

اثر تنش خشکی بر تجمع پرولین و تغییرات عناصر در یونجه‌های یزدی، نیکشهری و رنجر (*Medicago sativa* L.)

مهدی آخوندی^۱، عباس صفرنژاد^۱ و مهرداد لاهوتی^۲

چکیده

خشکی از جمله تنش‌های محیطی مهم است که بر رشد و نمو گیاهان اثر می‌گذارد. برای شناسایی مکانیزم‌های مقاومت به تنش خشکی در یونجه آزمایشی در محیط هیدروپونیک با ۴ سطح مختلف پتانسیل‌های اسمزی حاصل از PEG شامل صفر، -۴، -۸، -۱۲ بار انجام شد. از ژنوتیپ‌های یونجه یزدی، نیکشهری و رنجر، که بر اساس شاخص‌های مورفولوژی به ترتیب به عنوان مقاوم، نیمه مقاوم و حساس دسته‌بندی شده بودند، در این مطالعه استفاده شدند. پس از چهار هفته از گیاهان کشت شده در محیط هیدروپونیک نمونه برداری و میزان پرولین و عناصر کلسیم، پتاسیم و سدیم آنها اندازه‌گیری شد. نتایج نشان داد که با افزایش تنش خشکی بر میزان تجمع پرولین در اندام‌های مختلف افزوده می‌شود، ولی میزان آن در ژنوتیپ‌ها و اندام‌های مختلف یونجه، متفاوت بود. تنش اسمزی موجب افزایش میزان تجمع پرولین در برگ نسبت به سایر اندام‌های گیاه و افزایش معنی‌دار غلظت عناصر پتاسیم، سدیم و کلسیم در اندام‌های گیاه شد. در حالی که نسبت پتاسیم به سدیم در اندام‌های هوایی و ریشه، با افزایش تنش خشکی کاهش یافت. بر اساس نتایج مورفولوژی و بیوشیمیایی از این آزمایش یونجه یزدی به عنوان ژنوتیپ مقاوم به تنش اسمزی در مقایسه با سایر ژنوتیپ‌ها مشخص شد.

واژه‌های کلیدی: خشکی، PEG، یونجه، *Medicago sativa* L.، پرولین، عناصر غذایی

مقدمه

برای سازش به تنش‌های محیطی بستگی به نوع، شدت و مدت تنش و هم‌چنین گونه گیاهی و مرحله وقوع تنش دارد (۲، ۶، ۲۰، ۲۲، ۲۳، ۳۱). گیاهان در شرایط تنش به دو شکل، اجتناب از تنش یا تحمل تنش مقاومت می‌کنند. در مقیاس سلولی، گیاه آثار مضر تنش را با افزایش متابولیسم و تنظیم پتانسیل اسمزی از طریق تجمع مواد آلی و

خشکی یکی از تنش‌های محیطی است که روی اکثر مراحل رشد گیاه، ساختار اندام و فعالیت آنها آثار مخرب و زیان آوری وارد می‌سازد (۲۰، ۲۲، ۲۳، ۲۶، ۳۰ و ۳۱). پاسخ گیاهان به تنش‌های محیطی در سطوح مورفولوژی، آناتومی، سلولی و مولکولی متفاوت است (۲۳، ۳۰، ۳۱ و ۳۲). توانایی گیاهان

۱. به ترتیب کارشناس ارشد و عضو هیئت علمی مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی خراسان، مشهد

۲. استادیار فیزیولوژی گیاهی، دانشکده علوم، دانشگاه فردوسی مشهد، مشهد، ایران

مربوط به کانال‌های پادبر (antiport) سدیم/پتاسیم می‌باشد (۹). در میان عناصر غذایی، پتاسیم یکی از مهم‌ترین کاتیون‌های مورد نیاز گیاه می‌باشد که در مورد تجمع آن در هنگام تنش اسمزی نتایج زیادی گزارش شده است (۱۶ و ۲۶). این کاتیون در تنظیم فشار اسمزی و کنترل روزنه‌ای نقش ایفا می‌کند (۳). با این حال نتایج مختلفی از نقش یون‌های معدنی در تنظیم اسمزی گزارش شده است (۸، ۹، ۲۵ و ۳۲). بویته‌آ و همکاران (۸) با مطالعه اثر تنش خشکی بر جریانات پتاسیم و آنیون‌های تارهای کشنده باقلا (*Phaseolus vulgaris*) نتیجه گرفتند که در شرایط کم آبی، ورود یون‌های پتاسیم سبب حفظ فشار تورژسانس و گسترش و رشد سلول می‌شود. ملونی و همکاران (۱۸) با بررسی اثر تنش شوری بر دو رقم پنبه (*Gossypium hirsutum*) گزارش نمودند که شوری سبب افزایش میزان سدیم و کلر در گیاه می‌شود ولی میزان پتاسیم در برگ‌ها بدون تغییر می‌ماند. میزان پتاسیم ریشه کاهش یافته و هم‌چنین سبب کاهش غلظت منیزیم و کلسیم برگ شده ولی بر غلظت آنها در ریشه اثری ندارد (۱۸).

با توجه به کشت وسیع یونجه، بررسی خصوصیات آن به ویژه شناخت مکانیسم‌های مقاومت به خشکی از اهمیت ویژه‌ای برخوردار است. هدف از این پژوهش شناسایی ژنوتیپ‌های مقاوم به خشکی و مطالعه تغییرات اسید آمینه پرولین و سه عنصر پتاسیم، سدیم و کلسیم در شرایط تنش و نقش آنها در مقاومت به خشکی می‌باشد.

مواد و روش‌ها

در این آزمایش سه ژنوتیپ یونجه یزدی (مقاوم)، نیکشهری (نیمه مقاوم) و رنجر (حساس) که براساس شاخص‌های مورفولوژی شناسایی شده بودند (۲)، در محیط هیدروپونیک دارای سطوح خشکی (۰ و ۴- و ۸- و ۱۲- بار) کشت شدند. این آزمایش به صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی در اتاق کشت انجام شد. به منظور تهیه گیاهچه‌های مورد نظر، بذر هر یک از ژنوتیپ‌ها به طور جداگانه در داخل لیوان‌های

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 (۱۵). 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، صورت می‌گیرد (۱۵ و ۲۶). نوع ماده حل شونده در گونه‌ها و ژنوتیپ‌های مختلف، متفاوت است. این مواد حل شونده شامل آمینواسیدهای متنوع (پرولین، قندها مثل ساکارز و فروکتان)، پلی‌اول‌ها (مانیتول و پینیتول)، آمین‌های چهارتایی (گلیسین بتائین)، یون‌ها (پتاسیم) و اسیدهای آلی (مالات و سترات) هستند (۳۲). تغییر در جریان یونی سریع‌تر 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 (۲۴).

تجمع پرولین در تمام اندام‌های گیاه در طی تنش وجود دارد، با این وجود میزان تجمع آن در برگ‌ها سریع‌تر و بیش از سایر اندام‌ها می‌باشد. پرولین اسید آمینه ذخیره شده در سیتوپلاسم می‌باشد و احتمالاً در حفاظت از ساختمان ماکرومولکول‌ها و هیدروکسی پرولین نیز در سنتز دیواره سلول نقش دارد (۱۴). صفرنژاد و همکاران (۲۲ و ۲۳) با بررسی اثر تنش اسمزی بر ژنوتیپ‌های یونجه گزارش نمودند که ژنوتیپ‌های مقاوم، عکس‌العمل سریع‌تر و بیشتری از نظر تجمع پرولین نسبت به گونه‌های حساس نشان دادند. تجمع پرولین در هنگام تنش خشکی در گیاهان مختلف دیگر همچون نخود (*Cicer arietinum*) (۵ و ۷)، گندم (*Triticum durum*) (۱۶)، ذرت (*Zea mays*) (۲۵)، بادام زمینی (*Arachis hypogaea*) (۲۸) نیز گزارش شده است.

جذب و کده‌بندی یون‌ها نه تنها در هنگام رشد طبیعی، بلکه برای رشد در شرایط شوری و خشکی مهم می‌باشد، زیرا این دو تنش سبب اختلال در تقسیم بندی یون‌ها می‌شود که جزء اصلی برای کده‌بندی (Compartentaion) یون‌ها، ژن‌های

برگ و ژنوتیپ رنجر دارای کمترین مقدار بود. هم‌چنین مقایسه میزان پرولین برگ در پتانسیل‌های مختلف آب نشان داد که پتانسیل ۸- بار دارای بیشترین مقدار بود که از نظر آماری با بقیه سطوح اختلاف معنی‌داری داشت. میزان افزایش پرولین برگ در سطح ۸- بار نسبت به شاهد ۲/۵ برابر بود (جدول ۱). مقایسه میانگین داده‌های میزان پرولین ریشه تحت تأثیر تنش آب و ژنوتیپ نشان داد که بیشترین مقدار پرولین ریشه در پتانسیل ۱۲- بار مربوط به ژنوتیپ یزدی بود (جدول ۲).

افزایش میزان پرولین در اثر تنش خشکی در سایر تحقیقات نیز گزارش شده است (۳، ۵، ۱۴، ۱۷، ۲۲، ۲۳، ۲۵، ۲۷ و ۲۹). صفرنژاد و همکاران با بررسی اثر تنش خشکی بر ژنوتیپ‌های یونجه گزارش دادند که با افزایش تنش خشکی بر میزان تجمع پرولین در برگ‌ها افزوده می‌شود (۲۲). ماتیونی و همکاران (۱۷) 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 که افزایش اسید آمینه پرولین از سایر اسیدهای آمینه بیشتر بود. جیروسکی و همکاران (۱۳) 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 آنجا به بافت‌های مریستمی برای حفظ و ایجاد تنظیم اسمزی در بافت‌های در حال رشد منتقل گردد. هم‌چنین آنها نشان دادند که میزان پرولین ریشه، اندام هوایی و نسبت پرولین به ریشه نیز تحت تأثیر تنش معنی‌دار می‌باشد. 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 (۷، ۹، ۲۱ و ۲۵) و برخی آن را به وجود ترکیبات پراانرژی حاصل از فتوسنتز می‌دانند که سبب تحریک سنتز پرولین می‌شود (۱۷، ۲۹ و ۳۲). تنش خشکی از دو طریق افزایش بیان آنزیم‌های سنتز کننده پرولین و کاهش فعالیت آنزیم‌های تخریب پرولین باعث

حاوی محیط کشت هویت (محلول غذایی مخصوص یونجه) روی بیدز (دانه‌های پلاستیکی) کشت داده شدند (۲۳). یک هفته پس از کاشت، نمونه‌های حاصل به سطوح‌هایی با ابعاد ۹×۱۲×۱۲ سانتی‌متر منتقل شدند. برای استقرار گیاهچه‌ها بر روی سطل، از صفحه یونولیتی که دارای ۲۰ سوراخ بود، و برای اعمال تنش از پلی اتیلن گلیکول ۶۰۰۰ در مقادیر مختلف با استفاده از روش میچل و کنوفمن (۱۹) استفاده شد. دمای محیط آزمایش در این مرحله 25 ± 2 سانتی‌گراد تنظیم گردید. برای هم زدن محلول غذایی و PEG و تولید اکسیژن برای تنفس ریشه از لوله‌های متصل به پمپ‌های هوا استفاده گردید. فتوپریود تنظیم شده شامل ۱۶ ساعت روشنایی و ۸ ساعت تاریکی با شدت ۱۵۰۰۰ لوکس بود. پس از ۴ هفته، میزان پرولین اندام‌های گیاه (ریشه و برگ) به تفکیک، با استفاده از روش صفرنژاد و همکاران (۲۳) اندازه‌گیری شد. برای اندازه‌گیری میزان عناصر، ابتدا از هریک از اندام‌ها، خاکستر خشک تهیه شد. به این منظور مقداری از بافت تر، به مدت ۴۸ ساعت در داخل آون در دمای ۷۰ درجه سانتی‌گراد قرار داده شد. سپس به ۰/۵ گرم از بافت خشک، ۱۰ میلی‌لیتر اسید نیتریک غلیظ اضافه گردید. بعد از حدود ۲ ساعت، با استفاده از اجاق برقی محلول‌ها حرارت (تا دمای تبخیر) داده شد و در انتها با استفاده از دستگاه فلیم فتومتر میزان عناصر پتاسیم، کلسیم و سدیم تعیین گردید (۱). برای تجزیه و تحلیل داده‌ها از نرم افزار آماری SAS و مقایسه میانگین‌ها نیز با استفاده از آزمون دانکن و برای رسم منحنی از نرم افزار Excel استفاده شد.

نتایج و بحث

نتایج به دست آمده از تجزیه و تحلیل داده‌ها نشان داد که تغییرات میزان پرولین برگ تحت تأثیر ژنوتیپ، پتانسیل آب و اثر متقابل این دو بوده و از نظر آماری بسیار معنی‌دار بود. در مقایسه میانگین میزان پرولین برگ، در ژنوتیپ‌های مختلف یونجه نشان داد، ژنوتیپ یزدی دارای بیشترین میزان پرولین

جدول ۱. مقایسه میانگین میزان پرولین ژنوتیپ‌های یونجه در مرحله گیاهچه‌ای (هیدروپونیک)* (میکرومول بر گرم وزن تر بافت)

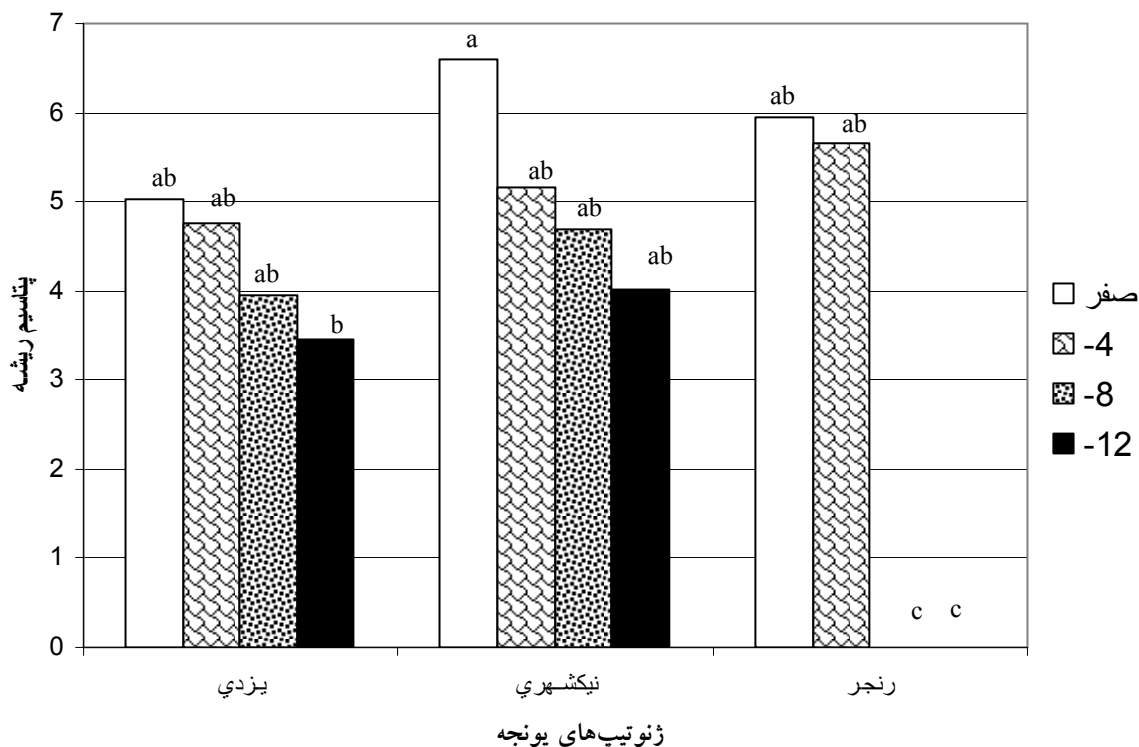
| ژنوتیپ | پرولین برگ | پرولین ریشه | پرولین اندام هوایی | نسبت پرولین اندام هوایی به زمینی |
|---------|--------------------|--------------------|--------------------|----------------------------------|
| یزدی | ۰/۰۲۵ ^a | ۰/۰۰۵ ^a | ۰/۰۴۱ ^a | ۱۲/۳۳۵ ^a |
| نیکشهری | ۰/۰۰۹ ^b | ۰/۰۰۲ ^b | ۰/۰۱۵ ^b | ۹/۱۰۴ ^a |
| رنجر | ۰/۰۰۵ ^b | ۰/۰۰۱ ^b | ۰/۰۰۶ ^b | ۶/۲۹۱ ^a |

*: در هر ستون میانگین‌هایی که دارای یک حرف مشترک می‌باشند، با یکدیگر تفاوت معنی‌داری ندارند (آزمون دانکن) ($\alpha = 1\%$).

جدول ۲. مقایسه میانگین میزان پرولین ژنوتیپ‌های یونجه در برابر خشکی (میکرومول بر گرم وزن تر بافت)*

| پتانسیل (بار) | پرولین برگ | پرولین ریشه | پرولین بخش هوایی | پرولین بخش هوایی به ریشه | ژنوتیپ |
|---------------|----------------------|---------------------|--------------------------------|--------------------------|---------|
| صفر | ۰/۰۱۱ ^{bcd} | ۰/۰۰۶ ^{ab} | ۰/۰۱۵ ^{bc} | ۴/۶۵۵ ^{bc} | یزدی |
| -۴ | ۰/۰۲۰ ^b | ۰/۰۰۲ ^a | ۰/۰۳۵ ^{abc} | ۱۸/۱۱۰ ^{ab} | |
| -۸ | ۰/۰۶۶ ^a | ۰/۰۰۹ ^a | ۰/۰۶۲ ^a | ۹/۵۴۵ ^{abc} | |
| -۱۲ | ۰/۰۰۳ ^{bc} | ۰/۰۰۱ ^{bc} | ۰/۰۴۶ ^{ab} | ۰/۰۲۴ ^{ab} | |
| صفر | ۰/۰۰۵ ^{cd} | ۰/۰۰۲ ^{bc} | ۰/۰۱۹ ^{bc} | ۷/۷۲۸ ^{abc} | نیکشهری |
| -۴ | ۰/۰۱۲ ^{bc} | ۰/۰۰۱ ^c | ۰/۰۱۸ ^{bc} | ۱۱/۶۳۷ ^{abc} | |
| -۸ | ۰/۰۱۴ ^{bc} | ۰/۰۰۲ ^{bc} | ۰/۰۱۷ ^{bc} | ۹/۲۰۹ ^{abc} | |
| -۱۲ | ۰/۰۰۳ ^{cd} | ۰/۰۰۰۶ ^c | ۰/۰۰۸ ^c | ۷/۸۴۲ ^{abc} | |
| صفر | ۰/۰۰۹ ^{bcd} | ۰/۰۰۰۶ ^c | ۰/۰۱۰ ^{b^c} | ۱۸/۷۲۱ ^a | رنجر |
| -۴ | ۰/۰۱۲ ^{bcd} | ۰/۰۰۲ ^c | ۰/۰۱۳ ^{bc} | ۶/۴۴۳ ^{abc} | |
| -۸ | ۰ ^d | ۰ ^c | ۰ ^c | ۰ ^c | |
| -۱۲ | ۰ ^d | ۰ ^c | ۰ ^c | ۰ ^c | |

*: در هر ستون میانگین‌هایی که دارای یک حرف مشترک می‌باشند، با یکدیگر تفاوت معنی‌داری ندارند (آزمون دانکن) ($\alpha = 1\%$).

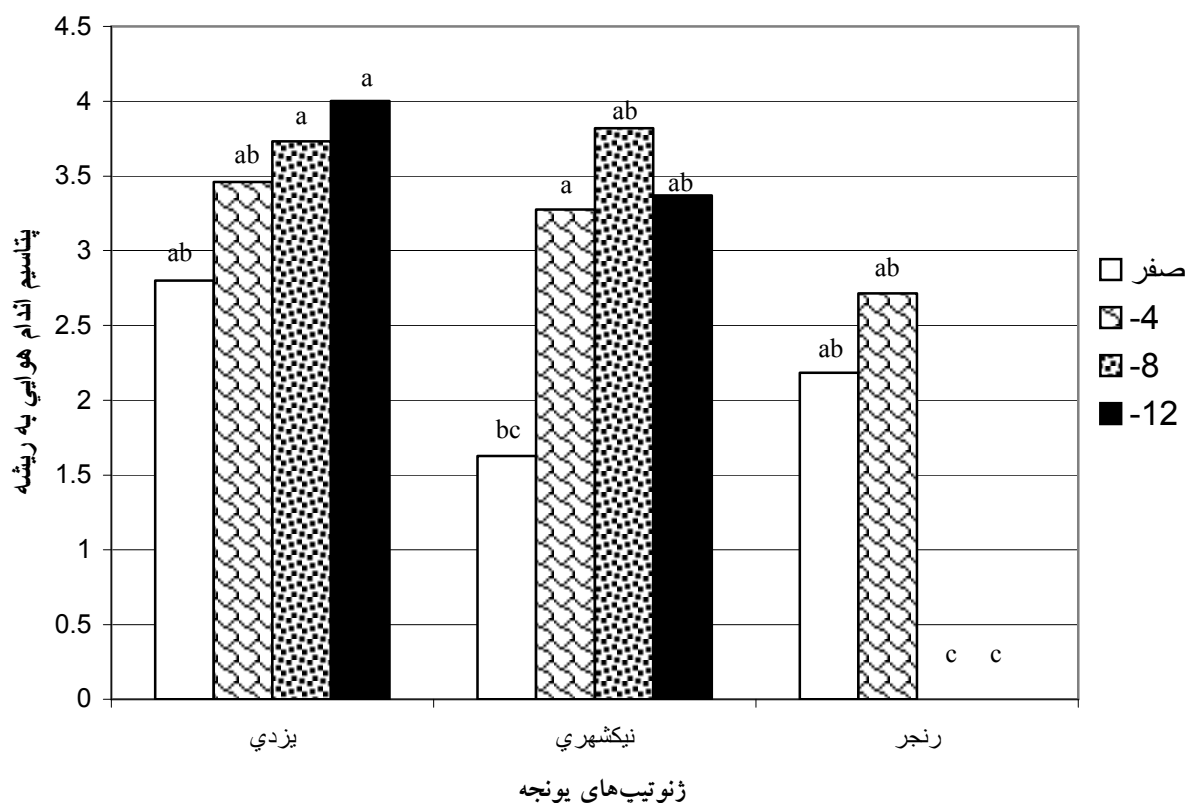


شکل ۱. اثر تنش اسمزی بر میزان پتاسیم ریشه در ژنوتیپ‌های یونجه

تغییرات نسبت پتاسیم اندام هوایی به ریشه تحت تأثیر توده، تیمار خشکی و اثر متقابل این دو معنی‌دار بود. در شکل ۲، نسبت پتاسیم اندام هوایی به ریشه در هر سه ژنوتیپ با افزایش تنش خشکی افزایش یافت و این اختلاف از نظر آماری معنی‌داری بود.

تحقیقات نشان داده است که تنش آب باعث تغییر در خصوصیات دیواره سلولی گیاه می‌شود که این امر سبب تغییر در عوامل زیستی مربوط به انتقال سیگنال در غشای پلاسمایی همچون گیرنده‌های هورمونی، کانال‌های کلسیمی و غیره می‌شود (۳۳). اردی و همکاران (۱۱) گزارش نمودند که در اثر تنش خشکی بر میزان تجمع سدیم و پتاسیم در شاخه و ریشه سورگوم (*Sorghum biocolor*) و ذرت (*Zea mays*) افزوده می‌شود که چنانچه در این شرایط از ABA استفاده شود، افزایش آنها قابل توجه نیست. اسی‌چی و همکاران (۱۲) با مطالعه اثر تنش شوری بر یونجه نتیجه گرفتند که تنش شوری با کاهش میزان عناصر ضروری در گیاه، سبب کاهش

افزایش میزان پرولین در گیاه می‌شود (۱۴، ۱۵، ۲۵ و ۳۲). میزان پتاسیم ریشه در ژنوتیپ‌های نیکشهری و یزدی دارای بیشترین مقدار و در ژنوتیپ رنجر کمترین مقدار را داشت که از نظر آماری دارای اختلاف معنی‌داری بودند. همان طور که در شکل ۱، نشان داده شده با کاهش پتانسیل آب از میزان پتاسیم ریشه کاسته می‌شود، که این امر را می‌توان به انتقال یون‌های پتاسیم به برگ و افزایش پتانسیل اسمزی سلول‌های آن برای حفظ فشار تورژسانس مربوط دانست. نتایج نشان داد، پتاسیم ریشه در ۱۲- بار نسبت به شاهد، ۴۸/۳٪ کاهش نشان داد (شکل ۱). آبنوس (۱)، ظریف کتابی (۴) و ملونی (۱۸) از کاهش میزان پتاسیم ریشه در عدس، یونجه و پنبه در اثر تنش خشکی گزارش داده‌اند. نتایج هم‌چنین نشان داد که با افزایش تنش خشکی بر میزان پتاسیم اندام هوایی افزوده می‌شود و دلیل این افزایش را نقش این کاتیون در تنظیم فشار اسمزی و کنترل روزنه‌ای عنوان می‌نمایند (۳۳).



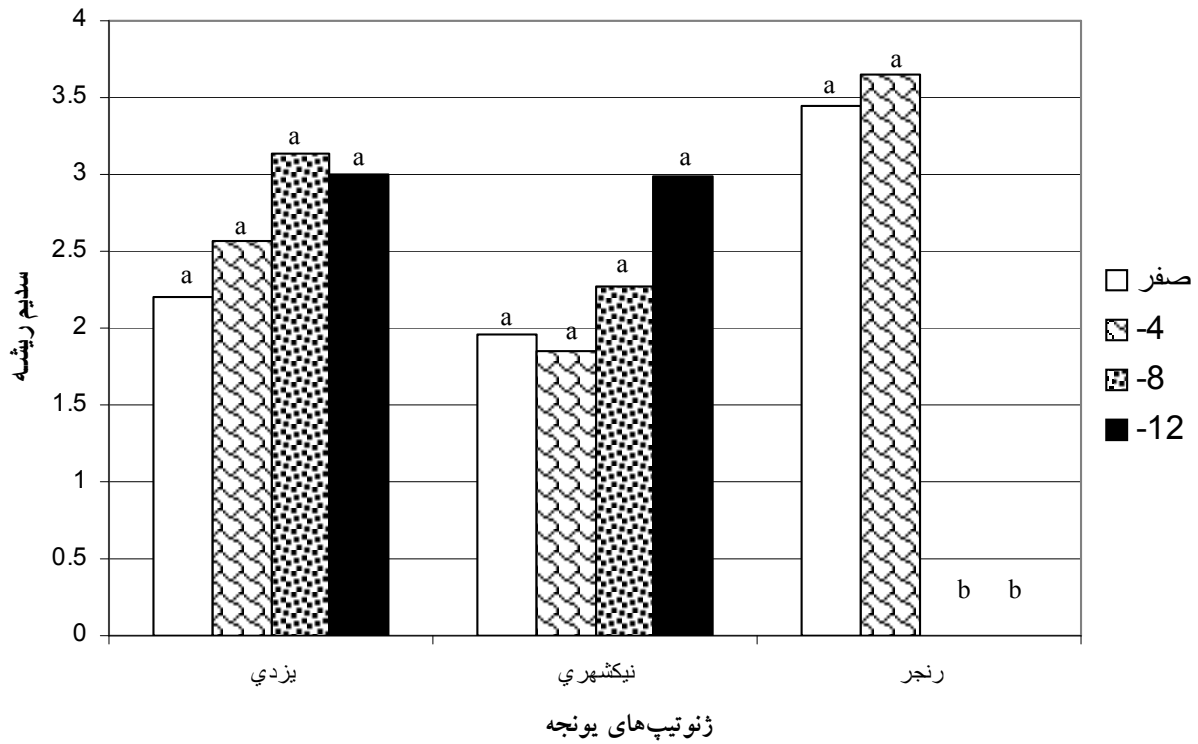
شکل ۲. اثر تنش اسمزی بر نسبت پتاسیم بخش هوایی به ریشه در ژنوتیپ‌های یونجه

تغییرات سدیم اندام هوایی به ریشه در بین ژنوتیپ‌ها نشان داد که ژنوتیپ‌های یزدی و نیکشهری با یکدیگر اختلاف معنی‌داری ندارند و بیشترین میزان این نسبت را دارا می‌باشند، ولی با ژنوتیپ رنجر اختلاف معنی‌داری دارند. نتایج تجزیه و تحلیل داده‌های نسبت پتاسیم به سدیم نشان داد که با افزایش تنش خشکی از میزان این نسبت کاسته می‌شود. همان‌طور که در شکل ۴، مشاهده می‌شود، در ژنوتیپ‌های مختلف میزان کاهش این نسبت تحت پتانسیل‌های مختلف خشکی با یکدیگر متفاوت می‌باشد.

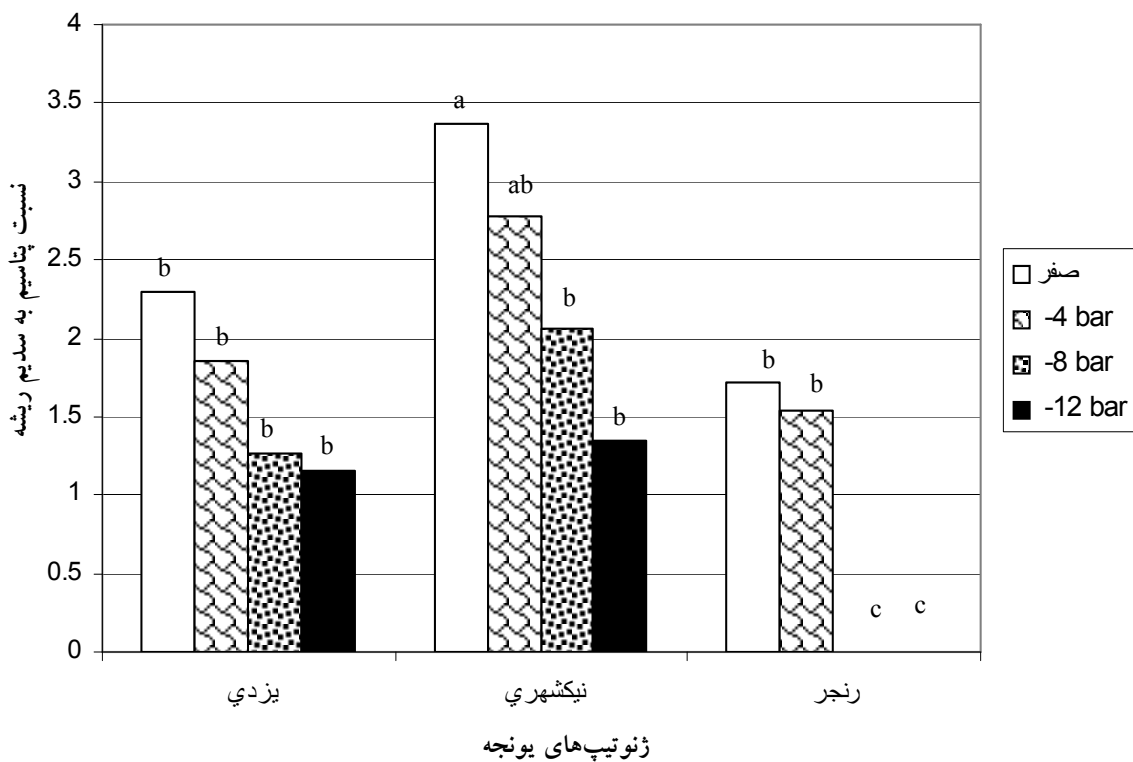
بوهنرت (۹) معتقد است که در هنگام تنش، میزان سدیم افزایش می‌یابد و برای جلوگیری از سمیت آن، گیاه سعی در خروج و یا به واکوئل فرستادن آن می‌نماید. سانتوز و همکاران (۲۴) با بررسی اثر تنش خشکی بر گیاه فلفل مشاهده نمودند که تنش رطوبت سبب افزایش درصد جذب پتاسیم می‌شود که این امر را به دلیل تنظیم فشار اسمزی می‌دانند، در صورتی که میزان

رشد برگ می‌گردد.

میزان سدیم اندام هوایی ژنوتیپ‌ها با یکدیگر از نظر آماری دارای اختلاف بودند. در بین سطوح خشکی، سطح ۴- بار از سایر سطوح میزان بیشتری سدیم دارا بود. مقایسه‌های میانگین نشان داد که بیشترین میزان سدیم در اندام‌های هوایی مربوط به ژنوتیپ رنجر در پتانسیل ۴- بار بود. مقایسه‌های میانگین درصد سدیم ریشه در ژنوتیپ‌های یونجه نشان داد که ژنوتیپ یزدی با ۲/۷۲ درصد بیشترین درصد و با ژنوتیپ نیکشهری دارای اختلاف معنی‌داری نبود و ژنوتیپ رنجر با ۱/۷۷ درصد کمترین مقدار سدیم ریشه را دارا بود. با توجه به شکل ۳، با کاهش پتانسیل آب، بر میزان این یون در ریشه افزوده می‌شود. سدیم می‌تواند در برخی از فرایندهای سلولی جانشین پتاسیم شود. در شکل ۴ مشاهده می‌شود که با کاهش پتاسیم ریشه بر مقدار سدیم آن افزوده می‌شود که نشان دهنده جانشینی سدیم به جای پتاسیم می‌باشد.



شکل ۳. اثر تنش اسمزی بر میزان سدیم ریشه در ژنوتیپ‌های یونجه



شکل ۴. اثر تنش اسمزی بر نسبت پتاسیم به سدیم ریشه ژنوتیپ‌های یونجه

تجمع درصد سدیم در برگ‌های گیاه معنی‌دار نبوده و افزایش نشان نداد.

تنش خشکی ملایم سبب افزایش در میزان کلسیم اندام هوایی شده، ولی تنش خشکی شدید سبب کاهش مقدار کلسیم اندام هوایی می‌شود. کلسیم نقش بسیار مهمی در تنظیم ورود فعال سدیم و انتخاب بین سدیم و پتاسیم دارد. گیاهان از کلسیم برای رهایی از تنش شوری استفاده می‌کنند. در هنگام شوری میزان کلسیم سلولی افزایش می‌یابد که این افزایش آثار ممانعتی از رشد توسط نمک را کاهش می‌دهد. در این حالت کلسیم به عنوان یک پیام رسان ثانویه سبب می‌شود که پروتئین‌های مربوط به انتقال سدیم سبب انتقال سدیم به خارج سلول و ورود آن به واکوئل می‌شود (۱۸). از این رو، وجود کلسیم در ریشه می‌تواند ضامن و علت اعمال درست و صحیح غشا باشد که سبب تغییر دادن نسبت پتاسیم به سدیم و تعیین انتخاب پذیری جذب پتاسیم شود. انتقال سریع پتاسیم از ریشه به اندام هوایی می‌تواند سبب حفظ غلظت یون در برگ‌ها باشد (۱۸). تجزیه و تحلیل داده‌های مربوط به درصد کلسیم ریشه نشان داد که تغییرات این پارامتر تحت تأثیر پتانسیل آب و اثر متقابل پتانسیل آب و ژنوتیپ معنی‌دار می‌باشد. در بین سطوح خشکی، پتانسیل ۴- بار بیشترین درصد کلسیم ریشه را نشان می‌دهد که از این لحاظ با سایر سطوح اختلاف معنی‌دار دارد.

نسبت کلسیم بخش هوایی به ریشه تحت تأثیر توده، پتانسیل آب و اثر متقابل این دو اختلاف معنی‌داری نشان دادند. مقایسه میانگین نسبت کلسیم اندام هوایی به ریشه در ژنوتیپ‌ها نشان داد که بین دو ژنوتیپ یزدی و نیکشهری اختلاف معنی‌داری وجود ندارد، ولی ژنوتیپ رنجر با این دو اختلاف معنی‌داری نشان می‌دهد و کمترین نسبت را داراست. مقایسه میانگین نسبت کلسیم بخش هوایی به ریشه در سطوح مختلف خشکی نشان داد که با کاهش پتانسیل آب از میزان این نسبت کاسته می‌شود، به این ترتیب که کاهش آن در سطوح ۴-، ۸- و ۱۲- بار نسبت به شاهد به

ترتیب ۱۷/۰۴، ۱۸/۸ و ۲۶/۶ درصد می‌باشد.

شاهبالا و همکاران (۲۶) گزارش دادند که تنش حاصل از مانیتول سبب افزایش جذب پتاسیم و کلسیم و هم‌چنین مانع خروج کلر از سلول‌های مزوفیل باقلا (*Phaseolus vulgaris*) می‌گردد. آنها هم‌چنین گزارش نمودند که بین یون‌ها رقابت وجود دارد و جریان پتاسیم و کلر دخالت مؤثری در تنظیم اسمزی سلول داشته و هم‌بستگی منفی بین جریان کلر و یون هیدروژن وجود دارد. با کاهش تغییرات کلسیم نسبت به پتاسیم و کلر به نظر می‌رسد که کلسیم می‌تواند نقش تنظیمی بیشتری را نسبت به نقش اسمولیتی داشته باشد (۲۶). کرامر و همکاران (۱۷) با بررسی اثر سدیم، پتاسیم و کلسیم در شرایط شوری در گیاه جو (*Hordeum vulgare*) گزارش دادند که کلسیم می‌تواند سبب ادامه رشد این گیاه در شرایط شوری شود. ملونی و همکاران (۱۸) نشان دادند که در شرایط شوری تنظیم اسمزی در ریشه و برگ پنبه (*Gossypium hirsutum*) توسط یون‌های سدیم و کلر صورت می‌گیرد و نقش پرولین در این امر معنی‌دار نیست.

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 که تجمع آن در تحمل شرایط خشکی مؤثر می‌باشد (۱۳)، ۱۵، ۲۲ و ۲۷). هم‌چنین تجمع عناصر پتاسیم و کلسیم سبب افزایش مقاومت به خشکی در گیاه می‌گردد (۸، ۱۰، ۱۲، ۱۶ و ۱۸) و این تجمع در تنش‌های ملایم خشکی مؤثر است. نتایج فوق با توجه به میزان تجمع پرولین و هم‌چنین تغییرات عناصر و نتایج خصوصیات مورفولوژی مبنی بر این که ژنوتیپ یزدی به عنوان مقاوم‌ترین ژنوتیپ و ژنوتیپ رنجر به عنوان حساس‌ترین ژنوتیپ به تنش اسمزی را تأیید می‌نماید.

خراسان و کلیه محققین به ویژه آقای مهندس حسن حمیدی که مرا در انجام این پژوهش یاری رساندند، سپاسگزاری می‌نمایم.

بدین وسیله از مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی

منابع مورد استفاده

۱. آبنوس، م. ۱۳۸۰. بررسی فیزیولوژیکی اثرات تنش خشکی ناشی از پلی اتیلن گلیکول ۶۰۰۰ بر مرحله جوانه زنی و گیاهچه‌ای ارقام عدس (*Lens culinaris M.*). پایان نامه کارشناسی ارشد فیزیولوژی گیاهی، دانشکده علوم، دانشگاه فردوسی مشهد. ۱۲۶ صفحه.
۲. آخوندی، م. ۱۳۸۲. بررسی عکس العمل یونجه (*Medicago sativa L.*) به تنش خشکی در مراحل جوانه زنی و گیاهچه‌ای. پایان‌نامه کارشناسی ارشد فیزیولوژی گیاهی، دانشکده علوم، دانشگاه فردوسی مشهد. ۲۰۱ صفحه.
۳. حمیدی، ح. و ع. صفرنژاد. ۱۳۸۲. بررسی ویژگی‌های مورفولوژی و بیوشیمیایی کالوس‌های یونجه (*Medicago sativa L.*) و باززایی آنها در برابر تنش اسمزی. پژوهش و سازندگی ۵۸: ۸۴-۸۹.
۴. ظریف‌کتابی، ح. ۱۳۷۶. ارزیابی شاخص‌های مقاومت به خشکی در چند گونه یونجه یکساله. پایان نامه کارشناسی ارشد زراعت، دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد، ۱۳۰ صفحه.
۵. قربانلی، م.، ر. حیدری، م. نوجوان و ط. فربودنیا. ۱۳۷۷. اثر تنش خشکی بر تغییرات پروتئین‌های محلول و اسیدهای آمینه دو رقم نخود ایرانی. مجله علوم کشاورزی ایران ۲۹(۱): ۶۷-۷۷.
۶. کوچکی، ع. ۱۳۷۲. اصول عملیات دیمکاری (ترجمه). انتشارات جهاد دانشگاهی مشهد، ۱۳۰ صفحه.
7. Ayerbe L. and J. L. Tenorio. 1998. Turgor maintenance, osmotic adjustment and soluble sugar and proline accumulation in 49 pea cultivars in response to water stress. *Field Crop Res.* 59: 225- 235.
8. Bouteau, F., A. Dauphin , H. E. Maarouf and J. P. Rona. 2001. Effect of desiccation on potassium and anion currents from young root hairs: Implication on tip growth. *Physiol. Plant* 113: 79- 84.
9. Bohnert, H. J., D. E. Nelson and R. G. Jensen. 1999. Adaptation to environmental stresses. *The Plant Cell* 7: 1099- 1111.
10. Cramer, G. R., E. Epstein and A. Lauchli. 1990. Effects of sodium, potassium and calcium on salt-stressed barley. I. growth analysis. *Physiol. Plant* 80: 83- 88.
11. Erdei, L. and E. Taleisnik. 1993. Changes in water relation parameters under osmotic and salt stresses in maize and sorghum. *Physiol. Plantarum* 89: 381- 387.
12. Esechie, H. A. and V. Rodriguez. 1999. Does salinity inhibit alfalfa leaf growth by reducing tissue concentration of essential mineral nutrients? *J. Agron. and Crop Sci.* 182: 273- 278.
13. Girousse, C., R. Bournoville and J. L. Bonnemain. 1996. Water deficit-induced changes in concentrations in proline and some other amino acids in the phloem sap of alfalfa. *Plant Physiol.* 111: 109- 113.
14. 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.
15. Ingram, J. and D. Bartles. 1996. The molecular basis of dehydration tolerance in plants. *Ann. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.* 47: 377- 403.
16. Kidambi, S., P. A. G. Matches and T. P. Bolger. 1990. Mineral concentration in alfalfa and sainfoin as influenced by soil moisture level. *Agron. J.* 82: 229- 236.
17. Mattioni, C. 1997. Water and salt stress-induced alterations in proline metabolism of *Triticum durum* seedlings. *Physiol. Plant* 101: 787- 792.
18. Meloni, D. A., M. A. Oliva, H. A. Ruiz and C. A. Martinez. 2001. Contribution of proline and inorganic solutes to osmotic adjustment in cotton under salt stress. *Plant Nutr.* 24(3): 599- 612.
19. Michel, B. E. and M. R. Kaufman. 1973. The osmotic potential of polyethylene glycol 6000. *Plant Physiol.* 51:914- 916.

20. Nilsen, E. T. and D. M. Orcutt. 1996. Physiology of Plants Under Stress (Abiotic factors). John Wiley & Sons pub., New York.
21. Rontein, D., G. Basset and A. D. Hanson. 2002. Metabolic engineering of osmoprotectant accumulation in plants. *Metabolic Eng.* 4: 49- 56.
22. Safarnejad, A. 2004. Characterization of somaclones of alfalfa (*Medicago sativa* L.) for drought tolerance. *J. Agric. Sci. Technol.* 6:121-127.
23. Safarnejad, A., H. Collin, K. D. Bruce and T. McNeilly. 1996. Characterization of alfalfa following *in vitro* selection for salt tolerance. *Euphytica* 92: 55-61.
24. Santos, M. S. and N. O. Alejo. 1994. Effect of water stress on growth, osmotic potential and solute accumulation in cultivars from chili pepper. *Plant Sci.* 96: 21- 29.
25. Serraj, R. and T. R. Sinclair. 2002. Osmolyte accumulation: Can it really help increase crop yield under drought conditions? *Plant Cell Environ.* 25:333 -341.
26. Shabala, S., O. Babourina and L. Newman. 2000. Ion-specific mechanisms of osmo-regulation in bean mesophyll cells. *J. Exp. Bot.* 51: 1243 - 1253.
27. Sharpe, R. E. and P. Verslues. 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 : 1349-1360.
28. Smith, B. N., C. Girija and P. M. Swamy. 2002. Interactive effects of sodium chloride and calcium chloride on the accumulation of proline and glycine betaine in peanut (*Arachis hypogaea* L.). *Environ. and Exp. Bot.* 47: 1- 10.
29. Staden J., P. D. Hare and W. A. Cress. 1999. Proline synthesis and degradation: a model system for elucidating stress-related signal transduction. *J. Exp. Bot.* 50(333): 413- 434.
30. Yamaguchi-Shinozaki, K., M. Kasuga and Q. Liu. 2002. Biological mechanisms of drought stress response. JIRCAS Japan Inter. Res. Center for Agricc. Sci., Working Reports PP: 1-8.
31. Yordanov, V. and T. Tsoev. 2000. Plant responses to drought, acclimation and stress tolerance. *Photosynthetica* 38(1): 171- 186.
32. Zhang, J., H.T. Nguyen and A. Blum. 1999. Genetic analysis of osmotic adjustment in crop plants. *J. Exp. Bot.* 50: 291- 302.
33. Zhao, H. C. 2000. Influence of water stress on the lipid physical membranes from *P. betuloefolia*. *Biointerfaces* 19: 181- 185.