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 ژنوتیپ‌های سورگوم دانه‌ای شامل رقم سپیده و لاین امید بخش M_2 بودند. نتایج نشان داد که تنش خشکی سبب کاهش کلروفیل a و b و افزایش کاروتن در هر دو ژنوتیپ 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 آنزیم های ضداکسنده، کاهش محتوای رادیکال‌های آزاد در سلول و افزایش میزان کاروتن، مانع از خسارات اکسنده به سلول‌های گیاهی شد. همچنین در این شرایط، با بالا بردن محتوای تنظیم کننده‌های 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 شاخساره و غلظت پرولین در گیاه می‌باشند.

واژه‌های کلیدی: خشکی، پرولین، کربوهیدرات، آسکوربات

مقدمه

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 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

۱. دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد

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

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

تخریب مولکول کلروفیل از خسارات عمده اکسیداتیو در شرایط خشکی است. به دنبال این تخریب، گیاه رنگی به نظر می‌رسد که دلیل آن افزایش رنگیزه‌های محافظ مانند کاروتنوئیدها (گزانتوفیل، کاروتن، لیکوپن) و آنتوسیانین می‌باشد. کاروتنوئیدها 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 فروکتان‌ها) اهمیت زیادی ندارد.

همچنین کلروپلاست و سایر رنگیزه‌های گیاهی از خشکی تأثیر می‌پذیرند. به عنوان مثال، تنش خشکی سبب از دست دادن آب پروتئین‌های تیلاکوییدی و کاهش مقدار کلروفیل a و b می‌شود و تجزیه پروتئین‌های کلروپلاستی منبع با ارزشی از شکل قابل تحرک نیتروژن در شرایط تنش فراهم می‌سازد. در 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 آفتابگردان تحت شرایط خشکی نشان داد که در طول تنش، با افزایش فعالیت گاما-گلوتامیل‌کیناز، غلظت پرولین نیز افزایش پید ا 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 سطوح 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 متشکل 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

بسیار مهمی نظیر گزانتوفیل 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 آنتی‌اکسیدان‌ها تحمل گیاه به تنش‌های 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 بیوشیمیایی شامل غلظت کلروفیل a، b و کاروتنوئیدها، قندهای محلول، پرولین و آسکوربات به منظور ارزیابی پاسخ‌های گیاه در مقابله 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 و۹۰ میلی‌گرم نیتروژن در کیلوگرم خاک) و ژنوتیپ‌های سورگوم دانه‌ای (*Sorghum bicolor*) شامل رقم سپیده (رقم رایج) و لاین امید بخش $M_{۲}$ 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 ژنوتیپ‌ها پس از ضدعفونی، در داخل سینی نشا کشت شدند. سپس گیاهچه‌های دو برگی به داخل بستر آماده شده به تیوب‌های 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 گل‌دهی، پارامترهای مورد نظر که شامل غلظت کلروفیل a و b و کاروتنوئیدها، قندهای محلول، پرولین و آسکوربات بود به روش‌های استاندارد تعیین شدند.

به منظور اندازه‌گیری کلروفیل a، b و کاروتنوئیدها، 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، ۶۴۸ و ۶۶۴ با استفاده از دستگاه طیف‌سنج (Jenway Model 6305) تعیین شد. در انتها، با استفاده از معادلات مربوط به متانول، غلظت انواع کلروفیل و کاروتنوئیدها محاسبه گردید (۸):

$$C_a= 15.65A_{666}- 7.340A_{653} \quad (۱)$$

$$C_b= 27.05A_{653}- 11.21A_{666} \quad (۲)$$

$$C_{x+c}= (1000A_{470}- 2.860C_a - 129.2C_b)/245 \quad (۳)$$

که در آن C_a غلظت کلروفیل a، C_b غلظت کلروفیل b و C_{x+c} غلظت کاروتنوئیدهای 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

جدول ۱. نتایج تجزیه واریانس صفات مورد مطالعه

		میانگین مربعات						
منابع تغییرات	درجه آزادی	کلروفیل a	کلروفیل b	کاروتن	پرولین	قند محلول	آسکوربات	عملکرد دانه
تکرار	۲	۰/۲۳۳	۰/۲۱۶	۰/۰۰۰۴	۰/۰۰۰۳	۳۸۰/۱	۱/۳۳	۹/۶۸
فاکتور A (آبیاری)	۱	۱/۵۲۴*	۰/۹۱۵*	۰/۰۰۶۳*	۰/۱۳۴۱*	۹۶/۲*	۱۱/۰۲*	۹۱۸/۲*
فاکتور B (نیتروژن)	۳	۰/۴۵۸*	۰/۰۵۸	۰/۰۰۰۲	۰/۰۰۰۹*	۱۲/۴	۰/۵۳	۷۵/۷*
فاکتور C (رقم)	۱	۰/۰۰۸	۰/۰۱۷	۰/۰۰۱۸	۰/۰۰۰۰۶	۱۰/۹	۰/۵۴	۰/۷۰
A×B	۳	۰/۱۴۰*	۰/۰۵۳	۰/۰۰۱۱	۰/۰۰۰۳*	۳/۱	۱/۳۳	۴۲/۴*
A×C	۱	۰/۰۹۸	۰/۰۲۳	۰/۰۰۰۲	۰/۰۰۰۰۲	۶/۱	۰/۱۴	۸/۷*
B×C	۳	۰/۰۳۲	۰/۰۴۱	۰/۰۰۱۰	۰/۰۰۰۰۲	۴/۹	۰/۰۱	۰/۶۲
A×B×C	۳	۰/۰۲۴	۰/۰۱۱	۰/۰۰۰۷	۰/۰۰۰۰۲	۲/۰	۰/۰۳	۰/۶۳
خطای آزمایش	۳۰	۰/۰۲۸	۰/۰۳۵	۰/۰۰۱۰	۰/۰۰۰۲	۱۱/۲	۰/۵۳	۰/۹۴

* معنی‌دار در سطح احتمال ۵٪

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

در پایان، داده‌های به‌دست آمده را ابتدا توسط نرم افزار Excel مرتب کرده و سپس تجزیه و تحلیل داده‌ها توسط نرم‌افزار آماری SAS و مقایسه میانگین‌ها با استفاده از آزمون حداقل تفاوت معنی‌دار (LSD) در سطح احتمال ۵٪ انجام شد.

نتایج

غلظت کربوهیدرات‌های محلول شاخساره

نتایج تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد که تنش خشکی تأثیر معنی‌داری ($P<0/05$) بر غلظت کربوهیدرات‌ها در ارقام مختلف سورگوم دانه‌ای داشت (جدول ۱). غلظت قندهای محلول در تیمار تنش خشکی، ۱۴/۲۹ میلی‌گرم به ازای هر گرم وزن تر بیشتر از شرایط بدون تنش بود. اختلاف ۱۶/۵ درصدی بین بیشترین میزان قندهای محلول در تیمار کودی سطح چهار (۹۰ میلی‌گرم در کیلوگرم) نسبت به تیمار کودی سطح اول (صفر) از نظر آماری معنی‌دار نشد (جدول ۲). اثرهای متقابل نیتروژن و تنش خشکی، نیتروژن- رقم، تنش آب- رقم و اثر سه گانه نیتروژن- آب و رقم بر مقدار قندهای محلول معنی‌دار نبود (جدول ۱).

انباشت قندهای محلول در شرایط تنش علاوه بر نقش‌های فیزیولوژیک مهمی که از نظر تأمین انرژی و جلوگیری از مرگ سلول ایفا می‌کند، می‌تواند 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).

رنگیزه‌های فتوسنتزی

با وقوع تنش خشکی، محتوای کلروفیلی برگ به‌طور معنی‌داری کاهش یافت (جدول ۲). غلظت کلروفیل a در شرایط غیرتنش ۲۸٪ بیشتر از تنش خشکی بود. کاربرد ۹۰ میلی‌گرم نیتروژن در کیلوگرم 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٪ معنی‌دار بود (جدول ۲). برهمکنش تیمار آبیاری در کود نیتروژن در سطح احتمال ۵٪ معنی‌دار شد. به گونه‌ای که بیشترین غلظت کلروفیل a مربوط به تیمار N_2I_1 (۶۰ میلی‌گرم نیتروژن در کیلوگرم و

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

نیتروژن (میلیگرم در کیلوگرم)	کلروفیلa (میلی‌گرم بر گرم وزن تر)	کلروفیل b (میلی‌گرم بر گرم وزن تر)	کاروتن (میلی‌گرم بر گرم وزن تر)	پرولین (میلی‌گرم بر گرم وزن تر)	قند محلول (میلی‌گرم بر گرم وزن تر)	آسکوربات (میلی‌گرم بر گرم وزن تر)	عملکرد دانه (گرم در بوته)
۰	۰/۸۲ b	۰/۶۳ a	۰/۳۵۸ a	۰/۰۸۳ b	۱۱/۹۹ a	۳/۷۰ a	۶/۲ c
۳۰	۱/۱۳ a	۰/۶۹ a	۰/۳۶۴ a	۰/۰۹۵ ab	۱۲/۲۴ a	۴/۰۶ a	۹/۰ b
۶۰	۱/۲۹ a	۰/۸۰ a	۰/۳۵۴a	۰/۱۰۰ a	۱۳/۰۲ a	۴/۲۰ a	۱۱/۶ a
۹۰	۱/۱۲ a	۰/۷۵ a	۰/۳۶۴a	۰/۱۰۴ a	۱۴/۲۵ a	۳/۹۹ a	۱۱/۴ a
رژیم آبیاری							
شاهد	۱/۲۷ a	۰/۸۶ a	۰/۳۴۸ b	۰/۰۴۳b	۱۱/۴۶ b	۳/۵۱ b	۱۳/۹ a
تنش	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.

آبیاری کامل) و کمترین غلظت در تیمار N_1I_2 (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 لحاظ 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 کاروتن 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 کاروتن نداشتند. برهمکنش‌های موجود شامل آبیاری- نیتروژن، نیتروژن- رقم، آبیاری - رقم و اثر سه گانه نیتروژن- آب- رقم تأثیر معنی‌داری بر مقدار کاروتن گیاه نداشتند (جدول ۱).

غلظت آسکوربات شاخساره

در اثر تنش خشکی، در هر دو ژنوتیپ سورگوم، غلظت آسکوربات به طور معنی‌داری تغییر کرد (جدول ۱). سطوح مختلف کودی تأثیر معنی‌داری بر غلظت آسکوربات شاخساره 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 (صفر) 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_2I_2 (۳۰ میلی‌گرم نیتروژن در کیلوگرم خاک و تنش خشکی) و کمترین غلظت این ترکیب در تیمار N_1I_1 (بدون نیتروژن و تیمار آبیاری کامل) مشاهده شد (جدول ۳).

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

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

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 M_2
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.

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 ۲). اثر متقابل تیمار آبیاری در کود نیتروژن در سطح احتمال ۵٪ معنی‌دار شد. به گونه‌ای که بیشترین عملکرد دانه مربوط به تیمار N_2I_1 (۶۰ میلی‌گرم در کیلوگرم نیتروژن و آبیاری کامل) و کمترین عملکرد در تیمار N_1I_2 (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_1I_1 (رقم سپیده و آبیاری کامل) با مقدار عددی ۱۴/۵ گرم و کمترین عملکرد در تیمار C_1I_2 (رقم سپیده و تیمار تنش خشکی) مشاهده شد که نشان دهنده کاهش ۶۶ و

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	کاروتن	عملکرد دانه
آسکوربات	۱						
قندهای محلول	۰/۲۱۴ ns	۱					
پرولین	-۰/۱۸۲ ns	۰/۳۶۵ ns	۱				
کلروفیل a	-۰/۳۱۹ ns	-۰/۲۳۰ ns	۰/۱۵۴ ns	۱			
کلروفیل b	-۰/۱۹۵ ns	-۰/۳۸۰ ns	۰/۰۹۲ ns	۰/۶۰۲ **	۱		
کاروتن	۰/۱۷۲ ns	-۰/۱۰۶ ns	-۰/۱۵۱ ns	-۰/۰۴۸ ns	-۰/۱۹۵ ns	۱	
عملکرد دانه	-۰/۳۴۷ ns	۰/۱۹۰ ns	۰/۶۴۲ **	۰/۶۹۲ **	۰/۴۲۸ *	۰/۱۱۴ ns	۱

**، * و ns به ترتیب معنی‌دار در سطوح احتمال ۱٪ و ۵٪ و بدون اختلاف معنی‌دار

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 برخی 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 نظیر قندها، قندهای الکلی، آمینواسیدهای ویژه نظیر 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 به‌دست آمده، تنش خشکی موجب افزایش معنی‌دار قندهای محلول در ارقام سوگوم دانه‌ای شد. همچنین افزایش کاربرد کود نیتروژن اثر معنی‌داری بر غلظت قندهای محلول در گیاه نداشت (جدول ۲). دلایل عمده افزایش قندهای محلول طی تنش خشکی را می‌توان شامل: تخریب کربوهیدرات‌های نامحلول، متوقف شدن رشد و سنتز این ترکیبات از مسیرهای غیرفتوسنتزی دانست (۱).

ضرایب همبستگی ساده بین قندهای محلول گیاه در شرایط تنش خشکی و عملکرد دانه ارتباط مثبت و معنی‌داری را نشان داد ($r=۰/۵۱۵^*$) 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 تنش خشکی در ارقام سوگوم 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 آبگیری و تورژسانس سلول قابل توجیه می‌باشد (۱).

نتایج حاصل از پژوهش حاضر بیانگر افزایش آسکوربات طی تنش خشکی بود. آنتی‌اکسیدان‌هایی مانند آسکوربیک اسید و گلوتاتیون در کلروپلاست 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 کلروپلاست‌ها قرار دارد (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

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

صفات	آسکوربات	قندهای محلول	پرولین	کلروفیل a	کلروفیل b	کاروتن	عملکرد دانه
آسکوربات	۱						
قندهای محلول	۰/۰۹۸ ns	۱					
پرولین	۰/۲۵۶ ns	-۰/۰۹۵ ns	۱				
کلروفیل a	۰/۱۴۷ ns	-۰/۲۷۹ ns	۰/۰۶۳ ns	۱			
کلروفیل b	۰/۱۷۸ ns	-۰/۴۱۴ *	۰/۰۷۴ ns	۰/۷۰۷ **	۱		
کاروتن	۰/۰۴۵ ns	-۰/۰۳۴ ns	۰/۳۳۰ ns	۰/۱۹۹ ns	۰/۰۹۱ ns	۱	
عملکرد دانه	۰/۳۳۵ ns	۰/۵۱۵ *	۰/۴۶۵ *	۰/۰۳۳ ns	-۰/۱۹۴ ns	۰/۰۵۱ ns	۱

**، * و ns به ترتیب معنی‌دار در سطوح احتمال ۱٪ و ۵٪ و بدون اختلاف معنی‌دار

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 می‌شود (۲۰). در راستای پژوهش حاضر، روسالس و همکاران (۱۸) نیز به این نکته اشاره دارند که آسکوربات می‌تواند از پراکسیداسیون لیپیدی با حذف ROS ها جلوگیری کرده و محتوای مالون‌دی‌آلدئید (MDA) را کاهش دهد. از سوی دیگر، آسکوربات در احیای α- توکوفرول نقش دارد، که این ترکیب به همراه آسکوربات و کاروتنوئیدها که آنتی‌اکسیدان‌های متصل به غشا هستند در جلوگیری از پراکسیداسیون لیپیدی و در پایداری غشاها مؤثر می‌باشند (۱۷).

از سوی دیگر، تنش شدید خشکی سبب افزایش معنی‌دار پرولین در ارقام سورگوم دانه‌ای شد (جدول ۱). همچنین افزایش سطوح کودی سبب افزایش معنی‌داری در میزان پرولین شد که این امر بیانگر نقش نیتروژن در ساخت این اسید آمینه در گیاه می‌باشد. 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 تنش نیز عمل می‌کند. 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 تنش کمک می‌کند (۱۴).

ضرایب همبستگی ساده بین غلظت پرولین گیاه در شرایط تنش خشکی با عملکرد دانه ارتباط مثبت و معنی‌داری ($r=۰/۴۶۵^{*}$) را نشان داد که بیانگر اهمیت این اسیدآمینه در پایداری عملکرد در شرایط تنش می‌باشد. به عبارت دیگر، می‌توان گفت که بین غلظت پرولین و عملکرد دانه در شرایط تنش خشکی در ارقام سوگوم دانه‌ای رابطه مستقیمی وجود دارد (جدول ۶). این مطلب با توجه به نقش کلیدی اسیدآمینه پرولین به عنوان یک عامل مؤثر در کاهش میزان رادیکال‌های آزاد در سلول، حفظ تورژسانس سلولی و نقش محافظت کنندگی این اسیدآمینه در حفظ شکل و ساختار طبیعی درشت‌مولکول‌های سلولی قابل توجیه می‌باشد.

نتایج این تحقیق نشان داد که غلظت کلروفیل a و b در شرایط تنش کاهش یافت. این مسئله ممکن است به دلیل افزایش فعالیت کلروفیلاز به هنگام تنش خشکی باشد (۷). از طرفی انواع اکسیژن‌های فعال که طی تنش خشکی تولید می‌شوند باعث کاهش رنگیزه‌های فتوسنتزی می‌گردند (۱۹). با افزایش کاربرد کود نیتروژن، بر غلظت کلروفیل a افزوده شد (جدول ۲). نتایج به دست آمده نشان داد که با وقوع تنش، بر غلظت کاروتن افزوده شد (جدول ۱). کاروتن از جمله مهمترین کاروتنوئیدهاست که در شرایط تنش 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

آنتی‌اکسیدانی 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 =۰/۶۹۲** و r_b =۰/۴۲۸*) را نشان داد که بیانگر اهمیت رنگیزه‌های فتوسنتزی در عملکرد گیاه در شرایط طبیعی می‌باشد. به عبارت دیگر، می‌توان گفت که بین کلروفیل a، کلروفیل b و عملکرد دانه در شرایط بدون تنش در ارقام سوگوم دانه‌ای رابطه مستقیم وجود دارد (جدول ۶). این مطلب با توجه به نقش کلیدی رنگیزه‌های فتوسنتزی به عنوان یک عامل اساسی در فتوسنتز 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 سلول، 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. از جمله تغییرات مهم دیگر، افزایش در میزان کاروتن 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 غلظت کربوهیدرات‌های محلول شاخساره و غلظت پرولین در گیاه می‌باشند.

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): ۹-۱۷.

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. نظامی‌و ح. حسینی. ۱۳۸۴. اثرات تنش خشکی روی برخی خصوصیات مورفولوژیکی تعدادی از ژنوتیپ‌های نخود (*Cicer arietinum* L.) در شرایط گلخانه. مجله پژوهش‌های زراعی ایران ۳(۲): ۲۷۷-۲۸۹.

4. Abe, N., T. Murata and A. Hirota. 1998. Novel 1,1-diphenyl-2-picryhy- drazyl- 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, Cornawall, 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. Üstun. 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.