

بررسی اثرسیتوکینین بر شاخص‌های رشد و فتوستنتز گیاه *Cucurbita maxima* L. در سطوح مختلف خشکی

مریم نیاکان^{*}، معصومه حبیبی

گروه زیست‌شناسی، واحد گرگان، دانشگاه آزاد اسلامی، گرگان، ایران

تاریخ دریافت: ۹۵/۳/۱۳ تاریخ پذیرش: ۹۵/۶/۱۵

چکیده

خشکی از جمله تنش‌های محیطی است که به عنوان مهمترین عامل محدود کننده رشد و تولید گیاهان در اکثر نقاط جهان شناخته شده است. هدف از این تحقیق، بررسی اثر سطوح مختلف خشکی بر شاخص‌های مورفوفیزیولوژیکی گیاه *Cucurbita maxima* L. به شکل مستقل و نیز به همراه کاربرد کیتین در دو غلاظت به شکل محلول پاشی بر میزان پارامترهای رشد، رنگیزه‌های فتوستنتزی و قندهای محلول و نامحلول برگ و ریشه بود. جهت رسیدن به این هدف، آزمایشی گلستانی در محیط باز به صورت فاکتوریل در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی در قالب ۹ تیمار با ۴ تکرار مورد ارزیابی قرار گرفت. در مرحله رویشی سه سطح از تنش خشکی شامل $2/3$ ظرفیت زراعی معادل تنش ملایم و $1/3$ ظرفیت زراعی معادل تنش شدید خشکی به همراه کاربرد دو غلاظت از کیتین شامل ۲ و ۴ میلی‌گرم در لیتر به شکل محلول پاشی بر اندام هوایی گیاهان اعمال شد. نتایج نشان داد که تنش خشکی موجب کاهش پارامترهای رشد، نشاسته و رنگیزه‌های فتوستنتزی و کاربرد کیتین منجر به افزایش معنی‌داری در آن‌ها شد. از سوی دیگر تنش خشکی قندهای محلول را افزایش داد در حالی که کاربرد کیتین موجب کاهش پارامترهای نامبرده شد. در مجموع کاربرد کیتین در این تحقیق توانست به طور قابل توجهی از اثرات منفی خشکی بر گیاه مورد تحقیق بکاهد.

واژه‌های کلیدی: خشکی، رنگیزه، قندهای محلول و نامحلول، کیتین

شرایط خشکی باعث محدود شدن رشد گیاه می‌گردد.

بررسی‌های متعدد نشان می‌دهد که تنش ناشی از کمبود آب سبب کاهش رشد، سطح برگ، تخریب و کاهش فتوستنتز، آسیب به غشای سلولی، تخریب و کاهش پروتئین‌ها، آنزیم‌ها، رنگیزه‌ها و پلاستیدها، کاهش کلروفیل و کاهش رشد ریشه می‌گردد (Reddy et al., 2004).

اثر عمدی تنش خشکی کاهش فتوستنتز است که با کاهش سطح برگ، اختلال در فتوستنتز، پیری زودرس و کاهش تولید مواد غذایی همراه است. مهار فتوستنتز در اثر بسته شدن روزنه ایجاد می‌شود که باعث محدودیت

مقدمه

کمبود آب یکی از عوامل محدود کننده تولید گیاهان زراعی در سراسر جهان است. تنش یا کمبود آب به شرایطی اطلاق می‌شود که در آن سلول‌ها و بافت‌ها در وضعیتی قرار گرفته اند که آماس آنها کامل نیست. چنانچه شدت تنش آب زیاد باشد، کاهش شدید فتوستنتز و مختل شدن فرایندهای فیزیولوژیکی، توقف رشد و سرانجام خشک شدن و مرگ گیاه را در پی خواهد داشت (Shinozaki and Shinozaki, 2007). به طور کلی کاهش محتوای آب بافت‌های گیاهی تحت

*نوسنده مسئول: mnniakan@yahoo.com

می باشند و نقش مهمی در توانایی گیاهان در سازش با محیط در حال تغییر دارند که این کار را بوسیله واسطه های رشد انجام می دهند. فیزیولوژیست های گیاهی نشان داده اند که هورمون های گیاهی در یک شبکه پیچیده به طور گسترده عمل می کنند. هورمون های گیاهی یا به طور مستقیم یا غیرمستقیم تحت تاثیر خشکی قرار می گیرند (Wilkinson et al., 2002).

سیتوکینین ها، پیامبرهای شیمیایی ویژه گیاهان (هورمون ها) هستند که در تنظیم چرخه سلول گیاهی و بسیاری از فرایندها نقش ایفا می کنند. یکی از مشتقات سیتوکینینی، کیتینین (۶-فورفوریل آمینوپورین) می باشد. این هورمون ها بر روی متابولیسم عمومی گیاه و به ویژه فعالیت آنزیم ها و کوائزیم های موثر در بیوسنتز مواد و رشد گیاه اثر می نماید (Shudo, 1994). تحقیقات نشان داده است که سیتوکینین بسیاری از فعالیت های فیزیولوژیکی القاء شده توسط تنش خشکی را تعدیل می کند (Werner et al., 2010). سیتوکینین می تواند مستقیماً پارامترهای فتوسنتزی مثل کلروفیل، سنتز و تجزیه پروتئین های فتوسنتزی، ترکیبات و فراساختمان کلروپلاست ها، انتقال الکترون و فعالیت های آنزیمی را تحت تأثیر قرار دهد (Pospisilova et al., 2000).

یکی از انواع کدو و گیاهی *Cucurbita maxima L.* یکساله متعلق به *Cucurbitaceae* می باشد. تیره کدو شامل گیاهانی علفی و غالباً پیچان و یا دارای اندام های پیچک مانندند. گیاهان این تیره نسبتاً کم نیاز بوده و در هر آب و هوایی از آب و هوای مناطق گرمسیری و نیمه گرمسیری تا آب و هوای مناطق خشک و استپی را تحمل می کند. این تیره از نظر دارویی ملین، ضدیدابت، کاهش دهنده چربی و فشار خون می باشد. تخم آن ضد کرم روده، ضد صفراء و بلغم است (Skilnyk et al., 1992).

تشخیصی کی از عوامل محیطی مهم در کاهش تولید محصولات زراعی و سیفی در سراسر دنیا است. با

جذب CO_2 در کلروپلاست شده همچنین کاهش فعالیت آنزیم های مختلف در چرخه کالوین، اختلال در واکنش های متابولیکی نظیر سنتز رو بیسکو، تولید ATP و اختلال در انتقال الکترون را به دنبال دارد (Wahid and Rasul, 2005). گزارش شده است که اختلال در فتوفسفریلاسیون و سنتز آدنوزین تری فسفات عامل اصلی محدود کننده فتوسنتز حتی در خشکی خفیف است. در تنش شدید خشکی، فتوسنتز به علت کاهش فعالیت رو بیسکو محدود می شود (Bota et al., 2004). قند های محلول یکی از اسمولیت های سازگار محسوب می شوند که در شرایط خشکی تجمع یافته و ممکن است به عنوان عامل اسمزی و یا محافظت اسمزی عمل نمایند. در حالت اول افزایش قدها در اثر تنش با تنظیم اسمزی و نگهداری تورژسانس و در حالت دوم با پایدار کردن غشاء ها و پروتئین ها در ارتباط می باشد (Bohnert et al., 1996). برای افزایش کربوهیدرات های محلول در شرایط تنش خشکی عوامل متعددی ذکر شده است. گزارشات مبین آن است که در شرایط خشکی ممکن است کربوهیدرات های مرکب به کربوهیدرات های ساده تجزیه شوند. تحت شرایط تنش افزایش نسبت ساکاراز به نشاسته و تجزیه نشاسته، همچنین کاهش انتقال ساکاراز به خارج از برگ ها منجر به افزایش کربوهیدرات های محلول می گردد (Pereira, and Chaves, 1993; Watanab et al., 2000) افزایش قند های محلول در گیاه مواجه با تنش کم آبی را به دلیل افزایش تجزیه کربوهیدرات های نامحلول و در نتیجه بالا رفتن سطوح قند های محلول، سنتز مواد اسمتیک از مسیرهای غیر فتوسنتزی، توقف رشد، کاهش سرعت انتقال مواد و افزایش سنتز ساکاراز به دلیل فعل سازی آنزیم ساکاراز فسفات سنتاز نسبت داده اند (Oliviera-Neto et al., 2009).

فیتوهورمون ها با عملکردهای متفاوت فیزیولوژیکی برای انطباق گیاه با تنش های زنده و غیرزنده ضروری

شروع اعمال تیمارهای خشکی محلول پاشی با کیتینین در غلاظت‌های ۲ و ۴ میلی‌گرم در لیتر در ۵ مرحله با فاصله ۴ روز بر اندام‌های هوایی گیاهان با توجه به نوع تیمار انجام شد. گیاهان در این تحقیق به مدت ۲۰ روز تحت تیمار قرار گرفتند.

سنجدش‌های پارامترهای رشد: به منظور انجام سنجدش‌های مورفولوژیکی و فیزیولوژیکی، ۶۰ روز پس از کاشت، گیاهان با دقت از گلدان خارج شده و ریشه‌ها با آب مقطر کاملاً سستشو گردید. طول بخش هوایی (ساقه) و ریشه توسط یک متر فلزی اندازه‌گیری شد. جهت تعیین وزن‌تر، برگ و ریشه مربوط به یک گیاه جدا و توسط ترازوی دیجیتال توزین شد. جهت اندازه‌گیری وزن خشک، برگ و ریشه نمونه‌هایی که وزن‌تر آن‌ها محاسبه شده بوده صورت مجزا به مدت ۷۲ ساعت در آون با دمای ۷۵ درجه سانتی‌گراد قرار داده شد و پس از خشک شدن با ترازوی دیجیتال توزین گشتند. برای تعیین سطح برگ، از برگ‌های مشخصی که دارای موقعیت مشابهی بر روی ساقه گیاهان تحت تیمار بودند استفاده شد. سطح برگ توسط دستگاه پلاتی متر اندازه‌گیری شد.

سنجدش رنگیزه‌های فتوسنتزی: ابتدا یک گرم برگ توزین و با ۱۰ میلی‌لیتر استون ۸۰ درصد ساییده شد. سپس محلول فوق با کاغذ صافی واقمن ۲ صاف و با استون ۸۰ درصد به حجم نهایی ۲۰ میلی‌لیتر رسانده شد. جذب محلول در طول موج‌های ۶۶۳ و ۶۴۵ با استفاده از شاهد در دستگاه اسپکتروفتومتر خوانده شد. سپس محتوای کلروفیلی با استفاده از روابط زیر بر حسب میلی‌گرم برگم وزن‌تر محاسبه گردید (Jenson, 1987).

$$\begin{aligned} \text{Chl (a)} &= 0.0127A_{663} - 0.00269A_{645} \\ \text{Chl (b)} &= 0.0229A_{645} - 0.00468A_{663} \\ \text{Chlt (a+b)} &= 0.0202A_{645} + 0.00802A_{663} \end{aligned}$$

توجه به اینکه بخش وسیعی از زمین‌های زیر کشت دنیا و ایران در شرایط آب و هوایی نیمه خشک قرار دارند لزوم توجه به روش‌های نوین جهت کاهش خسارات ناشی از این تنفس، امری ضروری به حساب می‌آید. گزارشات مختلف نشان می‌دهد که گیاهان مختلف از جمله گیاهان تیره کدو تحت تنفس خشکی دچار کاهش رشد و بازده محصولات کشاورزی می‌شود و استفاده از هورمون‌ها و تنظیم کننده‌های رشد باعث بهبود رشد گیاه تحت تنفس خشکی می‌گردد. از این رو هدف از انجام تحقیق حاضر بررسی اثر محلول پاشی کیتینین بر تغییرات رشد، رنگیزه‌های کلروفیلی و قندهای محلول و نامحلول به عنوان شاخص‌های فتوسنتزی در پاسخ این گیاه به سطوح مختلف خشکی بود.

مواد و روش‌ها

بذر *Cucurbita maxima* L از مرکز فروش بذرهای استاندارد و هیبرید در گرگان تهیه شد. بذرها در پارچه نمدار به مدت ۳ روز قرار داده تا ریشه‌چه از آن خارج شد. سپس بذر جوانه‌زده به گلدان‌هایی با حجم ۵ کیلوگرم در خاکی که مخلوطی از خاک مزرعه + خاک برگ + ماسه با نسبت ۱:۱:۳ بود منتقل شدند. گلدان‌ها در شرایط محیط باز با دمای متوسط 25 ± 2 درجه سانتی‌گراد و رطوبت نسبی ۷۰ درصد قرار گرفتند. مشخصات خاک مورد استفاده در گلدان‌ها در جدول (۱) آورده شده است. پس از خروج اندام هوایی از خاک تمام گلدان‌ها به مقدار مساوی آبیاری گشتند. اعمال تنفس خشکی: در ابتدا ظرفیت زراعی خاک گلدان‌ها^۱ تعیین شد. سپس $2/3$ مقدار آن جهت اعمال تنفس خشکی ملایم ($2/3$ FC) و $1/3$ آن برای تنفس خشکی شدید ($1/3$ FC) در نظر گرفته شد. ۳۰ روز پس از کشت در اواسط دوره رویشی با توجه به نوع تیمار، گلدان‌ها با مقدار تعیین شده آبیاری گشتند. با

1. Filed capacity

خصوصیات مورفولوژیکی گیاه: بر اساس مقایسه میانگین داده‌ها، بیشترین طول اندام هوایی در تنفس ملایم (۲/۳ ظرفیت زراعی) همراه با کاربرد ۴ میلی‌گرم بر لیتر کیتین مشاهده شد. در بین سایر تیمارها اختلاف معنی داری مشاهده نشد. همچنین بیشترین طول ریشه در تنفس شدید بدون کاربرد کیتین بدست آمد که نسبت به شاهد از لحاظ آماری معنی دار بود (جدول ۱).

طبق نتایج بدست آمده کاربرد کیتین در تنفس شدید در هر دو غلظت (۲ و ۴ میلی‌گرم در لیتر) موجب افزایش قابل ملاحظه وزن تر ریشه شد. در مورد وزن تر اندام هوایی نیز کاربرد کیتین ۴ میلی‌گرم در لیتر بدون تنفس و نیز کاربرد این هورمون در غلظت‌های کاربردی افزایش وزن تر اندام هوایی را نسبت به عدم کاربرد آن به همراه داشت (جدول ۱).

چنانچه در شکل ۳ مشاهده می شود تنفس ملایم و شدید خشکی موجب کاهش معنی دار وزن خشک اندام هوایی و ریشه شد و کاربرد کیتین در هر دو غلظت در شرایط تنفس موجب افزایش معنی دار این پارامتر رشد گشت (جدول ۱).

طبق جدول ۱ تنفس ملایم و شدید خشکی موجب کاهش معنی دار تعداد برگ شد. کاربرد کیتین چه در شرایط تنفس خشکی و چه عدم تنفس تعداد برگ را به طور قابل ملاحظه‌ای افزایش داد که این مطلب بویژه در مورد تنفس ملایم قابل ملاحظه بود. در مورد تعداد غنچه و گل چنین نیز چنین افزایشی مشاهده شد. در مورد تعداد گل نیز روند افزایش گل در کاربرد کیتین در تنفس ملایم قابل توجه بود.

سنجرش قندهای محلول و نا محلول: ابتدا نمونه گیاهی در درجه حرارت ۹۰ سانتی‌گراد به مدت ۴۸ ساعت داخل آون خشک و توزین گشت. سپس ۱۰ میلی‌لیتر الكل اتانول ۷۰ درصد به نمونه‌ها اضافه و در یخچال به مدت یک هفته نگهداری شد. به ۱ میلی‌لیتر از محلول بالایی ۱ میلی‌لیتر آب مقطر اضافه شد. در مرحله بعد ۱ میلی‌لیتر فنل ۵ درصد و ۵ میلی‌لیتر اسید سولفوریک غلیظ به محلول فوق افزوده و در طول موج ۴۸۵nm در مقابل شاهد جذب آن توسط دستگاه اسپکتروفوتومتر خوانده شد. برای یافتن غلظت قندهای محلول (c) توسط منحنی استاندارد، از گلوکز با غلظت‌های مختلف استفاده گردید. در نهایت مقدار قندهای محلول بر حسب گرم بر گرم وزن خشک نمونه گیاهی محاسبه گردید.

برای استخراج نشاسته از نمونه‌ای که قند آن استخراج شد استفاده گردید. بدین ترتیب که نمونه با ۱۰ میلی‌لیتر آب مقطر ساییده سپس به مدت ۱۰ تا ۱۵ دقیقه جوشانده و سپس صاف گردید. سپس به ۱ میلی‌لیتر از این محلول ۱ میلی‌لیتر الكل ۷۰ درصد، ۱ میلی‌لیتر فنل ۵ درصد و ۵ میلی‌لیتر اسید سولفوریک خالص افزوده و پس از خنک شدن، جذب آن‌ها در ۴۷۵ نانومتر با استفاده از شاهد توسط دستگاه اسپکتروفوتومتر خوانده شد (Kochert, 1987).

تجزیه و تحلیل داده‌ها از طریق واریانس دو عاملی و میانگین انجام گرفت. همچنین مقایسه بین تیمارها براساس آزمون دانکن توسط برنامه آماری SPSS برای چهار تکرار صورت گرفت. رسم نمودارها با کمک نرم‌افزار Excel انجام شد.

نتایج

بررسی اثر تنفس خشکی و کیتین برونزاد بر برخی

جدول ۱: اثر غلظت‌های مختلف کیتین (۲ و ۴ میلی‌گرم در لیتر) به همراه تنش ملایم (۲/۳ ظرفیت زراعی) و تنش شدید خشکی (۱/۳ ظرفیت زراعی) در کنار شاهد (ظرفیت زراعی) بر پارامترهای رشد.

تعداد گل	تعداد غنچه	تعداد برگ	وزن تر اندام هوایی g	وزن تر ریشه g	طول اندام هوایی cm	طول ریشه cm	تیمارها
۳/۵ ab	۱/۶۳ ab	۸/۷۵ b	۱۵/۲۴ bc	۲/۰۴ ab	۱۲ b	۲۵ bc	شاهد (ظرفیت زراعی = FC)
۵/۲۵ a	۱/۷۵ ab	۱۰/۲۵ ab	۱۹/۵۴ ab	۲/۰۷ ab	۱۲/۳۷ b	۱۸/۲۳ c	۲ mg/L
۵/۵ a	۲/۵ a	۱۱/۲۵ a	۲۸/۴۳ a	۳/۰۲ a	۱۳/۸ ab	۲۳/۵ bc	۴ mg/L
۷۵ c1	۱/۲۵ b	۷ c	۱۲/۳۱ bc	۲/۱۶ b	۱۱/۵ b	۲۵/۵ b	۲/۳ FC (تش ملایم)
۳/۵ ab	۱/۷۵ ab	۱۱/۷۵ a	۱۴/۹۱ bc	۲/۰۴ ab	۱۲/۱۲ b	۱۷/۷۵ c	۲/۳ FC + ۲
۳/۵ ab	۱/۷۵ ab	۱۲ a	۱۱/۲۰ ab	۲/۰۲ ab	۱۷/۸۵ a	۲۷ bc	۲/۳ FC + ۴
۲ bc	۱ b	۶/۵ c	۸/۳۷ c	۱/۰۹ c	۱۰/۲۷ b	۳۷/۲۵ a	۱/۳ FC (تش شدید)
۳/۵ ab	۱/۷۵ ab	۸/۷۵ b	۱۳/۷۳ bc	۲/۰۰ ab	۱۱/۳۷ b	۲۵/۵ bc	۱/۳ FC + ۲
۳/۷۵ ab	۱/۷۵ ab	۹/۲۵ b	۱۲/۶۷ bc	۲/۰۸ ab	۱۱/۳ b	۲۵/۲۵ bc	۱/۳ FC + ۴

* حروف غیر مشابه نشان‌دهنده وجود اختلاف معنی‌دار در سطح ۵ درصد است

شد. در مورد کلروفیل کل نیز تنها تنش شدید موجب کاهش معنی دار نسبت به شاهد گشت و محلول پاشی با کیتین نیز تنها در تنش شدید افزایش معنی دار کلروفیل کل را به همراه داشت. نتیجه مشابه با رنگیزهای کلروفیلی در مورد کاروتونوئیدها نیز دیده شد بدین معنی که کاهش تنش خشکی شدید موجب کاهش معنی دار این ترکیبات در برگ گیاه شد علاوه بر اینکه تیمار با کیتین بویژه ۴ میلی‌گرم در لیتر در شرایط بدون تنش نیز میزان کاروتونوئیدها را به طور معنی داری افزایش داد (جدول ۲).

بررسی اثر تنش خشکی و کیتین برونزه‌زد بر رنگیزه‌های فتوستنتزی: نتایج این تحقیق نشان داد که تنش خشکی موجب کاهش میزان کلروفیل a شد. از سوی دیگر کاربرد کیتین بویژه در غلظت ۴ میلی‌گرم در لیتر چه در شرایط تنش و چه عدم تنش موجب افزایش میزان کلروفیل a گشت. در مورد کلروفیل b اگرچه اعمال تنش‌های خشکی ملایم و شدید کاهش میزان کلروفیل b را به دنبال داشت ولیکن کاربرد کیتین هم در غلظت ۲ و هم ۴ میلی‌گرم در لیتر فقط در شرایط تنش شدید موجب افزایش قابل ملاحظه این رنگیزه

جدول ۲: اثر غلظت‌های مختلف کیتین (۲ و ۴ میلی‌گرم در لیتر) به همراه تنش ملایم (۲/۳ ظرفیت زراعی) و تنش شدید خشکی (۱/۳ ظرفیت زراعی) در کنار شاهد (ظرفیت زراعی) بر رنگیزه‌های فتوستنتزی

کاروتونوئیدها mg.g ⁻¹ FW	کلروفیل کل mg.g ⁻¹ FW	کلروفیل b mg.g ⁻¹ FW	کلروفیل a mg.g ⁻¹ FW	تیمارها
۲/۰۹ a	۱۱/۲۵ b	۷/۰۳ a	۴/۲۳ b	شاهد (ظرفیت زراعی = FC)
۲/۸۲ a	۱۲/۱۲ ab	۷/۰۷ a	۵/۰۵ ab	کیتین ۲ mg/L
۳/۰۷ ab	۱۲/۱ ab	۶/۷۵ ab	۵/۴۷ a	کیتین ۴ mg/L
۱/۸۵ bc	۸/۳۲ bcd	۵/۶۳ bc	۳/۲۲ cd	۲/۳ FC (تش ملایم)
۲/۲ b	۱۱/۵۵ b	۶/۴۵ b	۵/۱ ab	۲/۳ FC + ۲
۲/۴۹ bc	۹/۶۴ ab	۵/۱۳ bc	۴/۵۸ b	کیتین ۲/۳ FC + ۴
۱/۳۸ c	۷/۴۵ cd	۴/۸۴ c	۲/۷۳ d	۱/۳ FC (تش شدید)
۱/۹۲ ab	۱۰/۸۴ bc	۶/۸۳ ab	۳/۶۵ bc	کیتین ۱/۳ FC + ۲
۲/۳۱ b	۱۲/۵۳ a	۶/۵ b	۵/۲۲ a	کیتین ۱/۳ FC + ۴

موردندهای نامحلول برگ تنفس خشکی و محلول پاشی با کیتین تغییرات معنی داری را نسبت به شاهد در سطح احتمال ۵ درصد حاصل نکرد. در ریشه قندهای نامحلول در کاربرد کیتین در هر دو غلاظت افزایش معنی دار و قابل ملاحظه ای را در شرایط خشکی نسبت به عدم اعمال کیتین ایجاد نمود (جدول ۳).

بررسی اثر تنفس خشکی و کیتین برونزاد بر قندهای محلول و نامحلول: چنانچه در جدول ۳ مشاهده می شود اعمال تنفس خشکی ملایم و شدید میزان قندهای محلول برگ و ریشه را افزایش داد در حالی که کاربرد کیتین در هر دو غلاظت کاربردی موجب کاهش این ترکیبات شد. از سوی دیگر در شرایط عدم تنفس اعمال تیمار کیتین در دو غلاظت کاربردی تغییرات معنی داری را نسبت به شاهد ایجاد نکرد. در

جدول ۳: اثر غلاظت‌های مختلف کیتین (۲ و ۴ میلی گرم در لیتر) به همراه تنفس ملایم (۲/۳FC) و تنفس شدید خشکی (۱/۳FC) بر قندهای محلول و نامحلول ریشه و برگ.

تیمارها	قندهای محلول برگ	قندهای محلول ریشه	قندهای نامحلول ریشه	قندهای نامحلول برگ
	mg.g ⁻¹ DW	mg.g ⁻¹ DW	mg.g ⁻¹ DW	mg.g ⁻¹ DW
شاهد (ظرفیت زراعی = FC)	۰/۱۶۵ bc	۰/۱۲۸ de	۰/۰۶۲ ab	۰/۰۴۶ bc
کیتین ۲ mg/L	۰/۱۵۱ c	۰/۱۱۵ e	۰/۰۸۰ a	۰/۰۸۳ ab
کیتین ۴ mg/L	۰/۱۵۰ c	۰/۱۱۲ e	۰/۰۳۹ bc	۰/۰۹۲ a
(تنفس ملایم) ۲/۳FC	۰/۲۰۵ a	۰/۱۷ a	۰/۰۵۰ b	۰/۰۲۷ cd
۲/۳ FC + ۲	۰/۱۸۴ b	۰/۱۴۶ bc	۰/۰۴۶ b	۰/۰۷۸ b
۲/۳ FC + ۴	۰/۱۶۹ bc	۰/۱۴۷ bc	۰/۰۴۶ b	۰/۰۸۱ b
(تنفس شدید) ۱/۳FC	۰/۲۱۷ a	۰/۱۷۹ a	۰/۰۳۷ bc	۰/۰۳۵ cd
۱/۳ FC + ۲	۰/۱۶۰ c	۰/۱۵۴ bc	۰/۰۴۸ b	۰/۰۸۶ ab
۱/۳ FC + ۴	۰/۱۵۱ c	۰/۱۲۵ e	۰/۰۵۲ b	۰/۰۸۵ ab

متabolیسم پایدار، تهیه انرژی به مدت طولانی و نیز بازیافت بهتر بعد از شرایط تنفس باشد (Oliviera-Neto et al., 2009).

از سوی دیگر طبق داده‌های بدست آمده در مورد پارامترهای رشد نتایج نشان داد اثرات مخرب تنفس بر اندام هوایی بیشتر از ریشه بود (جدول ۱). تحقیقات نشان داده است. در تنفس خشکی، دهیدراسیون و کاهش حجم سلولی در شاخه‌ها بیشتر از ریشه‌ها به وقوع می‌پیوند. به عبارت دیگر تحت تنفس کم آبی، رشد شاخه‌ها بیشتر از رشد ریشه‌ها تحت تأثیر قرار می‌گیرد. در این رابطه عنوان شده است که تحت چنین شرایطی فراورده‌های فتوسنتزی بیشتری به ریشه‌ها اختصاص داده می‌شود. به علاوه بالا بودن

بحث

بررسی اثر تنفس خشکی و کیتین برونزاد بر خصوصیات موکولوژیکی گیاه: نتایج این پژوهش نشان داد که شاخص‌های رشد اندام هوایی گیاه *Cucurbita maxima* یافت ولی کاربرد کیتین برونزاد سبب بهبود پاسخ گیاه به شرایط تنفس شد که در اکثر موارد این پاسخ مثبت در تنفس شدید قابل ملاحظه بود. در مورد تأثیر خشکی بر پارامترهای رشد گزارشات متعددی در مورد گیاهان مختلف وجود دارد که بیانگر کاهش رشد در شرایط کم آبی است (Ghaderi et al., 2015). در این راستا اعلام شده است توقف رشد می‌تواند مربوط به نگهداری کربوهیدرات‌ها برای

رنگیزه‌های فتوستنتزی: تحقیقات نشان داده است خشکی باعث شکسته شدن کلروپلاست و کاهش میزان کلروفیل می‌گردد. همچنین در اثر تنش خشکی تشکیل پلاستیدهای جدید و نیز کلروفیل a و b کاهش یافته و نسبت کلروفیل a و b تغییر می‌کند (Saeidi et al., 2015 and Abdoli, 2015). در پژوهش حاضر تنش خشکی شدید منجر به کاهش کلروفیل شد و استفاده از کیتین تاثیر معنی‌داری بر میزان کلروفیل داشت که با نتایج یافته‌های Kaya و همکاران (۲۰۱۰) در گیاه ذرت Ibrahim و همکاران (۲۰۰۷) در گیاه باقلا که نشان دادند کاربرد کیتین موجب افزایش رنگدانه‌های فتوستنتزی و محتوای کلروفیلی برگ گردید همخوانی دارد. در شرایط تنش خشکی، افزایش فعالیت کلروفیلز و پراکسیداز از عوامل موثر در کاهش کلروفیل می‌باشد. دوام فتوستنتز و حفظ کلروفیل برگ تحت شرایط تنش از جمله شاخص‌های فیزیولوژیک تحمل به تنش است. در مورد ریحان، پیاز، نعناع ژاپنی و تره ایرانی نیز کاهش میزان کلروفیل برگ تحت شرایط تنش خشکی گزارش شده است (Hassani et al., 2002; Moshtaghi Niaki, and Omid Beighi, 2002; 2008). عنوان شده است افزایش غلاظت کلروفیل در گیاهان در قیمار با کیتین می‌تواند نشت الکتروولیتی را به حداقل برساند که برخی دلیل آن را اثر کیتین بر تراوایی غشاء دانستند (Kaya et al., 2010).

از طرفی انواع اکسیژن‌های مختلف که طی تنش خشکی تولید می‌شود باعث کاهش رنگیزه‌های فتوستنتزی می‌گردد (Sairam et al., 2002). کمبود آب شبیه سایر شرایط متغیر محیطی تنش اکسیداتیو ایجاد می‌کند. در این شرایط بسته شدن روزنه و در نتیجه کمبود CO_2 فتوستنتز را تحت تاثیر قرار داده و منجر

نسبت ریشه به شاخه در شرایط تنش خشکی می‌تواند با حساسیت متفاوت ریشه‌ها و شاخه‌ها به اسید آبسیزیک ABA درون زا و وقوع تنظیم اسمزی بیشتر ریشه‌ها مرتبط باشد. بنابراین برخی گیاهان در پاسخ به تنش خشکی، میزان جذب آب را از راه حفظ نسبی رشد ریشه افزایش می‌دهند و به این ترتیب مقدار آب خاک بیشتری را در اختیار گیاه قرار می‌گیرد (Kaya et al., 2006). همچنین طبق نتایج بدست آمده سیتوکینین توансست موجب ازدیاد غنچه و نیز تعداد گل در شرایط تنش شود. طبق نظر برخی محققان سیتوکینین‌ها در فرایندهای مختلف رشد و نمو و تولید مثل گیاهان دخیل‌اند (Tardieu and Davies, 1993) در این راستا تحقیقات نشان داد که نرخ تقسیم سلولی به‌طور نزدیکی با غلظت‌های داخلی سیتوکینین‌ها در گیاه برنج در ارتباط است و کاربرد اگرورژن زآتن نمو گلدهی برنج را بهبود بخشدید و به‌طور معنی‌داری تعداد گل‌ها را افزایش داد (Wang et al., 2009). کاهش سطوح درونزاد سیتوکینین‌ها در گیاهان در معرض تنش بر امکان اینکه کاهش مقدار یافته سیتوکینین‌ها عامل محدود کننده رشد تحت شرایط تنش باشد اشاره دارد و بر این نکته تأکید می‌کند که کاربرد خارجی کیتین می‌تواند منجر به افزایش رشد در شرایط تنش گردد (Hare et al., 1997). دیده شده است میزان سیتوکینین‌های درون زاد در بافت گیاهی در پاسخ به تنش خشکی کاهش می‌یابند (Wang et al., 2009). بنابراین کاربرد سیتوکینین برونزاد در پاسخ به شرایط نامناسب محیطی می‌تواند موجب افزایش کارایی گیاه در پاسخ به تنش گردد (Hare et al., 1997).

بررسی اثر تنش خشکی و کیتین برونزاد بر

نتایج پژوهش Niakan and Ahmadi (۱۳۸۹) در گیاه گوجه فرنگی نشان داد قندهای محلول با اعمال تنش خشکی افزایش یافت و محلول پاشی با کیتین تحت هر دو تنش خشکی ملایم و شدید با کاهش قندهای محلول و افزایش نشاسته در سطوح مختلف خشکی همراه بود. در پژوهش حاضر نیز تنش خشکی منجر به افزایش چشمگیری در میزان قندهای نامحلول گشت و کاربرد کیتین کاهشی را در میزان قندهای محلول ایجاد نمود.

نتیجه‌گیری نهایی

نتایج این تحقیق نشان داد خشکی در سطوح مختلف توانست شاخص‌های رشد و دستگاه فتوستتری گیاه را تحت تاثیر قرار دهد و کاربرد کیتین بهخصوص در غلظت ۴ میلی‌گرم در لیتر جهت رفع اثرات سوء ناشی از تنش خشکی بر گیاه دارای عملکردی مناسب بود و سبب بهبود پاسخ گیاه به تنش خشکی گردید.

References

- Bohnert, H.J. and Jensen R.G. (1996).** Strategies for engineering water stress tolerance in plants, Trends in Biotechnology. Elsevier Science. 14: 89-97.
- Bota J., Flexas J. and Medrano H. (2004).** Is photosynthesis limited by decreased Rubisco activity and RuBP content under progressive water stress? New Phytology. 162: 671-681.
- Ghaderi, N., Normohammadi, S. and Javadi, T. (2015).** Morpho-physiological responses of strawberry (*Fragaria × ananassa*) to exogenous salicylic acid application under drought stress. Journal of Agricultural and Technology. 17 (1):167-178.
- Hare, P.D., Cress W.A. and van Staden. J. (1997).** The involvement of cytokinin in plant responses to environmental stress. Plant Growth Regulation. 23: 79-103.
- Hassani, A., Omid Beighi, R. (2002).** Effects of water stress on some morphological, physiological and metabolical characteristics of basil (*Ocimum basilicum*). Agricultural Knowledge. 12 (3): 47-59.
- Hissao, T. (1973).** Plant responses to water stress. Annual Review of Plant Physiology. 24: 519-570.

به تشکیل گونه‌های اکسیژن فعال (ROS) در کلروپلاست می‌شود (Turkan et al., 2005). در پژوهش حاضر تنش خشکی منجر به کاهش چشمگیر در میزان رنگیزهای فتوستتری شد ولی کاربرد کیتین نه تنها مانع از آسیب ناشی از تنش خشکی بر این رنگیزهای شد بلکه در این شرایط بر میزان آنها افزود. پیشنهاد شده است کیتین ممکن است دو اثر بر کلروفیل داشته باشد اولاً می‌تواند باعث تجمع کلروفیل گردد (که این کار توسط تحریک سنتز پروتوکلروفیلید انجام می‌گردد) و دوماً از تجزیه کلروفیل از طریق اثر بر فعالیت کلروفیلаз جلوگیری نماید (Xiaotao et al., 2013). بررسی اثر تنش خشکی و کیتین بروز نزد بر میزان قندهای محلول و نامحلول برگ و ریشه: تجمع کربوهیدرات‌های محلول در پاسخ به تنش‌های محیطی در ارتباط با تنظیم اسمزی و یا حفاظت غشاها سلولی می‌باشد و محتوای قندهای محلول ممکن است روشی مفید در انتخاب گونه‌های مقاوم به شوری و خشکی باشد (Kerepesi, 1998). قندهای الكلی (مانند گلیسرول، اینوزیتول و پینیتول) و قندهای ساده (اساساً فروکوتوز و گلوكز) و قندهای مرکب (مانند ترھالوز و رافینوز فروکتان‌ها) به عنوان تنظیم کننده‌های سازشی تولید می‌شود (Bohnert et al., 1996). عمل فیزیولوژیک این قندها ممانعت از اتصال بین غشاها مجاور هم در طول دوره تنش از طریق نگهداری لیپیدها و پایداری پروتئین‌ها از طریق ایجاد پیوندهای هیدروژنی با دنباله‌های خطی پروتئین‌ها، تنظیم ژن و تنظیم اسمزی می‌باشد (Yin et al., 2010). در مجموع افزایش قندهای محلول در طی تنش خشکی را می‌توان به دلایل زیر دانست: تحریب کربوهیدرات‌های نامحلول که منجر به افزایش قندهای محلول می‌گردد، سنتز این ترکیبات از مسیرهای غیر فتوستتری و متوقف شدن رشد (Hissao, 1973).

- Ibrahim, M.E., Bekheta M.A., El-Moursi A., and Gaafar N.A. (2007).** Improvement of growth and seed yield quality of *Vicia faba* L. Plants as affected by application of some bioregulators. Australian Journal of Basic and Applied Sciences. 1 (4): 657-666.
- Jenson, A. (1978).** Chlorophyll and carotenoid. PP. 147-158. In: Hellebust, J.A. and J.S. Craigie (Eds.), Handbook of Phycological Methods: Physiological and Biochemical Methods, Cambridge Univ. Press
- Kaya, C., Tuna. A.L. and Abdulkadir, M.O. (2010).** Effect of foliar applied kinetin and indole acetic acid on maize plants grown under saline conditions. Turkish Journal of Agriculture. 34 : 529-538.
- Kaya, M.D., Okçub G., Ataka M., Çiklıcı Y., and Kolsarıcı Ö. (2006)** Seed treatments to overcome salt and drought stress during germination in sunflower (*Helianthus annuus* L.). European Journal of Agronomy. 24: 291–295
- Kerepesi, I. (1998).** Osmotic and salt stresses induced differential alternation in water-soluble carbohydrate content in wheat seedling. Journal of Agricultural and Food Chemistry. 3(4):5347-5354.
- Kochert, G. (1978).** Carbohydrate determination by the phenoel sulfuric acid method in: Helebust., J.A .Craig, J.s. (ed) :Hand book of phycologia method :56-97. Cambridge univ. Press. Cambridge.
- Moshtaghi Niaki, M. (2008).** The effect of water deficit stress on some morphological and physiological characteristics of three onion (*Allium cepa* L.) cultivars. M.Sc. Thesis in Horticultural Science. Faculty of Agriculture, Bu-Ali Sina University, pp. 62.
- Niakan, M. and Ahmadi, A. (2014).** Effects of foliar spraying kinetin on growth parameters and photosynthesis of tomato under different levels of drought stress. Iranian Journal of Plant Physiology. 4(2): 939- 947.
- Oliviera-Neto, C.F., Silva-Lobato, A.K., Goncalves-Vidigal, M.C., Costa, R.C.L., Santos. Filho. B.G., Alves, G.A.R. and Silva-Maia, W.J.M (2009).** Carbon compounds and chlorophyll contents in sorghum submitted to water deficit during three growth stages. Science and Technology. 7: 588-593.
- Pereira, J.S. and Chaves, M.M. (1993).** Plant water deficits in mediterranean ecosystems. In: Water Deficits and Plant Growth. Eds. By Kozlowski, T.T. IV: 237-251. Academic Press New York.
- Pospisilova, J., Wagner. M., Malbeck. J., Travnickova. A. and Batkova. P. (2005).** Interactions between abscisic acid and cytokinin during water stress and subsequent rehydration. Biologia Planta. 49: 533-540.
- Reddy, A., Chaitanya, K. and Vivekanandan, M. (2004).** Drought-induced responses of photosynthesis and antioxidant metabolism in higher plants. Journal of Plant Physiology. 161(11): 1189–1202.
- Saeidi, M. and Abdoli, M. (2015).** Effect of drought stress during grain filling on yield and its components, gas exchange variables, and some physiological traits of wheat cultivars. Journal of Agricultural and Technology. 17 (4): 885-898.
- Sairam, R.K., Veerabhadra Rao, K. and Srivastava, G.C. (2002).** Differential response of wheat genotypes to long term salinity stress in relation to oxidative stress, antioxidant activity and osmolyte concentration. Plant Science, 163: 1037-1046
- Shinozaki, K. and Shinozaki, K.Y. (2007)** Gene networks involved in drought stress and Tolerance. Experimental Botany. 58: 221-227.
- Shudo, K. (1994).** Chemistry of phenylelurea cytokinins. In cytokinins: Chemistry, activity and function (Ed by D.V. Mokk and MC Mok), CRC Press, Boca Raton. pp: 35-42.
- Skilny, K., Hilary, R., and Lott John, N.A. (1992).** Mineral analyses of storage reserves of *Cucurbita maxima* and *Cucurbita andreana* pollen. Canadian Journal of Botany. 70(3): 491–495.
- Stavir, K., Gupta, A.K. and Kaure, N. (1998).** Gibberelic A3 reverses the effect of salt stress in chick pea (*Cicer arietinum* L.) seedlings by changing amylas activity and mobilization of starch in cotyledo. Plant Growth Regulation. 26: 85-90.
- Tardieu, F. and Davies, W.J. (1993).** Integration of hydraulic and chemical signaling in the control of stomatal conductance and water status of droughted plants. Plant Cell Environment. 16: 341–349.
- Turkan, I., Bor, M., Ozdemir, F. and Koca, H. (2005).** Differential responses of lipid peroxidation and antioxidants in the leaves of drought - tolerant *P. acutifolius* Gray and drought-sensitive *P. vulgaris* L. subjected to polyethylene glycol mediated water stress. Plant Science. 168:223-231.
- Wahid, A. and Rasul, E. (2005).** Photosynthesis in leaf, stem, flower and fruit In: Pessarakli M. (Ed). Hand book of Photosynthesis, 2nd Ed. PP: 235.
- Wang, J.R., Hu, H., Wang, GH., Li, J., Chen, J.Y. and Wu, P. (2009).** Expression of PIN

- genes in rice (*Oryza sativa* L.): tissue specificity and regulation by hormones. *Molecular Plant.* 2:823–831.
- Watanabe, Sh., Kojima.K., Ide, Y. and Sasaki. S. (2000).** Effects of saline and osmotic stress on proline and sugar accumulation in *Populus euphratica* In vitro. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture.* 63:199-206.
- Werner, T., Nehnevajova, E., Köllmer, I., Novák, O., Strnad, M., Krämer, U. and Schmülling, T. (2010).** Root-Specific reduction of cytokinin causes enhanced root growth, drought tolerance, and leaf mineral enrichment in *Arabidopsis* and Tobacco. *Plant Cell.* 22 (12): 3905-3920.
- Xiaotao, D., Yuping, J., Hong, W., Haijun, J., Hongmei, Z., Chunhong, C. and Jizhu, Y.** (2013). Effects of cytokinin on photosynthetic gas exchange, chlorophyll fluorescence parameters, antioxidative system and carbohydrate accumulation in cucumber (*Cucumis sativus* L.) under low light. *Acta Physiologae Plantarum.* 35(5): 1427–1438.
- Yin, Y.G., Kobayashi, Y., Sanuki, A., Kondo, S., Fukuda, N., Ezura, H. and Matsukura, CH. (2010).** Salinity induces carbohydrate accumulation and sugar-regulated starch biosynthetic genes in tomato (*Solanum lycopersicum* L. cv. 'Micro-Tom') fruits in an ABA- and osmotic stress-independent manner. *Journal of Experimental Botany.* 61 (2): 563-574.