assessment of salinity tolerance of ceriops tagal seedlings and saplings from the Indus Delta , Pakistan. Aquat.Bon.,70:259-268.

5- Blum, A. , 1988; Plant breeding for Stress environments. Boca Raton: CRC Press.

6- Bollage , D. M. , and Edelstin , S. J. , 1990; Protin methods Wiley – USS.

7- Brown,G.,and O.Jacobsen,1982; Genetic.basis and natural variation of a-amylase issozymes in barly.Genet.Res.40:315-324.

8- Cellier,F. Conejero,G.Breitler,J.,andCasse,F ,1998; Molecularand physiological response to water deficit in drought-tolerant and drought-sensitive lines of sunflower. Plant Physiology. 116: (319-328.).

9- Delauney AJ,Vema DPS , 1993; Proline biosynthesis and osmoregulatiom in plants. Plant J. 4.. 215– 223.

10- Dubois , M. , Gilles , k. and Hamilton , J. K , 1951; A colorimetric method for the determination of sugars. , Nature,London 168: 167.

11- Fincher,G.B. , 1989; Annual Review of Plant Physiology and Plan Molecular Biology 40 , 305.

12- Flowers T. G. and Hajibagheri M.A. , 2001; Salinity tolerrane in *Hordeum vulgare*:ion concentration in root cells of cultivars differing in salt tolerance. Plant and Soil.231: 1-9

13- Foyer,C.H.,Valadier,m-h.,Migge,A. and Becker,T.W. , 1998; Drought - induced efeccets on nitrate reductase activity and mRNA and on the coordination of nitrogen and carbon metabolism in maize leaves.Plant Physio.,117:283-292.

14- Jeschke D. and Wolf O., 1993; Importanse of mineral nutrient cycling for salinity tolerance of plants.In towards the rational use of high salinity tolerant plants , edited by H.Lieth and A. Al Masoom , pp. 265-278.London:K luwer Academic Publishers.

15- Laemmli, UK. 1970; Nature.227: 680-685

16- Lin,CH.,and Kao,CH. ,1995, NaCl Stress in rice seedling: Starch mobilization and the influence of gibberellic acid on seedling growth. Bot. Bull. Acad. Sin , 36: 169 – 173.

17- Loreti,E,Amedeo, A.,and Perata,P., 2000; Glucose and disaccharide - sensing mechanisms modulate the expression of alpha-amylase in barley embryos. Plant Physiology, vol.123, pp.939 - 948.

18- Maas E.v. , 1980 , Salt tolerance of plant.Agric. Res. , 1: 12-29.

19- Naidu,B.P.,Paleg,L.G.and G.P.Jones, 1992; Nitrogenous compatible solutes in drought stressed Medicago spp., Phytochemistry, 31:1195 - 1197.

20- Paul, E.,Verslues and Robert, E.,Sharp , 1999; Proline accumulation in maize primery roots at low water potentials.II.metabolic source of incread prolin deposition in the elongation zone.Plant Physiology,April.,vol.119PP.1349-1360.

21-Stewart,C.R, 1981; Proline acumulition:Biochemical aspect. In: Physiology and Biochemistry ofdrought resistance in Plants.,(Eds.):L.G.Paleg. and D. Aspinall.pp. 243-251

22- Subbarao,V.K. ,Datta,R. and Sharma ,R. , 1998; Amylases synthesis in scutellum and aleurone layer of maize seeds.Phytoc hemistry,vol.49, No.3, pp.657-666.

23-Takano,T.and G.Takeda, 1985; Polymorphism for a-amylase in germinatin barly varieties detected by isoelectric-focussing gel electrophoresis.Japan.

24- Verslues, P.E. and Sharp, R.E. , 1999; Proline accumulation in maize primery roots at low water potentials.II.Metabolic source of increased proline deposition in elongation zone. Plant Physio. ,119: 1349-1360.

25- Volaire,F.,Conejero,G. and Lelievre,F., 2001; Drought survival and dehydration tolerance in Dactylis glomerata and *Poa bulbosa*. Aust.J.Plantphysiol., 28:743-754

26-Yoshiba,Y.,T.Kiyosue,K.Nakashima, Y.Yamaguchi-Shinozaki and k. Shinozaki., 1997; Regulation of levels of proline as an osmolyte in plants under water stress.Plant & Cell Physiol.,38:1095-1102.

Archive of SID

www.SID.ir