

تأثیر پاشش سیتوکینین و آبسزیک اسید بر محتوای کاتیونی دو رقم گندم نان تحت شرایط تنش خشکی

فریبا خسروی نژاد^{۱*}، رمضانعلی خاوری نژاد^۱، فؤاد مرادی^۲ و فرزانه نجفی^۳

۱- گروه زیست شناسی، دانشکده علوم پایه، واحد علوم و تحقیقات تهران، دانشگاه آزاد اسلامی، تهران، ایران. ۲- گروه فیزیولوژی مولکولی، مؤسسه تحقیقات بیوتکنولوژی کشاورزی ایران، کرج، ایران. ۳- دانشکده علوم زیستی، دانشگاه خوارزمی، تهران، ایران.

Abscisic acid and cytokinin spraying effect on cation contents in two cultivars of wheat (*Triticum aestivum* L.) under drought stress

Fariba Khosravi-Nejad^{1*}, Ramazan Ali Khavari-Nejad¹, Foad Moradi², Farzaneh Najafi³

¹Department of Biology, College of Basic Science, Tehran Science and Research Branch, Islamic Azad University, Tehran, Iran. P. O. Box 14515-775

* corresponding Author: f.khosravinejad@srbiau.ac.ir

² Department of Molecular Physiology, Agricultural Biotechnology Research Institute of Iran, Karaj, Iran.

³Faculty of Biological Sciences, Kharazmi University, Tehran, Iran.

Abstract

In order to evaluate the effects of application of cytokinins and abscisic acid on two varieties of wheat (Pishgah and MV-17) under drought stress, a split split-plot experiment based on completely randomized block design with three replications, was carried out. The measured traits included the following cations: estimation content of Na, Ammonium, K, Mn, Ca, Mg, Fe and Zn in plants. Results showed that drought stress had a significant effect at the 1% level on all contents of cations (except for ammonium at 5%). There were significant differences between varieties on Na and Zn content at the 1% level and ammonium and Fe at 5% level. The results also showed that Na and ammonium in drought stress and other measured elements in normal conditions were more than those of other treatments. Varieties were different at uptake of Na, ammonium, Fe and Zn which variety of Pishgah uptake Na and ammonium less than that varieties and also uptake Fe and Zn more than it.

Keywords: Wheat, Cytokinin, Abscisic acid and Drought stress

فصلنامه زیست شناسی سلولی و مولکولی گیاهی

سال ۱۳۹۲، دوره ۸، شماره ۲، صص ۱-۱۲

چکیده

به منظور ارزیابی دو رقم حساس (MV-17) و متحمل به خشکی (Pishgah) گندم در شرایط شاهد (آبیاری کامل) و کم آبیاری (قطع آبیاری در مرحله رسیدن دانه، از مرحله بوتینگ تا زمان رسیدگی فیزیولوژیکی)، آزمایشی در قالب کرت‌های دو بار خرد شده بر مبنای طرح پایه بلوک‌های کاملاً تصادفی و در سه تکرار انجام شده و تیمارهای هورمونی سیتوکینین و آبسزیک اسید در تیمارهای شاهد و تنش بر طبق غلظت هورمونی مناسب و برنامه زمان بندی شده، اعمال شد. نمونه گیری‌ها ۲۱ روز بعد از گل دهی انجام گردیده و در این طرح تاکید بر بررسی محتوای کاتیونی یون‌های سدیم، آمونیوم، پتاسیم، منگنز، کلسیم، منیزیم، آهن و روی به صورت کمی بوده است. نتایج نشان داد، تاثیر تنش بر میزان تمامی کاتیون‌ها در سطح ۱ درصد معنی دار بود. تاثیر وارسته بر میزان سدیم و روی در سطح ۱ درصد و بر میزان آمونیاک و آهن در سطح ۵ درصد نیز معنی دار بود و تاثیر وارسته بر میزان سایر کاتیون‌ها از نظر آماری معنی دار نبود. همچنین مقایسه میانگین اثرات ساده، بیشبود جذب عناصر سدیم و آمونیوم در شرایط تنش و سایر عناصر در شرایط کنترل را نشان داد. از طرفی، بین وارسته‌ها از لحاظ میزان جذب عناصر، اختلافاتی در جذب سدیم، آمونیوم، آهن و روی مشاهده گردید بطوریکه رقم پیشگام با جذب کمتر سدیم و آمونیاک و جذب بیشتر آهن و روی، نسبت به رقم دیگر متفاوت شد.

کلمات کلیدی: گندم، سیتوکینین، آبسزیک اسید، تنش خشکی

فصلنامه زیست شناسی سلولی و مولکولی گیاهی

سال ۱۳۹۲، دوره ۸، شماره ۲، صص ۱-۱۲

تنش خشکی در این مراحل منجر به کاهش عملکرد آن می‌شود.

از طرفی، قرار گرفتن گیاه در معرض تنش کم آبی باعث کاهش میزان هورمون آبسزیک اسید (ABA) و سیتوکینین (CK) در گیاه می‌شود. با این حال محصولات ژنی که تحت تاثیر این هورمون‌ها بیان می‌شوند، در حفظ میزان فتوسنتز، فعال شدن آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی، تجمع اسموپروتکتانت‌ها و دیگر پاسخ‌های هورمونی نقش دارند. هر دو هورمون ABA و CK در بسته شدن روزنه نقش دارند. شاید بتوان گفت که مهمترین آثار بالارفتن این هورمون‌ها در گیاه در مواقعی که بر گیاه تنش وارد شود، به خصوص در تنش کم آبی ممانعت از پیری برگ و تولید پرولین است (۲۵).

بطور کلی عقیده بر این است که هورمون‌های گیاهی از قبیل ایندول استیک اسید، آبسزیک اسید و ژیببرلین ارتباط نزدیکی با نمو دانه دارند که از طریق وساطت در تقسیم و بزرگ شدن سلولهای آندوسپرم و یا کنترل ورود و خروج مواد پرورده به دانه، اندازه آن و اندازه مخزن را تعیین می‌کنند. حتی این هورمون‌ها می‌توانند تاثیر قابل ملاحظه‌ای بر محتوای متابولیتی و دستگاه آنتی‌اکسیدانی در قسمتهای رویشی گیاه در هنگام بروز تنشهای غیر زیستی بگذارند (۱۳).

نتایج پژوهش‌های زیادی نشان داده است که هورمون‌های گیاهی در تعیین دانه‌بندی غلات و تامین مخزن کربوهیدراتی دخالت دارند. اکثر مطالعات به نمو دانه پس از کرده افشانی مربوط هستند. الگوهای متفاوتی از هورمون درونی گیاه بین نمو دانه‌های بالقوه قوی و ضعیف در طی دوره پر شدن دانه وجود دارد (۳۴).

به خوبی مشخص شده است که تنش‌های محیطی به طور قابل توجهی موجب افزایش سطح ABA داخل سلول در گیاهان می‌شود (۴). تیمار گیاه با ABA در شرایط محیطی مطلوب منجر به فعال شدن سیستم‌های حفاظتی در گیاه می‌گردد (۲۷) و زمانی که گیاه تحت تنش‌های

تنش‌های زنده و غیرزنده همه ساله باعث کاهش شدید عملکرد گیاهان زراعی شده و سبب کاهش عملکرد آنها می‌شوند. در بین تنش‌های محیطی غیرزنده، تنش خشکی یکی از مهم‌ترین عوامل کاهش عملکرد در اکثر مناطق کشت گندم می‌باشد (۶).

تنش خشکی، مهم‌ترین عامل محدود کننده باروری گندم در مناطق خشک و نیمه خشک دنیا است که تولید موفق گندم را در این مناطق همواره به مخاطره می‌اندازد. تنش خشکی از این جهت که می‌تواند به عنوان اثر متعاقب تنش‌هایی مثل شوری و سرما نیز مطرح باشد، به عنوان یک تنش ثانویه نیز مد نظر می‌باشد. پاسخ‌های گیاه به خشکی از نقطه درک این تنش در اندام‌هایی مانند ریشه (مانند طویل شدن آنها) و اندام‌های هوایی (مانند کاهش سطح برگ) که بعضاً قابل مشاهده می‌باشند، شروع می‌شود که در مراحل بعدی دامنه پاسخ‌های مقاومتی گیاه به متابولیت‌های اولیه (قندها و لیپیدها)، آنتی‌اکسیدان‌های آنزیمی (مانند سوپراکسید دیسموتازها و کاتالازها) و غیر آنزیمی (مانند آسکوربات)، متابولیت‌های ثانویه (مانند پرولین و گلیسین بتائین)، پیگمان‌ها، هورمون‌ها و افزایش میزان گونه‌های فعال اکسیژنی کشیده می‌شود. استفاده از واریته‌هایی که آب قابل دسترس را با کارایی بیشتر مصرف کرده و قادر به تحمل خشکی باشند، یک هدف عمده برای افزایش تولید در محیط‌های مستعد خشکی است (۲۰). در نهایت تمامی تغییرات، بیان ژن‌ها تغییراتی را در سطح یون‌ها به همراه دارد که نتیجه آن می‌تواند مقاومت گیاه به تنش را به همراه داشته باشد (۲۸ و ۲۹).

از آنجا که کشور ایران در منطقه گرم و نیمه خشک واقع شده است، تولید ارقام متحمل به خشکی با استفاده از روش‌های جدید زیست فناوری ضروری به نظر می‌رسد. اگر چه گندم گیاهی نسبتاً متحمل به تنش خشکی است، با وجود این، در دوره رشد و نمو خود در دو مرحله ساقه رفتن و تشکیل دانه نسبت به کمبود آب حساس است و

شاخه‌های فرعی قرار دارند. تغییر محتوای سیتوکینین و اکسین همبستگی مثبت معنی داری با سرعت تقسیم سلولی و تعداد دانه‌ها داشت. کاربرد کیتین ۶-۲ روز پس از گرده افشانی به طور معنی داری تعداد سلول‌های آندوسپرمی را افزایش داد. در حالی که کاربرد ABA ۱۵-۱۱ روز پس از گرده افشانی سرعت پر شدن دانه را افزایش داد (۳۸).

در تحقیقی دیگر، غلظت ABA و سرعت انتقال آن در شیره خام آفتابگردان در اثر تنش متوسط خشکی افزایش یافت و با افزایش شدت تنش، غلظت ABA همچنان روند افزایشی یافت (۳۰).

گزارش شده، کاهش عملکرد دانه و محتوای پروتئین و نشاسته با کاهش میزان IAA، زآتین و GA_{1+3} و افزایش ABA در اندام‌ها به ویژه در دانه گندم همبستگی داشته است و پیشنهاد شده که تغییرات هورمونی در شرایط تنش آبی پس از گرده افشانی شاید به طور مستقیم از طریق فرآیندهای آنزیمی تجمع نشاسته، پروتئین و فعالیت آنزیمهای آنتی اکسیدان را تحت تأثیر قرار دهد (۳۷). همچنین، از آنجایی که تمام واکنش‌ها در حضور سیتوکینین همراه با رشد فعال می‌باشد و فعال سازی یک فرآیند بیولوژیکی است، احتمالاً میان سیتوکینین و کربوهیدرات یک پیوند وجود دارد (۲۲).

در غلات، سطوح بالای سیتوکینین‌ها معمولاً در دانه‌های در حال نمو آندوسپرم یافت می‌شوند و ممکن است برای تقسیم سلول در طول مرحله اولیه پر شدن دانه مورد نیاز باشد (۲۲). هرچند که سیتوکینین‌ها نقش مهمی در افزایش مخزن دارند (با تحریک تقسیم سلولی) ولی اطلاعات کمتری در مورد تأثیر آنها روی تعداد سلولهای آندوسپرمی وجود دارد (۷).

ABA معمولاً به عنوان یک سیگنال بسیار حساس، قابل توجه است که در طول تنش آب تولید می‌شود (۱۱). همچنین در تحقیقی گزارش شده است که افزایش سرعت پر شدن دانه به طور نزدیکی مرتبط با افزایش سطح ABA در دانه‌های تنش دیده با آب است

مختلف چون یخ زدگی، خشکی و شوری قرار می‌گیرد نیز حالت مشابهی ایجاد می‌شود (۱۴).

در تحقیقی مشخص شد که در طی پر شدن دانه برنج میزان ABA در دانه‌های درشت بیش از دانه‌های کوچک بود (۱۷). همچنین گزارش شد، که پر شدن کم دانه برنج با میزان کم IAA و ABA همبستگی دارد (۳۴). دیگر نتایج حاکی از آنست که، میزان اکسین همگام با سیتوکینین در تحریک تقسیم سلولی در آندوسپرم موثر است. اکسین می‌تواند باعث ایجاد نیروی جذب کننده در مخزن شود و منجر به افزایش میزان سیتوکینین دانه‌ها شود، همچنین ممکن است انتقال مواد پروده را به دانه تحریک کند (۹). منبع اصلی سیتوکینین موجود در سلول‌های آندوسپرمی دانه‌ها، ریشه است که توسط جریان آوند چوبی (شیره خام) به اندام‌های هوایی منتقل می‌شوند. زآتین موجود در دانه گندم پس از گرده افشانی همزمان با حداکثر سرعت تقسیم سلول آندوسپرم به شدت افزایش می‌یابد (۳ و ۲۲).

محققان اثبات نمودند که، اثر درجه حرارت بر تعداد سلول آندوسپرمی و دانه‌های نشاسته شاید با تغییر در محتوای هورمونی سیتوکینین دانه همراه باشد در حالیکه ABA قدرت مخزن را از طریق انتقال قندها تحت تأثیر قرار می‌دهد (۲۱). لازم به ذکر است، میزان سیتوکینین و IAA دانه برنج به طور موقت پس از گرده افشانی افزایش می‌یابد اما تنش خشکی سرعت کاهش آنها را در مراحل انتهایی پر شدن دانه افزایش می‌دهد. در مقابل محتوی ABA در مراحل اولیه رشد دانه کم بوده ولی تنش خشکی آن را افزایش داده است و همچنین حداکثر میزان ABA با حداکثر سرعت پر شدن دانه و تسهیم کربن به دانه همبستگی دارد (۳۹).

همچنین گزارش شد که سرعت تقسیم سلولی، سرعت پر شدن، تعداد و وزن دانه‌های فوقانی پانیکول برنج بیش از دانه‌های قاعده‌ای بود. سنبلیچه‌های فوقانی زودتر گل می‌دهند و در بالای شاخه‌های اولیه سنبلیچه قرار دارند. سنبلیچه‌های قاعده‌ای دیرتر گل می‌دهند و در قاعده

در طول دوره پرشدن دانه مقدار مناسب آب خاک یکی از عوامل کلیدی در تجمع نشاسته و پروتئین در دانه‌های گندم و در نتیجه شکل‌گیری عملکرد و کیفیت مطلوب دانه‌ها می‌باشد (۲). مطالعات انجام شده نشان داده‌اند که هورمون‌ها تنظیم‌کننده‌های ضروری جهت جابجایی و تسهیم بیوشیمیایی فتواسیمیلات‌ها برای دانه‌های در حال پرشدن غلات می‌باشند. بنابراین این ترکیبات قادرند وزن و عملکرد دانه را تنظیم کنند (۲، ۷ و ۹). با کاهش یا افزایش مقدار رطوبت خاک هورمون‌ها بعنوان عوامل سیگنالی در این شرایط غلظت داخلی‌شان افزایش می‌یابد (۱۱). بنابراین ممکن است نقش مهمی در فرآیندهای رشد و نمو شامل سنتز و تجمع نشاسته و پروتئین در دانه‌ها ایفا کنند. فهمیدن این روابط ممکن است ما را در تغییر کیفیت عملکرد دانه گندم از طریق کاربرد خارجی آنها در زمان مناسب توانمند نماید. با وجود مطالب گفته شده تا به امروز مطالب بدست آمده در ارتباط با تغییرات داخلی غلظت هورمون‌ها در رابطه با تجمع نشاسته و پروتئین محدود است و این مطلب لزوم مطالعات در این زمینه را بیشتر واضح می‌کند.

تغییرات غلظت هورمون‌ها در ارتباط با تنش خشکی خصوصاً در مورد ABA دیر زمانی است که شناسایی شده است. عموماً غلظت ABA تحت شرایط تنش‌های رطوبتی ناشی از کمبود رطوبت در خاک و افزایش بیش از حد آن در خاک افزایش می‌یابد (۳ و ۱۰).

غلظت داخلی ABA تحت شرایط تنش رطوبتی ناشی از کاهش رطوبت و افزایش بیش از حد آن (حالت غرقابی) افزایش یافت. این افزایش غلظت در بافت‌های منبع و مخزن بصورت همسان انجام شد. افزایش غلظت ABA با افزایش میزان نشاسته و پروتئین دانه همراه بود. نتایج نشان داد که ABA تنها یک هورمون سیگنالی از ریشه به شاخساره نیست که در مواجهه با تنش رطوبتی ایجاد شود (۳ و ۱۰)، بلکه همچنین در تنظیم پدیده پیری و دوره پرشدن دانه و کوتاه کردن آن در پاسخ به تنش رطوبتی موثر است (۲۳). اگرچه غلظت داخلی ABA در طول

(۳۹). تصور شده که IAA و جیبرلین‌ها و ABA در تنظیم قدرت مخزن دخیل هستند که این عمل یا با تعدیل تقسیم و طویل شدن سلول‌های آندوسپرمی صورت می‌گیرد و یا با کنترل کردن ورود اسیمیلات‌ها به مخزن صورت می‌گیرد (۱۰، ۱۳ و ۱۸). تعدادی گزارشها روی همبستگی بین سطوح ABA و سرعت رشد میوه‌ها یا دانه‌ها وجود دارد (۱۷ و ۳۹). به هر حال پیشنهاد شده که ABA در تنظیم توزیع اسیمیلات‌ها به سمت دانه‌های در حال نمو نقش دارد ولی هنوز مورد بحث است

نتایج نشان می‌دهد که سطوح سیتوکینین در دانه‌ها، تقسیم سلول را در آندوسپرم تعدیل می‌کند و بنابراین اندازه مخزن دانه را تنظیم می‌کند. سطوح پایین CK در سنبلیچه‌های پایین‌تر منجر به پایین آوردن سایز مخزن با محدود کردن تعداد سلول می‌شود و در نهایت وزن دانه کم می‌شود (۱۹).

مطالعات نشان می‌دهد که تغییرات در محتوای IAA در دانه مشابه با الگوی تغییرات سیتوکینین بوده است. محتوای IAA در دانه‌ها به طور معنی‌داری با سرعت تقسیم سلول در طول دوره فعال تقسیم سلول همبستگی دارد. اکسین ممکن است تقسیم سلول را به همراه CK تحریک کند (۱۰). سطوح بالای اکسین در مخزن می‌تواند یک attracting power ایجاد کند و منجر به افزایش سطوح CK در دانه شود (۳۱ و ۳۲).

اسپری کردن ABA در مراحل اولیه پر شدن دانه به طور معنی‌داری تعداد سلول و وزن دانه را کاهش داد. به هر حال، افزایش در محتوای ABA در دانه‌ها موازی با افزایش در وزن خشک دانه در طول مرحله خطی پر شدن رشد دانه است. کاربرد ABA در ۱۰ تا ۱۱ بعد از گرده افشانی به طور معنی‌داری سرعت پر شدن دانه و وزن دانه را افزایش داد. نتایج مشابهی برای گندم (۸)، جو (۳۳) و سویا (۱) گزارش شده است. نتایج دلالت بر این دارد که نقش ABA در دانه وابسته به مرحله نموی است.

وجود ندارد. با توجه به نقش بسیار مهم هوموستازی یونی در کنترل تمامی واکنش‌ها در سطح سلول و نیز در نهایت در کل گیاه، اهمیت تحقیق در این زمینه جهت بهینه سازی کمی و کیفی گندم حیاتی به نظر می‌رسد (۲۸) و (۲۹).

به طور کلی هدف از این تلاش، تعیین و مقایسه سازوکارهای فیزیولوژیک رقم‌های متحمل و حساس به تنش خشکی در مرحله به گل نشستن و پر شدن بذر (با توجه به اینکه مهم ترین آثار تنشی در این مرحله از زندگی گیاه وارد می‌شود) و تعیین تاثیر تنظیم کننده‌های رشد انتخابی (در این طرح سیتوکینین و آبسزیک اسید) بر رقم‌های حساس و مقاوم گندم در زمان بروز تنش خشکی در مرحله شروع باردهی و ارتباط و تاثیر استعمال این هورمون‌های گیاهی با میزان یون‌ها و در نهایت مطالعه هوموستازی یونی در شرایط یاد شده می‌باشد.

به طوریکه می‌توان اذعان داشت، تعیین تغییرات و تفاوت‌های تنظیم کننده‌های رشد در بین ارقام متحمل و حساس، می‌تواند کمک موثری در انتخاب لاین‌های مناسب در نسل‌های درحال تفکیک نماید. همچنین با تعیین نحوه تغییرات زمان استعمال هورمون‌ها، می‌توان زمان صحیح مصرف عملی این مواد را معلوم نمود و این امکان را فراهم می‌آورد که بدون استفاده از منابع آبی بیشتر، کارایی مصرف آب را افزایش داد.

مواد و روش‌ها

در این بررسی ۲ رقم متفاوت گندم شامل پیشگام (مقاوم به تنش خشکی) و MV-17 (حساس به تنش خشکی) در شرایط شاهد (آبیاری کامل) و کم آبیاری (قطع آبیاری در مرحله رسیدن دانه، از مرحله بوتینگ تا زمان رسیدگی فیزیولوژیکی) کشت شدند. تیمارهای هورمونی سیتوکینین و آبسزیک اسید در تیمارهای شاهد و تنش بر طبق غلظت هورمونی مناسب و برنامه زمان بندی شده، اعمال شد. این بررسی به صورت طرح آزمایش کترهای دو بار خرد شده بر مبنای طرح پایه بلوک‌های کاملاً تصادفی و در سه تکرار انجام شده و نمونه گیری‌ها ۲۱ روز بعد از

دوره پرشدن دانه به سرعت خصوصاً در غلات افزایش می‌یابد اما تحت شرایط تنش رطوبتی غلظت ABA در برگ‌ها و دانه‌ها به طرز چشمگیرتری افزایش می‌یابد. این مساله باعث بازداری رشد دانه از طریق کاهش فعالیت آنزیم سوکروز سنتاز می‌شود (۱۹). در ذرت، کاهش سرعت تقسیم سلولی آندوسپرم القاء شده بوسیله تنش خشکی باعث افزایش غلظت ABA در چنین شرایطی است (۲۴). این نتایج از این پیش فرض که افزایش غلظت ABA که بوسیله تنش خشکی ایجاد شده است، برای تجمع نشاسته و شکل‌گیری عملکرد دانه‌های گندم نامناسب است، حمایت می‌کند.

در مورد گندم نشان داده شده است که سطوح داخلی ABA بطور مثبت با افزایش میزان پروتئین دانه وابسته است و رابطه منفی بین سطوح بالای ABA و میزان نشاسته دانه گندم وجود دارد (۳۷).

کاهش در غلظت داخلی CK تحت شرایط تنش خشکی و غرقابی بقدری واضح است که غلظت‌های CK در بافت‌های مخزن و منبع در طول دوره افزایش طول سلول-های دانه و پرشدن دانه بطور مثبت با افزایش عملکرد دانه و تجمع پروتئین و نشاسته همراه است. غلظت CK بطور فزاینده‌ای بعد از گرده‌افشانی افزایش می‌یابد این افزایش با اوج مرحله تقسیم سلولی همراه است (۳۷، ۳۸ و ۲۲). علاوه بر این، بارها گزارش شده CK پدیده پیری در گیاه را بر خلاف ABA به تاخیر می‌اندازد (۳۸). ملاحظه عمل فیزیولوژیکی CK کوچک‌ترین شک و تردیدی را در ارتباط با همبستگی مثبت بین غلظت CK و فعالیت مخزن و همینطور تاخیر پدیده پیری خصوصاً تحت شرایط تنش رطوبتی برجای نمی‌گذارد. این نتایج موافق با یافته‌های یانگ و همکاران (۲۰۰۰) است که نشان داد درصد پرشدن دانه برنج بطور معنی‌داری با غلظت CK در دانه‌ها و ریشه‌ها در طول مرحله اولیه رشد دانه برنج وابستگی دارد.

لازم به ذکر است، تحقیقی در زمینه هوموستازی یونی تحت پاشینه تنظیم کننده‌های رشد گیاهی در شرایط تنشی

۶- اندازه گیری غلظت یونهای سدیم و پتاسیم

ابتدا نمونه‌های گیاهی در آون و در دمای 70°C خشک شدند و $0/05$ گرم از هر نمونه وزن شده و به آن 30 میلی لیتر اسید پرکلریک اضافه شد. نمونه‌ها زیر هود قوی تا 300°C حرارت داده شده تا سیاه شدند و بعد از گذشت زمان نمونه‌ها شروع به ذلال شدن نموده و سپس خنک شدند. در نهایت حجم تمام نمونه‌ها با آب مقطر به 50 میلی لیتر رسانده شد و جذب آنها توسط دستگاه فلیم فتومتر (*METROHM switzerland*) خوانده شد. برای سنجش غلظت سدیم و پتاسیم محلول استاندارد تهیه گردید.

۷- سنجش مقادیر فلزات

برای تعیین میزان فلزات کلسیم، آهن، روی، منگنز و منیزیم از دستگاه جذب اتمی (*Professional IC 850*) با شعله استفاده شد.

همچنین سنجش آمونیاک نیز با روش *Phenate method* یا روش ایندو فنول با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر (*Varian Cary100 Bio*) در طول موج 630 نانومتر انجام گردید.

در نهایت داده‌های حاصل از سنجش میزان عناصر، با استفاده از نرم افزار آماری *SAS* آنالیز آماری شدند و رسم نمودارها با استفاده از نرم افزار *Excel 2007* انجام گردید.

نتایج

نتایج حاصل از آنالیز واریانس داده‌ها نشان داد، تاثیر تنش بر میزان تمامی کاتیون‌ها در سطح 1% درصد معنی دار بود. تاثیر وارسته بر میزان سدیم و روی در سطح 1% درصد و بر میزان آمونیاک و آهن در سطح 5% درصد نیز معنی دار بود و تاثیر وارسته بر میزان سایر کاتیون‌ها از نظر آماری معنی دار نبود. تاثیر متقابل خشکی و وارسته بر میزان آمونیاک، پتاسیم و روی در سطح 5% درصد و میزان آهن در سطح 1% درصد معنی دار و بر میزان سایر کاتیون‌ها معنی دار نبود. همچنین تاثیر پاشش هورمون بر میزان منگنز و آهن در سطح 1% درصد و بر میزان کلسیم و منیزیم در سطح 5%

گل دهی انجام گردیده است. در این طرح تاکید بر بررسی محتوای کاتیونی یونهای سدیم، آمونیاک، پتاسیم، منگنز، کلسیم، منیزیم، آهن و روی به صورت کمی می‌باشد.

۱- اجرای آزمایش و تیمارهای آزمایشی

زمین مورد نظر پس از انتخاب، در اوایل پاییز به عمق 15 تا 20 سانتیمتری شخم زده شده و پس از نرم کردن بستر، جوی و پشته‌هایی به فواصل 50 سانتیمتر ایجاد شد و بذور در طرفین پشته‌ها با فواصل ردیف 25 سانتیمتر کشت شدند. ابعاد هر کرت آزمایشی چهار متر در پنج متر بود و تراکم مورد استفاده، 400 بوته در متر مربع در نظر گرفته شد، که بلافاصله بعد از کاشت آبیاری مزرعه انجام خواهد شد. مبارزه با علفهای هرز و کود دهی زمین آزمایشی طبق روال معمول انجام گردید.

۲- تیمارهای آزمایشی

در این تحقیق از طرح کرت‌های دو بارخرد شده بر مبنای طرح بلوک‌های کاملا تصادفی و در 3 تکرار استفاده شد. آبیاری تیمار شاهد به صورت معمول تا پایان دوره رشد 2 رقم یاد شده انجام شد، در حالیکه آبیاری تیمار تنش خشکی کرت‌ها توسط شیلتر پوشیده شده و در مرحله آغاز به سنبله نشستن یا آبستنی قطع گردید. در این بررسی 2 رقم یاد شده در قالب تیمارهای شاهد و تنشی و اعمال دوره‌های مختلف هورمونی *CK* و *ABA* بررسی شدند.

۳- نمونه برداری

در هر کرت $0/5$ متر از ابتدا و انتهای هر خط به عنوان حاشیه در نظر گرفته شد و از 3 متر باقی مانده یک متر برای نمونه برداری و 3 متر جهت تعیین عملکرد دانه و زیست توده و اجزاء عملکرد استفاده گردید. بعد از حذف اثرات حاشیه‌ای در زمانهای مختلف شامل شروع گرده افشانی (زمان صفر)، 7 ، 14 و 28 روز، 60 بوته به طور تصادفی انتخاب شد. نمونه‌ها سریعا به برگ پرچم و سنبله تفکیک شده و به طور جداگانه در فویل‌های آلومینیومی گذاشته شده و در نیتروژن مایع قرار داده شدند. در مرحله بعد نمونه‌ها در دمای $80-$ درجه سانتیگراد جهت انجام آنالیزها نگهداری شدند.

آمونیاک و جذب بیشتر آهن و روی، نسبت به رقم دیگر متفاوت شده است.

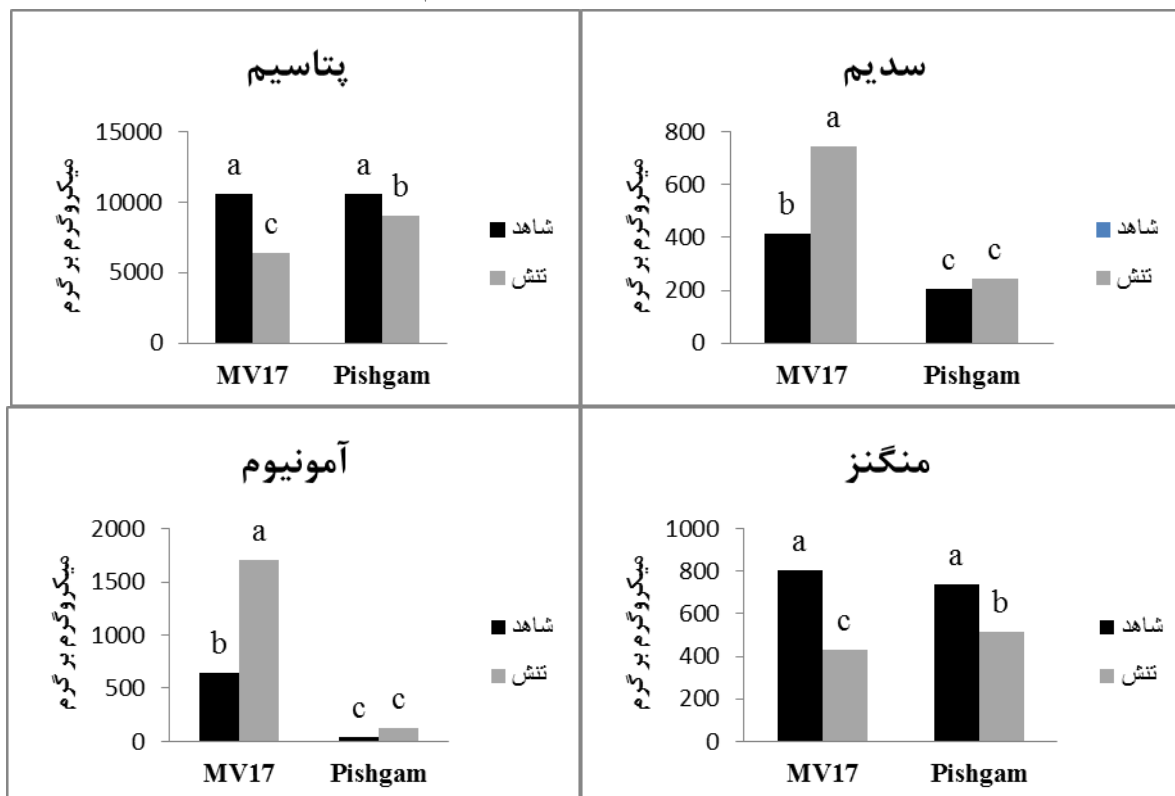
در شرایط پاشش هورمون نیز کلسیم، منیزیم، آهن و روی تحت هورمون سیتوکینین میزان جذب بیشتری را نشان داده اند و آمونیاک و منگنز نیز در حضور آبسزیک اسید (ABA)، جذب بیشتری را نسبت به CK نشان داده اند.

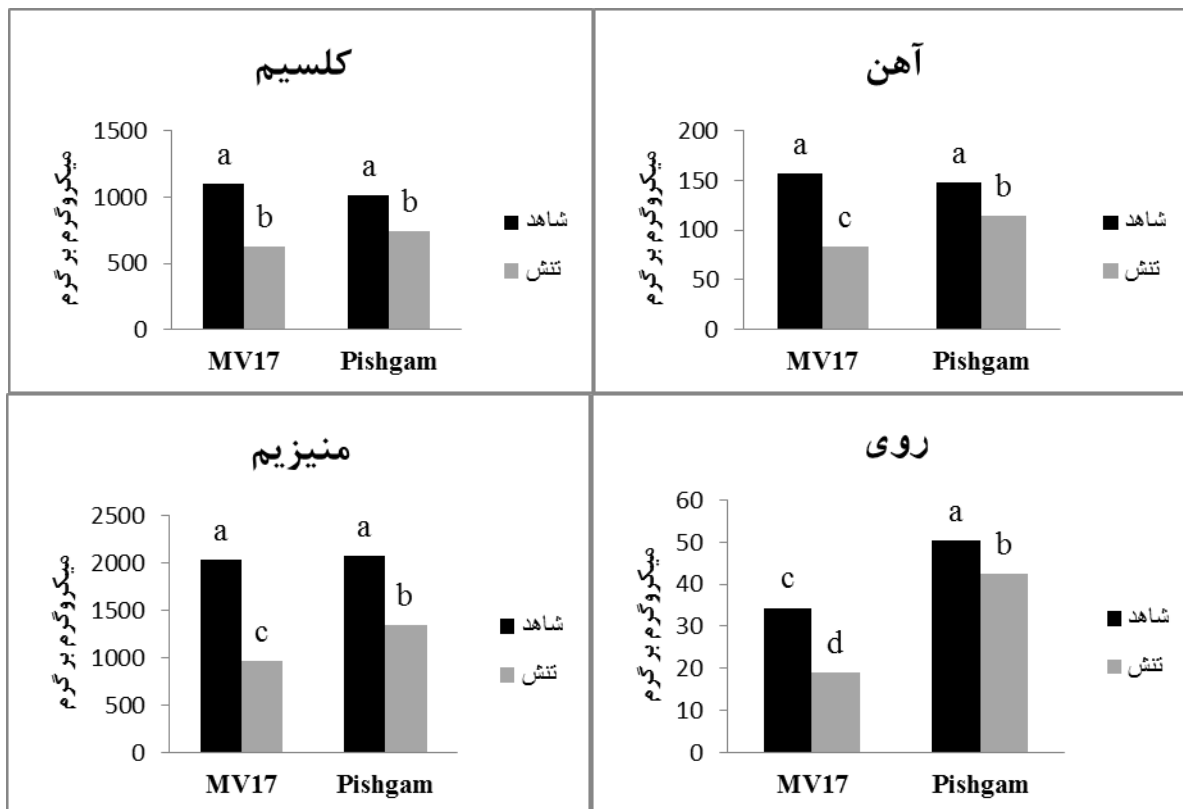
در بررسی نمودارهای مربوط به اثر متقابل میانگین داده‌ها (شکل شماره ۲)، نیز می‌توان اذعان داشت که در بین دو رقم گندم مورد آزمایش (MV17 و Pishgam)، میزان عنصر سدیم تحت شرایط تنش خشکی در رقم MV17 بیشترین انباشت (۷۴۷ میکرو گرم بر گرم) را دارا بوده و در همین رابطه کمترین مقدار سدیم مربوط به تنش و شاهد در رقم پیشگام (۲۴۲ و ۲۰۳ میکروگرم بر گرم) بوده است.

همچنین در مورد عناصر پتاسیم، منگنز، منیزیم، آهن و روی مشاهده می‌شود که کمترین میزان در شرایط تنش مربوط به رقم MV17 بوده است.

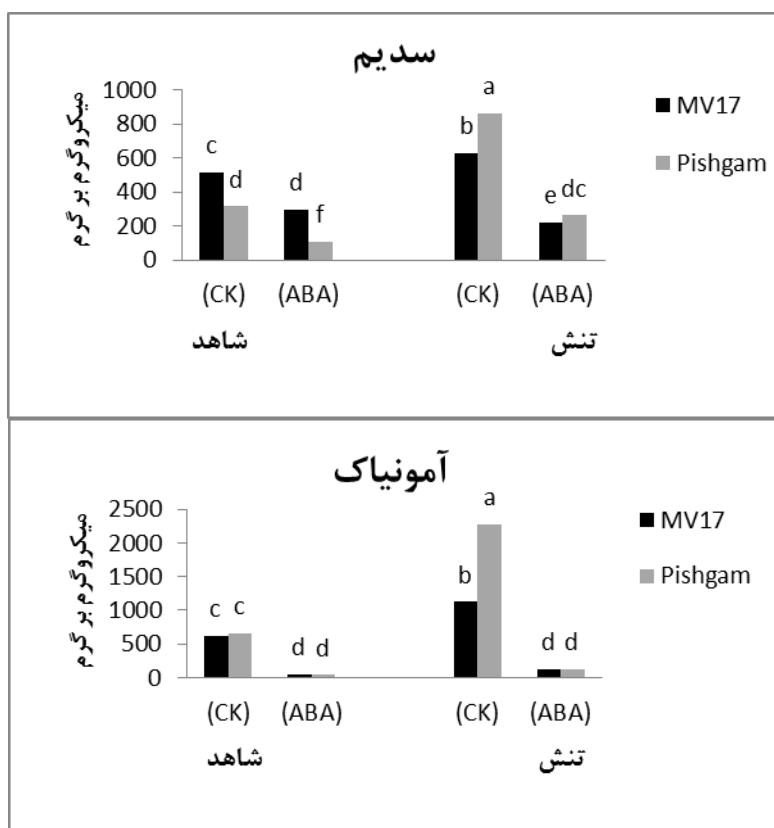
درصد تفاوت معنی داری را بروز داده در حالیکه بر میزان سایر کاتیون‌ها معنی دار نبوده است. از طرفی تاثیر متقابل خشکی و هورمون بر میزان کاتیون‌ها معنی دار نبود ولی نتایج نشان می‌دهد که اثر متقابل واریته در هورمون بر میزان کاتیون‌ها فقط در مورد آهن در سطح ۵ درصد معنی دار و در مورد سایر کاتیون‌ها تفاوت معنی داری را نشان نداده است. هم چنین آنالیز واریانس داده‌ها در مورد اثر متقابل سه جانبه خشکی، واریته و پاشش هورمون بر میزان کاتیون‌ها هیچگونه اختلافی را نشان نداد.

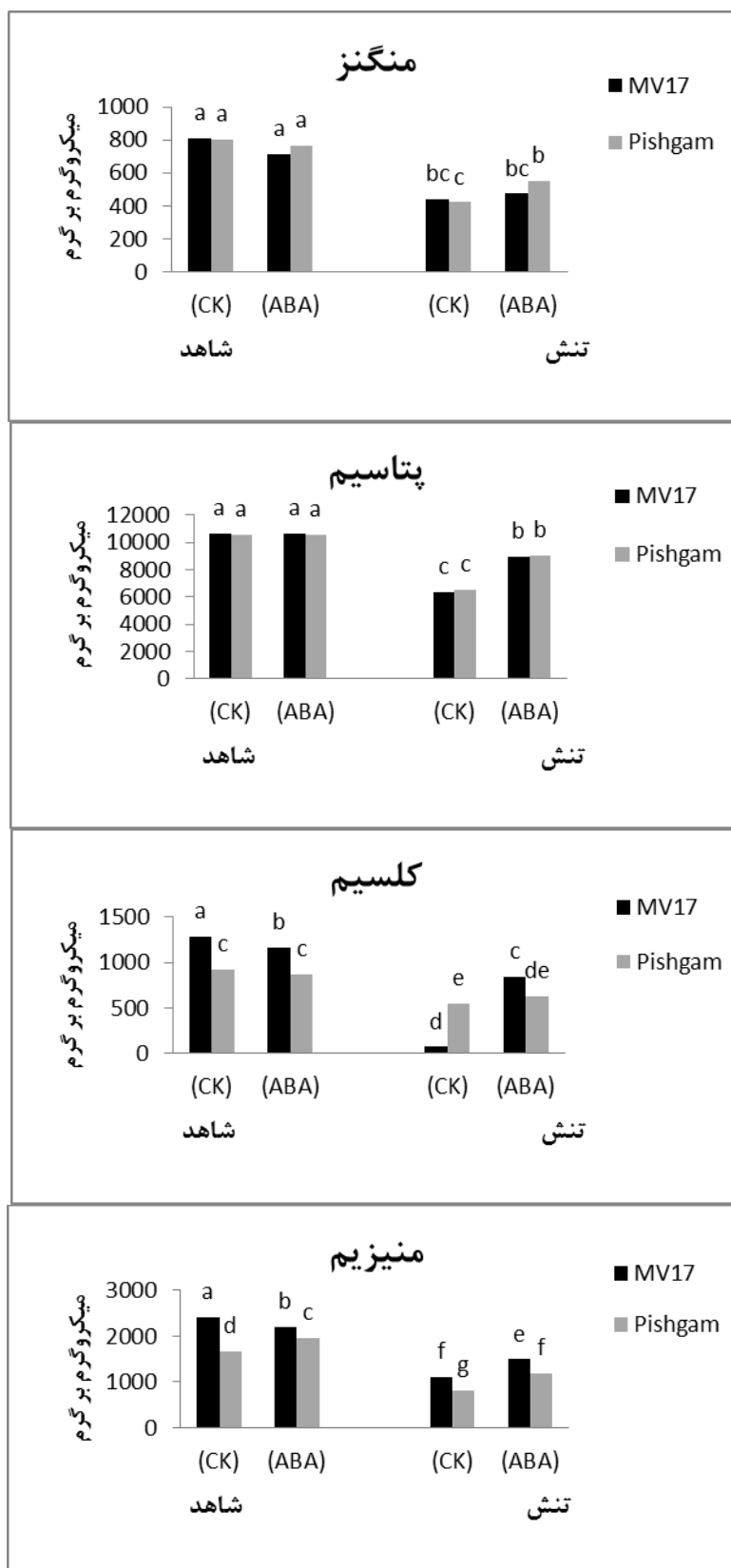
بررسی مقایسه میانگین اثرات ساده عوامل مورد آزمون همچون تنش، رقم و پاشش هورمون، بیانگر بیشبود جذب عناصر سدیم و آمونیاک در شرایط تنش و سایر عناصر در شرایط کنترل می‌باشد. از طرفی، میانگین‌ها نشان می‌دهد که بین واریته‌ها از لحاظ میزان جذب عناصر، اختلافاتی در جذب سدیم و آمونیاک و آهن و روی مشاهده می‌گردد بطوریکه رقم پیشگام با جذب کمتر سدیم و

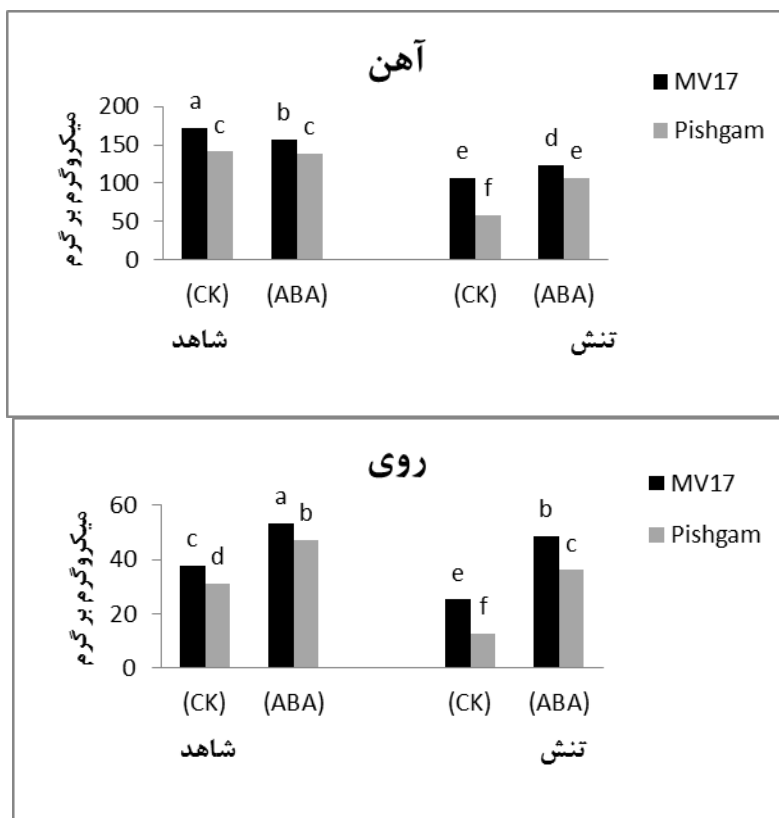




شکل ۱ مقایسه اثرات متقابل ارقام در شرایط شاهد و تنش خشکی بر میزان انباشت عناصر مورد مطالعه







شکل ۲ مقایسه اثرات متقابل ارقام در شرایط شاهد و تنش خشکی تحت پاشش سیتوکینین و آبسزیک اسید بر میزان انباشت عناصر

بحث و نتیجه گیری

با توجه به مقادیر سدیم جذب شده، مشخص می شود که رقم MV17 از رقم پیشگام در برابر جذب سدیم مقاوم تر بوده و از این لحاظ دارای مزیت نسبی می باشد زیرا این عنصر بسیار سمی بوده و هر گیاهی که توانایی ممانعت از جذب بیشتر در شرایط تنش را داشته باشد، مزیت بالاتری دارد.

با توجه به نتایج اثر متقابل سه گانه تنش خشکی در رقم و در هورمون، مشخص شد که پاشش هورمون ABA هم در شرایط تنش و هم در شرایط شاهد باعث گردید که جذب عنصر سدیم در هر دو رقم کمتر گردد و این نشان از توانایی این هورمون در کنترل اثرات مخرب تنش های محیطی دارد. چنانچه برخی پژوهشگران که در این زمینه مطالعه نموده اند، یکی از دلایل سازگاری گیاهان به تنش های خشکی را وجود هورمون ABA دانسته اند (۵، ۱۲ و ۳۴).

بطور کلی مطالعه مقادیر جذب عناصر در شرایط تنش و عدم تنش خشکی در دو واریته مشخص می شود که جذب اکثر عناصر مفید و مورد نیاز گیاه در شرایط تنش رطوبتی کاهش قابل توجهی یافته و احتمالاً این کاهش به دلیل کم شدن میزان جذب و انتقال آب و مواد معدنی در شرایط کم آبی بوده، که با نتایج جونز (۱۹۸۰) مطابق می باشد. البته کاهش این مقادیر در رقم پیشگام نسبت به رقم MV17 کمتر بوده و نشانه تاثیر پذیری کمتر این رقم از تنش خشکی در این زمینه می باشد (شکل های ۱ و ۲). بررسی نتایج حاصل از اثرات هورمون پاشی بر جذب عناصر نشان می دهد که اولاً اکثر عناصر غذایی مفید و ضروری گیاه به مصرف هورمون سیتوکینین بهتر جواب می دهند و مقادیر بالاتری را در هر دو شرایط تنشی و غیر تنشی دارا می باشند و این نشان دهنده این موضوع است که حضور این هورمون در کاستن از اثرات منفی حاصل از تنش خشکی (که یکی از اثرات منفی مهم آن کاهش جذب عناصر غذایی می باشد)، می تواند مفید باشد.

- practices of dryland farming. Colorado Associated University Press Boulder.
- 7- **Brenner M. L., and Cheikh N. 1995.** The role of hormones in photosynthate partitioning and seed filling. In: Davies P.J.
 - 8- **Bai X. F., Cai Y. P. and Nie F. 1989.** Relationship between abscisic acid and grain filling of rice and wheat. *Plant Physiol. Commun. (China)* 3: 40-41.
 - 9- **Darussalam-Cole M. A., and Patrick J. W. 1998.** Auxin control of photoassimilate transport to and within developing grains of wheat. *Aust. J. Plant Physiol.* 25: 69-77.
 - 10- **Davies P. J. 1987.** The plant hormones: their nature, occurrence, and functions. In: Davies P.J. (ed.), *Plant Hormones and Their Role in Plant Growth and Development*, Martinus Nijhoff Publishers, The Netherlands, pp. 1-11.
 - 11- **Davies W. J. and Zhang J. 1991.** Root signals and the regulation of growth and development of plant in drying soil. *Ann. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.* 42:55-76.
 - 12- **Guerrero F. and JE. Mullet. 1986.** Increased abscisic acid biosynthesis during plant dehydration requires transcription. *Plant Physiology* 80: 588-591.
 - 13- **Hansen H., Grossmann K. 2000.** Auxin-induced ethylene triggers abscisic acid biosynthesis and growth inhibition. *Plant physiol.*, 124: 1437-1448.
 - 14- **Heath RL, Packer L. 1968.** Photoperoxidation in isolated chloroplasts. *Arch Biochem Biophys* 125: 189-198.
 - 15- **Jones R. J. 1994.** Intrinsic factors regulating seed development. In "Physiology and Determination of Crop Yield" (K. J. Boote, J. M. Bennett, T. R. Sinclair, and G. M. Paulson, eds.), pp. 149-152. Am. Soc. Agron., Crop Sci. SOC. Am., Soil Sci. SOC. Am., Madison, WI.
 - 16- **Jones H.G. 1980.** Interaction and integration of adaptive response to water stress. Royal science Society of London, Series B 273:193-205.
 - 17- **Kato T., Sakurai N., Kuraiishi S. 1993.** The changes of endogenous abscisic acid in developing grains of two rice cultivars with different grain size. *Jpn J Crop Sci.* 62: 456-461.
 - 18- **Kende H., Zeevaart J. A. D. 1997.** *The five 'classical' plant hormones.* *Plant Cell* 9: 1197-1210.
- Zhang و همکاران (۲۰۰۵) و Pospisilova و همکاران (۲۰۰۵) اعلام کردند که غلظت‌های بالای هورمون سیتوکینین فرآیند پیری گیاهان را به تاخیر می‌اندازد و این در حالی است که Xie و همکاران (۲۰۰۴) گزارش می‌کنند که وجود اسید آبسیزیک باعث تسریع فرآیند پیری در گیاهان می‌شود. در بین عناصر اندازه گیری شده در این آزمایش، عناصر سدیم و آمونیاک رفتار کاملاً متفاوتی از خود بروز دادند. برای مثال با توجه به تاثیرات متقابل سه گانه رقم در خشکی در هورمون مشاهده می‌شود که این دو عنصر بر خلاف عناصر دیگر در شرایط تنش بیش از عناصر دیگر جذب شده اند و این با رفتار سایر عناصر در تضاد است.
- انباشت بیشتر آمونیاک و سدیم تحت تنش آبی و هورمون سیتوکینین، نشان دهنده افزایش سمیت بیشتر در دو رقم گندم با تجمع بیشتر این عناصر در بافت گیاه می‌باشد.
- بنابراین پاشش CK در شرایط خشکی بر روی گندم توصیه نمی‌گردد.
- منابع**
- 1- **Ackerson R.C. 1985.** Invertase activity and abscisic acid in relation to carbohydrate status in developing soybean reproductive structures. *Crop Sci.* 25: 615-618.
 - 2- **Ahmadi A., Baker D. A. 2001.** The effect of water stress on the activities of key regulatory enzymes of the sucrose to starch pathway in wheat. *Plant Growth Regul* 35: 81-91.
 - 3- **Bano A., Dorffling K., Bettin D., and Hahn H. 1993.** Abscisic acid and Cytokinins as possible root-to-shoot signals in xylem sap of rice plants in drying soils. *Aust. J. Plant Physiol.* 20: 109-115.
 - 4- **Bond U. 1988.** Heat shock but not other stress inducers leads to the disruption of a subset of snRNPs and inhibition of in vitro splicing in Hela cells. *EMBO J* 7: 3509-3518.
 - 5- **Bray E.A. 1988.** Drought- and ABA-induced changes in polypeptide and mRNA accumulation in tomato leaves. *Plant Physiology* 88: 1210-1214.
 - 6- **Brengle K. G. 1982.** Principles and

- 30- **Shashidhar, V. R., Prasad, T. G., and Sudharshan, L. 1999.** Hormone signals from roots to shoots of sunflower (*Helianthus annuus* L.) moderate soil drying increases delivery of abscisic acid and depresses delivery of cytokinins in xylem sap. *Ann. Bot.* 78: 151-155.
- 31- **Seth A. K. and Waering P. E. 1967.** Hormone-directed transport of metabolites and its possible role in plant senescence. *J. Exp. Bot.* 18: 65-77.
- 32- **Singh G. and Gerung S. B. 1982.** Hormonal role in the problem of sterility in *Oryza sativa*. *Plant Physiol. Biochem.* 9: 22-23.
- 33- **Tietz A., Ludwig M., Dingkuhn M. and Dorffling K. 1981.** Effect of abscisic acid on the transport of assimilates in barley. *Planta* 152: 557-561.
- 34- **Wang Z., Cao W., Dai T., Zhou Q. 2001.** Effects of exogenous hormones on floret development and grain set in wheat. *Plant Growth Regul.* 40: 201-205.
- 35- **Wright S.T.C. 1977.** The relationship between leaf water potential (psi leaf) and the levels of abscisic acid and ethylene in excised wheat leaves. *Planta* 134: 183-189.
- 36- **Xie Z., Jiang D., Cao W., Dai T. and Jing Q. 2003.** Relationships of endogenous plant hormones to accumulation of grain protein and starch in winter wheat under different post-anthesis soil water statuses. *Plant Growth Regulation* 41: 117-127.
- 37- **Xie, Z., D. Jiang, T. Dai and W. Cao. 2004.** Effect of exogenous ABA and cytokinin on leaf photosynthesis and grain protein accumulation in wheat ears cultured in vitro. *Plant Growth Regul.* 44: 25-32.
- 38- **Yang J., Zhang J., Huang Z., Zhu Q., Wang L. 2000.** Remobilization of carbon reserves is improved by controlled soil-drying during grain filling of wheat. *Crop Sci* 40:1645-1655.
- 39- **Yang J., Zhang J., Wang Z., Zhu Q., Wang W. 2001.** Hormonal Changes in the Grains of Rice Subjected to Water Stress during Grain Filling. *Plant Physiology* 127: 315-323.
- 40- **Zhang, X., T. Wang and C. Li. 2005.** Different responses of two contrasting wheat genotypes to abscisic acid application. *Biologia Planta.* 49: 613-616.
- 19- **Liang J., Zhang J. Cao X. 2001.** Grain sink strength may be related to the poor grain filling of indica-japonica rice (*Oryza sativa*) hybrids. *Physiol. Planta.* 112: 470-77.
- 20- **Mahajan S., Tuteja N. 2004.** Cold, salinity and drought stresses: An overview. *Archives of Biochemistry and Biophysics* 444: 139-158.
- 21- **Michael G., Seiler-Kelbitsch H. 1972.** Cytokinin content and kernel size of barley grain as affected by environment and genetic factors. *Crop Science.* 12: 162-165.
- 22- **Morris R.D., Blevins D. G., Dietrich J.T., Durly R. C., Gelvin S.B., Gray J., Hommes N. G., aminek M., Mathews L. J., Meilan R., Reinbott T. M., Sagavendra-Soto L. 1993.** Cytokinins in plant pathogenic bacteria and developing cereal grains. *Aust. J. Plant Physiol.* 20:621-637.
- 23- **Nooden L. D. 1988.** Abscisic acid, auxin, and other regulators of senescence. In: Nooden L. and Leopold A. (eds), *Senescence and Aging in Plants.* Academic Press, San Diego, pp: 329-368.
- 24- **Ober E. S., Setter T.L., Madison J. T., Thompson J. F., Shapiro P. S. 1991.** Influence of water deficit on maize endosperm development. Enzyme activities and RNA transcriptions of starch and zein synthesis, abscisic acid, and cell division. *Plant Physiol.* 97: 154-164.
- 25- **Peleg Z and Blumwald E. 2011.** Hormone balance and abiotic stress tolerance in crop plants. *Current Opinion in Plant Biology.* 14:290-295.
- 26- **Pospisilova, J., M. Vagner, J. Malbeck, A. Travnickova and P. Batkova. 2005.** Interactions between abscisic acid and cytokinin during water stress and subsequent rehydration. *Biologia Planta.* 49: 533-540 .
- 27- **Robertson AJ, Ishikawa M, Gusta LV, MacKenzie SL. 1994.** Abscisic acid induced heat tolerance in *Bromus inermis* Lees cell suspension cultures. *Plant physiol* 105:181-190.
- 28- **Rouached H., Secco D., Arpat B.A., 2010.** Regulation of ion homeostasis in plants. *Plant Signal. Behav.* 5 (5): 501-502.
- 29- **Salt D.E., Baxter I., Lahner B., 2008.** Ionomics and the study of the plant ionome. *Annu. Rev. Plant Biol.* 2008. 59:709-33.