Archive of SID

فصلنامه علوم زیستی دانشگاه آزاد اسلامی واحد زنجان
شماره‌پیاپی۱۲، جلد۴، شماره ۱،زمستان ۸۹، صفحه ۱۰۵ تا صفحه ۱۱۵

بررسی مقایسه‌ای اثر تنش خشکی بر میزان تغییرات پرولین در گیاه نوروزک (*Salvia leriifolia*) در محیط کشت خاک و این ویترو

سید حسینعلی لایق خویدکی[۱]، **مهرداد لاهوتی**[۲]، فروغ عباسی[۳]

۱- عضو باشگاه پژوهشگران جوان، دانشکده علوم دانشگاه آزاد اسلامی واحد مشهد، گروه زیست شناسی، دانشجوی کارشناسی ارشد فیزیولوژی گیاهی، مشهد- ایران.
۲- استاد فیزیولوژی گیاهی، گروه زیست شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه فردوسی مشهد. M.Lahoty@yahoo.com
۳- دانشگاه آزاد اسلامی واحد مشهد، دانشکده علوم، گروه زیست شناسی، استادیار فیزیولوژی گیاهی، مشهد- ایران.

تاریخ دریافت: ۸۹/۷/۱٤ تاریخ پذیرش: ۸۹/۱۰/۱۲

چکیده

نوروزک (*Salvia leriifolia Benth.*) گیاهی از تیره نعناع، بومی استان خراسان و سمنان دارای خواص متعدد دارویی، آنتی اکسیدانی و تغذیه‌ای است. تنش خشکی بر رشد و نمو گیاه اثر می‌گذارد. به منظور بررسی تغییرات میزان پرولین در گیاه نوروزک تحت تأثیر تنش خشکی و هم چنین شناسایی محیط مناسب جهت انجام آزمایش‌های خشکی، دو آزمایش مجزا در قالب طرح کاملاً تصادفی با شرایط یکسان در دو محیط خاک و این ویترو اجرا و جهت انجام آزمایش در محیط این ویترو از محیط کشت MS (موراشیگ- اسکوگ) استفاده شد. آزمایش در پنج سطح مختلف پتانسیل‌های صفر، ۲-، ٤-، ٦- و ۸- بار در ٤ تکرار انجام و جهت ایجاد تنش در محیط خاک از صفحات فشاری و در محیط این ویترو از PEG (پلی اتیلن گلیکول) استفاده وپس از رسیدن گیاهان به مرحله چهار برگی میزان پرولین موجود در برگ‌های آن اندازه‌گیری شد. نتایج نشان داد که با افزایش تنش خشکی بر میزان تجمع پرولین در برگ‌ها افزوده می‌شود. افزایش پرولین در برگ نشاءهای کشت شده در خاک بیشتر از محیط در شیشه بود. از این رو می‌توان نتیجه گرفت که یکی از پاسخ‌های گیاه برای مقاومت در برابر خشکی تجمع پرولین می‌باشد.

کلید واژه: نوروزک، تنش خشکی، خاک، در شیشه، پرولین.

مقدمه

افزایش جمعیت جهان، روند کاهش منابع آب شیرین و شور شدن زمین‌های زراعی، بررسی گیاهان متحمل در شرایط نامناسب محیطی را ضروری ساخته است (۱۹). نواحی تحت تنش به نواحی گفته می‌شود که میزان بارندگی سالیانه آن‌ها کمتر از ۵۰۰ میلی متر باشد. ایران با متوسط بارندگی ۲۴۰ میلی‌متر در سال جزو این نواحی است (۳۶، ۱۶).خشکی یکی از مهم ترین عوامل تنش زای محیطی است که روی اکثر مراحل رشد گیاه مانند مرحله جوانه زنی و استقرار گیاهچه و هم چنین ساختار اندام و فعالیت آن‌ها آثار مخرب و زیان آوری وارد می‌سازد (۵۰، ۴۹، ۴۷، ۴۵). تنش آب به حالتی می گویند که فشار آماس یا تورم در سلول یا بافت گیاهی کامل نبوده و ناشی از تلفات بالای آب (تعرق) یا کاهش جذب آب و یا ترکیبی از این دو می‌باشد (۱۸). گیاهان در مقابل خشکی از طریق تغییرات مورفولوژیکی، فیزیولوژیکی و متابولیکی در تمام اندام‌های خود پاسخ می‌دهند (۸). گیاهان برای کاهش اثرات منفی خشکی از مکانیسم‌های متنوعی استفاده می کنند. چنین مکانیسم‌هایی دامنه وسیعی از سطح سلولی تا واکنش کلی گیاه را شامل می‌شوند (۱۵). در مقیاس سلولی، گیاه آثار مضر تنش را با افزایش

www.SID.ir

Archive of SID

متابولیسم و تنظیم پتانسیل اسمزی از طریق تجمع مواد آلی و معدنی در سلول‌های خود کاهش می‌دهد و فشار تورژسانس سلول خود را منظم می‌کند. پتانسیل کل آب گیاه در هنگام دوره خشکی ملایم نیز توسط تنظیم اسمزی حفظ می‌شود. در این روش گیاه از طریق جذب یون‌های معدنی از محیط خارجی مانند افزایش میزان تجمع پتاسیم در اندام‌های هوایی و یا از طریق سنتز زیاد مواد حل شونده سازگار که به عنوان اسمولیت عمل می‌کنند، تنظیم اسمزی را انجام می‌دهند. تغییر در جریان یونی سریع تر ایجاد می‌شود (در حد چند دقیقه)، در حالی که سنتز بیوشیمیایی اسمولیت‌ها در طی چند ساعت و یا چند روز پس از تنش صورت می‌گیرد (۱). مدارک به دست آمده نشان می‌دهند که اغلب آمینو اسیدها مثل پرولین ممکن است نقش محافظت کننده برای تیلاکوئیدهای کلروپلاست و دیگر سیستم‌های غشایی تحت شرایط تنش داشته باشند (۲۸). محافظت کننده‌های اسمزی نظیر گلایسین بتایین، پرولین و قندهای محلول اکثراً به سیتوپلاسم محدود می‌شوند و تقریباً در واکوئل حضور ندارند (۲۰).از آن جایی که ایجاد و حفظ یک پتانسیل آب خالص در محیط خاک، کاری تقریباً مشکل است، در این راستا برقراری شرایط تنش خشکی با استفاده از مواد اسمزی مختلف برای ایجاد پتانسیل‌های اسمزی، یکی از مهم ترین روش‌های مطالعه تأثیر تنش خشکی بر روی گیاه تلقی می‌شود. در بین این مواد پلی اتیلن گلیکول (PEG) به دلیل ایجاد شرایطی شبیه محیط طبیعی، کاربرد زیادی دارد و به طور وسیعی در شرایط آزمایشگاهی به کار می‌رود (۵۱، ۲۳). این ماده به دلیل داشتن وزن مولکولی بالا نمی تواند از دیواره سلولی عبور کند و به همین دلیل از آن برای تنظیم پتانسیل آب طی آزمایشات خشکی استفاده می‌شود. پلی اتیلن گلیکول با وزن مولکولی بزرگ (PEG-۶۰۰۰) جهت ایجاد تنش خشکی در مقایسه با مولکول‌های کوچک تر آن مثل PEG-۴۰۰۰ مناسب تر است زیرا درصد جوانه زنی بذر در محلول پلی اتیلن گلیکول ۶۰۰۰ و در خاکی با همان پتانسیل آب تقریباً برابرمی باشد (۲۴).در مطالعه اثر تنش خشکی بر رشد بهینه گیاهان در خاک، نه تنها مقدار آب موجود در خاک دارای اهمیت زیادی است، بلکه نیروهای نگه دارنده آب در خاک نیز اهمیت به سزایی دارند. رابطه بین مقدار آب موجود در خاک و پتانسیل ماتریک که به منحنی رطوبتی خاک (Soil Moisture Characteristic Curve) معروف است یکی از اصولی ترین خواص فیزیکی خاک است که برای پیش بینی دیگر خواص هیدرولیکی خاک نیز کاربرد دارد (۷). منحنی رطوبتی خاک اهمیت پایه‌ای در فیزیک خاک دارد و برای بسیاری از مطالعات آب- خاک مانند بررسی تنش آبی گیاهان ضروری می‌باشد (۱۰). اندازه‌گیری‌های مستقیم آزمایشگاهی و صحرایی برای تعیین منحنی رطوبتی خاک مستلزم صرف وقت طولانی، کار پر زحمت و هزینه‌های زیاد می‌باشد (۹، ۳). بدین منظور ایجاد مدل‌هایی که بتوانند مقدار رطوبت خاک را در مکش مشخص با استفاده از خصوصیات ساده و قابل دسترس خاک تخمین بزنند، هم از لحاظ اقتصادی و هم از لحاظ سادگی و صرف وقت مقرون به صرفه می‌باشند. در نتیجه پژوهشگران متعددی سعی کرده‌اند که روابطی منطقی بین مکش خاک و مقدار رطوبت بدست آورند تا با استفاده از آن‌ها بتوانند مقدار رطوبت موجود در خاک را در یک مکش معین تخمین بزنند (۷). جهت اعمال مکش‌های مشخص می‌توان از دستگاه صفحات فشاری و غشاء فشاری استفاده نمود (۲). از دستگاه صفحات فشاری می‌توان برای تعیین رطوبت ظرفیت مزرعه و رطوبت پژمردگی دایم نیز استفاده نمود (۱۴).

نوروزک (*Salvia leriifolia Benth.*) گیاهی است متعلق به تیره نعناع که بومی استان خراسان و سمنان است (۴۲). پراکنش این گیاه در اقلیم فراخشک بیابانی سرد، در ارتفاعات سنگلاخی، ارتفاعات کنگلومرایی و واریزه‌های سنگی است (۱۳). گونه نوروزک دارای سه مزیت است: اول مقاومت آن به خشکی، دوم مقاومت در مقابل باد و

www.SID.ir

Archive of SID

سوم مقاومت در مقابل سرمای زمستان. از این رو گیاهی کم توقع و کم هزینه به شمار می‌آید. هم چنین برگ‌های گیاه غنی از کلسیم، فسفر و آهن بوده و دانه و برگ آن دارای مقادیر بالایی از پروتئین و اسیدهای چرب است که دارای ارزش غذایی بالایی می‌باشد. از این رو در تغذیه دام و انسان از اهمیت زیادی برخوردارند (۶). نوروزک دارای خواص آنتی اکسیدانی و دارویی فراوانی است. بخش‌هایی از گیاه دارای خاصیت آنتی اکسیدانی، ضد باکتری، ضد قارچ و ضد درد می باشد (۱۷،۲۵، ۵،۱۲، ۴). بر اساس پژوهش‌های صورت گرفته مشخص شده است که عصاره آبی و الکلی نوروزک دارای اثرات دارویی متعددی بر روی موش بوده، از جمله این اثرات می‌توان به خاصیت محافظت کنندگی عصبی در برابر کم خونی‌های موضعی در مغز موش (۴۴)، کاهش وابستگی به مورفین (۳۳)، دارای خصوصیات مشابه با داروی دیکلوفناک از لحاظ مقابله با التهاب مزمن (۳۱) و جلوگیری از ایجاد و توسعه زخم‌های معده در موش مشابه با داروی سوکرالفت (۳۲)، اشاره نمود. هم چنین مشخص شده است که بخش‌های مختلف این گیاه می‌تواند به عنوان داروی مسکن و خواب آور (۳۴) و عامل کاهش دهنده گلوکز خون (۳۰) نیز مورد استفاده قرار گیرد.تا به امروز مطالعات و پژوهش‌های فراوانی در زمینه تنش‌های محیطی صورت گرفته است که هدف اصلی آن‌ها شناسایی و ایجاد واریته‌هایی است که بتوانند به خوبی در برابر تنش‌ها از خود مقاومت نشان داده و محصول بیشتری تولید نمایند. از این رو دستیابی به روش‌های نوین و استفاده از تکنیک‌های جدید جهت انجام مطالعه بر روی تنش‌های محیطی امری اجتناب ناپذیر بوده و از لحاظ اقتصادی نیز قابل توجیه است. اخیراً با پیشرفت تکنیک‌های آزمایشگاهی و امکان بررسی عوامل تنش زا در محیط‌های درون شیشه‌ای و مصنوعی به جای محیط‌های طبیعی مانند مزارع و گلخانه‌ها، صحبت از بررسی اثر تنش‌های محیطی بر رشد و نمو گیاهان در شرایط این ویترو به میان آمده است. مطالعه اثر عوامل تنش زا بر رشد و نمو گیاهان در محیط در شیشه در مقایسه با محیط زیوه از لحاظ اقتصادی حائز اهمیت است. چرا که استفاده از شرایط کشت درون شیشه‌ای در آزمایشگاه با کنترل عوامل محیطی، شرایط آزمایشی یکنواخت و قابل اطمینانی را فراهم می‌سازد که در جوار آزمایش‌های مزرعه می‌تواند موجب فراهم آوردن تسهیلات و تسریع در پیشبرد اهداف به نژادی گردد و از این رو به صرفه تر است. طی دو آزمایش مجزا که مارویاما و همکاران در سال ۲۰۰۸ بر روی سه رقم زراعی کاهو در شرایط این ویترو و هیدروپونیک انجام دادند، مشاهده شد که گیاه کاهو به روش مشابهی تنش خشکی را تحمل می‌کند. انجام این آزمایش در محیط این ویترو در مقایسه با هیدروپونیک موجب شد که فضا و زمان مورد نیاز برای انجام آزمایش به نصف کاهش یابد. این نتایج نشان می‌دهند که نتایج به دست آمده در شرایط در شیشه نه تنها با شرایط زیوه تفاوتی ندارد، بلکه موجب صرفه جویی در زمان و مکان نیز می‌شود (۳۷).هدف از انجام این پژوهش بررسی تغییرات میزان پرولین در گیاه نوروزک تحت تأثیر تنش خشکی در دو محیط خاک و این ویترو و مقایسه نتایج بدست آمده از این دو محیط می‌باشد تا پاسخ‌های این گیاه در مقابله با تنش خشکی ارزیابی شده و محیط مناسب تر برای انجام آزمایشات تنش خشکی تعیین شود.

مواد و روش‌ها

به منظور بررسی اثر تنش خشکی بر تغییرات میزان پرولین در گیاه نوروزک در دو محیط خاک ودر شیشه، دو آزمایش مجزا در قالب طرح کاملاً تصادفی داده‌های چند مشاهده‌ای در آزمایشگاه تحقیقات علوم گیاهی دانشگاه آزاد اسلامی مشهد با ۴ تکرار اجراء شد. در پایان نتایج به دست آمده از هر دو محیط با یکدیگر مورد مقایسه قرار گرفتند.

در آزمایش اول بذرها جهت شکستن خفتگی دانه شکافته شدند. سپس جهت جلوگیری از آلودگی قارچی

www.SID.ir

Archive of SID

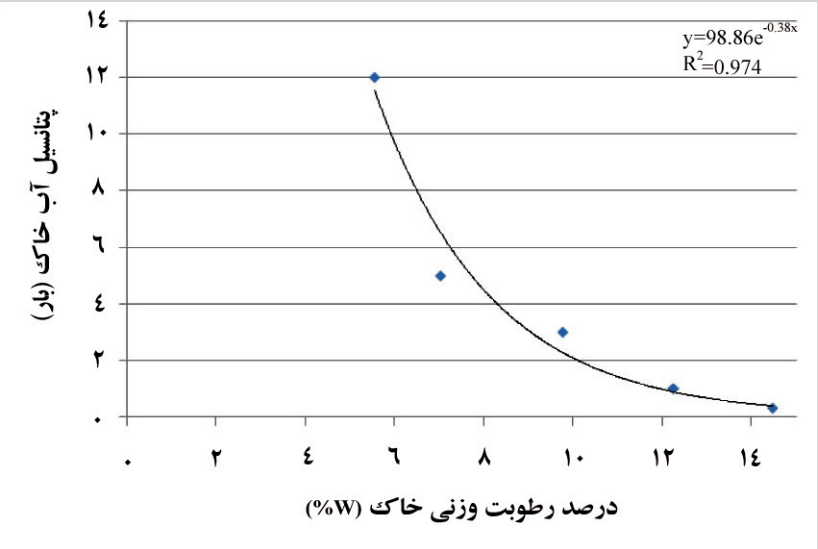
به پودر بنومیل آغشته و درون ماسه بادی کشت شدند. دانه رست‌ها پس از جوانه زنی و گذشت یک هفته از زمان کاشت در گلدان‌های سفالی با وزن خاک یک کیلوگرم نشاء شدند. خاک مورد نیاز برای انجام این آزمایش از مخلوط ماسه بادی، خاک جمع آوری شده از عمق ۵۰ سانتی متری دشت حصار و کوکوپیت پرلایت به نسبت ۱:۲:۱ تهیه شد. در هر گلدان پنج گیاهچه نوروزک کشت شد. اعمال تنش خشکی تا مرحله چهار برگی ادامه داشت. در طی دوره رشد گلدان‌ها در داخل گل خانه با دمای ثابت ۲±۲۵ درجه سانتی گراد و رطوبت ۷۰٪ قرار گرفتند. به جز هفته اول جوانه زنی که در تاریکی صورت پذیرفت، دوره نوری با ۱۶ ساعت روشنایی (شدت نور ۵۰۰۰ لوکس) و ۸ ساعت تاریکی تا پایان دوره آزمایش اعمال شد. برای تعیین میزان آب مورد نیاز قبل از آبیاری گلدان‌ها نیاز بود منحنی رطوبتی خاک به دست آید. برای این منظور نمونه‌ای از خاک مورد نظر انتخاب شد و با استفاده از دستگاه صفحات فشاری آزمایشگاه مهندسی آبیاری دانشکده کشاورزی دانشگاه فردوسی مشهد، درصد رطوبت وزنی خاک در فشارهای ۰/۳، ۱، ۳، ۵ و ۱۲ بار تعیین و منحنی رطوبتی خاک بر اساس پتانسیل آب خاک و درصد رطوبت وزنی آن ترسیم شد. رطوبت وزنی خاک در فشارهای فوق به ترتیب ۱۴/۴۷، ۱۲/۲۵، ۹/۷۶، ۷/۰۲ و ۵/۵۵ درصد بود (نمودار ۱).

با استفاده از فرمول منحنی رطوبتی خاک ($Y=98.86e^{-0.38x}$) مقادیر درصد رطوبت وزنی خاک برای پتانسیل‌های ۲-، ۴-، ۶- و ۸- بار (تیمارهای آزمایش) محاسبه شد. سپس با استفاده از فرمول:

٪W=وزن آب/وزن خاک خشک×۱۰۰

وزن آب مورد نیاز برای هر سطح تنش خشکی محاسبه گردید. گلدان‌ها روزی دوبار توزین شده و به وزن مورد نظر رسانده می‌شدند. گلدان‌های شاهد هر روز در حد اشباع خاک آبیاری شدند. هر تیمار شامل چهار تکرار و هر تکرار دارای سه گلدان بود (شکل ۱).

نمونه‌گیری در مرحله ۴ برگی از جفت برگ‌های چهارم که طی مدت زمان مشابهی تحت تأثیر تنش واقع شده بودند صورت گرفت.برای سنجش پرولین آزاد از روش Bates (1973) استفاده شد. بدین ترتیب که ۰/۰۲ گرم از بافت تازه را در ۱۰ میلی لیتر محلول ۳ درصد اسید سولفوسالیسیلیک ساییده و مخلوط یکنواختی تهیه شد. عصاره حاصل با استفاده از سانتریفیوژ به مدت ۵ دقیقه در ۱۰۰۰۰g سانتریفوژ شد. سپس دو میلی لیتر از مایع رویی با دو میلی گرم معرف نین هیدرین و دو میلی لیتر اسید



نمودار ۱- منحنی تغییرات رطوبتی خاک بر اساس پتانسیل آب خاک و درصد رطوبت وزنی

www.SID.ir

Archive of SID

شکل ۱- گلدان های سفالی حاوی نمونه های شاهد در شرایط کنترل شده گلخانه‌ای

استیک گلاسیال مخلوط شده و یک ساعت در بن ماری جوشان (۱۰۰ درجه سانتی گراد) قرار داده شد. بعد از این مدت، جهت قطع انجام کلیه واکنش‌ها، لوله‌های محتوی مخلوط وارد حمام یخ و سرد شد. سپس چهار میلی لیتر تولوئن به مخلوط اضافه شده و لوله‌ها به خوبی تکان داده شدند. با ثابت نگه داشتن لوله‌ها به مدت ۱۵-۲۰ دقیقه دو لایه کاملاً مجزا در آن‌ها تشکیل شد. از لایه رنگی فوقانی که حاوی تولوئن و پرولین بود برای اندازه‌گیری غلظت پرولین استفاده شد. جذب مقدار مشخصی از این ماده رنگی در طول موج ۵۲۰ نانومتر با دستگاه اسپکترو فتومتر مدل UV ۱۱۰۰ و مقدار پرولین در هر نمونه با استفاده از منحنی استاندارد تعیین گردید. نتایج حاصل از اندازه‌گیری مقدار پرولین بر حسب میلی گرم در گرم وزن تر بافت محاسبه شد (۲۱).

برای انجام آزمایش دوم در این تحقیق از محیط کشت پایه MS استفاده شد (۴۰). جهت ایجاد تنش خشکی نیز از PEG-۶۰۰۰ (Merck آلمان) استفاده گردید. در این آزمایش با استفاده از روش میچل و کافمن ۵ سطح پتانسیل مختلف شامل: صفر، ۲-، ۴-، ۶- و ۸- بار تهیه شد (۳۹). برای تهیه محیط کشت جامد حاوی PEG از روش انتشار (Diffusion-based method) استفاده شد. در این روش از دو محیط کشت مایع حاوی PEG و محیط کشت جامد آگاردار بدون PEG استفاده می‌شود. ابتدا محیط کشت MS حاوی آگار تهیه شده و داخل ظروف کشت ریخته و استریل می‌گردند. محیط کشت مایع MS حاوی PEG نیز جداگانه در داخل ارلن تهیه می‌شود. برای دست یابی به غلظت مورد نظر ابتدا PEG با دو برابر غلظت تهیه شده و سپس در داخل اتوکلاو استریل می‌شود. سپس ظروف حاوی محیط کشت جامد به داخل هود استریل منتقل گردیده و در شرایط استریل بر روی محیط کشت جامد، به میزان هم حجم آن، محیط کشت مایع حاوی PEG اضافه می‌شود. پس از ۲۴ ساعت مولکول‌های PEG به محیط کشت حاوی آگار انتشار یافته و بنابر این پتانسیل آب محیط را کاهش داده و غلظت آن در هر دو محیط جامد و مایع به حالت تعادل می‌رسد. پس از گذشت ۲۴ ساعت، محیط کشت مایع رویی دور ریخته و محیط کشت جامد حاوی PEG آماده استفاده شد. با کمک دستگاه اسمومتر (Vapor Pressure Osmom-eter. Wescor 5520) اسمولاریته محیط کشت مایع در ابتدا و پس از ۲۴ ساعت قرار گرفتن بر روی محیط کشت جامد اندازه‌گیری شد و به این ترتیب اسمولاریته نهایی محیط کشت‌ها به دست آمد (۱۱).

www.SID.ir

Archive of SID

در این مرحله از آزمایش ابتدا بذور با هیپوکلریت سدیم و اتانول ۷۰٪ ضد عفونی و سپس آب شویی شدند. جهت شکستن خفتگی دانه، بذرها شکافته و جهت انجام عمل جوانه‌زنی بر روی محیط آب آگار قرار داده شدند. دانه رست‌ها پس از جوانه‌زنی و گذشت یک هفته از زمان کاشت در زیر هود استریل به درون ویال‌های حاوی ۲۵ میلی گرم محیط کشت MS منتقل و تحت تأثیر تنش خشکی قرار گرفتند. در هر ویال پنج نشاء نوروزک قرار داده شد. اعمال تنش خشکی تا مرحله چهار برگی ادامه داشت. در طی دوره رشد ویال‌ها در داخل فیتوترون با دمای ثابت ۲±۲۵ درجه سانتی گراد و رطوبت ۷۰٪ قرار گرفتند. به جز هفته اول جوانه زنی که در داخل انکوباتور و در تاریکی صورت پذیرفت، دوره نوری با ۱۶ ساعت روشنایی (شدت نور ۵۰۰۰ لوکس) و ۸ ساعت تاریکی تا پایان دوره آزمایش اعمال شد. هر تیمار شامل چهار تکرار و هر تکرار دارای سه ویال بود (شکل ۲).

نمونه‌گیری در مرحله ۴ برگی از جفت برگ‌های چهارم که طی مدت زمان مشابهی تحت تأثیر تنش واقع شده بودند صورت گرفت. برای سنجش پرولین آزاد از روش بتس استفاده شد.

داده‌های به دست آمده با نرم افزار MSTAT-C مورد تحلیل آماری قرار گرفت. میانگین داده‌ها با آزمون حداقل تفاوت معنی دار فیشر (LSD) در سطح احتمال ۵ درصد مقایسه شد. برای رسم نمودارها از نرم افزار Excel استفاده شد.

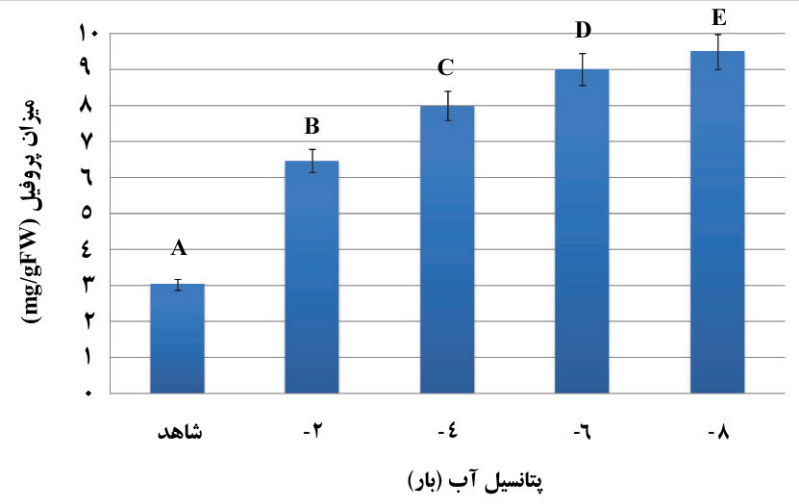
نتایج

نتایج به دست آمده از تجزیه و تحلیل داده‌ها در هر دو آزمایش نشان داد که تغییرات میزان پرولین به شدت تحت تأثیر پتانسیل آب قرار داشته و بین سطوح تنش اعمال شده از نظر تغییرات میزان پرولین در سطح احتمال ۱٪ اختلاف معنی‌دار وجود دارد. با افزایش شدت تنش در هر دو محیط به طور پیوسته بر میزان پرولین برگ نیز افزوده شد. اگر چه میانگین‌های به دست آمده از تیمارهای یکسان در هر دو محیط با یکدیگر اختلاف داشت اما میزان افزایش پرولین برگ در سطح ۸- بار نسبت به شاهد در هر دو محیط حدود ۳/۱ برابر بود (نمودارهای ۲ و ۳).

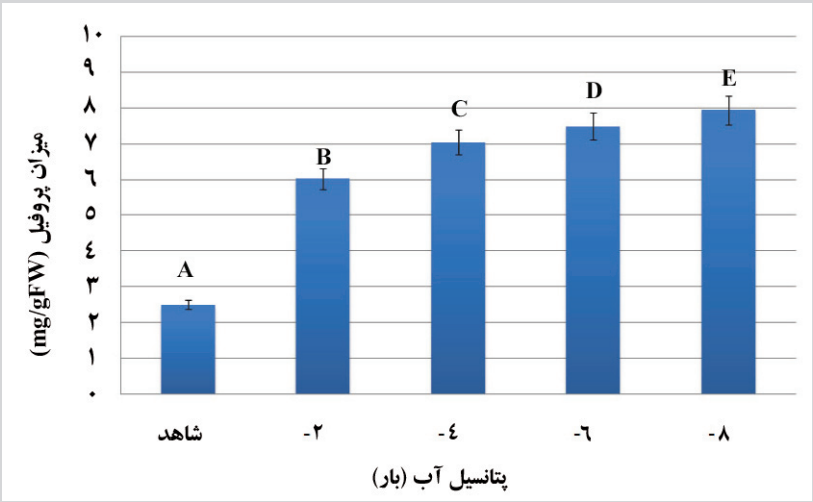
شکل ۲- ویال های شیشه‌ای حاوی گیاه نوروزک در شرایط کنترل شده فیتوترون

www.SID.ir

Archive of SID



نمودار ۲- نتایج حاصل از اثر تنش خشکی بر میزان پرولین برگ در محیط خاک



نمودار ۳- نتایج حاصل از اثر تنش خشکی بر میزان پرولین برگ در محیط شیشه

بحث و نتیجه‌گیری

نتایج حاصل از تحلیل آماری داده‌ها نشان می‌دهد که با افزایش تنش خشکی از ۲- تا ۸- بار سطوح پرولین در گیاه نوروزک به طور معنی داری افزایش می‌یابد. نتایج مشابهی نیز در سایر تحقیقات گزارش شده است. صفرنژاد و همکاران با بررسی اثر تنش خشکی بر ژنوتیپ‌های یونجه گزارش نمودند که با افزایش تنش خشکی بر میزان تجمع پرولین در برگ‌ها افزوده می‌شود (۴۵). ماتیونی و همکاران با مطالعه اثر تنش آب و شوری بر گندم دوروم (Triticum durum) مشاهده نمودند که در اثر این دو تنش بر میزان اسیدهای آمینه افزوده می‌شود و افزایش اسید آمینه پرولین از سایر اسیدهای آمینه بیشتر بوده است (۳۸). جیروسی و همکاران با بررسی شیره آبکش یونجه در هنگام تنش خشکی گزارش کردند که در هنگام کاهش پتانسیل آب از ۱- به ۲- مگاپاسکال، افزایش ناگهانی و شدیدی در غلظت پرولین شیره آبکش مشاهده می‌شود. آن‌ها نتیجه گرفتند که پرولین می‌تواند در برگ‌ها افزایش یافته و از آن جا به بافت‌های مریستمی برای حفظ و ایجاد تنظیم اسمزی در بافت‌های در حال

www.SID.ir

Archive of SID

رشد منتقل گردد (۲۶). برای تجمع پرولین در گیاه در هنگام تنش خشکی دلایل مختلفی ارائه شده است. برخی آن را به علت اثر تنظیمی ABA بر فرایندهای نوری در متابولیسم پرولین (۴۶، ۴۳، ۴۱، ۲۲) و برخی آن را به دلیل وجود ترکیبات پر انرژی حاصل از فتوسنتز می‌دانند که سبب تحریک سنتز پرولین می‌شود (۵۲، ۳۸، ۲۷). تنش خشکی از طریق افزایش بیان آنزیم‌های بیوسنتز کننده پرولین و کاهش فعالیت آنزیم‌های تخریب پرولین باعث افزایش میزان پرولین در گیاه می‌شود (۵۲، ۴۶، ۳۵، ۲۹). با توجه به نتایج به دست آمده به طور کلی می‌توان چنین نتیجه گرفت که گیاهان در هنگام تنش خشکی با تغییراتی که در برخی از خصوصیات فیزیولوژیکی خود ایجاد می‌نمایند، به تنش‌های مختلف پاسخ می‌دهند. یکی از این پاسخ‌ها تجمع پرولین می‌باشد که نتایج به دست آمده نشان می‌دهد تجمع آن در تحمل شرایط خشکی مؤثر می‌باشد (۴۸، ۴۵، ۳۵، ۲۶). با مقایسه نتایج به دست آمده مشاهده می‌شود که میانگین میزان افزایش پرولین در سطوح تنش یکسان در محیط خاک نسبت به این ویترو بیشتر است. گمان می‌رود به دلیل اتلاف رطوبت از طریق سطح خاک و دیواره گلدان سفالی، نمونه‌های کشت شده در خاک بیش از مقدار پیش بینی شده تحت تأثیر تنش واقع شده باشند که همین عامل سبب افزایش بیشتر میزان پرولین در برگ‌های این گیاهان شده است. بنابر این می‌توان نتیجه گرفت که انجام آزمایش‌های تنش و به ویژه تنش اسمزی در محیط شیشه می‌تواند نتایج دقیق‌تری را به دنبال داشته باشد و از این لحاظ بر آزمایش‌های صورت گرفته در محیط خاک و مزرعه که کنترل شرایط محیطی در آن توسط پژوهشگر مشکل تر است ارجحیت دارد. ضمن آن که به فضای کمتری نیاز داشته و از لحاظ اقتصادی نیز به صرفه‌تر است (۳۷).

تشکر و سپاس‌گزاری

بدین وسیله از کارشناسان محترم آزمایشگاه مهندسی آبیاری دانشکده کشاورزی و مرکز تحقیقات بیوتکنولوژی پژوهشکده علوم گیاهی دانشگاه فردوسی مشهد، جناب آقای مهندس مهاجرپور و سرکار خانم میرشاهی که مرا در انجام این پژوهش یاری رساندند، تشکر و قدردانی می‌نمایم.

منابع

۱- آخوندی، مهدی.، صفرنژاد، عباس.، لاهوتی، مهرداد. ۱۳۸۵. اثر تنش خشکی بر تجمع پرولین و تغییرات عناصر در یونجه های یزدی(Medicago sativa L.) نیک شهری و رنجر. مجله علوم و فنون کشاورزی و منابع طبیعی. ۱: ۱۷۴-۱۶۵.

۲- امامی، حجت.، نیشابوری، محمد رضا.، شرفاء، مهدی.، لیاقت، عبدالمجید.۱۳۸۶. ارزیابی کارآیی شبکه های عصبی مصنوعی در برآورد منحنی رطوبتی خاک در بعضی از خاک های آهکی و شور ایران. مجموعه مقالات دهمین کنگره علوم خاک ایران، کرج، ۴ الی ۶ شهریور، ۱۰۵۹-۱۰۵۸.

۳- بای بوردی، محمد.۱۳۷۹. اصول مهندسی آبیاری. جلد اول. روابط آب و خاک. چاپ هفتم. انتشارات دانشگاه تهران، شماره ۱۴۴۹/۱.

٤- باغی، نرگس.۱۳۷۵. بررسی اثرات ضد میکروبی گیاه نوروزک. پایان‌نامه دکترای داروسازی دانشکده داروسازی، دانشگاه علوم پزشکی مشهد.

۵- جبارزاده، مهدی. بررسی خواص ضد میکروبی عصاره‌های ریشه و دانه گیاه نوروزک. پایان نامه دکترای داروسازی دانشکده داروسازی، دانشگاه علوم پزشکی مشهد.

٦- حداد خداپرست، محمد حسین.۱۳۷۲. امکان بررسی استفاده از گیاه نوروزک در تغذیه انسان. طرح تحقیقاتی سازمان پژوهش‌های علمی و صنعتی ایران، پژوهشکده خراسان.

۷- حسینی عزآبادی، سید جواد.، بهرامی، حسینعلی.، میرنیا، سید خلاق.، سعادت، سعید. ۱۳۸۲. تخمین منحنی رطوبتی خاک با استفاده از مدل تک پارامتری. مجله علوم خاک و آب. ۱۷ (۱): ۵۸-۴۹.

۸- حیدری ریکان، مهناز.، حیدری، رضا.، جامعی، رشید. ۱۳۸۶. بررسی مقاومت به شوری و خشکی چهار رقم جو

www.SID.ir

Archive of SID

(Hordeum vulgaris L.) در مرحله جوانه زنی. مجله پژوهش و سازندگی. ۴ (۷۴): ۱۴۲-۱۳۴.

۹- خداوردی لو، حبیب.، فتحی، پرویز.، همایی، مهدی. تخمین هوشمند منحنی رطوبتی خاک با استفاده از شبکه عصبی مصنوعی. دومین کنفرانس ملی دانشجویی منابع آب و خاک. دانشکده کشاورزی دانشگاه شیراز، ۲۳ و ۲۴ اردیبهشت ۱۳۸۳.

۱۰- دادمهر، رضا.، سبحانی، موسی.، زینال زاده، کامران. ۱۳۸۵. مقایسه قابلیت برازش برخی مدل های رطوبتی خاک. اولین همایش ملی مدیریت شبکه های آبیاری و زهکشی. دانشکده مهندسی علوم آب دانشگاه شهید چمران اهواز، ۱۲ الی ۱۴ اردیبهشت ۱۳۸۵.

۱۱- رضوی ، رویا.، احسان پور، علی اکبر.۱۳۸۳. بررسی میزان تحمل به تنش خشکی کالوس های گیاه یونجه (Medicago sativa L.) تحت تابش پرتو UV-C. مجله زیست شناسی ایران. ۱۷ (۲): ۲۰۴-۱۹۴.

۱۲- فرهوش، رضا.۱۳۸۲. استخراج، تخلیص و شناسایی فراکسیون عمده آنتی اکسیدانی برگ گیاه نوروزک و بررسی خصوصیات آن. پایان نامه دکتری دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد.

۱۳- فیله کش، اسماعیل.۱۳۸۲. بررسی اکولوژی گیاه مرتعی Salvia leriifolia در سبزوار. خلاصه مقالات اولین همایش توسعه پایدار گیاهان داوریی. صفحه ۳۳.

۱٤- قربانی دشتکی، شجاع.، همایی، مهدی.، مهدیان، محمد حسین.۱۳۸۸. برآورد پارامترهای نفوذ آب به خاک با استفاده از شبکه های عصبی مصنوعی. مجله آب و خاک. ۲۳ (۱): ۱۹۸-۱۸۵.

۱۵- کریمی، قادر.، قربانلی، مه لقا.، حیدری شریف آباد، حسین.، عصاره، محمد حسن. ۱۳۸۵. بررسی مکانیسم های مقاومت به شوری در گونه مرتعی Atriplex vertucifera M.B)). مجله پژوهش و سازندگی. ۳ (۷۳): ۴۸-۴۲.

۱٦- محمدی، عبداله.، مجیدی، اسلام.، بی همتا، محمد رضا.، حیدری شریف آباد، حسین. ۱۳۸۵. ارزیابی تنش خشکی بر روی خصوصیات زراعی مورفولوژیکی در تعدادی از ارقام گندم. مجله پژوهش و سازندگی. ۳ (۷۳): ۱۹۲-۱۸۴.

۱۷- مدرس، معصومه.، ابریشم چی، پروانه.، فرهوش، رضا.، اجتهادی، حمید.۱۳۸۶. بررسی تغییر فعالیت آنتی‌اکسیدانی ریشه و برگ Salvia leriifolia Benth در مراحل مختلف رشد و نمو. فصلنامه علمی ـ پژوهشی تحقیقات گیاهان دارویی و معطر ایران. ۲۳ (۳): ۲۹۴-۲۸۵.

۱۸- میرزایی، محمد رضا.، رضوانی، سید معین الدین. ۱۳۸۶. تأثیر تنش خشکی بر خصوصیات کیفی چغندر قند در مراحل مختلف رشد رویشی. مجله چغندر قند. ۱ (۴۵): ۴۲-۲۹.

۱۹- یاوری، نسرین.، صادقیان، سید یعقوب.، مصباح، محمود. ۱۳۸۰. استفاده از مانیتول به عنوان عامل تنش خشکی در مرحله جوانه زنی بذر و رشد اولیه گیاهچه چغندر قند در کشت درون شیشه. مجله چغندر قند. ۱ (۳۳): ۴۳-۳۷.

20. Bajji, M., Kinet, J.M., Lutts, S. (1998). Salt stress effects on roots and leaves of Atriplex halimus L. and their corresponding callus cultures. Plant science, 137 (2);131-142.

21. Bates, L.S., Waldern, R.P., Teare, I.D. (1973). Rapid determination of free proline for water-stress studies. Plant and Soil,39 (1);205-207.

22. Bohnert, H.J., Nelson, D.E., Jensen, R.G. (1995). Adaptation to environmental stresses. Plant Cell,7(7); 1099-1111.

23. De, R., Kar, R.K. (1995). Seed germination and seedling growth of mung bean (Vigna radiata) under water stress induced by PEG-6000. Seed Sci and Tecnol, 23 (2); 301-308.

24. Emmerich, W.E., Hardegree, S.P. (1990). Polyethylene glycol solution contact effects on seed germination. Agron J, 82; 1103-1107.

25. Farhoosh, R., Purazrang, H., Haddadkhodaparast, M.H., Rahimizadeh, M., Seyedi, S.M. (2004). Extraction and separation of antioxidative compounds from Salvia leriifolia leaves. J Agric Sci Technol, 6; 57-62.

26. Girousse, C., Bournoville, R., Bonnemain, J. L. (1996). Water deficit-induced changes in concentration in proline

www.SID.ir

Archive of SID

and some other amino acids in the phloem sap of alfalfa. Plant Physiol, 111; 109-113.

27. Hare, P.D., Cress, W.A., Van Staden, J. (1999). Proline synthesis and degradation: a model system for elucidating stress-related signal transduction. J Exp Bot, 50 (333); 413-434.

28. Heber, U., Tyankova, L., Santarius, K.A. (1971). Stabilization and inactivation of biological membranes during freezing in the presence of amino acids. Biochim Biophys Acta, 241 (2); 578-592.

29. Heuer, B. (1994). Osmoregulatory role of proline in water-and salt -stressed plants. pp. 363- 481. In: M. Pessarakli (Ed.), Handbook of Plant and Crop Stress. Marcel Dekker pub, New York.

30. Hosseinzadeh, H., Haddadkhodaparast, M.H., Shokoohizadeh, H. (1998). Antihyperglycemic effect of Salvia leriifolia Benth. leaf and seed extract in mice. Irn J Med Sci, 23; 74-80.

31. Hosseinzadeh, H., Yavary, M. (1999). Anti-inflammatory effect of Salvia leriifolia Benth. leaf extract in mice and rat. Pharmac Pharmacol Lett, 9; 60-61.

32. Hosseinzadeh, H., Haddadkhodaparast, M.H., Hosseini, E. (2000). Anti-ulcer effect of Salvia leriifolia Benth. leaf extract in mice. Pharmac Pharmacol Lett, 2; 63-64.

33. Hosseinzadeh, H., Lari, P. (2000). The effect of Salvia lerrifolia Benth. root extracts on morphine dependence in mice. Phytother Res,14 (5);384-387.

34. Imanshahidi, M., Hosseinzadeh, H. (2006). The pharmacological effects of Saliva species on the central nervous system. Phytother Res, 20 (6); 427-437.

35. Ingram, J., Bartles, D. (1996). The molecular basis of dehydration tolerance in plants. Annu Rev Plant Physiol Plant Mol Biol, 47; 377- 403.

36. Jajarmi, V. (2009). Effect of water stress on germination indices in seven wheat cultivar. World Acad Sci Eng Technol, 49; 105-106. In vitro evaluation of osmotic stress tolerance using a novel root recovery assay. Plant Cell, 95 (1); 101-106.

37. Maruyama, H., Koyama, R., Oi, T., Yagi, M., Takeda, M., Kanechi, M. (2008). 38.Mattioni, C., Lacerenza, N.G., Troccoli, A., De Leonardis, A.M., Di Fonzo, N. (1997). Water and salt stress-induced alteration in proline metabolism of Triticum durum seedlings. Physiol Plant,101 (4);787-792.

39. Michel, B.E., Kaufman, M.R. (1973). The osmotic potential of polyethylene glycol 6000. Plant Physiol,51 (5); 914-916.

40. Murashige, T., Skoog, F. (1962). A revised medium for rapid growth and bio assays with tobacco tissue cultures. Physiol Plant, 15 (3); 473-497.

41. Rontein, D., Basset, G., Hanson, A. D. (2002). Metabolic engineering of osmoprotectant accumulation in plants. Metabolic Eng,4 (1); 49-56.

42. Rechinger, K.H. (1982). Flora Iranica. N. 150, Academishe Druk. u. verlag Sustalt Gratz. Page 439.

43.Sánchez, F.J., Manzanares, M., De Andres, E.F., Tenorio, J.L., Ayerbe, L. (1998). Turgor maintenance, osmotic adjustment and soluble sugar and proline accumulation in 49 pea cultivars in response to water stress. Field Crop Res, 59 (3); 225-235.

44. Sadeghnia, H.R., Nassiri, A.M., Haddadkhodaparast, M. H., Hosseinzadeh, H. (2003). The effect of Salvia leriifolia Benth.

www.SID.ir

Archive of SID

root extracts on lipid peroxidation during global ischemic-reperfusion in rats. J Med Plants, 7; 19-28.

45. Safarnejd, A. (2004). Characterization of somaclones of Medicago sativa L. for drought tolerance. J Agric Sci Technol, 6; 121-127.

46. Serraj, R., Sinclair, T.R. (2002). Osmolyte accumulation: Can it really help increase crop yield under drought conditions? Plant Cell & Environ, 25 (2);333-341.

47. Shabala, S., Babourina, O., Newman, I. (2000). Ion-specific mechanisms of osmoregulation in bean mesophyll cells. J Exp Bot, 51 (348);1243-1253.

48. Verslues, P.E., Sharp, R.E. (1999). Proline accumulation in maize (Zea mays L.) primary roots at low water potentials. II. Metabolic source of increased proline deposition in the elongation zone. Plant Physiol,119 (4);1349-1360.

49. Yamaguchi-Shinozaki, K., Kasuga, M., Liu, Q., Nakashima, K., Sakuma, Y., Abe, H.,and et al. (2002). Biological mechanisms of drought stress response. JIRCAS Working Rep, 23; 1-8.

50. Yordanov, I., Velikova, V., Tsonev, T. (2000). Plant responses to drought, acclimation, and stress tolerance. Photosynthetica,38 (1); 171-186.

51. Zeid, I.M., El-Semary, N.A. (2001). Response of two differentially drought tolerant varieties of maize to drought stress. Pakistan J Biologic Sci, 4 (7); 779-784.

52. Zhang, J., Nguyen, H.T., Blum, A. (1999). Genetic analysis of osmotic adjustment in crop plants. J Exp Bot, 50 (332);291-302.

www.SID.ir