

تغییرات قندهای محلول، نشاسته و پروتئین‌ها در اثر تنش خشکی در دو رقم نخود ایرانی (Cicer arietinum L.)

* مدلقا قربانی، ** مجید نوجوان، ** رضا حیدری، ** طبیبه فربودنیا

* گروه زیست‌شناسی دانشگاه تربیت معلم

** گروه زیست‌شناسی دانشگاه ارومیه

چکیده

در این تحقیق تغییرات قندهای محلول، نشاسته و پروتئین‌ها در اثر تنش خشکی در دو رقم نخود ایرانی، مشهور به «جم» و «کاکا» مورد بررسی قرار گرفت. نتایج حاصل از بررسی تغییرات قندهای محلول، نشان داد که قندهای مزبور، در اندام هوایی و ریشه، در دو مرحله رویشی و زایشی افزایش پیدا کردند و اختلاف میانگین درصد قندهای محلول در اندام هوایی دو رقم نخود معنی‌دار بود و رقم کاکا نسبت به جم از قندهای محلول بیشتری برخوردار بود. بر عکس میزان نشاسته در اثر تنش خشکی کاهش پیدا کرد. اختلاف میانگین مقدار نشاسته نیز در اندام هوایی معنی‌دار بود و رقم جم نسبت به کاکا از میزان نشاسته بیشتری برخوردار بود. اختلاف میانگین درصد نشاسته در ریشه و اندام هوایی در دو مرحله رشد رویشی و زایشی نیز معنی‌دار بود. بعلاوه این مطالعات نشان دادند که رقم کاکا از جم نسبت به تنش آبی مقاوم‌تر است. و سرانجام مطالعه الکتروفروگرام‌های به دست آمده تغییرات باندهای پروتئینی را در اثر تنش خشکی نشان می‌داد که در ریشه و اندام هوایی دو رقم نخود کاملاً مشهود بود.

مقدمه

نخود از گیاهان تیره بروانه آسا است و یکی از محصولات زراعی بسیار مهم محسوب می‌گردد. این گیاه در غرب ایران (آذربایجان، کردستان، کرمانشاهان) مناطق بسیار وسیعی را به صورت آبی و دیم زیرکشت دارد. نخود به عنوان گیاهی مقاوم در برابر تغییرات رطوبت محیط شناخته شده است و در شرایط کمبود آب، تغییرات فیزیولوژیکی، مورفولوژیکی همراه با تغییرات بیوشیمیایی متفاوتی را پذیرا می‌گردد.

در باب تأثیر تنش خشکی بر میزان تغییرات قندهای محلول و نشاسته، مطالعات و تحقیقات گسترده‌ای روی گیاه نخود (۳)، گوجه‌فرنگی (۶)، لوبيای چشم بلبلی (۱۰) ارقام مختلف گندم (۸) ژنتیپهای مختلف گندم زمستانه (۱۲) و ذرت (۱۴) انجام گرفته است.

در مطالعات اخیر که در زمینه واکنش مولکولی به تنش خشکی به عمل آمده، تغییرات پروتئینها در شرایط خشکی (در اثر کمبود آب) نشان داده شده و این تغییرات به عنوان عاملی مؤثر در جهت کمک به تنظیم و تعادل اسمزی در گیاه، ارزیابی گردیده است (۲).

با توجه به درصد بالای پروتئین در نخود، (۰.۱۸ - ۰.۲۵٪)، و نظر به اهمیت این محصول به عنوان یکی از حبوبات مهم در تغذیه انسان، ضرورت افزایش سطح زیرکشت و میزان تولید و مطالعه تغییرات بیوشیمیایی آن در اثر تنش خشکی، از اهمیت ویژه‌ای برخوردار است. برای تحقق این اهداف، تغییرات قندهای محلول، نشاسته، و همچنین تغییرات باندهای پروتئینی دو رقم نخود ایرانی، مشهور به «جم» و «کاکا» در اثر تنش خشکی، مورد مطالعه و ارزیابی قرار گرفت تا از این دیدگاه ارقام متتحمل به خشکی جهت کشت دیم و صرفه جویی در میزان مصرف آب مشخص و معروفی گردد.

مواد و روشها

بذر گیاهان از مؤسسه نهال و بذر استان آذربایجان غربی تهیه گردید. پس از جدا کردن بذرهای یکنواخت و استریل کردن آنها با هیپوکلریت سدیم ۳٪ به مدت ده دقیقه و خیساندن در آب مقطر استریل به مدت ۶ ساعت، در هر گلدان ۱/۵ لیتری محتوی خاک یک دانه بذر کشت گردید. گلدانها در شرایط طبیعی، بیرون از گلخانه قرار گرفتند و مرتب‌آبیاری شدند (۵). بررسی در دو مرحله رویشی و زایشی انجام گرفت. در مرحله رویشی گیاهان ۲۰ روزه و در مرحله زایشی گیاهان پس از آغاز گلدهی (موقعی که گیاهان ۴۵ روزه بودند) مورد استفاده قرار گرفتند. مدت آزمایش برای هر دو گروه سه هفته و شرایط آزمایش مشابه بود.

برای شروع آزمایش از بین ۵۰ گلدان کشت شده تعداد ۲۰ گلدان با گیاهان یکسان و مشابه از نظر شکل و اندازه و

انشعابات فرعی انتخاب و با استفاده از طرح اعداد تصادفی (راندم) بین ۵ تیمار مختلف آبی، هر کدام با چهار تکرار تقسیم گردید. مقدار آب گیاهان براساس ظرفیت زراعی (۱) خاک مورد استفاده در گلدانهای گیاهان مورد مطالعه تعیین شد (۴). مقدار آب ظرفیت زراعی خاک مورد نظر ۲۵۰ میلی لیتر به دست آمد و گیاهان شاهد، هر سه روز یک بار، معادل ۲۵۰ میلی لیتر آب دریافت کردند ($F.C. = \frac{250\text{ml}}{5}$). گیاهان تیمارهای بعدی به ترتیب روز یک بار، معادل $\frac{2}{5} F.C.$ و $\frac{3}{5} F.C.$ ، یعنی معادل ۱۵۰، ۱۰۰، ۵۰، صفر میلی لیتر، آب دریافت کردند و این مقدار آب هر سه روز یک بار به هر کدام از تیمارهای مورد نظر داده شد. بعد از پایان آزمایش، اندام هوایی و ریشه از هم جدا گردید و به طور جداگانه توزین و به مدت ۲۴ ساعت در ۱۰۵ درجه سانتی گراد تا رسیدن به وزن ثابت خشک گردید. از این ماده خشک اندام هوایی و ریشه گیاهان برای اندازه گیری قندهای محلول و نشاسته استفاده شد.

روش استخراج قندهای محلول نمونه‌های گیاهی

برای این منظور ۱/۰ گرم از ماده خشک اندام گیاهی (ریشه و اندام هوایی جدا از هم و سائیده و آماده شده) را با ترازوی دقیق (۱/۰۰۰ گرم) وزن می‌کنیم و در لوله آزمایش می‌ریزیم و با افزودن ۱۰ میلی لیتر اتانول ۷۰٪، به مدت یک هفته در یخچال قرار می‌دهیم. پس از یک هفته از محلول رویی، برای اندازه گیری قندهای محلول، استفاده می‌کنیم.

اندازه گیری قندهای محلول

به روش فتل سولفوریک (Kuchert 1978) که مبتنی است بر آبگیری قندهای محلول، تشکیل ترکیب فورفورال که با فتل تولید کمپلکس رنگی می‌کند، انجام گرفت و شدت رنگ کمپلکس حاصل به وسیله دستگاه اسپکتروفتومتر زاید مدل DM4 در طول موج ۴۸۵ نانومتر تعیین گردید. به منظور تعیین و ارزیابی کمی قندهای محلول در نمونه‌ها، از منحنی استاندارد و با به کارگیری غلظتها معلوم گلوكز استفاده شد.

روش استخراج نشاسته

محلول اتانول حاوی قندهای محلول پیش گفته را صاف می‌کنیم و از رسوب باقی مانده بروی کاغذ صافی، برای اندازه گیری مقدار نشاسته در نمونه‌های گیاهی استفاده می‌کنیم. پس از خشک کردن رسوب وزن آن را تعیین می‌کنیم و آن را در لوله آزمایش می‌ریزیم و با افزودن ۱۰ میلی لیتر

آب مقطر، ۱۵ دقیقه درین ماری آب جوش قرار می‌دهیم. سپس محلول را صاف می‌کنیم و از محلول صاف شده برای اندازه‌گیری نشاسته استفاده می‌کنیم دوش کار همان است که در قندهای محلول انجام شد (روش فنل سولفوریک).

اندازه‌گیری مقدار نشاسته

اندازه‌گیری مقدار نشاسته نیز، مانند قندهای محلول، براساس روش فنل سولفوریک انجام گرفت.

روش استخراج عصاره پروتئین از بافت‌های گیاهی

برای استخراج از بافر تریس - بوریک ۰.۰۹ با PH = ۸.۴ استفاده می‌شود.

Tris 0.09 mol

Boric acid 0.08 mol

Na₂ EDTA 0.93 g/lit

صد میلی‌گرم از ماده‌تر برگ در یک ظرف محتوی یخ قرار می‌گیرد. به هریک از نمونه‌های برگی $\frac{1}{4}$ میلی‌لیتر محلول بافتریس - بوریک که طبق فرمول فوق تهیه شده است اضافه می‌شود. غلظت آن با افزودن $\frac{1}{4}$ میلی‌لیتر محلول ساکارز برای جلوگیری از دیفوژیون نمونه محافظت بافر (Fretz & Kuhns: 1978) افزوده می‌شود. بافت‌تر گیاهی به خوبی در یک هاون چینی خرد می‌شود، برای آن که بافت کاملاً له شود ۳ میکرولیتر مرکاپتواتانل امین و ۲ میلی‌گرم اسکوریک اسید به آن اضافه می‌گردد اکنون یک ترکیب هموژن به دست می‌آید. این ترکیب برای مدت ده دقیقه در (۱۰۰۰g) سانتریفیوژ شده محلول بالایی با پیپت Pasteur کشیده می‌شود .(Leonard R.L & et. al 1981)

مطالعه تغییرات پروتئینی

جهت مطالعه تغییرات باندهای الکتروفورزی در نمونه‌های تحت تنفس و مقایسه آنها با باندهای الکتروفورزی گیاه شاهد از نمونه‌های ترو و باروش SDS-Page استفاده گردید. در این روش ابتدا با استفاده از اوره ۹M پیوندهای دی‌سولفید ساختمان چهارم پروتئینی قطع شده و سپس هر کدام از زنجیره‌ها با به کارگیری ۳٪ مرکاپتواتانل امین (Leonard R.L & et. al 1981) بعزم خطی تبدیل می‌گردد. برای انتقال زنجیره‌های پلی‌پیتیدی از دستگاه

الکتروفورز مدل (PS-1002 اختریان) روی ژل پلی اکریل امید استفاده شد.

نتایج

تجزیه و تحلیل آماری نتایج نشان داد که:

قندهای محلول در اثر تنش خشکی در اندام هوایی و ریشه هر دو رقم نخود متناسب با شدت تنش افزایش یافته است (شکل ۱ و جدول ۱).

اختلاف میانگین درصد قندهای محلول در اندام هوایی و ریشه دو رقم معنی دار بود و رقم کاکا نسبت به رقم جم از مقدار قند بیشتری برخوردار بود (هیستوگرام ۱).

مقایسه شبیه تغییرات قندهای محلول در اندام هوایی و ریشه دو رقم و دو مرحله رشد با همدیگر در شکلهای (۲) و (۳) نشان داده شده است.

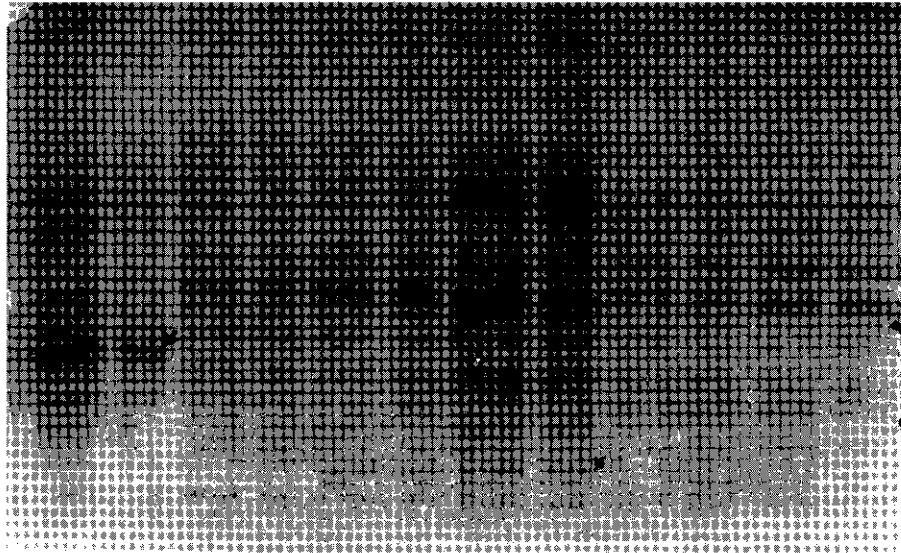
نشاسته

تنش خشکی باعث کاهش میزان نشاسته در اندام هوایی و ریشه نخود شد شکل (۴) و جدول (۲). اختلاف میانگین درصد نشاسته اندام هوایی دو رقم معنی دار بود و رقم جم نسبت به کاکا نشاسته بیشتری داشت. نگاه کنید: (هیستوگرام ۲، الف).

اختلاف میانگین نشاسته در ریشه و اندام هوایی در مرحله زایشی به وجه بسیار متمايزی بیشتر از مرحله رویشی بود (هیستوگرام ۲، ب و ج). مقایسه شبیه تغییرات نشاسته دو رقم نخود و در دو مرحله رشد در شکلهای (۵) و (۶) نشان داده شده است.

نتیجه الکتروفورز پروتئینها را در تصویر (۱) که تغییرات باندهای پروتئینی نمونه های تحت تیمارهای مختلف در مقایسه با شاهد در آن علامت گذاری گردیده است، می توان مشاهده کرد.

۱۲ ۱۱ ۱۰ ۹ ۸ ۷ ۶ ۵ ۴ ۳ ۲ ۱



تصویر ۱- تغییر باندهای پروتئینی در دو رقم نخود (جم و کاکا) تحت تنفس خشکی

ترتیب باندهای پروتئینی انواع نمونه‌های گیاهی تحت تیمارهای مختلف آبی در تصویر بالا عبارتند از:

شدت تنفس	نام رقم	شماره ستونها
۰ ۵ ظرفیت زراعی (تنفس شدید)	جم	۱ و ۲
۰ ۵ ظرفیت زراعی (تنفس ملایم)	جم	۴ و ۳
۰ ۵ ظرفیت زراعی (شاهد)	جم	۶ و ۵
۰ ۵ ظرفیت زراعی (تنفس شدید)	کاکا	۸ و ۷
۰ ۵ ظرفیت زراعی (تنفس ملایم)	کاکا	۱۰ و ۹
۰ ۵ ظرفیت زراعی (شاهد)	کاکا	۱۲ و ۱۱

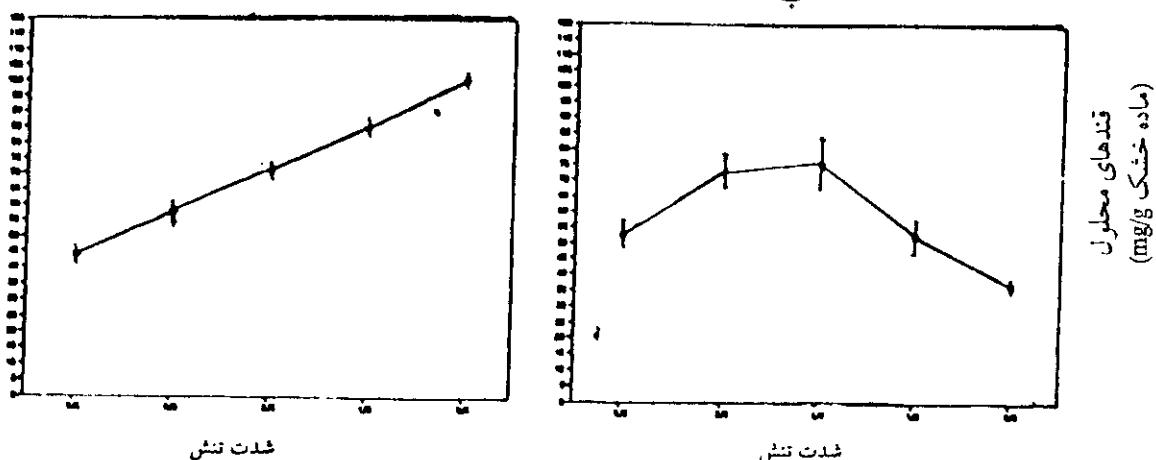
جدول ۱- اثر تنش آبی بر تغییرات قندهای محلول ساقه و ب ریشه در رتم نخود. (ماده خشک g/g)

قندهای محلول ساقه الف

شناسنامه	شدت تنش	مرحله رویشی میانگین ± SE	مرحله زایشی میانگین ± SE
۱	ظرفیت زراعی $\frac{۰}{۵}$	۹۶/۷۲۰ ± ۱/۱۲۲۴	۹۶/۱۳۰ ± ۰/۴۴۹
	ظرفیت زراعی $\frac{۱}{۵}$	۸۴/۸۸۵ ± ۱/۲۳۲	۸۰/۰۷۰ ± ۰/۴۴۸۲
	ظرفیت زراعی $\frac{۲}{۵}$	۷۱/۰۷۰ ± ۱/۴۰۰۶	۶۷/۴۶۵ ± ۱/۷۷۰۲
	ظرفیت زراعی $\frac{۳}{۵}$	۵۷/۱۶۵ ± ۱/۱۶۱۸	۵۳/۷۲۰ ± ۲/۴۶۲۶
	ظرفیت زراعی $\frac{۴}{۵}$	۴۰/۱۹۰ ± ۱/۳۰۸۲	۳۹/۷۳۰ ± ۰/۶۶۴۲
	ظرفیت زراعی $\frac{۰}{۵}$	۱۰۸/۵۶۰ ± ۱/۹۱۱	۱۰۲/۴۸ ± ۱/۲۲۶۴
	ظرفیت زراعی $\frac{۱}{۵}$	۸۲/۵۰۰ ± ۲/۶۸۶۴	۹۲/۹۰۰ ± ۰/۵۱۶۶
	ظرفیت زراعی $\frac{۲}{۵}$	۷۳/۰۴۵ ± ۱/۱۱۳۶	۷۳/۸۶۰ ± ۱/۰۷۴
	ظرفیت زراعی $\frac{۳}{۵}$	۶۲/۱۹۰ ± ۲/۷۱۷۲	۵۹/۳۷۰ ± ۰/۷۰۰۲
	ظرفیت زراعی $\frac{۴}{۵}$	۴۸/۳۴۵ ± ۰/۰۵۳۵	۴۳/۴۲۰ ± ۲/۲۲۷

قندهای محلول ریشه ب

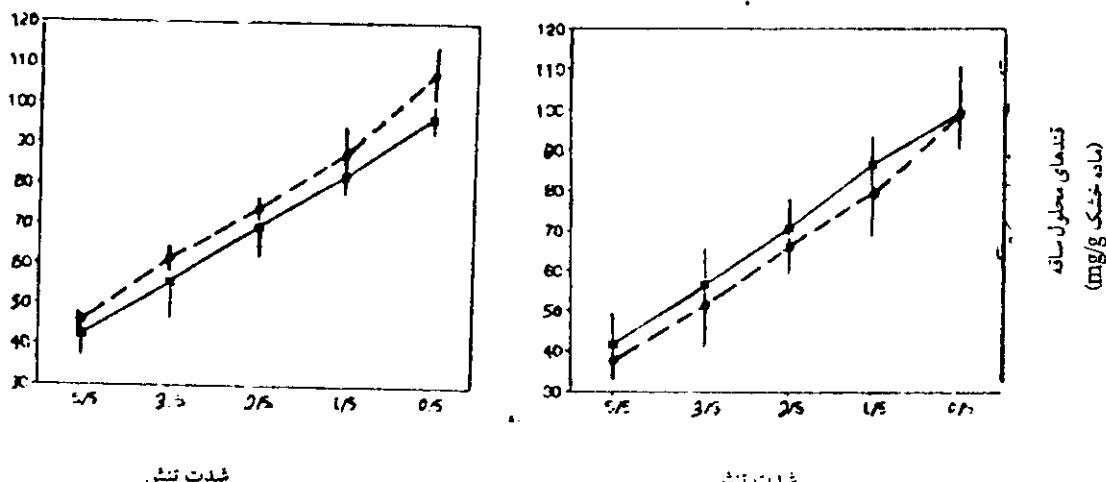
شناسنامه	سطوح	مرحله رویشی میانگین ± SE	مرحله زایشی میانگین ± SE
۲	ظرفیت زراعی $\frac{۰}{۵}$	۴۳/۶۷۶۰۰ ± ۲/۲۴۸۴	۲۹/۲۰۴۰۰ ± ۱/۷۴۳۱۷
	ظرفیت زراعی $\frac{۱}{۵}$	۶۴/۶۹۶۰۰ ± ۲/۰۶۶۱۴	۳۲/۶۶۴۰۰ ± ۲/۳۵۶۸۸
	ظرفیت زراعی $\frac{۲}{۵}$	۷۵/۲۴۸۰۰ ± ۲/۰۸۴۳۷	۴۹/۹۴۴۰۰ ± ۲/۰۱۵۰۲
	ظرفیت زراعی $\frac{۳}{۵}$	۸۶/۹۸۸۰۰ ± ۲/۹۰۹۰۸	۶۳/۹۴۴۰۰ ± ۳/۴۴۰۹۷
	ظرفیت زراعی $\frac{۴}{۵}$	۶۲/۸۲۰۰۰ ± ۴/۱۸۹۹۱	۴۵/۴۹۲۰۰ ± ۳/۴۲۷۵۵
	ظرفیت زراعی $\frac{۰}{۵}$	۴۲/۲۸۰۰۰ ± ۲/۰۲۷۳۲	۳۶/۷۷۶۰۰ ± ۱/۹۴۴۶۱
	ظرفیت زراعی $\frac{۱}{۵}$	۴۹/۰۱۲۰۰ ± ۳/۰۷۱۰۰	۶۰/۰۷۲۰۰ ± ۶/۷۳۰۷۴
	ظرفیت زراعی $\frac{۲}{۵}$	۹۸/۰۳۶۰۰ ± ۹/۸۰۳۵۸	۸۱/۹۴۰۰۰ ± ۸/۳۵۶۳۹
	ظرفیت زراعی $\frac{۳}{۵}$	۸۳/۴۲۶۰۰ ± ۸/۴۷۷۱۸	۵۲/۲۸۴۰۰ ± ۶/۲۸۴۰۲
	ظرفیت زراعی $\frac{۴}{۵}$	۵۷/۰۷۰۹۹ ± ۳/۱۳۸۶۹	۴۶/۲۸۰۰۰ ± ۴/۰۸۳۱۲



شکل ۱- اثر تنش آبی بر تغییرات قندهای محلول در الف: در ساقه و ب: در ریشه نخود.

الف

ب



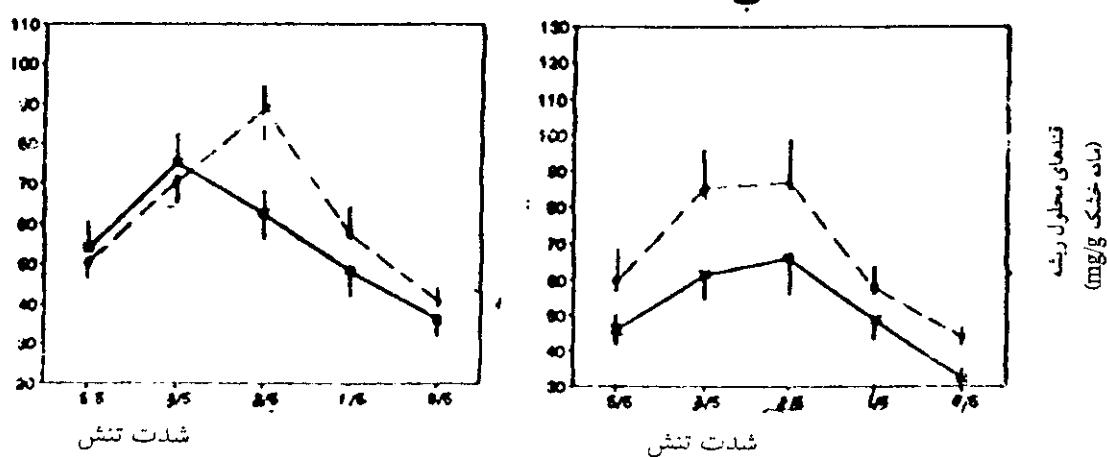
شدت تنش

شدت تنش

شکل ۲- مقایسه اثر تنش آبی بر تغییرات قندهای محلول الف: در ساقه دو رقم (.....) کاکا و (—■—) جم، ب: دو مرحله رشد (—■—) رویشی و (—○—) زایشی

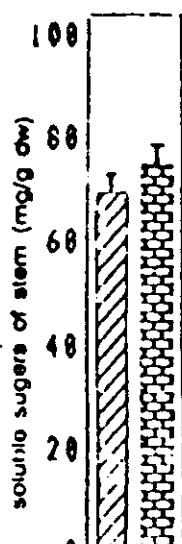
الف

ب



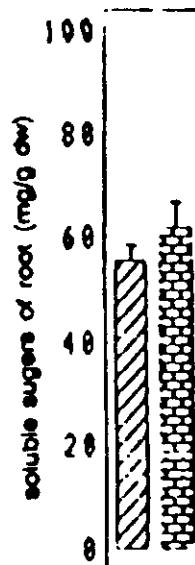
شکل ۳- مقایسه اثر تنش آبی بر تغییرات قندهای محلول الف: در ریشه دو رقم (.....) کاکا و (—■—) جم، ب: دو مرحله رشد (—) زایشی و (—■—) رویشی. بارهای عمودی نشانگر (انحراف استاندارد ± میانگین) است.

الف

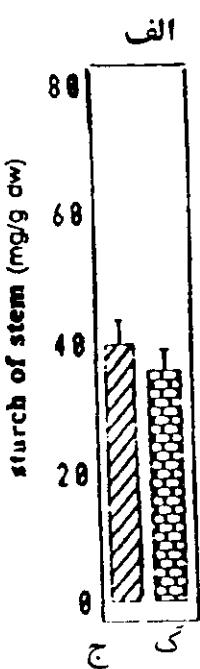


ک ج

ب

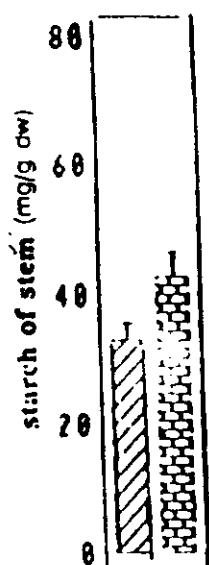


ک ج

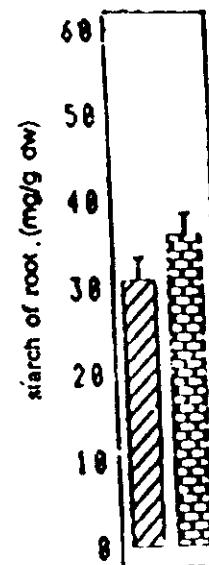


ج ک

ب



ج



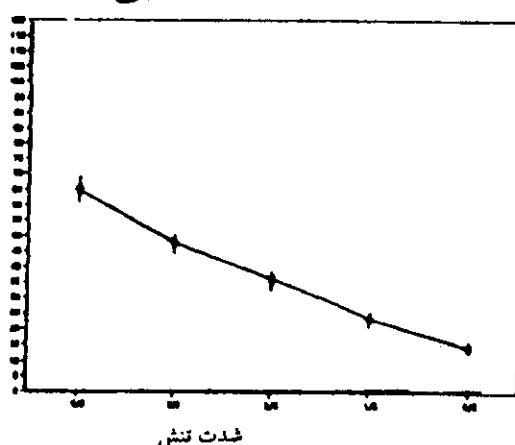
ج

هیستوگرام شماره (۱): مقایسه میانگین کل قندهای محلول در: الف: ساقه و ب: ریشه ، دو رقم نخود. (ک: کاکا، ج: جم).

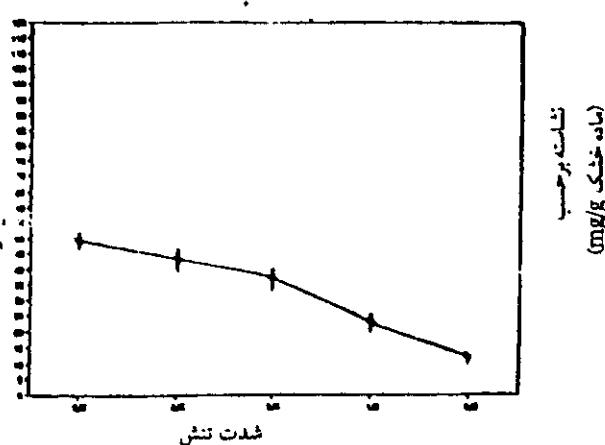
هیستوگرام شماره (۲): مقایسه میانگین کل نشاسته در اندازه هوابی الف: دو رقم نخود جم و کاکا. ب: در اندازه هوایی و ج: در ریشه نخود در دو مرحله رشد ۱: رویشه ۲: زایشی.

بارهای عمودی نشانگر انحراف استاندارد \pm میانگین (Mean \pm SE) است.

الف

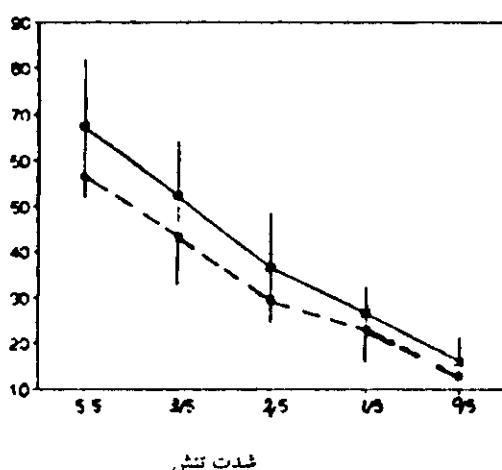


ب

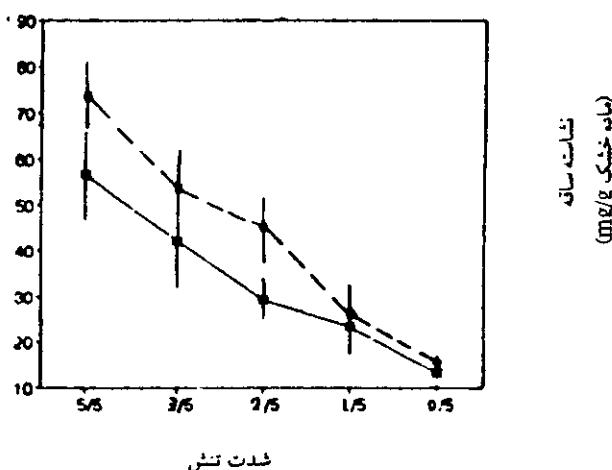


شکل ۲- اثر نتش آبی بر تغییرات نشاسته (الف): در ساقه و ب: در روشه نخود.

الف

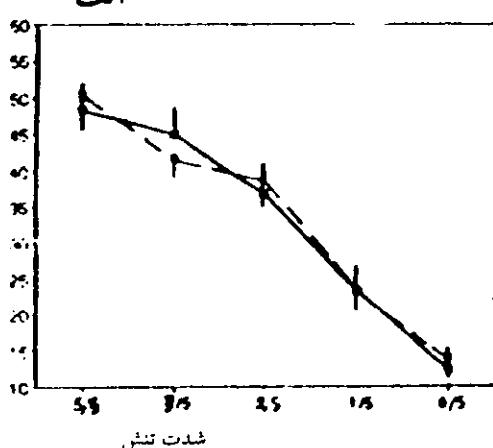


ب

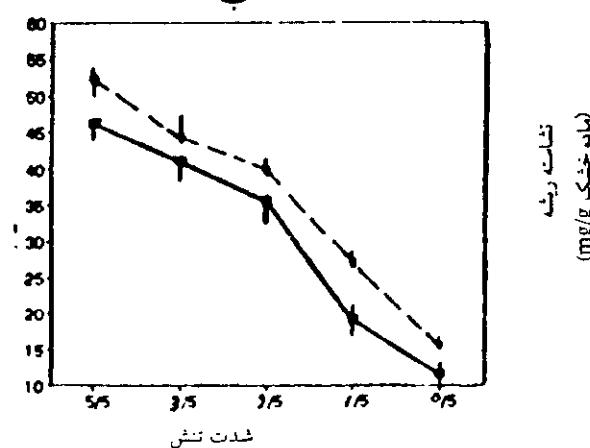


شکل ۳- مقایسه اثر نتش آبی بر تغییرات نشاسته در ساقه الف: در ساقه در رقم (—) کاکاو (■—■—■) جم، ب: در مرحله رشد (—) زایشی و (■—■—■) رویشی.

الف



ب



شکل ۴- مقایسه اثر نتش آبی بر تغییرات نشاسته در ساقه الف: در ساقه در رقم (—) کاکاو (■—■—■) جم، ب: در مرحله رشد (—) زایشی و (■—■—■) رویشی.

جدول ۲- اثر تنش آبی بر تغییرات نشاسته در الف: ساقه و ب: ریشه دور قم نخود.

(ماده خنک mg/g)

الف

مرحله زایشی ± SE	مرحله رویشی ± میانگین ± SE	سطوح نشانش	نشاسته ساقه
۱۶/۱۷۰۸۳ ± ۰/۴۷۷۷۶	۱۵/۰۹۳۷۵ ± ۱/۴۸۲۰۹	ظرفیت زراعی $\frac{۰}{۵}$	
۲۰/۰۴۱۶۷ ± ۱/۰۰۰۱۲	۲۷/۹۳۱۲۵ ± ۸/۰۱۰۶۹	ظرفیت زراعی $\frac{۱}{۵}$	
۴۶/۴۹۵۸۳ ± ۱/۶۸۴۸۱	۲۶/۶۵۰۰۰ ± ۰/۳۲۹۳۵	ظرفیت زراعی $\frac{۲}{۵}$	
۵۷/۶۹۳۷۵ ± ۱/۳۹۷۸۴	۴۶/۸۰۶۲۵ ± ۲/۶۷۲۶۲	ظرفیت زراعی $\frac{۳}{۵}$	
۷۵/۲۶۶۶۷ ± ۲/۲۳۸۰۶	۵۹/۳۱۸۷۵ ± ۲/۰۷۴۲۸	ظرفیت زراعی $\frac{۴}{۵}$	
۱۴/۹۹۱۶۷ ± ۰/۷۱۲۸۴	۱۰/۸۴۴۷۵ ± ۰/۲۳۴۷۸	ظرفیت زراعی $\frac{۰}{۵}$	
۲۳/۸۷۹۱۷ ± ۱/۲۱۰۷۸	۱۸/۴۹۳۷۵ ± ۰/۸۷۹۶۸	ظرفیت زراعی $\frac{۱}{۵}$	
۴۲/۸۰۶۲۵ ± ۱/۰۶۸۰۲	۳۱/۸۸۷۵۰ ± ۰/۹۷۹۵۶	ظرفیت زراعی $\frac{۲}{۵}$	
۵۰/۲۱۲۵ ± ۰/۸۰۳۴۹	۳۷/۸۰۰۰۰ ± ۱/۰۸۳۲۴	ظرفیت زراعی $\frac{۳}{۵}$	
۷۲/۹۴۱۶۷ ± ۰/۸۶۹۴۴	۵۳/۸۲۳۳۳ ± ۰/۶۰۷۵۸	ظرفیت زراعی $\frac{۴}{۵}$	

ب

مرحله زایشی ± میانگین ± SE	مرحله رویشی ± میانگین ± SE	سطوح نشانش	نشاسته ریشه
۱۲/۱۸۹۵۸ ± ۰/۴۰۵۴۵	۱۲/۱۸۱۲۵ ± ۰/۴۶۴۵۶	ظرفیت زراعی $\frac{۰}{۵}$	
۲۷/۶۰۲۰۸ ± ۰/۶۷۰۹۸	۱۸/۸۹۳۷۵ ± ۱/۳۴۸۰۴	ظرفیت زراعی $\frac{۱}{۵}$	
۴۱/۰۶۲۵۰ ± ۱/۲۹۰۶۶	۳۲/۷۵۴۱۷ ± ۱/۱۴۹۰۸	ظرفیت زراعی $\frac{۲}{۵}$	
۴۸/۷۱۲۵ ± ۲/۴۰۰۶۱	۴۱/۲۶۸۷۵ ± ۰/۴۶۷۱۴	ظرفیت زراعی $\frac{۳}{۵}$	
۵۳/۰۷۹۱۶ ± ۰/۴۳۱۱۵	۴۳/۴۳۱۲۵ ± ۰/۴۱۰۴۲	ظرفیت زراعی $\frac{۴}{۵}$	
۱۶/۶۹۳۷۵ ± ۰/۱۹۲۴۷	۱۰/۷۶۸۷۵ ± ۰/۳۱۳۵۵	ظرفیت زراعی $\frac{۰}{۵}$	
۲۹/۶۰۰۰۰ ± ۰/۷۰۳۴۶	۱۹/۰۱۴۵۸ ± ۰/۶۸۰۶۱	ظرفیت زراعی $\frac{۱}{۵}$	
۳۸/۸۳۱۲۵ ± ۰/۴۴۷۴	۳۸/۳۹۵۸۳ ± ۱/۸۴۳۰۶	ظرفیت زراعی $\frac{۲}{۵}$	
۴۱/۱۰۶۲۵ ± ۰/۴۶۹۲۴	۴۱/۲۸۰۴۲ ± ۱/۸۳۴۹۸	ظرفیت زراعی $\frac{۳}{۵}$	
۵۲/۰۳۷۰۰ ± ۰/۳۷۰۰۰	۴۹/۰۱۲۵۰ ± ۱/۰۷۰۷۸	ظرفیت زراعی $\frac{۴}{۵}$	

بحث و تفسیر

بررسی نتایج حاصل از آنالیز واریانس مربوط به تغییرات قندهای محلول نشان داد که مقدار قندهای محلول ریشه و اندام هوایی گیاه نخود در اثر تنفس خشکی افزایش یافته است. این نتیجه با نتایج بررسی های انجام گرفته بر روی گیاه نخود (۳)، گوجه فرنگی (۶)، لوبیا چشم بلبلی (۱۰)، ارقام مختلف گندم (۸)، ژنوتیپهای مختلف گندم زمستانه (۱۲) و ذرت (۱۴) تأیید می گردد. این افزایش را یکی از عوامل مؤثر در جهت تنظیم اسمزی گیاه و یکی از مکانیسم های مقاومت در برابر خشکی شناخته اند (۳، ۸، ۱۲، ۱۴).

البته در بررسی های دقیق تر، تغییرات انواع قندهای محلول نیز مورد توجه قرار گرفته و مشخص گردیده است که هر یک از آنها، مانند گلوکز و فروکتوز، در گیاهان مختلف تغییرات گوناگونی پیدا کرده و سهم آنها در تنظیم اسمزی گیاهان مختلف متفاوت است (۸ و ۱۲ و ۱۴).

افزایش قندهای محلول در اثر تنفس خشکی را ناشی از هیدرولیز نشاسته می دانند و معمولاً افزایش قندهای محلول با کاهش نشاسته و در بعضی موارد کاهش ساکاراز همراه است و همزمان با افزایش قندهای محلول فعالیت آنزیم های هیدرولیز کننده مانند الفا - آمیلاز و انورتاز که به ترتیب نشاسته و ساکاراز را تجزیه می کنند، نیز افزایش نشان می دهد (۸ و ۱۰). افزایش قندهای محلول خود یکی از دلائل افزایش فشار اسمزی داخلی گیاه است که سعی دارد در شرایط کم آبی فشار اسمزی محیطی را خشکی و حتی الامکان آب موجود در خاک را جذب نماید.

در ریشه نیز قندهای محلول در اثر تنفس خشکی افزایش می یابد ولی این افزایش مناسب با شدت تنفس نیست، چنانکه در تنفس شدید میزان قندهای محلول کاهش داشته اند و این تغییر احتمال دارد بر اثر کاهش فعالیت ریشه و تقلیل متابولیسم کربوهیدراتها در اثر تنفس شدید و در نتیجه کاهش نقل و انتقال قندها در آوندهای آبکشی باشد (۱۷).

اختلاف میانگین تغییرات قندهای محلول دو رقم در اندام هوایی معنی دار بوده است و مقایسه میانگین ها نشان می دهد که رقم کاکا نسبت به رقم جم قندهای محلول بیشتری دارد. از آنجاکه رقم کاکا بنا به بسیاری از شاخص های برآورده شده میزان ماده سازی و سرعت رشد نسبی و محتوای نسبی آب (منتشر نشده) مقاومت از رقم جم است بنابراین می توان گفت تجمع بیشتر قندهای محلول، یکی از

عوامل مؤثر در تنظیم و تطبیق اسmezی بهتر این گیاه و در نتیجه افزایش مقاومت آن در برابر تنفس بوده است.

مطالعاتی که قبلاً در این مورد بروی گیاهان مختلف انجام گرفته نشان داده است که انواع مقاومتر نسبت به انواع حساس از افزایش قندهای محلول بیشتری برخوردار بوده‌اند (۸ و ۱۰).

نتایج بررسی تغییرات نشاسته نشان می‌دهد که بر عکس قندهای محلول، نشاسته اندامهای هوایی و ریشه گیاه نخود در اثر تنفس خشکی کاهش می‌یابد و این نتیجه با نتایج مطالعات انجام شده در این مورد نیز مطابقت دارد (۱۰). علت این امر را هیدرولیز آنزیمی نشاسته در شرایط تنفس می‌دانند؛ زیرا همزمان با کاهش نشاسته، افزایش فعالیت آنزیمهای هیدرولیز کننده (آ-امیلاز) نیز دیده می‌شود (۱۰). همچنین اختلاف میانگین هر دو رقم و در مرحله رشد معنی‌دار بود و به طور کلی رقم جم نسبت به کاکا و مرحله زایشی نسبت به مرحله رویشی از مقدار نشاسته بیشتری برخوردار بوده‌اند.

در مورد تغییرات پروتئینها در اثر تنفس خشکی نیز مطالعات زیادی به عمل آمده و کاهش پروتئینهای محلول در اثر تنفس خشکی نشان داده شده است که علت آن را، کاهش سنتز پروتئینها در شرایط خشکی (۱۱ و ۱۴ و ۱۶) و یا تجزیه پروتئینها به علت افزایش فعالیت آنزیمهای پروتئاز (۲، ۷ و ۱۶) می‌دانند.

مطالعات انجام گرفته بروی گیاهان گندم و ذرت نشان داده است که این کاهش بر اثر کم شدن همه پروتئینهای محلول، در تمام گیاهان نیست بلکه بعضی از پروتئینها که بر حسب نوع گیاه متفاوتند، تغییر می‌کنند و به عبارت دیگر تجزیه انتخابی پروتئینها صورت می‌گیرد (۱۱). چنانکه مطالعات انجام گرفته بروی گیاه اسفناج نشان داده که سنتز پروتئینی ۸۵ کیلوالتونی (۱۴) و همچنین در کشت‌های سلولی توتون، پروتئین ۲۶ کیلوالتونی در شرایط تنفس خشکی تحریک شده و مقدار آنها افزایش می‌یابد (۱۳). در بررسی اثر تنفس خشکی بروی گیاه نخود نیز نتایج مشابهی به دست آمده است (۷).

در مطالعات اخیر در زمینه واکنش مولکولی به کمبود آب، تعدادی از محصولات ژنهای تحریک شده بر اثر کمبود آب با توجه به ویژگیهای اسیدهای امینه تشکیل دهنده آنها شناخته شده و چنین استنباط می‌گردد که تغییرات حاصل، ساختمانهای سلولی را از اثرات کاهش آب حفاظت می‌نمایند. این

ڙنها را ڙنهای LEA^(۱) (اولین بار در دانه‌های در حال رشد دیده شده) نامیده‌اند و تشخیص داده شده که این ڙنها در بافت‌های رویشی در شرایط کاهش آب ناشی از تنفس خشکی، شوری و دماهای پائین نیز دیده می‌شوند. پروتئینهای مربوطه را پروتئینهای لی نامگذاری کرده‌اند. اسیدهای امینه به کار رفته در ساختمان این پروتئینها به شدت آبدوست بوده و باعث نگهداری آب در شرایط کمبود آب و همچنین باعث تجمع و نگهداری یونها در اثر تنفس خشکی می‌گردد. این فرایند موجب حفظ پروتئینهای ساختمانهای غشایی و بازگردانیدن حالت طبیعی پروتئینهای باز شده می‌شوند و در واقع تغییرات پروتئینهای گیاهی چنانکه در این آزمایش نیز نشان داده شده، در جهت افزایش قدرت مقاومت گیاه در برابر کم آبی است (۲).

سپاسگزاری : بدینوسیله از زحمات و همکاری آقای صیفی کارشناس آمار و آقای رشید جامع کارشناس آزمایشگاه بیوشیمی دانشکده علوم دانشگاه ارومیه، صمیمانه سپاسگزاری می‌شود.

1. LEA: late Embryogenesis Abundant gene

منابع مورد استفاده

1. Antolin M.C & Sonchez Diaz M. Effects of Temporary droughts on photosynthesis of Alfalfa plants. *J. of experimental Botany* Vol.44, No. 265. (1993), 1341-1349.
2. Bray A. Elizabeth. Molecular responses to water deficit. *Plant Physiology*. 103. (1993), 1035-1040.
3. Clive W. Ford. Accumulation of low molecular weight solutes in water stressed tropical legumes. *Phytochemistry*, Vol. 23, No. 5 , (1984), 1007-1015 .
4. Covell S. Ellis, R.H., Robert E. & Summerfield. The influence of temperature on seed germination rate in grain legumes. *J. of experimental Botany*, Vol. 37, No. 183. (1985), 1503-1515.
5. Elnadi A.H. Water relations of beans, effects of water stress on growth and flowering (*Vicia, faba*). *Expl. Agric* (5). (1969), 195-207.
6. Handa, Sangita, Ray, Bressan, Auror. K. Handa & Nicolas C. Carpita & paul M.Hasegawa. Solutes Contributing to osmotic, adjustment in Cultured plant cell adapted to water stress. *Plant Physiol.* 73(3). (1983), 834-843.
7. Josef Francisco monoz, Emilia fabrador & Berta Dopico. Effect of water (osmotic) stress on the growth of epicotyles of *Cicer arietinum* in relation to changes in the autolytic process and glycan hydrolytic cell wall enzymes. *Physiologia planatarum*. 87 4, (1993), 544-551.
8. Kameli, A & D.M. losel. Carbohydrates and water stress in wheat plants under water stress. *New phytologist* 125(3); (1993), 609-614.
9. Kaur, Amargit, L.S. Sheoran & Randhir Singh. Effect of water stress on the enzymes of Nitrogen metabolism in Mung bean (*Vigna radiata*) nodules. *Plant cell environ* 8(3); (1985), 195-200.

10. Keller F. and Ludlow. Carbohydrate metabolism in drought-stressed leaves of pigeonpea (*Cajanus Cajan*) J. of Experimental Botany Vol. 44. No. 265. (1993), 1351-1359 .
11. Luna, Marcella, Mourisia, Badiani, Marcella, Filici France Actimi & G.Gio, vannozzi semanii. Selective enzyme activation under water stress in Maize (*Zea mays*) and wheat (*Triticum aestivum*) seedlings. Environ exp. Biol.25(2): Vol. 25. No. 2, (1985), 153-156.
12. Martin M.F. Micili, J.A. Morgan M.Scalet & G. Zerbi. Synthesis of osmotically active substances in winter wheat leaves as related to drought resistance of different genotypes. J. of Agronomy and crop science, 171(3): (1993), 176-184
13. Narendra, K.singh, Bressan. Protein associated with adaptation of cultured tobacco cells to NaCl & water stress. Plant physiology 79; (1985), 126-137
14. Neven, Lisa, O. Dale, W.Haskell. Characterization of a spinach gene responsive to low temperature and water stress. plant Mol. Biol. 21(2): (1993), 261-305 .
15. Rajendr S., Dehindra. Glutation status and Protein synthesis during drought and subsequent rehydration in *Tortula ruralis*. Plant physiol. 83, (1987), 816-819.
16. Singh G.P.S. Thakur and V.K. Rajer. Free amino acid patern in stressed leaves of two contrasting resistance and susceptible cultivars of chikpea (*Cicer arietinum*). Experimenti, (1983), (40-41). 4.
17. Westgate M.E. and E.M. Flower and Pod development in water deficit soybeans (*Glycine max L. Merr.*). Dept. of Botany and Microbiology, Auburn University, Auburn, Al. U.S.A. (1992), 36849-5407.