

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

مهدي آخوندي^۱، عباس صفرنژاد^۲ 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 و -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 پتانسیم به سدیم در اندام‌های هوایی و ریشه، با افزایش تنش خشکی کاهش یافت. بر اساس نتایج مورفولوژی و بیوشیمیابی 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

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 و 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

مقدمه

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

مریبوط به کانال‌های پادر (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 تنفس اسمزی نتایج زیادی گزارش شده است (۲۶ و ۱۶). این کاتیون در تنظیم فشار اسمزی و کنترل روزنها ن نقش ایفا می‌کند (۳). با این حال نتایج مختلفی از نقش یون‌های معدنی در تنظیم اسمزی گزارش شده است (۲۵ و ۲۵، ۳۲). بویته آ و همکاران (۸) با مطالعه اثر تنفس 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 تنفس شوری بر دو رقم پنبه افزایش میزان سدیم و کلر در گیاه می‌شود ولی میزان پتاسیم در برگ‌ها بدون تغییر می‌ماند. میزان پتاسیم ریشه کاهاش یافته و همچنین سبب کاهاش 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 تنفس 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 هیدرопونیک دارای سطوح خشکی (۰ و -۴ و -۸، -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 کاهاش 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 ستز 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 فروکтан)، پلی اول‌ها (مانیتول و پینتیول)، آمین‌های چهارتایی (گلایسین بتائین)، یون‌ها (پتاسیم) و اسیدهای آلی (مالات و سیترات) هستند (۳۲). تغییر در جریان یونی سریع‌تر ایجاد می‌شود (در حد چند دقیقه)، در حالی که ستز بیوشیمیایی اسمولیت‌ها در طی چند ساعت و یا چند روز پس از تنفس صورت می‌گیرد (۲۴).

تجمع پرولین در تمام اندام‌های گیاه در طی تنفس وجود دارد، با این وجود میزان تجمع آن در برگ‌ها سریع‌تر و بیش از سایر اندام‌ها می‌باشد. پرولین اسیدآمینه ذخیره شده در سیتوپلاسم می‌باشد و احتمالاً در حفاظت از ساختمان ماکرومولکول‌ها و هیدروکسی پرولین نیز در ستز دیواره سلول نقش دارد (۱۴). صفرنژاد و همکاران (۲۲ و ۲۳) با بررسی اثر تنفس اسمزی بر ژنوتیپ‌های یونجه گزارش نمودند که ژنوتیپ‌های مقاوم، عکس العمل سریع‌تر و بیشتری از نظر تجمع پرولین نسبت به گونه‌های حساس نشان دادند. تجمع پرولین در هنگام تنفس خشکی در گیاهان مختلف دیگر همچون نخود (*Triticum durum*) (۵ و ۷)، گندم (*Cicer arietinum*) (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 تنفس سبب اختلال در تقسیم بندی یون‌ها می‌شود که جزء اصلی برای کده‌بندی (Compartmentation) یون‌ها، ژن‌های

برگ و ژنوتیپ رنجر دارای کمترین مقدار بود. همچنین مقایسه میزان پرولین برگ در پتانسیل‌های مختلف آب نشان داد که پتانسیل ۸- باز دارای بیشترین مقدار بود که از نظر آماری با بقیه سطوح اختلاف معنی‌داری داشت. میزان افزایش پرولین برگ در سطح ۸- باز 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- باز مربوط به ژنوتیپ یزدی بود (جدول ۲).

افزایش میزان پرولین در اثر تنش خشکی در سایر تحقیقات نیز گزارش شده است (۳، ۵، ۱۷، ۱۴، 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 گذم 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. جیروسی 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 متabolیسم پرولین (۷، ۹ و ۲۱) و برخی آن را به وجود ترکیبات پر انرژی حاصل از فتوسترتر 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 سطلهایی با ابعاد $12 \times 12 \times 9$ سانتی‌متر منتقل شدند. برای استقرار گیاه‌چه‌ها بر روی سطل، از صفحه یونولیتی که دارای ۲۰ سوراخ بود، و برای اعمال تنش از پلی اتیلن گلایکول ۶۰۰۰ در مقادیر مختلف با استفاده از روش میچل و کوئفمن (۱۹) استفاده شد. دمای محیط آزمایش در این مرحله 25 ± 2 سانتی گراد 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 روشناختی 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 سانتی گراد قرار داده شد. سپس به $0/5$ 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 انتهای استفاده از دستگاه فلیم فتوومتر میزان عناصر پ TASIM، 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 تغیرات 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 ژنتیپ‌های یونجه در مرحله گیاهچه‌ای (هیدروپونیک)* (میکرومول بر گرم وزن ترافت)

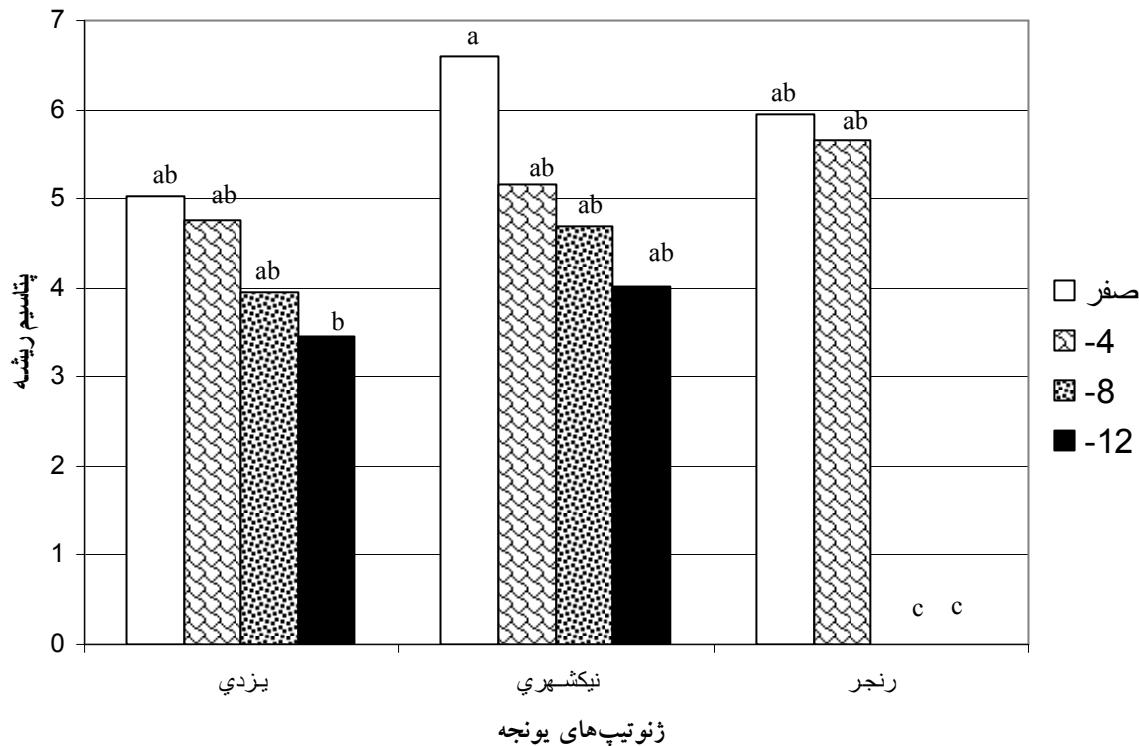
ژنوتیپ	پرولین برگ	پرولین ریشه	پرولین اندام هوایی	نسبت پرولین اندام هوایی به زمینی
بزدی	۰/۰۲۵ ^a	۰/۰۰۵ ^a	۰/۰۴۱ ^a	۱۲/۳۳۵ ^a
نیکشهری	۰/۰۰۹ ^b	۰/۰۰۲ ^b	۰/۰۱۵ ^b	۹/۱۰۴ ^a
رنجر	۰/۰۰۵ ^b	۰/۰۰۱ ^b	۰/۰۰۶ ^b	۶/۲۹۱ ^a

*: در هرستون میانگین‌هایی که دارای یک حرف مشترک می‌باشند، با یکدیگر تفاوت معنی‌داری ندارند (آزمون دانکن) ($\alpha = .01$).

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

ج	پتانسیل (بار)	پرولین برگ	پرولین ریشه	پرولین بخش هوایی	پرولین بخش هوایی به ریشه
صفر	۰/۰۱۱ ^{bcd}	۰/۰۰۶ ^{ab}	۰/۰۱۵ ^{bc}	۴/۶۵۵ ^{bc}	۱۸/۱۱۰ ^{ab}
-۴	۰/۰۲۰ ^b	۰/۰۰۰۲ ^a	۰/۰۳۵ ^{abc}	۹/۵۴۵ ^{abc}	۰/۰۲۴ ^{ab}
-۸	۰/۰۶۶ ^a	۰/۰۰۹ ^a	۰/۰۶۲ ^a	۷/۷۲۸ ^{abc}	۱۱/۶۳۷ ^{abc}
-۱۲	۰/۰۰۳ ^{bc}	۰/۰۰۱ ^{bc}	۰/۰۴۶ ^{ab}	۹/۲۰۹ ^{abc}	۷/۸۴۲ ^{abc}
صفر	۰/۰۰۵ ^{cd}	۰/۰۰۲ ^{bc}	۰/۰۱۹ ^{bc}	۱۸/۷۲۱ ^a	۶/۴۴۲ ^{abc}
-۴	۰/۰۱۲ ^{bc}	۰/۰۰۱ ^c	۰/۰۱۸ ^{bc}	۹/۲۰۹ ^{abc}	۰/۰۱۰ ^b ^c
-۸	۰/۰۱۴ ^{bc}	۰/۰۰۲ ^{bc}	۰/۰۱۷ ^{bc}	۷/۷۲۱ ^a	۰/۰۰۰۶ ^c
-۱۲	۰/۰۰۳ ^{cd}	۰/۰۰۰۶ ^c	۰/۰۰۸ ^c	۶/۴۴۲ ^{abc}	۰/۰۰۹ ^{bcd}
صفر	۰/۰۱۲ ^{bc}	۰/۰۰۲ ^c	۰/۰۱۳ ^{bc}	۰/۰۰۹ ^c	۰/۰۰۹ ^c
-۴	۰/۰۱۴ ^{bc}	۰/۰۰۱ ^c	۰/۰۰۲ ^c	۰/۰۰۹ ^c	۰/۰۰۹ ^d
-۸	۰/۰۱۶ ^{bc}	۰/۰۰۱ ^c	۰/۰۰۲ ^c	۰/۰۰۹ ^d	۰/۰۰۹ ^d
-۱۲	۰/۰۱۸ ^{bc}	۰/۰۰۱ ^c	۰/۰۱۳ ^{bc}	۰/۰۰۹ ^c	۰/۰۰۹ ^c

*: در هرستون میانگین‌هایی که دارای یک حرف مشترک می‌باشند، با یکدیگر تفاوت معنی‌داری ندارند (آزمون دانکن) ($\alpha = .01$).

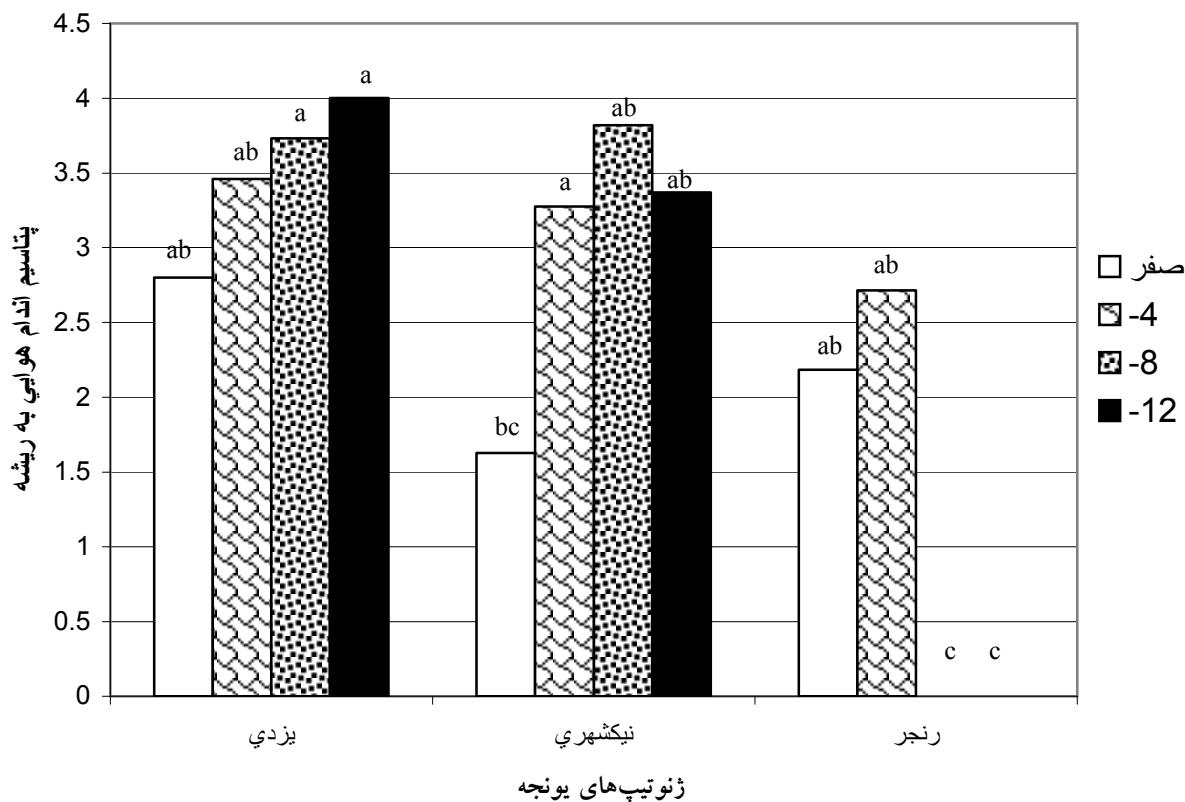


شکل ۱. اثر تنش اسمزی بر میزان پتانسیم ریشه در ژنوتیپ‌های یونجه

تغیرات نسبت پتانسیم اندام هوایی به ریشه تحت تأثیر توده، تیمار خشکی و اثر متقابل این دو معنی‌دار بود. در شکل ۲، نسبت پتانسیم 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 سیگنان 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 پتانسیم در شاخه و ریشه سورگوم (*Sorghum bicolor*) و ذرت (*Zea mays*) استفاده افزوده می‌شد که چنانچه در این شرایط از ABA 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 پتانسیم 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 پتانسیم ریشه کاسته می‌شود، که این امر را می‌توان به انتقال یون‌های پتانسیم به برگ و افزایش پتانسیل اسمزی سلول‌های آن برای حفظ فشار تورژسانس مربوط دانست. نتایج نشان داد، پتانسیم 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 پتانسیم ریشه در عدس، یونجه و پنبه در اثر تنش خشکی گزارش داده‌اند. نتایج هم‌چنین نشان داد که با افزایش تنش خشکی بر میزان پتانسیم اندام هوایی افزوده می‌شد و دلیل این افزایش را نقش این کاتیون در تنظیم فشار اسمزی و کنترل روزنامه‌ای عنوان می‌نمایند (۳۳).



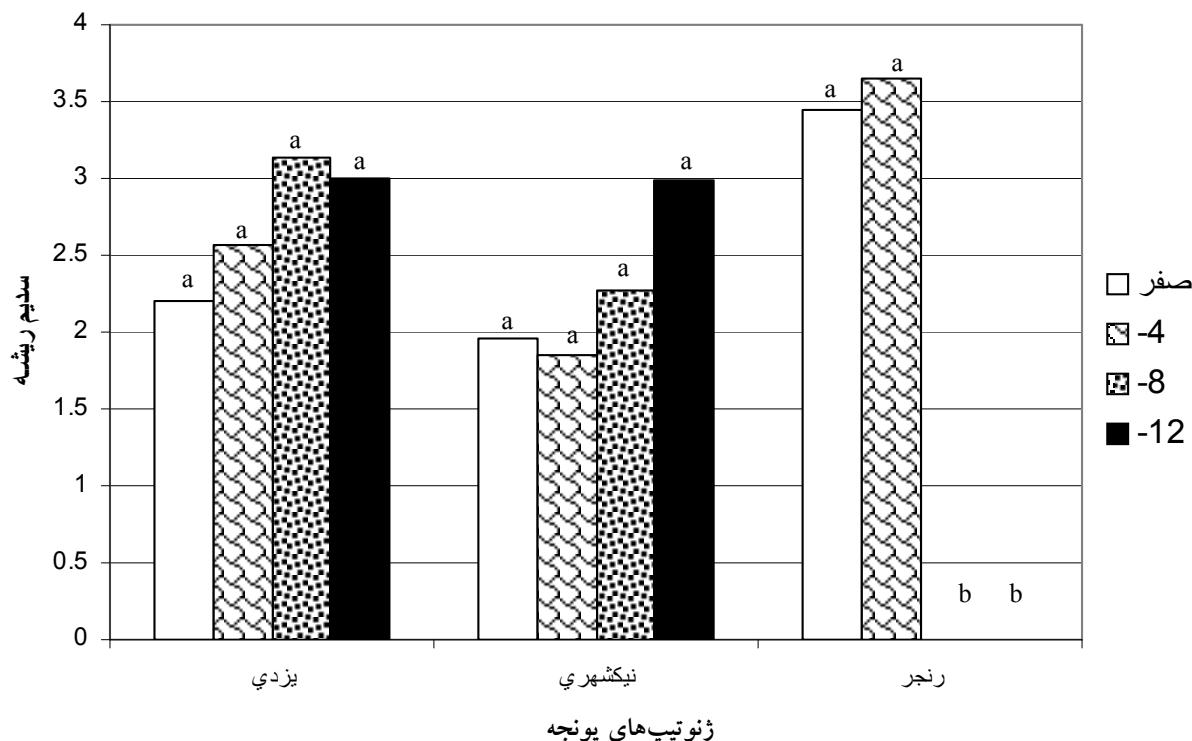
شکل ۲. اثر تنش اسمزی بر نسبت پتانسیم بخش هوایی به ریشه در ژنوتیپ‌های یونجه

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 می‌باشد، ولی با ژنوتیپ رنجر اختلاف معنی‌داری دارند. نتایج تجزیه و تحلیل داده‌های نسبت پتانسیم به سدیم نشان داد که با افزایش تنش خشکی از میزان این نسبت کاسته می‌شود. همان طور که در شکل ۴، مشاهده می‌شود، در ژنوتیپ‌های مختلف میزان کاهش این نسبت تحت پتانسیل‌های مختلف خشکی با یکدیگر متفاوت می‌باشد.

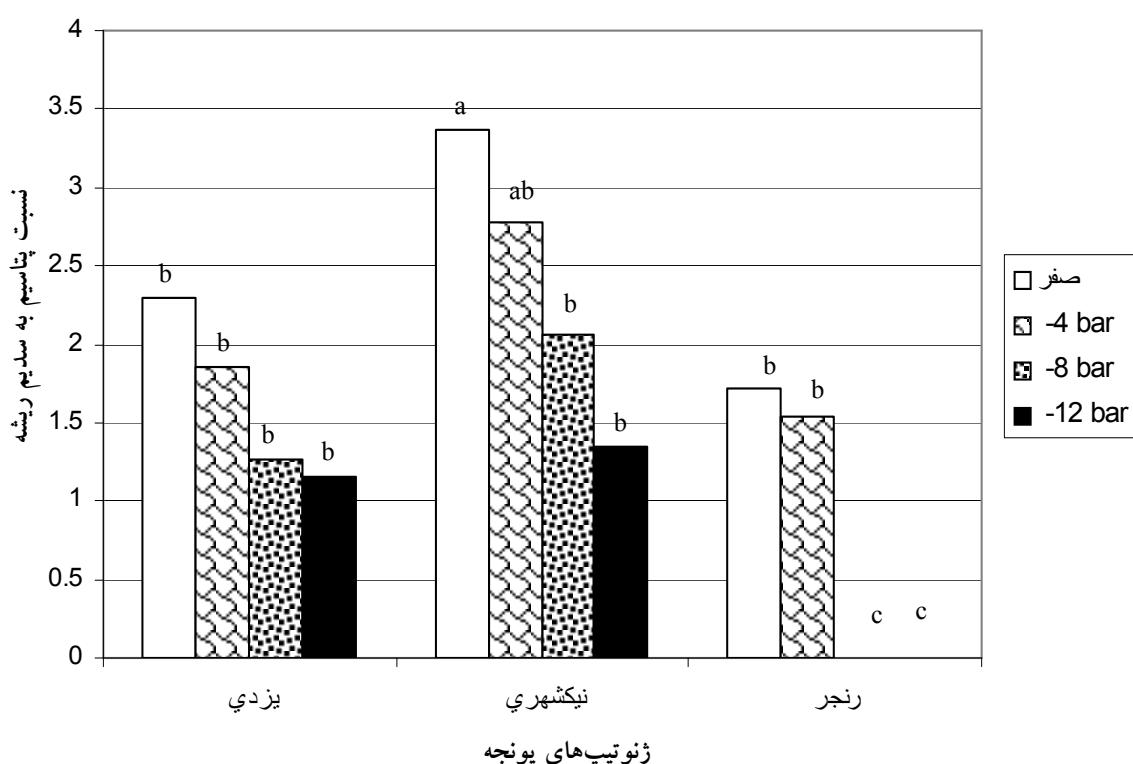
بوهنت (۹) معتقد است که در هنگام تنش، میزان سدیم افزایش می‌باید و برای جلوگیری از سمیت آن، گیاه سعی در خروج و یا به واکوئل فرستادن آن می‌نماید. سانتوز و همکاران (۲۴) با بررسی اثر تنش خشکی بر گیاه فلفل مشاهده نمودند که تنش رطوبت سبب افزایش درصد جذب پتانسیم می‌شود که این امر را به دلیل تنظیم فشار اسمزی 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 ۰/۷۲ 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 پتانسیم شود. در شکل ۴ مشاهده می‌شود که با کاهش پتانسیم ریشه بر مقدار سدیم آن افزوده می‌شود که نشان دهنده جانشینی سدیم به جای پتانسیم می‌باشد.



شکل ۳. اثر تنش اسمزی بر میزان سدیم ریشه در ژنو تیپ های یونجه



شکل ۴. اثر تنش اسمزی بر نسبت پتانسیم به سدیم ریشه ژنو تیپ های یونجه

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

شاهبالا و همکاران (۲۶) گزارش دادند که تنش حاصل از مانیتول سبب افزایش جذب پتابسیم و کلسیم و همچنین مانع خروج کلر از سلول های مزوویل باقلا (Phaseolus vulgaris) می گردد. آنها همچنین گزارش نمودند که بین یون ها رقبابت وجود دارد و جریان پتابسیم و کلر دخالت مؤثری در تنظیم اسمزی سلول داشته و هم بستگی منفی بین جریان کلر و یون هیدروژن وجود دارد. با کاهش تغییرات کلسیم نسبت به پتابسیم و کلر به نظر می رسد که کلسیم می تواند نقش تنظیمی بیشتری را نسبت به نقش اسمولیتی داشته باشد (۲۶). کرامر و همکاران (۱۷) با بررسی اثر سدیم، پتابسیم و کلسیم در شرایط شوری در گیاه جو (Hordeum vulgare) گزارش دادند که کلسیم می تواند 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 یون های سدیم و کلر صورت می گیرد و نقش پرولین در این امر معنی دار نیست.

با توجه به نتایج به دست آمده به طور کلی می توان چنین نتیجه گرفت که گیاهان در هنگام تنش خشکی با تغییراتی که در برخی از خصوصیات فیزیولوژیکی خود ایجاد می نمایند، به تنش های مختلف پاسخ می دهند. یکی از این پاسخ ها تجمع پرولین می باشد که نتایج به دست آمده نشان می دهد که تجمع آن در تحمل شرایط خشکی مؤثر می باشد (۱۳)، (۱۵، ۲۲ و ۲۷). همچنین تجمع عناصر پتابسیم و کلسیم سبب افزایش مقاومت به خشکی در گیاه می گردد (۸، ۱۰، ۱۲، ۱۶ و ۱۸) و این تجمع در تنش های ملایم خشکی مؤثر است. نتایج فوق با توجه به میزان تجمع پرولین و همچنین تغییرات عناصر و نتایج خصوصیات مورفو لوزی مبنی بر این که ژنوتیپ یزدی به عنوان مقاوم ترین ژنوتیپ و ژنوتیپ رنجر به عنوان حساس ترین ژنوتیپ به تنش اسمزی را تأیید می نماید.

تجمع درصد سدیم در برگ های گیاه معنی دار 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 می شود. کلسیم نقش بسیار مهمی در تنظیم ورود فعال سدیم و انتخاب بین سدیم و پتابسیم دارد. گیاهان از کلسیم برای رهایی از تنش شوری استفاده می کنند. در هنگام شوری میزان کلسیم سلولی افزایش می یابد که این افزایش آثار ممانعتی از رشد توسط نمک را کاهش می دهد. در این حالت کلسیم به عنوان یک پیام رسان ثانویه سبب می شود که پروتئین های مربوط به انتقال سدیم سبب انتقال سدیم به خارج سلول و ورود آن به واکوئل می شود (۱۸). از این رو، وجود کلسیم در ریشه می تواند ضامن و علت اعمال درست و صحیح غشنا باشد که سبب تغییر دادن نسبت پتابسیم به سدیم و تعیین انتخاب پذیری جذب پتابسیم شود. انتقال سریع پتابسیم از ریشه به اندام هوایی می تواند سبب حفظ غلظت یون در برگ ها باشد (۱۸). تجزیه و تحلیل داده های مربوط به درصد کلسیم ریشه نشان داد که تغییرات این پارامتر تحت تأثیر پتانسیل آب و اثر متقابل پتانسیل آب و ژنوتیپ معنی دار می باشد. در بین سطوح خشکی، پتانسیل ۴- بار بیشترین درصد کلسیم ریشه را نشان می دهد که از این لحاظ با سایر سطوح اختلاف معنی دار دارد.

نسبت کلسیم بخش هوایی به ریشه تحت تأثیر توده، پتانسیل آب و اثر متقابل این دو اختلاف معنی داری نشان دادند. مقایسه میانگین نسبت کلسیم اندام هوایی به ریشه در ژنوتیپ ها نشان داد که بین دو ژنوتیپ یزدی و نیکشهری اختلاف معنی داری وجود ندارد، ولی ژنوتیپ رنجر با این دو اختلاف معنی داری نشان می دهد 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 می شود، به این ترتیب که کاهش آن در سطوح ۴-، ۸- و ۱۲- بار نسبت به شاهد به

سپاسگزاری

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. پایان نامه کارشناسی ارشد فیزیولوژی گیاهی، دانشکده علوم، دانشگاه فردوسی مشهد، ۲۰۱ صفحه.
۳. حمیدی، ح. و ع. 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. ظریف کتابی، 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. قربانی، 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 Agric. Sci., Working Reports PP: 1-8.
31. Yordanov, V. and T. Tssoev. 2000. Plant responses to drought, acclimation and stress tolerance. *Photosynthica* 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.