تولیدات گیاهی (مجله علمی کشاورزی)، جلد ۳۶ شماره ۲، تابستان ۹۲

ارزیابی برخی تغییرات بیوشیمیایی و فیزیولوژیک تحمل به آبیاری با آب شور در سه ژنوتیپ کلزا

فرانک طهماسبی[۱]، پیمان حسیبی[۲]* و موسی مسکر باشی[۳]

۱- دانشجوی سابق کارشناسی ارشد زراعت دانشگاه شهید چمران اهواز

۲*- **نویسنده مسؤول:** استادیار گروه زراعت و اصلاح نباتات دانشگاه شهید چمران اهواز (p.hassibi@scu.ac.ir)

۳- دانشیار گروه زراعت و اصلاح نباتات دانشگاه شهید چمران اهواز

تاریخ دریافت:۸۹/۳/۲۳ تاریخ پذیرش: ۹۱/۸/۳

چکیده

مطالعه تغییرات بیوشیمیایی و فیزیولوژیکی در شرایط تنش شوری می‌تواند به شناسایی فاکتورهای مؤثر در تحمل به این تنش کمک نماید. به منظور بررسی این عوامل یک آزمایش گلخانه‌ای در سال زراعی ۸۸-۱۳۸۷ در گلخانه دانشکده کشاورزی دانشگاه شهید چمران اهواز به‌صورت فاکتوریل در قالب طرح پایه کاملاً تصادفی با چهار تکرار انجام شد. فاکتور اول ژنوتیپ شامل هایولا۴۰۱، RGS0003 و شیرالی و فاکتور دوم آبیاری با آب شور مشتمل بر شاهد (صفر میلی مولار)، ۵۰، ۱۰۰ و ۱۵۰ میلی مولار از دو منبع شوری NaCl و $CaCl_2$ به نسبت مساوی بود. اعمال تنش آبیاری با آب شور سبب کاهش وزن خشک اندام هوایی، پتانسیل اسمزی و محتوای نسبی آب در هر سه ژنوتیپ شد. نتایج همچنین نشان دادند که قندهای محلول و غلظت کلروفیل در واحد سطح برگ تا سطح شوری ۱۰۰ میلی مولار افزایش قابل توجهی یافتند ولی در سطح ۱۵۰ میلی مولار، کاهش نشان دادند. تحت تنش آبیاری با آب شور میزان پرولین طی سطوح مختلف شوری افزایش یافت. ژنوتیپ شیرالی دارای ساز و کارهای تحمل کارآمد تری نسبت به دو ژنوتیپ دیگر بود. نتایج همبستگی صفات نشان داد که در هر سه سطح شوری با کاهش ماده خشک شاخص حساسیت به تنش افزایش یافت و در سطح ۱۰۰میلی مولار محتوای نسبی آب برگ با شاخص حساسیت به تنش همبستگی منفی و معنی‌دار داشت. در تیمارهای شاهد، ۵۰ و ۱۰۰ میلی مولار همبستگی منفی و معنی دار بین پرولین و پتانسیل اسمزی وجود داشت. میتوان نتیجه گرفت تجمع بیشتر پرولین، ماده خشک و محتوای نسبی آب برگ می‌توانند شاخص های گزینش مناسبی در ارتباط با تحمل به آبیاری با آب شور در کلزا محسوب گردند.

کلید واژه ها: کلزا، تنش آبیاری با آب شور، ژنوتیپ، کلرید سدیم، کلرید کلسیم و کلزا

مقدمه

گیاه کلزا متعلق به خانواده براسیکاسه بوده و یک گلیکوفیت نسبتاً متحمل به شوری است (مادن و همکاران[۱]، ۱۹۹۵). نتایج آزمایش ها نشان می دهند بذور کلزا می توانند در غلظت هایی از نمک که برای گلیکوفیت های حقیقی کشنده هستند، جوانه زده و تولید این گیاه تحت شوری متوسط خاک کاهش نمی یابد (پاپ و اسمیرنف[۲]، ۱۹۹۵). رشد محصولات زراعی در زمین های شور ممکن است از تنش خشکی، سمیت یونی و کمبود مواد معدنی آسیب دیده و سبب کاهش رشد و تولید محصول شود (نتاندو و همکاران[۳]، ۲۰۰۴). اهمیت مسائل ناشی از شوری آب و خاک و گسترش

1- Madan *et al.*

2- Popp & Smirnoff

3- Netondo *et al.*

روزافزون آن در اراضی کشاورزی به‌عنوان یکی از بحران‌های اساسی در تولید محصولات زراعی کشور روز به روز نمایان‌تر می‌شود. این مسئله به شکل حادتری در استان خوزستان با توجه به گرمای زیاد و بالا بودن سطح آب‌های زیرزمینی به چشم می‌خورد، در نتیجه تبخیر فراوان رطوبت از سطح خاک و کمبود بارندگی‌ها تجمع نمک در لایه‌های سطحی خاک چشمگیرتر است (محمدی، ۱۳۷۷). لذا فهم بیوشیمی و فیزیولوژی تحمل به شوری و تلاش در بکارگیری این دانسته‌ها در ارائه راه‌کارهای جدید امری ضروری به نظر می‌رسد.

در شرایط تنش به لحاظ افزایش غلظت پروتوپلاسم و کاهش محتوای نسبی آب برگ، رشد و تقسیم سلولی کاهش می‌یابد (ژو[1]، ۲۰۰۲). باکاهش RWC[2] و افزایش غلظت پروتوپلاسم تعداد کلروپلاست در واحد سطح برگ افزایش یافته و عدد SPAD نیز افزایش یافت، و این افزایش غلظت کلروفیل به دلیل کاهش حجم سلول‌های ناشی از تنش شوری ارزیابی شد (سعیدی‌پور، ۱۳۸۶). جمیل و همکاران[3] (۲۰۰۷) گزارش دادند که سطح برگ ومیزان عدد SPAD با تنش شوری کاهش یافت. کاهش فتوسنتز تحت تنش شوری می‌تواند به علت کاهش میزان کلروفیل باشد (دلفین و همکاران[4] ۱۹۹۹). آنزیم کلروفیلاز ساختار کلروپلاست را متلاشی کرده و باعث عدم ثبات کمپلکس پروتئین رنگدانه‌ها شد (سینگ و دابی[5] ۱۹۹۵).

در بررسی تحمل به شوری در گونه‌های دانه روغنی براسیکا نتیجه گرفته شد که لاین‌های متحمل به شوری بالاترین میزان اسیدآمینه پرولین را دارا بودند و پرولین برگ به دلیل شرکت در فرایند تنظیم اسمزی برای القای تحمل در برابر شرایط تنش افزایش یافت (اشرف و مک نیلی[6]، ۲۰۰۴). همچنین پرولین نقش یک آنزیم پایدار کننده غشاء سلولی را تحت تنش شوری ایفا می‌کند و آسیب پراکسیداتیو به لیپیدهای غشاء ناشی از تنش شوری را کاهش داده و در ثبات غشاء سلول همکاری می‌نماید (آندرسن و کهرن ،۲۰۰۱[7] ؛ دمیر و کوکاکالیسکان[8]، ۲۰۰۱). در آزمایش تأثیر تنش شوری بر میزان کل قندهای محلول برگ دو واریته کلزا گزارش شد که واریته متحمل از میزان تجمع قندهای محلول بیشتری نسبت به واریته حساس برخوردار بود (کاظم و همکاران[9]، ۲۰۰۳) . قندها به‌عنوان یک سیستم دفاعی در زمان وقوع تنش، فشار آماس را در سطح بالایی نگه داشته و از پلاسمولیز جلوگیری می‌نمایند. همچنین رابطه مثبتی بین تحرک قند در ساقه و تنظیم اسمزی وجود دارد (کیشور و همکاران[10]، ۲۰۰۵). پاپ و اسمیرنف (۱۹۹۵)، و کرام[11] (۱۹۷۶) اظهار داشتند در میان مواد آلی ایجاد کننده اثر اسمزی، قندها ۵۰ درصد کل پتانسیل اسمزی در گلیکوفیت‌های تحت تنش شوری را تشکیل دادند. به علاوه قندها به لحاظ تأمین متابولیت α- کتوگلوتارات و تشدید بیوسنتز اسیدآمینه پرولین دارای اهمیت بوده و موجب حفاظت ساختمان اندامک های مختلف سلول در برابر خسارت‌های اکسیداتیو می شوند (ایریگوین و همکاران[12]، ۱۹۹۲). در اثر تنش شوری با کاهش سطح برگ، محتوای نسبی آب برگ‌ها نیز کاهش یافت (ژو، ۲۰۰۲). کاهش پتانسیل اسمزی یکی از راه‌کارهای تحمل گیاه در برابر تنش بوده و در زمان وقوع تنش یکی از راه‌های القای تحمل در برابر تنش شوری و ممانعت از پسابیدگی سلول‌های گیاهی بود (بنده‌حق و همکاران[13]، ۲۰۰۸).

یکی از روش‌های مؤثر مقابله با تنش شوری، کشت واریته‌های متحمل گیاهان نسبت به شوری می‌باشد. این

1- Zhu
2- Relative water content
3- Jamil *et al.*
4- Delfine *et al.*
5- Singh & Dubey
6-Ashraf & McNeilly

7- Anderson & Kohron
8- Demir & Kocaliskan
9- Qasim *et al.*
10- Kishor *et al.*
11- Cram
12- Iregoyen *et al.*
13- Bandeh-Hagh *et al.*

واریته‌ها شاخص‌های متفاوتی جهت گزینش در محیط‌های با شرایط دشوار و عادی از خود بروز می‌دهند. یکی از این مؤلفه‌ها شاخص حساسیت به تنش (SSI [1]) می‌باشد که توسط فیشر و مائورر [2] (۱۹۷۸) ارائه شد. هر چه مقدار این شاخص کوچکتر باشد میزان تحمل به تنش بیشتر است. ناشناخته ماندن اساس رشد گیاه تحت شرایط تنش شوری و بی‌نتیجه ماندن بسیاری از تحقیقات به دلیل وجود واکنش‌هایی است که در بعضی گیاهان تحمل و در بعضی دیگر حساسیت ایجاد می‌کنند، این از جمله مواردی است که بر اهمیت این قبیل مطالعات روی سازوکارها و دلایل حساسیت گیاهان به شوری می‌افزاید. اگر بدانیم که تحمل به شوری اغلب گیاهان زراعی با گذشت فصل رشد افزایش می‌یابد، آب‌هایی که در مرحله خاصی از رشد گیاه جهت آبیاری نامناسب هستند، در مراحلی دیگر از رشد قابل استفاده خواهند شد. چنین دانسته‌هایی در طراحی برنامه‌های مدیریت منابع آب و خاک توسط تولیدکنندگان و ارائه مدل‌های رشد گیاه توسط محققان مفید خواهند بود. چنین مدل‌هایی می‌توانند در پیش‌بینی واکنش گیاه به شوری در شرایط تغییر وضعیت شوری طی فصل رشد بکار روند. با توجه به ضرورت افزایش سطح زیر کشت کلزا در برنامه‌های توسعه کشاورزی استان خوزستان و با علم به اینکه قسمت عمده‌ای از خاک‌های خوزستان با مشکل شوری مواجه است و نیز با عنایت به اولویت‌های تحقیقاتی تعیین شده توسط معاونت تحقیقات وزارت جهاد کشاورزی، تحقیق حاضر با هدف مطالعه برخی شاخصه‌های فیزیولوژیک اثر آبیاری با آب شور، همچنین بررسی تغییرات فتوسنتزی و روابط آبی ژنوتیپ‌های کلزا و تعیین متحمل‌ترین ژنوتیپ در برابر تنش آبیاری با آب شور و تعیین شاخص‌های مناسب گزینش ارقام جهت تحمل و یا حساسیت به آبیاری با آب شور طی مرحله گلدهی کلزا اجراء شد.

1- Stress Susceptibility Index
2- Fisher & Muarer

مواد و روش‌ها

این آزمایش به صورت فاکتوریل در قالب طرح پایه کاملاً تصادفی متعادل با چهار تکرار در سال زراعی ۸۸-۱۳۸۷ در گلخانه دانشکده کشاورزی دانشگاه شهید چمران اهواز اجراء گردید. در این آزمایش دو فاکتور مورد بررسی قرار گرفت.

فاکتور اول ژنوتیپ‌های کلزا شامل هایولا۴۰۱، RGS0003 و شیرالی (مشخصات ژنوتیپ‌ها در جدول (۱) آمده است)، فاکتور دوم آبیاری با آب شور در سطوح ۵۰ (EC= ۶/۵ دسی زیمنس برمتر)، ۱۰۰ (EC= ۹/۱ دسی زیمنس برمتر) و ۱۵۰ (EC= ۱۳ دسی زیمنس برمتر)میلی مولار و بدون تنش شوری (شاهدEC=۲/۲ دسی زیمنس برمتر) در نظر گرفته شد. منابع شوری مورد استفاده NaCl و $CaCl_2$ به نسبت مساوی (۵۰:۵۰) بود. برای هر تیمار سه گلدان با حجم ۱۰ کیلوگرم در نظر گرفته شد و هر تکرار شامل ۳۶ گلدان و در مجموع در این آزمایش ۱۴۴ گلدان استفاده شد.

در هر گلدان پس از کود پاشی (طبق توصیه فنی سازمان جهاد کشاورزی خوزستان) و با توجه به آزمون خاک که نشان دهنده بافت لومی رسی، هدایت الکتریکی معادل ۱/۲۸ دسی زیمنس بر متر، واکنش خاک برابر با ۷/۲ ، با ترکیب یک سوم کودآلی و دو سوم خاک مزرعه با بستر ماسه‌ای بود، با توجه به وزن خاک هر گلدان میزان کود شیمیایی محاسبه و به گلدان‌ها اضافه گردید. در هر گلدان تعداد ۱۵ عدد بذر پس از ضد عفونی در تاریخ نهم آذرماه در عمق ۲ سانتی‌متری کشت گردید و در مرحله ۳ تا ۴ برگی عمل تنک کردن انجام شده و تعداد گیاهچه‌ها به ۴ عدد در هر گلدان کاهش یافت. اعمال تنش از مرحله چهار برگی (۳۵ روز پس از کاشت) به صورت پلکانی و با ۵۰ میلی مولار شروع و طی یک دوره ۱۴روزه به سطح مورد نظر رسید و تا پایان مرحله گلدهی ادامه یافت.

بعد از پایان مرحله گلدهی (۱۰۴روز پس از کاشت) اندازه‌گیری پارامترهای میزان اسیدآمینه پرولین در برگ

جدول ۱- مشخصات ارقام مورد آزمایش

ارقام	مبدأ	نوع رقم	تیپ رشد	گروه رسیدگی	طول دوره رشد	متوسط عملکرد	مناطق کشت
هایولا ۴۰۱	کانادا	هیبرید	بهاره	زودرس	۱۸۰-۱۵۰ روز	۴ تن در هکتار	گرم و مرطوب شمال و گرم و خشک جنوب
RGS0003	آلمان	آلوگام	بهاره	زودرس	۱۸۵-۱۵۵ روز	۴ تن در هکتار	گرم و مرطوب شمال و گرم و خشک جنوب
شیرالی	از ارقام جدید معرفی شده توسط مؤسسه تحقیقات کشاورزی دیم کشور						

به روش بیتس و همکاران[1] (۱۹۷۳)، محتوای نسبی آب برگ (RWC) به وسیله روش ریتچی و انگوین[2] (۱۹۹۰)، اندازه‌گیری پتانسیل اسمزی به وسیله دستگاه اسمومتر (مارک وسکور ساخت کشور آمریکا) به روش مارتینز و همکاران[3] (۲۰۰۴)، اندازه‌گیری میزان کل قندهای محلول برگ به روش تغییر داده شده اشلیگل[4] (۱۹۸۶) انجام گرفت. همچنین پارامترهای دیگری همچون وزن خشک کل با استفاده از وزن خشک چهار بوته کامل در هر تیمار پس از کف بر نمودن و قرار گرفتن در آون با دمای ۷۰ درجه سانتی‌گراد ، غلظت کلروفیل به وسیله دستگاه کلروفیل متر مدل SPAD-502 (مارک مینولتا ساخت کشور ژاپن) و شاخص حساسیت به تنش (SSI) به روش فیشر و مائورر (۱۹۷۸) اندازه‌گیری شدند.

ماده خشک

برای این منظور از هر تیمار ۴ بوته برداشت شده و سپس به مدت ۴۸ ساعت در آون با دمای ۷۰ درجه سانتیگراد خشکانده و در نهایت میانگین وزن آنها برای تک بوته در هر تیمار به عنوان ماده خشک محاسبه گردید.

استخراج پرولین از بافت تر گیاهی به روش بیتس و همکاران

به ۰/۵ گرم ماده تر گیاهی خرد شده، ۱۰ میلی‌لیتر سولفوسالیسیلیک اسید ۳٪ اضافه نموده و درون یخ قرار داده شد. سپس نمونه‌ها به مدت ۱۰ تا ۱۵ دقیقه با دور ۱۵۰۰۰ در دمای ۴ درجه سانتیگراد سانتریفیوژ گردیدند، بعد به ۲ میلی‌لیتر از عصاره صاف شده مقدار ۲ میلی‌لیتر اسید نایِن هایدرین و ۲ میلی‌لیتر اسید استیک گلاسیال افزوده و با ورتکس مخلوط گردیدند. نمونه‌ها به مدت ۱ ساعت در حمام آب گرم گذاشته و سپس درون یخ قرار داده شدند. مقدار ۴ میلی‌لیتر تولوئن به محلول ها اضافه نموده و به مدت ۲۰ ثانیه ورتکس شدند. پرولین محلول در فاز تولوئن با دستگاه اسپکتروفتومتر (مدل UNICO سری UV-۲۱۰۰ ساخت کشور آمریکا) در طول موج ۵۲۰ نانومتر قرائت گردید. سپس منحنی استاندارد رسم شده و میزان جذب در نمونه‌های گیاهی قرائت شد. در نهایت با قرار دادن در معادله خط، مقدار پرولین بدست آمد.

1- Bates *et al.*
2- Ritchie & Nguyen
3- Martinez *et al.*
4- Sheligl

$$-\log\left(\frac{\text{عدد قرائت شده}}{100}\right)$$

اندازه‌گیری میزان کل قندهای محلول برگ به روش تغییر داده شده اشلیگل

به ۰/۱ گرم از نمونه آسیاب شده ۱۵ میلی‌لیتر اتانول ۸۰٪ اضافه کرده و نمونه‌ها در دستگاه سانتریفیوژ قرار داده شده و به مدت ۱۰ دقیقه با سرعت ۳۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفیوژ گردیدند. فالکون‌های حاوی عصاره به مدت ۲۴ ساعت در آون با دمای۵۰ درجه سانتیگراد نگهداری شدند، پس از تبخیر الکل، جرم زرد رنگ را با ۴۰ میلی‌لیتر آب مقطر شستشو داده و سپس ۵ میلی‌لیتر از محلول ۵٪ سولفات روی و ۴/۷ میلی‌لیتر از محلول هیدروکسید باریم ۳٪ نرمال اضافه شده و به مدت ۱۰ دقیقه با سرعت ۳۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفیوژ شدند. به ۲ میلی‌لیتر از عصاره فاز مایع بعد از سانتریفیوژ ۱ میلی‌لیتر محلول ۵٪ فنل و ۵ میلی‌لیتر اسید سولفوریک ۹۸٪ اضافه شد. پس ازتثبیت رنگ محلول‌ها با دستگاه اسپکتروفتومتر با طول موج ۴۸۵ نانومتر، میزان جذب در نمونه‌های گیاهی را قرائت نموده و با قرار دادن در معادله خط مقدار قند بدست آمد.

Y= (-۰/۵۶۳ × (عدد قرائت شده × ۵۵/۲۶۷

اندازه‌گیری RWC (محتوی نسبی آب برگ) به‌روش ریتچی و همکاران:

نمونه‌برداری از برگ رفرنس (آخرین برگ توسعه یافته) تمامی تیمارهای آزمایشی در اوایل صبح انجام و نمونه‌ها بلافاصله درون یخ قرار گرفتند و وزن تر آنها با ترازوی با دقت دو رقم اعشار اندازه گیری شد، سپس تمامی نمونه‌ها در آب مقطر قرار داده شده و به مدت ۲۴ ساعت در سرد خانه (Cold Room) در دمای ۴ درجه سانتیگراد قرار گرفتند. بعد از ۲۴ ساعت وزن اشباع برگ ها اندازه‌گیری و برگ‌ها به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۷۰ درجه سانتیگراد در آون قرار گرفته و وزن خشک هر کدام اندازه‌گیری گردید. با قرار دادن اعداد حاصل از توزین با ترازوی دارای دقت یک ده هزارم در فرمول زیر، RWC بدست آمد:

$$RWC = \frac{FW - DW}{SW - DW} * 100$$

DW= وزن خشک برگ

FW= وزن تر برگ

SW= وزن اشباع برگ

اندازه‌گیری پتانسیل اسمزی به روش مارتینز

برگ رفرنس جدا شده از گیاه به مدت ۲۴ ساعت در آب مقطر در سرد خانه و در دمای ۴ درجه سانتی‌گراد قرار داده شد. برگ را در هاون چینی قرار داده و سپس مقداری نیتروژن مایع روی آن اضافه گردید و با هاون کاملاً خرد شد. برگ خرد شده را در سیلندر سرنگ ۲ میلی‌گرم که در انتهای سیلندر آن کاغذ صافی قرار داده شده بود ریخته و با قرار دادن پیستون سرنگ با فشار از آن عصاره گرفته و در ویال یک میلی لیتری قرار داده شد. عصاره با دستگاه اسمومتر قرائت شده و با استفاده از فرمول زیر عدد حاصله به مگاپاسکال (Mpa) تبدیل گردید.

$-\Psi s=-MRIT$

$-\Psi s$= پتانسیل اسمزی

M = مولاریته، عدد حاصل از اسمومتر تقسیم بر ۱۰۰۰

R = ثابت گازها برابر ۰/۰۰۸۳۱۴۳

I = ضریب یونیزاسیون برابر ۱

T = دما بر حسب کالوین (۲۵ درجه سانتیگراد + ۲۷۳)

اندازه‌گیری شاخص حساسیت به تنش به روش فیشر و مائورر

برای بدست آوردن شاخص حساسیت به تنش از فرمول زیر استفاده شد:

$Si=1- (y_s/y_p)$

$SSI=1- (Y_s/ Y_p)/ Si$

SSI= شاخص حساسیت به تنش

Si = شدت سختی محیط

y_p= میانگین عملکرد هر ژنوتیپ در محیط بدون تنش

y_s= میانگین عملکرد هر ژنوتیپ در محیط تنش

Y_p= عملکرد کلیه ژنوتیپ‌ها در محیط بدون تنش

Y_s = عملکرد کلیه ژنوتیپ‌ها در محیط تنش

محاسبات آماری با استفاده ازنرم افزار SAS و رسم نمودارها با نرم افزار EXCEL صورت گرفت.

نتایج و بحث

ماده خشک کل: میزان ماده خشک در هر سه ژنوتیپ طی سطوح مختلف شوری کاهش یافت. ژنوتیپ شیرالی در سطح شاهد پایین‌تر از دو ژنوتیپ دیگر بود ولی میزان کاهش ماده خشک این ژنوتیپ در سطوح مختلف شوری تدریجی بوده و در شوری ۱۰۰ و ۱۵۰ میلی مولار فاقد تفاوت معنی‌دار بود. لذا این ژنوتیپ ضمن دارا بودن پایداری مناسب در برابر شوری، در مقایسه با دو ژنوتیپ دیگر فاقد کاهش زیاد ماده خشک نسبت به شاهد در سطوح بالای شوری بود (شکل۱). محدودیت جذب آب و عناصر غذایی به همراه مسمومیت عناصری نظیر کلر و سدیم می‌تواند سبب بازدارندگی رشد برگ‌ها طی تنش شوری و کاهش میزان ماده خشک گردد. همچنین تغییرات یونی و اختلال در روابط آبی به علت شعاع یونی گسترده سدیم و خسارت به غشاهای فیزیولوژیک و دستگاه فتوسنتزی اثر منفی شدیدی بر عملکرد گیاه دارد. تجمع یون‌های سمی نمک علاوه بر کاهش تولید برگ وزن خشک گیاه راکاهش می‌دهد.

عدد SPAD: در هر سه ژنوتیپ عدد SPAD تا سطح ۱۰۰ میلی مولار افزایش و در ۱۵۰ میلی مولار بطور معنی‌دار کاهش یافت. علیرغم این کاهش، ژنوتیپ شیرالی از میزان عدد SPAD بالاتری نسبت به شاهد در تیمار ۱۵۰ میلی مولار و در مقایسه با دو ژنوتیپ دیگر برخوردار بود (شکل۲). به نظر می‌رسد در سطح ۱۰۰ میلی مولار، میزان فتوسنتز توسط تجمع یون‌های Na^+ کاهش پیدا نمی‌کند، و بالا بودن غلظت کلروفیل در این میزان شوری به دلیل افزایش غلظت کلروپلاست‌ها به‌دلیل کوچکتر شدن حجم سلول‌ها میباشد، از این رو افزایش میزان عدد SPAD احتمالاً ناشی از متراکم‌تر شدن سلول‌ها به واسطه اعمال تنش شوری یا کاهش سطح برگ‌ها و افزایش غلظت کلروفیل‌ها در واحد سطح برگ می‌باشد. نتایج مشابهی در برنج نیزگزارش شده است (سعیدی‌پور، ۱۳۸۶). به نظر می‌رسد با ادامه تنش، کاهش ظرفیت فتوسنتزی به‌دلیل کاهش کارایی تثبیت CO_2 در واحد سطح برگ نبوده بلکه به‌دلیل کاهش سطح فتوسنتز کننده می‌باشد. در ضمن ظرفیت فتوسنتزی کلروپلاست‌ها به دلیل تنش شوری کاهش یافته است، و با ادامه تنش شوری در سطح ۱۵۰ میلی‌مولار، آنزیم کلروفیلاز ساختار کلروپلاست را متلاشی کرده و باعث عدم ثبات کمپلکس پروتئین رنگدانه‌ها و انهدام کلروفیل‌ها گردیده در نتیجه میزان کلروفیل کل کاهش یافت. این نتایج با گزارش دابی[1] (۱۹۹۷) منطبق بود.

پرولین: در هر سه ژنوتیپ میزان پرولین طی تنش افزایش یافت، اما میزان این افزایش در ژنوتیپ شیرالی بیش از دو ژنوتیپ دیگر بود. تنظیم اسمزی سیتوپلاسمی از طریق تجمع مواد آلی همچون پرولین، قندها و سایر مواد ایجاد کننده اسمزی انجام میشود که فشار اسمزی سیتوپلاسمی را بالا می برند. نتایج حاصله با نتایج آلبرت و پاپ[2] (۱۹۷۷) مطابقت داشت. همچنین احتمالاً فعالیت آنزیم‌های بیوسنتز کننده پرولین نظیر پرولین-۵-کربوکسیلات رداکتاز[3] و ارنیتین آمینو ترانسفراز[4] به طور قابل توجهی در معرض شوری افزایش یافته و در مقابل آنزیم کاهش دهنده پرولین (پرولین اکسیداز[5]) تحت

1- Dubey
2- Albert & Pop
3- Pyrroline-5-carboxylate reductase
4- Ornithine aminotransferase
5- Proline oxidase

تنش شوری کاهش یافته است (مادن و همکاران، ۱۹۹۵).

کل قندهای محلول: میزان قندهای محلول در ژنوتیپ‌های هایولا۴۰۱ و RGS در سطح ۱۰۰ میلی مولار بطور معنی‌داری افزایش و در سطح ۱۵۰ میلی‌مولار بطور معنی‌داری کاهش یافت، اما ژنوتیپ شیرالی میزان قندهای محلول را در تمام سطوح تنش بطور معنی‌داری افزایش داد، این نتیجه می‌تواند بیانگر میزان تحمل بیشتر ژنوتیپ شیرالی در سطوح بالای شوری باشد (شکل۴).

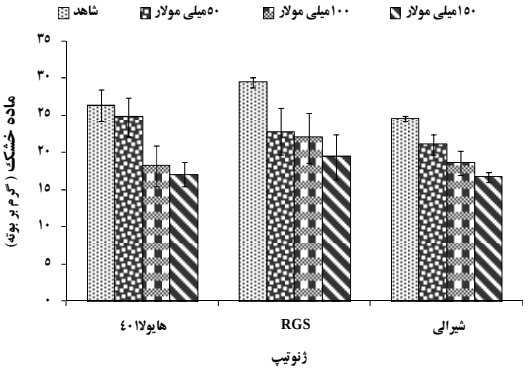
محتوای نسبی آب برگ (RWC): در ژنوتیپ هایولا۴۰۱، تنش ۵۰ میلی مولار تأثیر معنی‌داری بر RWC نداشت. در شوری ۱۰۰ میلی مولار کاهش معنی‌داری در RWC هایولا ۴۰۱ دیده شد. این رقم در شوری ۱۰۰ و ۱۵۰ میلی مولار نتوانست RWC را در حد بالایی حفظ نماید. در سطح ۵۰ میلی مولار کاهش RWC در رقم RGS معنی‌دار نبود ولی با افزایش شدت تنش مقدار RWC کمتر شد. البته در سطوح ۱۰۰ و ۱۵۰ میلی مولار فاقد تفاوت معنی‌دار بود. در ژنوتیپ شیرالی علیرغم کاهش RWC طی تنش، در ۱۰۰و ۱۵۰ میلی-مولار میزان RWC در سطح بالاتری نسبت به هایولا۴۰۱ و RGS بود. هر چند که در سطح ۱۵۰ میلی مولار RWC کاهش یافت (شکل۵).

پتانسیل اسمزی آب برگ: در سطح شاهد ژنوتیپ RGS دارای کمترین میزان پتانسیل اسمزی نسبت به دو ژنوتیپ دیگر بود. در شوری ۵۰، ۱۰۰ و ۱۵۰ میلی مولار ژنوتیپ شیرالی از کمترین میزان پتانسیل اسمزی نسبت به دو ژنوتیپ دیگر برخوردار بود که نشان دهنده توانایی بیشتر آن در بیوسنتز پرولین بوده و سهم و کارآیی بیشتر آن را در فرآیند تنظیم اسمزی نشان می-دهد.میزان پتانسیل اسمزی در ژنوتیپ شیرالی در سطح شاهد بیشتر از ژنوتیپ RGS بود ولی در سطوح مختلف شوری بطور معنی‌داری کاهش یافته و در سطح ۱۵۰ میلی مولار به حداقل میزان خود رسید (شکل۶).

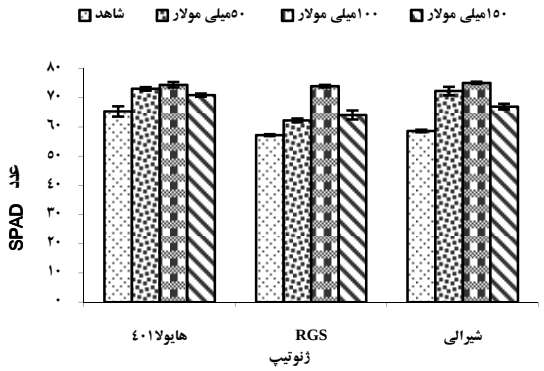
کاهش پتانسیل اسمزی یکی از راه‌کارهای تحمل گیاه در برابر تنش بوده و در زمان وقوع تنش می‌تواند باعث تحمل در برابر تنش و ممانعت از پسابیدگی سلول‌ها شود (بنده‌حق و همکاران، ۲۰۰۸). با توجه به نتایج بدست آمده احتمالاً ژنوتیپ شیرالی با افزایش زیست ساخت پرولین میزان پتانسیل اسمزی سلول‌های خود را به‌طور قابل توجهی کاهش داده و بنابراین در جذب آب موفق‌تر عمل نموده. به‌نظر می‌رسد این ژنوتیپ سهم بیشتری از قندهای محلول را صرف بیوسنتز پرولین نموده و زیست ساخت کلروفیل از سهم کمتری برخوردار بوده است. در نتیجه پتانسیل اسمزی خود را بطور معنی‌داری کاهش داده است.

شاخص حساسیت به تنش (SSI): بر اساس نتایج حاصله بیشترین میزان شاخص حساسیت به تنش در شوری ۵۰ میلی مولار بترتیب در ژنوتیپ‌های هایولا۴۰۱ (۱/۰۰۲)، شیرالی(۱/۰۳) و RGS (۱/۰۴۶) بود که طبق تقسیم‌بندی تحمل گیاهان به تنش بر اساس شاخص حساسیت به تنش هر سه ژنوتیپ نیمه حساس ارزیابی شدند. بررسی میزان این شاخص در سطح ۱۰۰ میلی مولار ژنوتیپ‌های شیرالی (۰/۸۳)، RGS (۱/۰۰۳) و هایولا۴۰۱ (۱/۰۱۶) نشان می‌دهد که ژنوتیپ شیرالی نیمه متحمل و ژنوتیپ‌های RGS و هایولا۴۰۱ نیمه حساس میباشند. شاخص حساسیت به تنش در سطح ۱۵۰ میلی مولار ژنوتیپ‌های شیرالی (۱/۰۰۳)، RGS (۱/۰۱۳) و هایولا۴۰۱ (۱/۰۲) نشان داد که هر سه ژنوتیپ نسبت به تنش نیمه حساس می باشند (نتایج نشان داده نشدند).

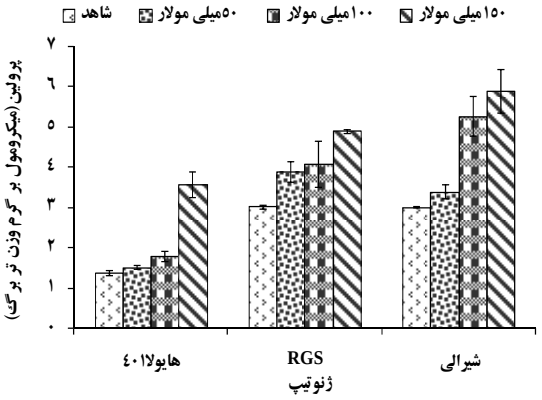
در تیمار شاهد ماده خشک همبستگی معنی‌داری با سایر صفات مورد بررسی نداشت. اما در سطوح شوری ۵۰، ۱۰۰ و ۱۵۰ میلی مولار به ترتیب بین ماده خشک و شاخص حساسیت محیطی همبستگی منفی و معنی‌داری وجود داشت، کاهش میزان ماده خشک سبب افزایش شاخص حساسیت به تنش شوری شد. در سطح شاهد بین پرولین و عدد SPAD همبستگی منفی و معنی‌دار



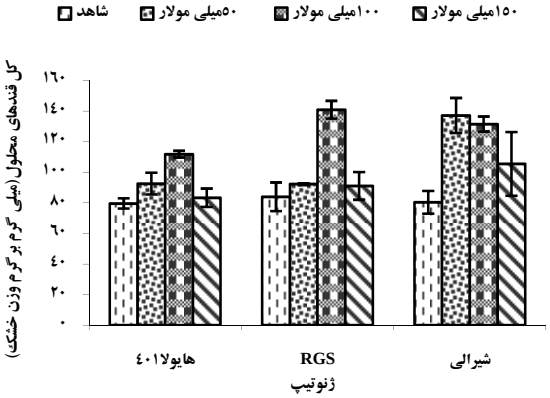
شکل ۱- اثر متقابل ژنوتیپ و سطوح مختلف تنش شوری برمیزان ماده خشک



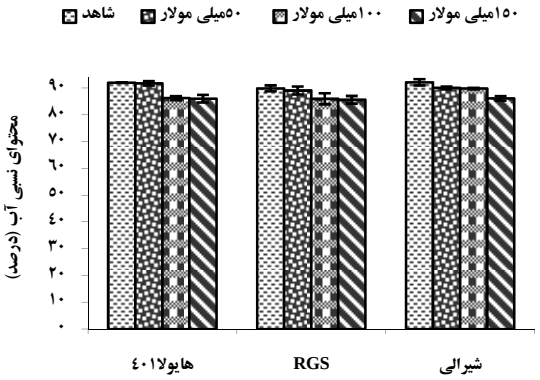
شکل ۲- اثر متقابل ژنوتیپ و سطوح مختلف تنش شوری بر عدد SPAD



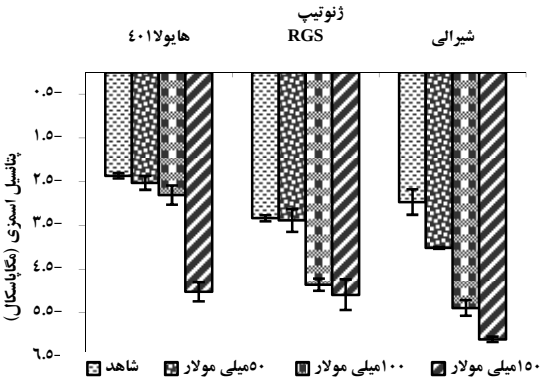
شکل ۳- اثر متقابل ژنوتیپ و سطوح مختلف تنش شوری بر میزان اسید آمینه پرولین



شکل ٤- اثر متقابل ژنوتیپ و سطوح مختلف تنش شوری بر میزان قندهای محلول



شکل٥-اثر متقابل ژنوتیپ و سطوح مختلف تنش شوری برمحتوای نسبی آب (RWC)



شکل ٦- اثر متقابل ژنوتیپ و سطوح مختلف تنش شوری بر میزان پتانسیل اسمزی

(نشانگرهای میله ای خطای استاندارد میانگین چهار تکرار هستند)

مشاهده گردید به این معنی که با افزایش پرولین عدد SPAD (که بیانگر غلظت کلروفیل در واحد سطح برگ است)، کاهش یافت. در سطوح پایین تنش شوری میزان قندهای محلول افزایش یافت ولی در سطوح بالاتر تنش قندهای محلول کاهش و بیوسنتز پرولین افزایش نشان داد که بیانگر تبدیل شدن قندها به پرولین در سطوح بالای شوری است. همچنین افزایش پرولین باعث کاهش پتانسیل اسمزی گردید. نتایج حاصله با نتایج حسیبی و همکاران (۱۳۸۹) مطابقت داشت. به دلیل اینکه با توقف مسیر بیوسنتزی کلروفیل، گلوتامیک اسید (پیش ماده زیست ساخت پرولین و کلروفیل) صرف بیوسنتز پرولین گردیده است (گرانیک، ۱۹۵۱ و کروگر و همکاران، ۱۹۸۶). در سطح شاهد بین پتانسیل اسمزی ($-\psi_s$) و عدد SPAD همبستگی منفی و معنی‌دار دیده شد، بدین معنی که با کاهش پتانسیل اسمزی مقدار عدد SPAD افزایش یافت. در سطح شوری ۵۰ میلی مولار بین پرولین و عدد SPAD همبستگی منفی و معنی‌دار دیده شد، به این معنا که با افزایش پرولین میزان عدد SPAD کاهش یافت. در سطح ۱۵۰ میلی مولار بین RWC با عدد SPAD همبستگی منفی و معنی‌داری دیده شد و با کاهش RWC میزان عدد SPAD افزایش یافت. با کاهش RWC و افزایش غلظت پروتوپلاسم تعداد کلروپلاست در واحد سطح افزایش یافت و عدد SPAD که غلظت کلروفیل در واحد سطح را نشان می‌دهد، نیز افزایش یافت و این افزایش غلظت کلروفیل به دلیل کاهش حجم سلول‌ها ناشی از تنش شوری بود (سعیدی‌پور، ۱۳۸۶). در تیمار شاهد و ۵۰ میلی مولار بین پرولین و پتانسیل اسمزی همبستگی منفی و معنی‌دار مشاهده گردید. این نتیجه نشان می‌دهد که با افزایش زیست ساخت پرولین میزان پتانسیل اسمزی کاهش یافته است (به‌عبارت دیگر منفی‌تر شد). پرولین از مسیر احتمالی اسیدگلوتامیک یا اورنیتین ساخته می‌شود. در شرایط تنش اسمزی و محدودیت نیتروژن مسیر اسید گلوتامیک و در شرایط نیتروژن فراوان مسیر اورنیتین فعال می‌گردد (آندرسن و کهورن، ۲۰۰۱). در سطح ۵۰ میلی مولار بین کل قندهای محلول با پتانسیل اسمزی همبستگی منفی و معنی‌داری ملاحظه شد. با افزایش میزان کل قندهای محلول میزان پتانسیل اسمزی کاهش یافت. در سطح ۱۰۰ میلی مولار بین کل قندهای محلول با ماده خشک همبستگی مثبت و معنی‌دار دیده شد، یعنی با افزایش کل قندهای محلول میزان ماده خشک افزایش یافت. همچنین بین کل قندهای محلول با پتانسیل اسمزی همبستگی مثبت و معنی‌داری مشاهده گردید و همزمان با کاهش کل قندهای محلول میزان پتانسیل اسمزی کمتر شد (نتایج نشان داده نشدند).

نتیجه گیری

در شرایط تنش شدید شوری (۱۰۰ و ۱۵۰ میلی مولار) میزان آمینو اسید پرولین در ژنوتیپ شیرالی نسبت به سایر ژنوتیپ‌ها افزایش یافت. همچنین محتوای نسبی آب نیز در این رقم در سطح بالایی نگاهداشته شد. با توجه به نتایج این آزمایش پرولین نقش قابل ملاحظه‌ای در بهبود محتوای نسبی آب برگ داشته است.

همانگونه که در شکل شماره شش مشاهده می شود با افزایش تولید پرولین، میزان پتانسیل اسمزی رقم شیرالی در سطوح بالای شوری بطور معنی‌داری منفی‌تر از سایر ژنوتیپ‌ها بود. این پدیده با افزایش ماده خشک سبب کاهش شاخص حساسیت به تنش گردید. لذا به‌نظر می‌رسد ژنوتیپ شیرالی از تحمل بیشتری نسبت به دو ژنوتیپ دیگر برخورداربوده است. در مجموع با بررسی مؤلفه شاخص حساسیت به تنش (SSI) در سطح شوری ۵۰ میلی‌مولار بترتیب ژنوتیپ‌های هایولا۴۰۱، شیرالی و RGS0003 و در سطوح شوری ۱۰۰ و ۱۵۰ میلی مولار بترتیب ژنوتیپ‌های شیرالی،RGS0003 و هایولا۴۰۱ در مرحله اواخر گلدهی متحمل به تنش شوری ارزیابی شدند. همچنین بنظر می‌رسد در سطوح شوری ۵۰ و ۱۰۰ میلی مولار، قندهای محلول بیشتر صرف زیست ساخت کلروفیل‌ها و همچنین شرکت در فرآیند تنظیم اسمزی

شده‌اند، در صورتیکه سطح شوری ۱۵۰ میلی مولار باعث فعال‌تر شدن مسیر زیست ساخت پرولین گردیده است. ضمناً تجمع پرولین در برگ گیاهان تحت تنش توانست بطور مؤثری باعث کاهش پتانسیل اسمزی و بهبود وضعیت آبی شود. لذا می‌تواند بعنوان شاخصی جهت ارزیابی تحمل یا حساسیت ژنوتیپ‌های کلزا تحت تنش شوری محسوب شود.

سپاسگزاری

بدینوسیله از مدیر محترم گروه و مسئولین محترم آزمایشگاه‌های شیمی و تجزیه فرآورده های گیاهی و فیزیولوژی گروه زراعت و اصلاح نباتات دانشگاه شهید چمران اهواز به خاطر همکاری هایشان تشکر می‌گردد.

منابع

۱. حسیبی، پ.، نبی پور، م. و مرادی، ف. ۱۳۸۹. بررسی نقش برخی محافظت کننده‌های سرمایی در القای تحمل تنش دمای پایین در گیاهچه‌های برنج. مجله الکترونیک تولید گیاهان زراعی، ۳ (۱): ۲۱-۳۷.

۲. ۲-سعیدی پور، س.۱۳۸۶. بررسی اثر تنش شوری بر برخی سازوکارهای فیزیولوژیکی ارقام مختلف برنج. رساله دکتری دانشگاه شهید چمران اهواز. ص.۱۱۶.

۳. ۳-محمدی، م. ۱۳۷۷. بررسی عملکرد ۱۴ رقم کلزا در شرایط آب و هوایی دزفول. مؤسسه توسعه کشت دانه های روغنی. ص.۲۵.

4. Ahmadi, H., and Niazi Ardekani, J. 2006. The effect of water salinity on growth and physiological stages of eight Canola (*Brassica napus* L.) cultivars. Irrigation Science, 25: 11–20.

5. Albert, R., and Popp, M. 1977. Chemical composition of halophytes from the neusieder lake region in Austria. Oecologia, 27: 157-170.

6. Anderson, C.M, and Kohorn, B.D. 2001. Inactivation of Arabidopsis SIP leads to reduced leaves of sugars and drought tolerance. Journal of Plant Physiology, 158:1215-1219.

7. Ashraf, M., and McNeilly, T. 2004. Salinity tolerance in brassica oilseeds. Plant Science, 23(2): 1–18.

8. Bandeh-hagh, A., Toorchi, A.M., Mohammadi, A., Chaparzadeh, N., Hosseini Salekdeh, G., and Kazemnia, H. 2008. Growth and osmotic adjustment of canola genotypes in response to salinity. Food, Agriculture & Environment, 6(2):201-208.

9. Bates, L.S., Waldern, R.P., Tear, I.D. 1973. Rapid determination of free proline for water stress studies. Plant Soil, 39:205-207.

10. Cram, W.J. 1976. Negative feedback regulation of transport in cells. The maintenance of turgor, volume and nutrient supply. Encyclopaedia of Plant Physiology, (2):284–316.

11. Delfine, S., Alvino, A., Villana, M.C., and Loreto, F. 1999. Restriction to carbon dioxide and photosynthesis in spinach leaves recovering from salt stress. Plant Physiology, 199:1101-1106.

12. Demir, M., and Kocacaliskan, I. 2001. Effects of NaCl and proline on polyphenol oxidase activity in bean seedlings. Plant Biology, 44: 607–609.

13. Dubey, R. S. 1997. Photosynthesis in plants under stressful conditions. Pessarakli, M. (Ed.). Handbook of photosynthesis. New York: Marcel Dekker. pp.859–875.

14. Fisher, R.A., and Muarer, R. 1978. Drought resistance in spring wheat cultivars. Grain yield responses. Australian Journal of Agriculture Research, 29:897-912.

15. Granick, S. 1951. Biosynthesis of chlorophyll and related pigments. Annual reviews, 2:115-144.

16. Irigoyen, J.J. Emerich, V.W., and Sanchcz- Diaz, M. 1992. Water stress induced changes in concentrations of proline and total soluble sugars in nodulated alfalfa(*Medica sativa*) plants. Physiologia Plantarum, 84: 55-60.

17. Kishor, P.B.K., Sangama, S., Amrutha, R.N., Laxmi, P.S., Naidu, K.R., and Rao, K.S. 2005. Regulation of proline in higher plants: its implications in plant growth and abiotic stress tolerance. Current Science, 88(3): 424-438.

18. Krueger. R., Jager, H.J., Hintz, M., and Pahlich, E. 1986. Purification to homogeneity of pyrroline-5-carboxylate reductase of barley. Plant Physiology, 80:142-144.

19. Jamil, M., Shafiq, ur- R., Kui Jae, L., Jeong Man, K., Hyun-Soon, K., and Eui Shik, R. 2007. Salinity reduced growth PS_2 photochemistry and chlorophyll content in radish. Agriculture Science, 64(2): 111-118.

20. Madan, S., Nainawatee, H.S., Jain, R.K., and Chowdhury, J.B. 1995. Proline and proline metabolizing enzymes in in vitro selected NaCl-tolerant (*Brassica juncea* L.) under salt stress. Annual Botany, 76: 51–57.

21. Martinez, J.P., Lutls, S., Schanck, A., and Bajji, M., 2004. Is osmotic adjustment required for water stress resistance in the Mediterranean shrub (*Atriplex halmius* L.). Journal of Plant Physiology., 161:1041-1051.

22. Mokhamed, A., Raldugina, G., Kholodova, V., and Kuznetsov, VI. 2006. Osmolyte accumulation in different rape genotypes under sodium chloride salinity. Russian Journal Plant Physiology., 53(5): 649–655.

23. Netondo, G.W., Onyango, J.C., and Beck, E. 2004. Sorghum and salinity. Response of growth, water relations, and ion accumulation to NaCl salinity. Crop Science, 44: 797-805.

24. Popp, M., and Smirnoff, N. 1995. Polyol accumulation and metabolism during water deficit. Environment and Plant Metabolism, pp: 199–215.

25. Qasim, M., Ashraf, M., Ashraf, M., Rehman, Y.S.U., and Rha, E.S. 2003. Salt induced changes in two canola cultivars differing in salt tolerance. Biologia Plantarum, 46(4): 629- 632.

26. Ritchie, S.W., and Nguyen, H.T. 1990. Leaf water content and gas exchange parameters of two wheat genotypes differing in drought resistance. Crop Science, 30:105-111.

27. Sheligl, H.Q. 1986. Die verwertung orgngischer souren durch chlorella lincht. Planta, pp: 47-51.

28. Singh, A.K., and Dubey, R.S. 1995. Changes in chlorophyll *a* and *b* contents and activities of photosystems 1 and 2 in rice seedlings induced by NaCl. Photosynthetica, 31:489-499.

29. Zhu, J.K. 2002. Salt and drought stress signal transduction in plants. Plant Physiology Plant Molecular Biology, 53: 247–273.