

تأثیر تنش خشکی و سطوح مختلف نیتروژن خاک بر برخی ویژگی‌های بیوشیمیایی ارقام سورگوم دانه‌ای در شرایط گلخانه

شهرام ریاحی‌نیا^{۱*}، حمیدرضا خزاعی^۱، محمد کافی^۱ و احمد نظامی^۱

(تاریخ دریافت: ۱۳۹۱/۴/۱۹؛ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۱/۷/۲۵)

چکیده

به منظور ارزیابی پاسخ‌های فیزیولوژیک ارقام مختلف سورگوم دانه‌ای به مصرف نیتروژن در شرایط متفاوت رطوبت خاک، آزمایشی به صورت فاکتوریل در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی در سه تکرار در گلخانه تحقیقاتی دانشگاه فردوسی مشهد اجرا شد. عوامل مورد بررسی عبارت بودند از دو سطح آبیاری شامل تیمار شاهد، که خاک هر گلدان همواره در وضعیت رطوبتی مطلوب (ظرفیت زراعی) قرار داشت و تیمار تنش که در آن آبیاری بر اساس ۴۰ درصد ظرفیت زراعی انجام شد. تیمارهای کودی شامل چهار سطح کود نیتروژن (صفر، ۳۰، ۶۰ و ۹۰ میلی‌گرم نیتروژن در کیلوگرم خاک) و ژنتیپ‌های سورگوم دانه‌ای شامل رقم سپیده و لاین امید بخش M_۶ بودند. نتایج نشان داد که تنش خشکی سبب کاهش کلروفیل a و b و افزایش کاروتین در هر دو ژنتیپ شد. همچنین افزایش مصرف نیتروژن منجر به افزایش معنی‌دار غلظت کلروفیل a شد. تنش خشکی، غلظت آسکوربات کل و قندهای محلول را افزایش داد. با وقوع تنش خشکی و افزایش سطح نیتروژن، بر غلظت پرولین افزوده شد. عملکرد دانه نیز تحت تأثیر تیمارهای مختلف خشکی و نیتروژن قرار گرفت، به نحوی که بیشترین عملکرد در تیمار شاهد و کاربرد ۶۰ میلی‌گرم نیتروژن در کیلوگرم خاک حاصل شد. در شرایط تنش خشکی، گیاه سورگوم با تغییرات بیوشیمیایی از جمله با افزایش میزان فعالیت آنزیم‌های ضدآکسیدان، کاهش محتوای رادیکال‌های آزاد در سلول و افزایش میزان کاروتین، مانع از خسارات اکسنده به سلول‌های گیاهی شد. همچنین در این شرایط، با بالا بردن محتوای تنظیم‌کننده‌های اسمزی (پرولین و قندهای محلول) و حفظ تعادل آبی سلول، از کاهش شدید محتوای نسبی آب برگ جلوگیری کرد که این امر سبب پایداری ساختار سلول در برابر تنش خشکی شد. با توجه به ضرایب همبستگی به دست آمده می‌توان نتیجه گرفت که در شرایط تنش خشکی، فاکتورهای بیوشیمیایی مؤثر در حفظ عملکرد دانه به ترتیب شامل غلظت کربوهیدرات‌های محلول شاخصاره و غلظت پرولین در گیاه می‌باشند.

واژه‌های کلیدی: خشکی، پرولین، کربوهیدرات، آسکوربات

مقدمه

رادیکال‌های فعال و مخرب اکسیژن دانست. این رادیکال‌ها واکنش‌هایی را هدایت می‌کنند که سبب نابودی DNA، پراکسیداسیون چربی‌ها، تخریب پروتئین‌های غشایی و درشت پروتئین‌ها در سلول از جمله رنگریزه‌های کلروفیل و آنزیم‌ها می‌شوند (۱۰). گیاهان با دارا بودن سازوکارهای

تنش خشکی مهمترین عامل محدود کننده تولید گیاهان زراعی در مناطق خشک و نیمه خشک جهان می‌باشد (۱). طیف وسیعی از اختلالات مولکولی که منجر به ایجاد آسیب‌های فیزیولوژیک در گیاهان تحت تنش خشکی می‌شوند را می‌توان ناشی از تولید

۱. دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد

*: مسئول مکاتبات، پست الکترونیکی: sh_riahinia@yahoo.com

این راستا می‌توان تجزیه کلروفیل را به عنوان یک مرحله مقدماتی در تخریب پروتئین‌ها در نظر گرفت. همچنین کاهش رطوبت پاسخ‌هایی نظیر تخریب پروتئین‌ها و انباشت برخی اسیدهای آمینه آزاد را در جهت حفظ تنظیم فشار اسمزی سلول به دنبال دارد (۲۱).

پرولین اسید آمینه‌ای است که افزایش غلظت آن عمومی‌ترین پاسخی است که به محض ایجاد تنش مشاهده می‌شود. به عنوان مثال، بررسی روی آفتتابگردان تحت شرایط خشکی نشان داد که در طول تنش، با افزایش فعالیت گاما-گلوتامیل‌کیناز، غلظت پرولین نیز افزایش پیدا کرد (۱۶). پرولین علاوه بر تنظیم اسمزی به عنوان محافظ در برابر تنش نیز عمل می‌کند. بدین ترتیب که به طور مستقیم و یا غیرمستقیم با درشت‌مولکول‌ها برهمکنش داشته و از این طریق به حفظ شکل و ساختار طبیعی آنها در شرایط تنش کمک می‌کند (۱۴). محققین ذخیره پرولین را در سلول‌های گیاهی مربوط به سازوکارهای تحمل به سطح بالای خشکی می‌دانند. مقدار زیاد پرولین، گیاه را قادر می‌سازد تا پتانسیل آبی خود را پایین نگه دارد. مقادیر زیاد پرولین باعث کاهش غلظت رادیکال‌های آزاد در پاسخ به تنش اسمزی می‌شود. این یافته‌ها نشان‌دهنده نقش پرولین در کاهش تنش اکسایشی می‌باشد (۱۶). کافی و همکاران (۲) نشان دادند که غلظت پرولین و قندهای محلول در شرایط تنش افزایش می‌یابد. آنها همچنین به این نتیجه رسیدند که غلظت این مواد در شاخساره گیاه دارای اهمیت بیشتری نسبت به ریشه می‌باشد. یکی از راه‌های مقابله گیاهان با اثرهای منفی انواع اکسیژن فعال، استفاده از سازوکارهای دفاعی متشكل از آنتی‌اکسیدان‌ها است (۱۱). فعالیت‌های آنزیمی آنتی‌اکسیدان در سلول‌های گیاهی غالباً در مواجهه گیاه با تنش‌های محیطی افزایش یافته و از این طریق، گیاهان قادرند تا از خسارات رادیکال‌های آزاد اکسیژن ایجاد شده بکاهند.

از مهمترین آنتی‌اکسیدان‌ها می‌توان به اسکوربات و گلوتاتیون اشاره کرد که به دو شکل اکسید و احیا در سلول حضور دارند. این ترکیبات علاوه بر شرکت در چرخه‌های

آنتی‌اکسیدانی شامل ترکیب‌های آنزیمی (سوپراکسید دیسموتاز، کاتالاز، پراکسیداز، گلوتاتیون پراکسیداز، آسکوربیت پراکسیداز و گلوتاتیون ردوکتاز) و غیر آنزیمی (اسید آسکوربیک، کاروتونوئیدها، گلوتاتیون و توکوفرول) معمولاً سطح گونه‌های اکسیژن فعال (Reactive Oxygen Species, ROS) را در سلول در حد معادل نگه می‌دارند (۵).

تخریب مولکول کلروفیل از خسارات عمدۀ اکسیداتیو در شرایط خشکی است. به دنبال این تخریب، گیاه رنگی به نظر می‌رسد که دلیل آن افزایش رنگیزهای محافظ مانند کاروتونوئیدها (گزانوفیل، کاروتون، لیکوپن) و آنتوسیانین می‌باشد. کاروتونوئیدها در این شرایط قادرند انرژی زیاد طول موج‌های کوتاه را گرفته و اکسیژن یک تایی (Singlet Oxygen) را به سه تایی تبدیل کنند و با گرفتن رادیکال‌های اکسیژن تولید شده نقش آنتی‌اکسیدانی خود را ایفا نمایند (۱۲).

یکی از راهکارهای مناسب گیاه در پاسخ به تنش خشکی، افزایش مواد محلول و فعال اسمزی است که با حفظ خاصیت آبگیری و تورژسانس سلول انجام فرایندهای متابولیسمی را از خطرات کمبود آب ایمن می‌سازد که از جمله این ترکیبات می‌توان به کربوهیدرات‌هایی نظیر گلوکز، فروکتوز، ساکاروز و پلی‌ساکاریدها اشاره کرد (۱۰). کرپسی و گالیبا (۱۵) با بررسی چهار رقم گندم نان متفاوت از نظر مقاومت به خشکی گزارش نمودند که غلظت کربوهیدرات‌های محلول در ارقام مقاوم به خشکی بیشتر از ارقام حساس افزایش یافت. آنها دریافتند که میزان افزایش غلظت کل کربوهیدرات‌های محلول در آب شاخص مناسبی برای تعیین مقاومت به خشکی محسوب می‌شود و نوع قند (گلوکز، ساکاروز یا فروکтан‌ها) اهمیت زیادی ندارد.

همچنین کلروفیل و سایر رنگیزهای گیاهی از خشکی تأثیر می‌پذیرند. به عنوان مثال، تنش خشکی سبب از دست دادن آب پروتئین‌های تیلاکوپلیمیدی و کاهش مقدار کلروفیل a و b می‌شود و تجزیه پروتئین‌های کلروفیل استی منبع با ارزشی از شکل قابل تحرک نیتروژن در شرایط تنش فراهم می‌سازد. در

پلاستیکی که با خاک لوم پر شده بودند، انتقال یافتند. برای تعیین میزان آب مورد نیاز در هر بار آبیاری، گلدان‌ها به صورت روزانه وزن شده و در صورت کمتر بودن وزن گلدان‌ها از حد معین، آب مورد نیاز جهت تأمین حد رطوبتی مورد نظر، به هر گلدان اضافه شد (۳). در زمان رسیدگی محصول، قسمت هوایی گیاه از سطح خاک قطع شده و عملکرد دانه هر بوته اندازه‌گیری شد. همچنین در زمان گله‌ی، پارامترهای مورد نظر که شامل غلظت کلروفیل a و b و کاروتونوئیدها، قندهای محلول، پرولین و آسکوربات بود به روش‌های استاندارد تعیین شدند.

به منظور اندازه‌گیری کلروفیل a و b و کاروتونوئیدها، از روش در و همکاران (۸) استفاده شد. برای این منظور، ۱۰۰ میلی‌گرم برگ تازه از برگ‌های جوان توسعه یافته جدا و استخراج رنگدانه‌ها با استفاده از متانول ۹۹٪ انجام شد. میزان جذب در طول موج‌های ۴۷۰، ۴۷۸ و ۶۶۴ با استفاده از دستگاه طیف‌سنج Jenway Model 6305) تعیین شد. در انتهای، با استفاده از معادلات مربوط به متانول، غلظت انواع کلروفیل و کاروتونوئیدها محاسبه گردید (۸):

$$C_a = 15.65A_{666} - 7.340A_{653} \quad (1)$$

$$C_b = 27.05A_{653} - 11.21A_{666} \quad (2)$$

$$C_{x+c} = (1000A_{470} - 2.860C_a - 129.2C_b)/245 \quad (3)$$

که در آن C_a غلظت کلروفیل a، C_b غلظت کلروفیل b و C_{x+c} غلظت کاروتونوئیدها کل می‌باشد.

قند محلول برگ با استفاده از روش فنل سولفوریک اسید (۹) و استاندارد گلوکز و میزان پرولین به روش باتس و همکاران (۶) اندازه‌گیری شد. غلظت پرولین با استفاده از منحنی استاندارد پرولین تعیین شد.

برای اندازه‌گیری غلظت آسکوربات از روش ابی و همکاران (۴) استفاده شد. مقدار ۱۰۰ میلی‌گرم ماده برگی تازه را در نیتروژن مایع هموژنیزه کرده و عصاره‌گیری با اتانول ۹۶٪ انجام شد. مواد جامد غیرمحلول با استفاده از سانتریفیوژ ۳۵۰۰g به مدت ۵ دقیقه جدا شدند. مقدار ۲۰ میکرولیتر از محلول

بسیار مهمی نظری گرانتوفیل و آسکوربات - گلوتاتیون، توانایی واکنش مستقیم با انواع اکسیژن فعال را داشته و با احیای آنها به آب، از اثرهای مضر آنها پیشگیری می‌کند (۱۷). امروزه برخی از محققین معتقدند که افزایش میزان این آنتی‌اسیدان‌ها تحمل گیاه به تشکیل گیاه به محیطی را افزایش می‌دهند (۱۱).

با توجه به خشکسالی‌های فراوان در کشور، این تحقیق به منظور بررسی آثار ناشی از تنش خشکی و سطوح مختلف نیتروژن بر تغییرات بیوشیمیابی شامل غلظت کلروفیل a و b و کاروتونوئیدها، قندهای محلول، پرولین و آسکوربات به منظور ارزیابی پاسخ‌های گیاه در مقایله با تنش خشکی، انجام گرفت. از جمله اهداف دیگر این پژوهش، ارزیابی عوامل تأثیرگذار بر عملکرد دانه در شرایط تنش خشکی در ارقام سورگوم دانه‌ای بود.

مواد و روش‌ها

این مطالعه به صورت آزمایش فاکتوریل در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی در سه تکرار در گلخانه تحقیقاتی دانشکده کشاورزی دانشگاه فردوسی مشهد واقع در پردیس دانشگاه اجرا شد. تیمارهای مورد بررسی شامل دو سطح آبیاری که در تیمار شاهد، خاک هر گلدان همواره در وضعیت رطوبتی مطلوب (ظرفیت زراعی) قرار داشت و تیمار تنش که در آن آبیاری بر اساس ۴۰ درصد ظرفیت زراعی انجام شد. تیمارهای کودی شامل چهار سطح کود نیتروژن (صفر، ۳۰، ۶۰ و ۹۰ میلی‌گرم نیتروژن در کیلوگرم خاک) و ژنتیپ‌های سورگوم دانه‌ای (*Sorghum bicolor*) شامل رقم سپیده (رقم رایج) و لاین امید بخش M₂ بودند. کود نیتروژن به شکل اوره و در سه مرحله (یک سوم در زمان کاشت، یک سوم در مرحله ۵ برگی و یک سوم در مرحله ظهور برگ پرچم) داده شد. بذر ژنتیپ‌ها پس از ضد عفونی، در داخل سینی نشا کشت شدند. سپس گیاه‌چهای دو برگی به داخل بسته بسته شده به تیوب‌های

جدول ۱. نتایج تجزیه واریانس صفات مورد مطالعه

عملکرد دانه	آسکوربین	قند محلول	پرولین	کاروتون	کلروفیل b ^a	کلروفیل a ^a	درجه آزادی	منابع تغییرات	
								میانگین مربuat	
۹/۶۸	۱/۳۳	۳۸۰/۱	۰/۰۰۰۳	۰/۰۰۰۴	۰/۲۱۶	۰/۲۳۳	۲	تکرار	
۹۱۸/۲*	۱۱/۰۲*	۹۶/۲*	۰/۱۳۴۱*	۰/۰۰۶۳*	۰/۹۱۵*	۱/۰۲۴*	۱	فاکتور A (آبیاری)	
۷۵/۷*	۰/۵۳	۱۲/۴	۰/۰۰۰۹*	۰/۰۰۰۲	۰/۰۵۸	۰/۴۵۸*	۳	فاکتور B (نیتروژن)	
۰/۷۰	۰/۵۴	۱۰/۹	۰/۰۰۰۰۶	۰/۰۰۱۸	۰/۰۱۷	۰/۰۰۸	۱	فاکتور C (رقم)	
۴۲/۴*	۱/۳۳	۳/۱	۰/۰۰۰۳*	۰/۰۰۱۱	۰/۰۵۳	۰/۱۴۰*	۳	A×B	
۸/۷*	۰/۱۴	۶/۱	۰/۰۰۰۰۲	۰/۰۰۰۲	۰/۰۲۳	۰/۰۹۸	۱	A×C	
۰/۶۲	۰/۰۱	۴/۹	۰/۰۰۰۰۲	۰/۰۰۱۰	۰/۰۴۱	۰/۰۳۲	۳	B×C	
۰/۶۳	۰/۰۳	۲/۰	۰/۰۰۰۰۲	۰/۰۰۰۷	۰/۰۱۱	۰/۰۲۴	۳	A×B×C	
۰/۹۴	۰/۵۳	۱۱/۲	۰/۰۰۰۲	۰/۰۰۱۰	۰/۰۳۵	۰/۰۲۸	۳۰	خطای آزمایش	

* معنی دار در سطح احتمال ۵%

نیتروژن و تنفس خشکی، نیتروژن- رقم، تنفس آب- رقم و اثر سه گانه نیتروژن- آب و رقم بر مقدار قندهای محلول معنی دار نبود (جدول ۱).

انباست قندهای محلول در شرایط تنفس علاوه بر نقش های فیزیولوژیک مهمی که از نظر تأمین انرژی و جلوگیری از مرگ سلول ایفا می کند، می تواند باعث کاهش پتانسیل اسمزی سلول شده و از طریق تنظیم اسمزی موجب بالاتر نگه داشتن میزان آب نسبی شده و به این ترتیب در سازوکار تحمل به خشکی نقش مهمی داشته باشد (۱۳).

استخراجی را با ۸۰۰ میکرولیتر از DPPH (1,1-diphenyl-2-(picryhydrazyl) محلول در اتانول (۰/۵ میلی مolar) مخلوط کرده و در نهایت میزان جذب در ۵۱۷ نانومتر پس از ۳۰ دقیقه تاریکی قرائت شد.

در پایان، داده های به دست آمده را ابتدا توسط نرم افزار Excel مرتب کرده و سپس تجزیه و تحلیل داده ها توسط نرم افزار آماری SAS و مقایسه میانگین ها با استفاده از آزمون حداقل تفاوت معنی دار (LSD) در سطح احتمال ۵٪ انجام شد.

رنگیزه های فتوسترزی

با وقوع تنفس خشکی، محتوای کلروفیلی برگ به طور معنی داری کاهش یافت (جدول ۲). غلظت کلروفیل a در شرایط غیرتنفس ۲۸٪ بیشتر از تنفس خشکی بود. کاربرد ۹۰ میلی گرم نیتروژن در کیلو گرم خاک سبب افزایش ۲۶/۸ درصدی غلظت کلروفیل a در مقایسه با تیمار بدون کود نیتروژن مصرفی شد که از نظر آماری در سطح احتمال ۵٪ معنی دار بود (جدول ۲). برهمنکش تیمار آبیاری در کود نیتروژن در سطح احتمال ۵٪ معنی دار شد. به گونه ای که بیشترین غلظت کلروفیل a مربوط به تیمار I_۱ (۶۰ میلی گرم نیتروژن در کیلو گرم و

نتایج
غلظت کربوهیدرات های محلول شاخصار

نتایج تجزیه واریانس داده ها نشان داد که تنفس خشکی تأثیر معنی داری (P < 0/۰۵) بر غلظت کربوهیدرات های در ارقام مختلف سورگوم دانه ای داشت (جدول ۱). غلظت قندهای محلول در تیمار تنفس خشکی، ۱۴/۲۹ میلی گرم به ازای هر گرم وزن تر بیشتر از شرایط بدون تنفس بود. اختلاف ۱۶/۵ درصدی بین بیشترین میزان قندهای محلول در تیمار کودی سطح چهار (۹۰ میلی گرم در کیلو گرم) نسبت به تیمار کودی سطح اول (صفر) از نظر آماری معنی دار نشد (جدول ۲). اثرهای متقابل

جدول ۲. مقایسه میانگین صفات مختلف در ارقام سورگوم دانه‌ای در شرایط تنش خشکی و سطوح مختلف کود نیتروژن

نیتروژن	کلروفیل a	کلروفیل b	کاروتون	پرولین	قند محلول	آسکوربات	عملکرد دانه
(میلیگرم در کیلوگرم)	(گرم در بوته)						
۰	۰/۸۲ b	۰/۶۳ a	۰/۳۵۸ a	۰/۰۸۳ b	۱۱/۹۹ a	(میلیگرم بر گرم وزن تر)	۲/۷۰ a
۳۰	۱/۱۳ a	۰/۶۹ a	۰/۳۶۴ a	۰/۰۹۵ ab	۱۲/۲۴ a	(میلیگرم بر گرم وزن تر)	۴/۰۶ a
۶۰	۱/۲۹ a	۰/۸۰ a	۰/۳۵۴ a	۰/۱۰۰ a	۱۳/۰۲ a	(میلیگرم بر گرم وزن تر)	۴/۲۰ a
۹۰	۱/۱۲ a	۰/۷۵ a	۰/۳۶۴ a	۰/۱۰۴ a	۱۴/۲۵ a	(میلیگرم بر گرم وزن تر)	۳/۹۹ a
رژیم آبیاری							
شاهد	۱/۲۷ a	۰/۸۶ a	۰/۳۴۸ b	۰/۰۴۳ b	۱۱/۴۶ b	۳/۵۱ b	۱۳/۹ a
تشن	۰/۹۱ b	۰/۵۸ b	۰/۳۷۱ a	۰/۱۴۹ a	۱۴/۲۹ a	۴/۴۷ a	۵/۲ b

در هر ردیف و برای هر سطح از عوامل آزمایشی، میانگین‌هایی که حداقل دارای یک حرف مشترک هستند بر پایه آزمون LSD در سطح احتمال ۵٪ اختلاف معنی‌داری ندارند.

غلظت آسکوربات شاخصاره

در اثر تنش خشکی، در هر دو ژنتیپ سورگوم، غلظت آسکوربات به طور معنی‌داری تغییر کرد (جدول ۱). سطوح مختلف کودی تأثیر معنی‌داری بر غلظت آسکوربات شاخصاره نداشتند. برهمکنش‌های موجود شامل آبیاری- نیتروژن، نیتروژن- رقم، آبیاری- رقم و اثر سه گانه نیتروژن- آب- رقم تأثیر معنی‌داری بر غلظت آسکوربات در گیاه نداشتند (جدول ۱).

غلظت پرولین

با وقوع تنش خشکی، محتوای پرولین برگ یک روند افزایشی معنی‌دار را نشان داد (جدول ۲). اختلاف ۲۰/۲ درصدی بین بیشترین میزان پرولین در تیمار کودی سطح چهار (۹۰ میلیگرم در کیلوگرم) نسبت به تیمار کودی سطح اول (صفرا) از نظر آماری در سطح احتمال ۵٪ معنی‌دار شد (جدول ۲). اثر متقابل تیمار آبیاری در کود نیتروژن در سطح احتمال ۵٪ معنی‌دار شد. به گونه‌ای که بیشترین غلظت پرولین مربوط به تیمار N_۱I_۲ (۳۰ میلیگرم نیتروژن در کیلوگرم خاک و تنش خشکی) و کمترین غلظت این ترکیب در تیمار N_۱I_۱ (بدون نیتروژن و تیمار آبیاری کامل) مشاهده شد (جدول ۳).

آبیاری کامل) و کمترین غلظت در تیمار N_۱I_۲ (بدون نیتروژن و تیمار تنش خشکی) مشاهده شد.

غلظت کلروفیل b نیز کاهش معنی‌داری را در شرایط تنش خشکی نشان داد (جدول ۲). از نظر آماری اختلاف معنی‌داری در سطح احتمال ۵٪ از لحظه غلظت کلروفیل b در تیمار ۶۰ میلیگرم نیتروژن در کیلوگرم خاک نسبت به تیمار بدون مصرف کود نیتروژن مشاهده نشد (جدول ۲). اثر متقابل تیمار آبیاری در کود نیتروژن در سطح احتمال ۵٪ معنی‌دار نشد (جدول ۳). این مسئله بیانگر عدم تأثیر نیتروژن در شرایط تنش خشکی بر غلظت کلروفیل b می‌باشد.

همچنین در اثر تنش خشکی، غلظت کاروتون به طور معنی‌داری تغییر کرد (جدول ۱). به گونه‌ای که بیشترین میزان آن در شرایط تنش (۰/۳۷۱ میلیگرم به ازای گرم وزن تر) و کمترین میزان در تیمار شاهد (۰/۳۴۸ میلیگرم به ازای گرم وزن تر) مشاهده شد (جدول ۲). سطوح مختلف کودی تأثیر معنی‌داری بر غلظت کاروتون نداشتند. برهمکنش‌های موجود شامل آبیاری- نیتروژن، نیتروژن- رقم، آبیاری- رقم و اثر سه گانه نیتروژن- آب- رقم تأثیر معنی‌داری بر مقدار کاروتون گیاه نداشتند (جدول ۱).

جدول ۳. اثر متقابل تیمارهای آب و نیتروژن بر صفات مختلف ارقام سورگوم دانه‌ای

تش رطوبتی					آبیاری کامل				صفات	
۹۰	۶۰	۳۰	۰		۹۰	۶۰	۳۰	۰		
۰/۹۳۶ c	۱/۰۳۸ bc	۰/۸۸۶ c	۰/۸۰۳ c		۱/۳۲۳ ab	۱/۵۴۶ a	۱/۳۷۴ a	۰/۸۴۶ c	a	کلروفیل
۰/۵۸۶ a	۰/۶۰۸ a	۰/۵۵۱ a	۰/۵۹۷ a		۰/۹۲۱ a	۰/۹۹۴ a	۰/۹۴۹ a	۰/۶۸۲ a	b	کلروفیل
۰/۳۸۴ a	۰/۳۵۶ a	۰/۳۸۵ a	۰/۳۶۳ a		۰/۳۴۵ a	۰/۳۵۳ a	۰/۳۴۵ a	۰/۳۵۳ a	c	کاروتین
۰/۱۵۳ a	۰/۱۴۶ a	۰/۱۶۰ a	۰/۱۳۴ a		۰/۰۵۵ b	۰/۰۴۲ b	۰/۰۴۱ b	۰/۰۳۳ b	d	پرولین
۱۵/۴۲ a	۱۴/۸۸ a	۱۳/۰۶ a	۱۳/۸۲ a		۱۳/۰۹ a	۱۱/۱۶ a	۱۱/۴۱ a	۱۰/۱۷ a	e	قند محلول
۴/۵۶ a	۴/۹۳ a	۴/۶۶ a	۳/۶۹ a		۳/۳۸ a	۳/۴۷ a	۳/۴۶ a	۳/۷۱ a	f	آسکوربیات
۵/۷ cd	۵/۵ cd	۵/۴ d	۴/۲ d		۱۷/۳ a	۱۷/۵ a	۱۲/۷ b	۸/۳ c	g	عملکرد دانه (گرم در بوته)

در هر ردیف و برای هر سطح از عوامل آزمایشی، میانگین‌هایی که حداقل دارای یک حرف مشترک هستند بر پایه آزمون LSD در سطح احتمال ۵٪ اختلاف معنی‌داری ندارند.

جدول ۴. اثر متقابل تیمارهای آب و رقم بر عملکرد دانه (گرم در بوته)

رژیم آبیاری	رقم سپیده	لاین
شاهد	۱۴/۵ a	۱۳/۴ a
خشکی	۴/۹ b	۵/۵b

در هر ردیف و برای هر سطح از عوامل آزمایشی، میانگین‌هایی که حداقل دارای یک حرف مشترک هستند بر پایه آزمون LSD در سطح احتمال ۵٪ اختلاف معنی‌داری ندارند.

۲). اثر متقابل تیمار آبیاری در کود نیتروژن در سطح احتمال ۵٪ معنی‌دار شد. به گونه‌ای که بیشترین عملکرد دانه مربوط به تیمار N_۲I_۱ (۶۰ میلی‌گرم در کیلوگرم نیتروژن و آبیاری کامل) و کمترین عملکرد در تیمار N_۱I_۲ (بدون نیتروژن و تنش خشکی) مشاهده شد (جدول ۳). همچنین اثر متقابل آبیاری در رقم از نظر آماری در سطح احتمال ۵٪ معنی‌دار شد. بیشترین عملکرد دانه مربوط به تیمار C_۱I_۱ (رقم سپیده و آبیاری کامل) با مقدار عددی ۱۴/۵ گرم و کمترین عملکرد در تیمار C_۱I_۲ (رقم سپیده و تیمار تنش خشکی) مشاهده شد که نشان دهنده کاهش ۶۶٪

عملکرد دانه بر اساس نتایج حاصل شده، تنش خشکی تأثیر معنی‌داری بر عملکرد دانه ارقام سورگوم دانه‌ای داشت (جدول ۱). به طوری که بیشترین وزن دانه در بوته در تیمار شاهد (۱۳/۹ گرم در گلدان) و کمترین وزن دانه در بوته در تیمار تنش خشکی (۵/۲ گرم در گلدان) مشاهده شد (جدول ۲). اختلاف ۴۶/۶ درصدی بین بیشترین وزن دانه در بوته در تیمار کودی سطح سه (۶۰ میلی‌گرم در کیلوگرم) نسبت به تیمار کودی سطح اول (بدون کود) از نظر آماری در سطح احتمال ۵٪ معنی‌دار شد (جدول

جدول ۵. ضرایب همبستگی ساده بین صفات مورد بررسی در ارقام سورگوم دانه‌ای در شرایط عدم تنش خشکی

صفات	آسکوربات	قندهای محلول	پرولین	کلروفیل a	کلروفیل b	کاروتین	عملکرد دانه
۱	۰/۲۱۴ ns	-۰/۱۸۲ ns	-۰/۳۶۵ ns	-۰/۱۵۴ ns	۱	-۰/۲۳۰ ns	-۰/۳۱۹ ns
۱	-۰/۱۹۵ ns	-۰/۰۴۸ ns	-۰/۱۵۱ ns	-۰/۰۹۲ ns	۰/۶۰۲ **	-۰/۳۸۰ ns	-۰/۱۹۵ ns
۱	۰/۱۱۴ ns	۰/۴۲۸ *	۰/۶۹۲ **	۰/۶۴۲ **	۰/۶۹۲ **	۰/۱۹۰ ns	-۰/۳۴۷ ns

*, ** و ns به ترتیب معنی دار در سطوح احتمال ۱٪ و ۵٪ و بدون اختلاف معنی دار

تخریب کربوهیدرات‌های نامحلول، متوقف شدن رشد و سنتز این ترکیبات از مسیرهای غیرفتوستزی دانست (۱).

ضرایب همبستگی ساده بین قندهای محلول گیاه در شرایط تنش خشکی و عملکرد دانه ارتباط مثبت و معنی‌داری را نشان داد ($r=0.515^{**}$) که بیانگر اهمیت کربوهیدرات‌های محلول در حفظ پایداری عملکرد در شرایط تنش می‌باشد. به عبارت دیگر، می‌توان گفت که بین غلظت کربوهیدرات‌های محلول و عملکرد دانه در شرایط عدم تنش خشکی در ارقام سورگوم دانه‌ای رابطه مستقیم وجود دارد (جدول ۶). این مطلب با توجه به نقش کلیدی قندهای محلول به عنوان یک عامل مؤثر در تنظیم اسمزی و حفظ خاصیت آبغیری و تورزسانس سلول قابل توجیه می‌باشد (۱).

نتایج حاصل از پژوهش حاضر بیانگر افزایش آسکوربات طی تنش خشکی بود. آنتی‌اکسیدان‌هایی مانند آسکوربیک اسید و گلوتاتیون در کلروفیل است و دیگر اجزای سلولی یافت می‌شوند که برای دفاع گیاه در برابر تنش اکسیداتیو بسیار مهم و ضروری می‌باشند. حدود ۹۰٪ آسکوربیک اسید اغلب به شکل احیا در برگ‌ها و کلروفیل است (۲). توان بالای آسکوربیک اسید در دادن الکترون، آن را به یک مولکول بسیار مهم در سمزدایی ROS تبدیل نموده است. آسکوربیک اسید می‌تواند مستقیماً سوپر اکسید، رادیکال‌های آزاد هیدروکسیل و اکسیژن یک تایی را زدوده و با احیای H_2O_2 آن

۵۸ درصدی عملکرد در رقم سپیده و لاین امید بخش M_2 در اثر اعمال تنش خشکی است (جدول ۴).

بحث

خشکی نه تنها رشد و نمو گیاهان را کاهش می‌دهد، بلکه موجب تغییر در مسیر برحی از فرایندهای متابولیسمی نیز می‌شود. این تغییرات می‌تواند گیاه را در مقابل تنش مقاوم سازد. در واقع سازگاری با خشکی به واکنش‌هایی نیاز دارد تا از طریق آنها فرایندهای متابولیسمی اولیه ادامه پیدا کند و گیاه را برای مقابله با آنها آماده کند. طی خشکی درازمدت، انتقال مواد به علت کاهش آب قابل دسترس، منجر به تغییر غلظت برخی از متابولیت‌ها می‌شود. از سوی دیگر، میزان محلول‌های سازگار به خشکی نظری قندها، قندهای الکلی، آمنیواسیدهای ویژه نظری پرولین، گلیسین و بتائین افزایش می‌یابد. تحقیقات متعددی در زمینه نقش کربوهیدرات‌های محلول و افزایش آنها تحت شرایط تنش‌های گوناگون انجام شده است که همگی بر نقش ترکیبات مذکور در تنظیم اسمزی سلول دلالت دارند (۱۰). بر اساس نتایج به دست آمده، تنش خشکی موجب افزایش معنی‌دار قندهای محلول در ارقام سورگوم دانه‌ای شد. همچنین افزایش کاربرد کود نیتروژن اثر معنی‌داری بر غلظت قندهای محلول در گیاه نداشت (جدول ۲). دلایل عمدۀ افزایش قندهای محلول طی تنش خشکی را می‌توان شامل:

جدول ۶. ضرایب همبستگی ساده بین صفات مورد بررسی در ارقام سورگوم دانه‌ای در شرایط تنفس خشکی

صفات	آسکوربات	قدنهای محلول	پرولین	کلروفیل a	کلروفیل b	کاروتین	عملکرد دانه
۱	۰/۰۹۸ ns	۰/۲۵۶ ns	-۰/۰۹۵ ns	۰/۰۶۳ ns	۰/۰۷۴ ns	-۰/۲۷۹ ns	۰/۰۹۱ ns
۱	۰/۱۴۷ ns	۰/۱۷۸ ns	-۰/۴۱۴ *	۰/۰۷۴ ns	۰/۰۷۰ **	-۰/۰۹۷ ns	۰/۰۹۱ ns
۱	۰/۰۴۵ ns	۰/۰۴۵ ns	-۰/۰۳۴ ns	۰/۰۳۳ ns	۰/۰۹۱ ns	-۰/۰۹۱ ns	۰/۰۵۱ ns
۱	۰/۰۳۵ ns	۰/۰۵۱ *	۰/۰۴۶ ns	-۰/۰۳۳ ns	-۰/۰۱۹ ns	۰/۰۹۱ ns	۰/۰۵۱ ns

*, ** و ns به ترتیب معنی دار در سطوح احتمال ۱٪ و ۵٪ و بدون اختلاف معنی دار

ضرایب همبستگی ساده بین غلظت پرولین گیاه در شرایط تنفس خشکی با عملکرد دانه ارتباط مثبت و معنی داری ($r=0.465^{*}$) را نشان داد که بیانگر اهمیت این اسید آمینه در پایداری عملکرد در شرایط تنفس می باشد. به عبارت دیگر، می توان گفت که بین غلظت پرولین و عملکرد دانه در شرایط تنفس خشکی در ارقام سورگوم دانه‌ای رابطه مستقیم وجود دارد (جدول ۶). این مطلب با توجه به نقش کلیدی اسید آمینه پرولین به عنوان یک عامل مؤثر در کاهش میزان رادیکال‌های آزاد در سلول، حفظ تورژسانس سلولی و نقش محافظت کنندگی این اسید آمینه در حفظ شکل و ساختار طبیعی درشت‌مولکول‌های سلولی قابل توجیه می باشد.

نتایج این تحقیق نشان داد که غلظت کلروفیل a و b در شرایط تنفس کاهش یافت. این مسئله ممکن است به دلیل افزایش فعالیت کلروفیل‌از به هنگام تنفس خشکی باشد (۷). از طرفی انواع اکسیژن‌های فعال که طی تنفس خشکی تولید می شوند باعث کاهش رنگیزه‌های فتوستتری می گردند (۱۹). با افزایش کاربرد کود نیتروژن، بر غلظت کلروفیل a افزوده شد (جدول ۲). نتایج به دست آمده نشان داد که با وقوع تنفس، بر غلظت کاروتین افزوده شد (جدول ۱). کاروتین از جمله مهمترین کاروتونوئیدهاست که در شرایط تنفس قادر است انرژی زیاد طول موج های کوتاه را گرفته و اکسیژن یک تایی را به سه تایی تبدیل کند و با گرفتن رادیکال‌های اکسیژن تولید شده نقش

را به آب تبدیل نماید. در کلروپلاست، آسکوربیک اسید به عنوان یک کوفاکتور برای آنزیم Violaxanthin de-expoxidase عمل نموده و باعث پشتیبانی چرخه زانتوفیل در حذف مازاد انرژی برانگیختگی می شود (۲۰). در راستای پژوهش حاضر، روسالس و همکاران (۱۸) نیز به این نکته اشاره دارند که آسکوربات می تواند از پراکسیداسیون لیپیدی با حذف ROS ها جلوگیری کرده و محتوای مالوندی‌آلدئید (MDA) را کاهش دهد. از سوی دیگر، آسکوربات در احیای a- توكوفرول نقش دارد، که این ترکیب به همراه آسکوربات و کاروتونوئیدها که آنتی‌اکسیدان‌های متصل به غشا هستند در جلوگیری از پراکسیداسیون لیپیدی و در پایداری غشاها مؤثر می باشند (۱۷). از سوی دیگر، تنفس شدید خشکی سبب افزایش معنی دار پرولین در ارقام سورگوم دانه‌ای شد (جدول ۱). همچنین افزایش سطوح کودی سبب افزایش معنی داری در میزان پرولین شد که این امر بیانگر نقش نیتروژن در ساخت این اسید آمینه در گیاه می باشد. پیرامون افزایش غلظت این آمینو اسید و دخالت آن در حفظ تورژسانس سلولی گزارش‌های متعددی ارائه شده است (۱۴ و ۱۶). پرولین علاوه بر تنظیم اسمزی به عنوان محافظ در برابر تنفس نیز عمل می کند. بدین ترتیب که به طور مستقیم و یا غیرمستقیم با درشت‌مولکول‌ها اثر متقابل داشته و از این طریق به حفظ شکل و ساختار طبیعی آنها در شرایط تنفس کمک می کند (۱۴).

سلول، مانع از خسارات اکستنده به سلول‌های گیاهی شد. همچنین، در این شرایط، با بالا بردن محتوای تنظیم‌کننده‌های اسمزی (پرولین و قندهای محلول) و حفظ تعادل آبی سلول از کاهش شدید محتوای نسبی آب برگ جلوگیری کرد؛ که این امر سبب پایداری ساختار سلول در برابر تنش خشکی شد. از جمله تغییرات مهم دیگر، افزایش در میزان کاروتون بود که در شرایط تنش قادر است انرژی زیاد طول موج‌های کوتاه را گرفته و با گرفتن رادیکال‌های اکسیژن تولید شده نقش آنتی‌اکسیدانی خود را ایفا کند.

نتیجه‌گیری

با توجه به نتایج حاصل از این پژوهش می‌توان گفت که تنش خشکی یکسری تغییرات بیوشیمیایی را در گیاه سورگوم دانه‌ای القا می‌کند که سبب افزایش مقاومت آن به شرایط تنش می‌شود. همچنین با توجه به ضرایب همبستگی به دست آمده از آزمایش می‌توان نتیجه گرفت که در شرایط تنش خشکی، فاکتورهای بیوشیمیایی مؤثر در حفظ عملکرد دانه به ترتیب شامل غلاظت کربوهیدرات‌های محلول شاخصاره و غلاظت پرولین در گیاه می‌باشند.

آنتری‌اکسیدانی خود را ایفا کند (۷).

ضرایب همبستگی ساده بین کلروفیل a و کلروفیل b در شرایط بدون تنش و عملکرد دانه ارتباط مثبت و معنی‌داری ($r_a = 0.692^{**}$ و $r_b = 0.428^*$) را نشان داد که بیانگر اهمیت رنگیزهای فتوستترزی در عملکرد گیاه در شرایط طبیعی می‌باشد. به عبارت دیگر، می‌توان گفت که بین کلروفیل a و کلروفیل b و عملکرد دانه در شرایط بدون تنش در ارقام سورگوم دانه‌ای رابطه مستقیم وجود دارد (جدول ۶). این مطلب با توجه به نقش کلیدی رنگیزهای فتوستترزی به عنوان یک عامل اساسی در فتوستترز گیاهی قابل توجیه می‌باشد.

نتایج بررسی همبستگی ساده بین صفات مورد بررسی در ارقام سورگوم دانه‌ای نشان داد که در شرایط بدون تنش، مقادیر کلروفیل a، کلروفیل b و پرولین بر عملکرد دانه تأثیرگذار است (جدول ۵). در حالی که در شرایط تنش رطوبتی، عوامل تأثیرگذار بر عملکرد دانه در ارقام سورگوم دانه‌ای شامل پرولین و قندهای محلول بود (جدول ۶)، که بیانگر اهمیت پرولین و کربوهیدرات‌های محلول در حفظ پایداری عملکرد در شرایط تنش می‌باشد.

براساس نتایج این تحقیق، در شرایط تنش خشکی، گیاه سورگوم با تغییرات بیوشیمیایی از جمله با افزایش میزان فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی و کاهش محتوای رادیکال‌های آزاد در

منابع مورد استفاده

۱. دلیری، ر. م. شکرپور، ع. اصغری، ع. اسفندیاری و ر. سید شریفی. ۱۳۸۹. ارزیابی اکوتیپ‌های ماریتیغال از نظر مقاومت به خشکی در محیط کشت هیدروپونیک. مجله علوم و فنون کشت‌های گلخانه‌ای ۱(۱): ۱۷-۹.
۲. کافی، م.، ع. باقری، ج. نباتی، م. زارع و ع. معصومی. ۱۳۸۹. بررسی تأثیر تنش شوری بر برخی متغیرهای فیزیولوژیک ۱۱ ژنوتیپ نخود در محیط هیدروپونیک. مجله علوم و فنون کشت‌های گلخانه‌ای ۱(۴): ۵۵-۶۹.
۳. معصومی، ع.، م. کافی، ا. نظامی و ح. حسینی. ۱۳۸۴. اثرات تنش خشکی روی برخی خصوصیات مورفولوژیکی تعدادی از ژنوتیپ‌های نخود (Cicer arietinum L.) در شرایط گلخانه. مجله پژوهش‌های زراعی ایران ۲(۲): ۲۷۷-۲۸۹.
4. Abe, N., T. Murata and A. Hirota. 1998. Novel 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl- radical scavengers, bisorbicillin and demethyltrichodimerol, from a fungus. Biosci. Biotechnol. Biochem. 62: 661-662.
5. Al-Aghabary, K., Z. Zhujun and S. Qinhua. 2004. Influence of silicon supply on chlorophyll content, chlorophyll fluorescence, and antioxidative enzyme activities in tomato plants under salt stress. J. Plant Nutr. 27: 2101-2115.
6. Bates, L., R.P. Waldren and I.D. Teare. 1973. Rapid determination of free proline for water stress studies. Plant Soil 39: 205-207.

7. Boyer, J.S., D.R. Ort and A. Ortiz-Lopez. 1987. Photophosphorylation at low water potential. Current Topics in Plant Biochem. Physiol. 6: 69-73.
8. Dere, S., T. Gines and R. Sivaci. 1998. Spectrophotometric determination of chlorophyll- a, b and total carotenoid contents of some algae species using different solvents. Trop. J. Bot. 22: 13-17.
9. Dubois, M., K.A. Gilles, J.K. Hamilton, P.A. Rebersand and F. Smith. 1956. Calorimetric method for determination of sugars and related substances. Analyt. Chim. 28: 350-356.
10. Hanson, A.D. and W.D. Hitz. 1982. Metabolism response of mesophytes to plant water deficit. Ann. Rev. Plant Physiol. 33: 163-203.
11. Herbinger, K., M. Tausz, A. Wonisch, G. Soja, A. Sorger and D. Grill. 2002. Complex interactive effects of drought and ozone stress on the antioxidant defense systems of two wheat cultivars. Plant Physiol. Biochem. 40: 691-696.
12. Inze, D. and M.V. Montagu. 2000. Oxidative Stress in Plant. Tj International Ltd., Padstow, Cornwall, Great Britain, 321 p.
13. Jiang, Y. and B. Huang. 2001. Osmotic adjustment and root growth associated with drought pre-conditioning enhanced heat tolerance in Kentucky bluegrass. Crop Sci. 41: 1168-1173.
14. Koc, E., C. İslek and A.S. Üstün. 2010. Effect of cold on protein, proline, phenolic compounds and chlorophyll content of two pepper (*Capsicum annuum* L.) varieties. Gazi University J. of Sci. 23: 1-6.
15. Kerepesi, I. and Galiba, G. 2000. Osmotic and salt stress-induced alteration in soluble carbohydrate content in wheat seedlings. Crop Sci. 40: 482-487.
16. Manivannan, P., C.A. Jaleel, B. Sankar, A. Kishorekumar, R. Somasundaram, G.M.A. Lakshmanan and R. Panneerselvam. 2007. Growth, biochemical modifications and proline metabolism in *Helianthus annuus* L. as induced by drought stress. Colloids and Surfaces B: Biointerfaces 59(2): 141-149.
17. Reddy, A.R., K.V. Chaitanya and M. Vivekanandan. 2005. Drought-induced responses of photosynthesis and antioxidant metabolism in higher plants. J. Plant Physiol. 161: 1189-1202.
18. Rosales, M.A., J.M. Ruiz, J. Hernandez, T. Soriano, N. Castilla and L. Romero. 2006. Antioxidant content and ascorbate metabolism in cherry tomato exocarp in relation to temperature and solar radiation. J. Sci. Food Agric. 86: 1545-1551.
19. Sairam, R.K., P.S. Deshmukh and D.C. Saxena. 1998. Role of antioxidant systems in wheat genotypes tolerance to water stress. Biol. Plant. 41(3): 387-394.
20. Smirnoff, N. 2000. Ascorbic acid: Metabolism and functions of a multifaceted molecule. Current Opinions Plant Biol. 3: 229-235.
21. Yamada, Y. and Y. Fukutoku. 1986. Effect of water stress on soybean stress. Soybean in tropical and subtropical cropping system. The Asian Vegetable Research & Development Center, Shanbue, Taiwan, China, Chapter 48: 373-382.