جهت تهیه فایل WORD این مقاله به سایت DaneshResan.com مراجعه نمایید و عنوان مقاله را جستجو کنید
بیش از ۲ میلیون مقاله فارسی در این سایت موجود میباشد

شناسایی مادهٔ آلوجیبریک اسید در پوشینهٔ گیاه *Aeluropus littoralis* و تأثیر آن بر جوانه‌زنی در سطوح مختلف شوری

نجمه نصیری[۱*]، قربانعلی نعمت‌زاده[۲] و احسان شکری[۳]

تاریخ دریافت: ۸۸/۱۲/۱۵ – تاریخ پذیرش: ۹۰/۲/۱۵

چکیده

به‌دست آوردن اطلاعات از گیاهان مقاوم به شوری لازمهٔ مدیریت اکوسیستم‌های مناطق خشک و نیمه‌خشک است. *Aeluropus littoralis* با نام فارسی بونی از خویشاوندان وحشی و بومی گندم است که از مدت‌ها پیش، از نظر ارزش مرتعداری و ویژگی‌های فیزیولوژیک مورد توجه بوده است. بیشتر گونه‌های این جنس شورپسند بوده که در خاک‌های شور می‌تواند چراگاه مناسب ایجاد کند. بررسی‌های متعددی در مورد اثر شوری بر روی جوانه‌زنی گیاهان هالوفیت صورت گرفته، اما اغلب این پژوهش‌ها تنها تأثیر نمک را بر روی جوانه‌زنی و رشد گیاه بررسی کرده‌اند و تاکنون تحقیقی در رابطه با تأثیر پوشینهٔ بذور و شناسایی ترکیبات آن بر روی جوانه‌زنی در سطوح مختلف شوری صورت نگرفته است. از این‌رو به‌منظور درک مکانیسم طبیعی جوانه‌زنی در این گیاه و نیز تأثیر پوشش بذر بر میزان جوانه‌زنی در سطوح مختلف شوری، آزمایشی در شرایط شوری ناشی از کلرورسدیم برای بذور با پوشینه و بدون پوشینه (لخت)، در قالب آزمایش فاکتوریل کاملاً تصادفی در ۳ تکرار صورت گرفت. در این آزمایش شوری در شش سطح (۵۰، ۱۰۰، ۱۵۰، ۲۰۰، ۳۰۰ و ۴۰۰ میلی‌مولار) و عامل نوع بذر در ۲ سطح (با پوشینه و بدون پوشینه) اعمال شد. نتایج آزمایش نشان داد که با افزایش تنش شوری در بذرهای با پوشینه و بدون پوشینه پارامترهای جوانه‌زنی کاهش پیدا می‌کند و این کاهش در بذرهای بدون پوشینه بیشتر از بذرهای با پوشینه بود. اثر متقابل شوری در پوشینه نیز در سطح احتمال ۵ درصد معنی‌دار شد. پیش‌بینی‌های اولیه حاکی از وجود ماده‌ای مؤثر و تأثیر آن بر میزان جوانه‌زنی در پوشینهٔ بذور بود، بنابراین به‌منظور شناسایی ترکیبات مؤثر بر میزان جوانه‌زنی، عصارهٔ متانولی از پوشینهٔ بذور تهیه شد. نتایج تجزیهٔ GC-MS نشان داد که مادهٔ آلوجیبریک اسید که یکی از مشتقات فیتوهورمون GA_3 است در پوشینهٔ بذرها وجو دارد، ازاین‌رو این ماده به‌عنوان یک عامل مهّم در تفاوت جوانه‌زنی در بذرهای با پوشینه و لخت در غلظت های مختلف شوری در نظر گرفته شد.

واژه‌های کلیدی: تنش شوری، جوانه‌زنی، *Aeluropus littoralis*، پوشینهٔ بذر، آلوجیبریک اسید.

۱- دانشجوی کارشناسی ارشد اصلاح نباتات، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری
*: نویسندهٔ مسئول: najmeh.nasiri@gmail.com
۲- استاد دانشکدهٔ علوم زراعی، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری، پژوهشکدهٔ ژنتیک و زیست‌فناوری کشاورزی طبرستان
۳- دانشجوی کارشناسی ارشد اصلاح نباتات، دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری

جهت تهیه فایل WORD این مقاله به سایت DaneshResan.com مراجعه نمایید و عنوان مقاله را جستجو کنید
بیش از ۲ میلیون مقاله فارسی در این سایت موجود میباشد

مقدمه

شوری از طریق افزایش فشار اسمزی و بالطبع کاهش جذب آب توسط بذرها و همچنین از طریق اثرات سمّی یون‌های سدیم و کلر، جوانه‌زنی بذرها را تحت تأثیر قرار می‌دهد (۳ و ۲۶). کاهش ویژگی‌های مختلف جوانه‌زنی را می‌توان به کاهش میزان و سرعت جذب آب (۷ و ۱۹) و همچنین تأثیر منفی پتانسیل‌های اسمزی کم حاصل از نمک و سمّیت یون‌ها بر فرآیندهای هیدرولیز آنزیمی مواد ذخیره ای بذرها و ساخت بافت‌های جدید با استفاده از موا د هیدرولیزشده نسبت داد. علاوه بر آن، شوری در مرحلهٔ جوانه‌زنی بذرها باعث آسیب دیدن غشاءهای سلولی، به‌ویژه غشای سیتوپلاسمی و در نتیجهٔ آن افزایش تراوایی غشاءها به‌دلیل Ca^{2+} به‌وسیله Na^{+} می‌شود که در نتیجهٔ آن تلفات K^{+} افزایش می‌یابد (۳۰). همچنین شوری موجب تغییر در تعادل عناصر غذایی، آب قابل دسترس خاک و کاهش کیفیت اراضی زراعی شده و ساختار بوم‌شناسی جوامع را تغییر داده و با اعمال تنش اسمزی، خشکی فیزیولوژیک را القاء کرده و در نتیجه میزان فتوسنتز و رشد گیاهی را کاهش می‌دهد (۲۲). فرآیند جوانه‌زدن بذر مشتمل بر: مکانیسم‌های مولکولی، بیوشیمیایی و فیزیولوژیک پیچیده‌ای است که طی آن، جنین از حالت سکون به حالت متابولیسمی فعال تغییر شکل می‌دهد (۱۷). تلاش‌های بسیاری تاکنون برای درک هرچه بهتر اثرات سوء شوری بر این مرحله از رشد گیاه انجام شده است (۱۵). به‌طورکلی خسارت شوری در گیاهان علاوه بر اثر اسمزی، سمّیت ویژهٔ یون‌ها، اختلال در جذب عناصر غذایی (۲۰ و ۲۵)، عدم تعادل عناصر، به‌هم خوردن نسبت‌های هورمونی، تغییر در فعالیت‌های آنزیمی، القای سایر تنش‌ها همانند تنش اکسیداتیو، موجب تغییراتی در مقدار و نوع مواد متابولیک تنظیم‌کنندهٔ رشد گیاه می‌شود و از این طریق سرعت رشد گیاه را تحت تأثیر قرار می‌دهد (۴ و ۶). بر اثر تنش شوری میزان و فعالیت هورمون‌های رشد مانند: اکسین‌ها، جیبرلین‌ها، سیتوکنین‌ها و دیگر مواد تحریک‌کنندهٔ رشد مانند پوترسین کاهش یافته در حالی‌که مواد کاهنده رشد مانند آبسزیک اسید افزایش می‌یابد. به‌طورکلی این تغییرات موجب کاهش رشد در گیاهان می‌شود (۲۵). از میان تنظیم‌کننده‌های رشد نقش جیبرلیک اسید (GA_3) در کاهش اثرات سوء شوری در مراحل مختلف رشد و بالاخص جوانه‌زنی به‌خوبی مطالعه شده است. گزارش‌های زیادی بر سودمندی و اثرات نافع جیبرلیک اسید در شرایط تنش شوری اشاره کرده‌اند (۲، ۸، ۱۶ و ۳۰) و همچنان تحقیقات برای فهم بهتر مکانیسم‌های پیچیدهٔ آن ادامه دارد (۹، ۱۱، ۱۷ و ۲۱).

اگرچه هالوفیت‌ها فقط ۲ درصد گونه‌های گیاهی موجود را شامل می‌شوند، اما جنبه‌های حیرت‌انگیزی از کاربرد گیاهان هالوفیت در جهان وجود دارد. این گیاهان برای تأمین روغن، تغذیهٔ دام، سوخت و ... استفاده می‌شوند. از آنجایی‌که روز به روز بر جمعیت دنیا افزوده می‌شود. تأکید بیشتر بر استفاده از منابع گیاهانی است که با تغییر شرایط محیط سازگارند. گیاهان سازگار با نمک در اغلب محیط‌های شور و خشک دنیا یافت می‌شوند. تحقیقات شورزیستی با تأکید بر استفاده از آب شور (آب دریا، دریاچه‌های شور، آب‌های زهکش و ...) مطالعات را به طرف گیاهانی که در برابر شوری مقاوم‌اند، سوق داده است (۱۲). مطالعه بر روی گیاهان هالوفیت علاوه بر این که امکان بررسی مکانیسم‌های مقاومت به شوری را در این گیاهان ممکن می‌کند، موجب فراهم‌سازی اطلاعاتی می‌شود که می‌تواند از طریق مهندسی ژنتیک برای افزایش میزان تولید و تحمل نسبت به شوری در دیگر گونه‌های گیاهی به‌کار رود (۱۳ و ۲۳). از آنجایی‌که بخش قابل توجهی از اکوسیستم‌های طبیعی و زراعی دنیا تحت تنش شوری قرار دارند و با توجه به تنوع گیاهان شورزی که قادر به زیستن در چنین محیط‌هایی هستند، شناسایی مکانیسم گیاهان هالوفیت در مرحلهٔ جوانه‌زنی در برابر شوری حایز اهمیت است. قدرت یک بذر هالوفیت در جوانه‌زنی و تولید گیاهچه در شرایط تنش شوری نشان‌دهندهٔ این است که آن بذر دارای ظرفیت ژنتیکی لازم برای تحمل به شوری است (۷). هالوفیت‌های مختلف مکانیسم‌های متفاوتی از تنظیم و جذب نمک را نشان می‌دهند به‌طوری‌که نه تنها در شرایط شوری بالا زنده می‌مانند، بلکه در این شرایط رشد نیز می‌کنند. به‌دلیل اینکه جوانه‌زنی مرحله‌ای مهم و اساسی در زندگی اغلب گیاهان است و برای استقرار و تثبیت گیاهانی که در خاک‌های شور به‌سر می‌برند، تحمل شوری در مرحلهٔ

جهت تهیه فایل WORD این مقاله به سایت DaneshResan.com مراجعه نمایید و عنوان مقاله را جستجو کنید
بیش از ۲ میلیون مقاله فارسی در این سایت موجود میباشد

جوانه‌زنی از اهمیت ویژه‌ای برخوردار است (۱۴)، تحقیق حاضر نیز با همین دیدگاه بر روی گونهٔ *A. littoralis* انجام شده است. تحقیقات متعددی در مورد اثر شوری بر روی جوانه‌زنی گیاهان هالوفیت انجام شده است، اما اغلب این مطالعات تنها تأثیر نمک را بر روی جوانه‌زنی و رشد گیاه بررسی کرده‌اند و تاکنون تحقیقی در رابطه با تأثیر پوشینهٔ بذور و شناسایی ترکیبات آن بر روی جوانه‌زنی در سطوح مختلف شوری انجام نشده است، لذا در این تحقیق نقش پوشینهٔ بذر و ترکیبات آن بر روی پارامترهای جوانه‌زنی در سطوح مختلف شوری در گونهٔ *A. littoralis* بررسی شد.

ویژگی‌های گونهٔ مورد مطالعه

A. littoralis گیاهی است از خانوادهٔ گرامینه، پایا، دارای ریشه‌های فیبری و ریزوم روندهٔ افقی، ساقهٔ ایستاده، خوابیده یا رونده، استولون‌دار که به‌طول ۳۰ سانتی‌متر است. مرحلهٔ رشد رویشی از اوایل اسفندماه تا اوایل خرداد ماه و مرحلهٔ بذردهی از اواسط تیرماه تا اوایل مردادماه ادامه دارد (۱). این گیاه علفی چندساله در مناطق بیابانی و کویری ایران یافت می‌شود (۳). این گونه از خویشاوندان وحشی و بومی گندم است که از مدت‌ها پیش، از نظر ارزش مرتعداری و ویژگی‌های فیزیولوژیک مورد توجه بوده است (۲۹). این گیاه به‌خوبی رشد می‌کند و چراگاه خوبی می‌سازد. سیستم فتوسنتز این گیاه C_4 است (۳) و از نظر ژنتیکی به‌صورت 2n=4X=40 است (۱۸، ۲۴ و ۳۰). این گیاه می‌تواند در خاک‌هایی با هدایت الکتریکی (EC) ۱۷/۵ تا ۶۲ دسی زیمنس بر متر رشد کند. همچنین از نظر مقاومت به شوری یک Obligate Halophyte (به شدت به شوری سازگاری یافته و اغلب در زمین‌های شور یافت می‌شود) و از نظر زیستن در مناطق شور یک گیاه Euhalophytes (در خاک‌هایی با شوری زیاد رشد می‌کند) و از نظر تأمین آب مورد نیاز خود یک گیاه Tricohydrophytes (می‌تواند آب مورد نیاز خود را از آب مویینه‌ای و از سطح آب زیرزمینی تا عمق ۲ متر تأمین کند) است (۵ و ۳۱).

روش تحقیق

این تحقیق در محل پژوهشکدهٔ ژنتیک و زیست‌فناوری کشاورزی طبرستان در دو آزمایش جداگانه بر روی جوانه‌زنی بذرهای با پوشینه و بدون پوشینه تحت شرایط مختلف تنش شوری انجام شد.

جمع‌آوری مواد گیاهی و نحوهٔ اعمال تیمارها

به‌منظور بررسی تأثیر مقادیر مختلف شوری بر روی بذرهای با پوشینه و بدون پوشینه، ابتدا بذرهای گونهٔ *A. littoralis* از منطقهٔ رودشت استان اصفهان جمع‌آوری و به آزمایشگاه انتقال یافت. برای تهیه بذرهای بدون پوشینه، پوشینه‌های بذرها با دقّت زیاد در زیر بینوکولار جداسازی شد به‌طوری‌که به جنین بذرها آسیبی نرسد. سپس بذرها با محلول هیپوکلرید سدیم ۱۰ درصد به‌مدت ۵ دقیقه ضدعفونی شدند (برای تأثیر هر چه بیشتر هیپوکلرید سدیم، در داخل محیط ضدعفونی یک قطره توئین نیز اضافه شد) و ۱۰-۵ مرتبه با آب مقطر شستشو داده شدند. سپس تعداد ۱۰۰ عدد بذر (در کل تعداد ۴۲۰۰ بذر) از هر نوع با پوشینه و بدون پوشینه در پتری دیش‌های ۹ سانتی‌متری که با کاغذ صافی اتوکلاو شده مفروش شده بودند، قرار داده شد. پس از کشت بذور، تیمارهای شوری به‌طور یکسان (۳ میلی‌لیتر در هر پتری دیش) به‌نحوی اعمال شد که بذور در شرایط غرقابی قرار نگیرند. سپس پتری‌دیش‌ها به اتاقک رشد با دمای ثابت ۲±۲۵ و فتوپریود ۱۶ ساعت روشنایی و ۸ ساعت تاریکی منتقل شدند. به‌منظور جلوگیری از تبخیر آب، درب پتری‌ها با پارافیلم مسدود شد. در طول آزمایش ظروف به طور روزانه از لحاظ میزان آب و عدم آلودگی قارچی مورد بررسی قرار گرفتند. لازم به ذکر است که قبل از انجام آزمایش ابتدا تمامی وسایل مورد نیاز در اتوکلاو در دمای ۱۲۱ درجهٔ سانتی‌گراد به‌مدت ۲۰ دقیقه ضدعفونی و محیط کار نیز توسط اشعهٔ UV سترون شد.

شاخص‌های جوانه زنی مورد بررسی

تعداد بذرهای جوانه‌زده از روز دوم با فاصلهٔ زمانی مشخص (هر ۲ روز یکبار) شمارش شدند (بذوری جوانه زده محسوب می‌شدند که طول ریشه‌چه آنها حداقل ۳

میلی‌متر باشد) و این شمارش تا هنگامی‌که تعداد بذرهای جوانه‌زده در چند شمارش متوالی یکسان بود، ادامه یافت. بعد از روز شانزدهم (از زمان کاشت)، شاخص‌های جوانه‌زنی به‌شرح زیر محاسبه شد:

درصد جوانه‌زنی نهایی بذرها $(GP) = (n/N)\times100$

سرعت جوانه‌زنی $(GR) = \Sigma(G/t)$

که در آن N: تعداد کل بذور، G: درصد بذور جوانه‌زده در هر روز و t: روزهای شمارش هستند.

آماده‌سازی نمونه و شناسایی ترکیب‌های عصاره

استخراج عصاره: برای تهیهٔ عصارهٔ متانولی، مقدار ۰/۰۵ گرم پوستهٔ بذر را با ۱۰۰ میلی‌لیتر متانول HPLC در یک ارلن سر سمباده‌دار ۲۰۰ میلی‌لیتری مخلوط کرده و به مدت ۲۴ ساعت در انکوباتور شیکردار با حرارت ملایم قرار داده و سپس محتویات ارلن از صافی عبور داده شد. در ادامه با استفاده از دستگاه تقطیر در خلاء، محلول آماده شده در حرارت ۵ ± ۳۵ درجهٔ سانتی‌گراد تا یک دهم حجم اولیه غلیظ شد.

تزریق به دستگاه GC-MS: تجزیه و شناسایی ترکیبات تشکیل‌دهندهٔ عصاره با دستگاه کروماتوگرافی گازی متصل به آشکارساز جرمی (GC/MS) صورت گرفت. یک میکرولیتر عصارهٔ رقیق‌شده با حلال دی‌کلرومتان به دستگاه تزریق شد. مشخصات دستگاه مورد استفاده به شرح زیر است:

دستگاه کروماتوگرافی گازی مدل GC-MS Agillent مدل ۶۸۹۰N و ستون HP5 (به ابعاد ۶۰ متر ×۰/۲۵میلی‌متر و ضخامت فیلم ۰/۲۵میلی‌متر)، برنامه‌ریزی حرارتی از ۵۰ تا ۲۸۰ درجهٔ سانتی‌گراد تنظیم شد. دمای اولیه ستون به‌مدت ۵ دقیقه در ۷۰ درجهٔ سانتی‌گراد نگهداشته شد و سپس تا ۲۸۰ درجهٔ سانتی‌گراد با سرعت ۵ درجهٔ سانتی‌گراد افزایش یافت. شناسایی ترکیبات موجود در عصاره با مقایسه طیف‌های جرمی و زمان‌های بازداری به‌دست آمده با طیف‌های جرمی و زمان‌های بازداری ترکیبات کتابخانه‌ها و بانک‌های اطلاعاتی دستگاه مورد مطالعه قرار گرفت.

تجزیه و تحلیل آماری: آزمایش به‌صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار و در هر تکرار ۱۰۰ بذر انجام شد. فاکتورهای آزمایش شامل: نوع بذر (با پوشینه و بدون پوشینه) و شوری (در ۶ سطح ۵۰، ۱۰۰، ۱۵۰، ۲۰۰، ۳۰۰ و ۴۰۰ میلی مولار نمک کلریدسدیم و شاهد (آب مقطر)) بود. داده‌های حاصل در نهایت با استفاده از نرم‌افزارهای آماری SPSS ۱۰ و MSTAT-C تجزیه و تحلیل شد. نمودارها به کمک نرم‌افزار ۲۰۰۳ Excel رسم شدند و مقایسهٔ میانگین داده‌ها از طریق آزمون چند دامنه‌ای دانکن انجام شد.

نتایج

اثر شوری بر درصد جوانه‌زنی نهایی بذرها

نتایج آزمایش نشان داد که جوانه‌زنی بذور با پوشینه و بدون پوشینه به‌طور معنی‌داری ($p<۰/۰۱$) تحت تأثیر غلظت‌های مختلف نمک قرار گرفت. بیشترین درصد جوانه‌زنی در محلول شاهد (آب مقطر) و کمترین مقدار آن در تیمار ۴۰۰ میلی‌مولار به‌دست آمد. همچنین اثر متقابل بین پوشینه و غلظت‌های مختلف شوری در سطح ۵ درصد معنی‌دار شد (جدول ۱)، یعنی بین میزان جوانه‌زنی بذور با پوشینه و بدون پوشینه در سطوح مختلف شوری اختلاف معنی‌داری وجود دارد. بذور با پوشینه دارای جوانه‌زنی ۷۸ درصد نسبت به تیمار شاهد و بذور بدون پوشینه دارای جوانه‌زنی ۶۵ درصد بودند (شکل ۱). جوانه‌زنی بذور با پوشینه و بدون پوشینه با افزایش شوری کاهش پیدا کرده است و بیشترین کاهش در سطح ۴۰۰ میلی‌مولار مشاهده می‌شود، به‌طوری‌که در بذور بدون پوشینه تنها ۳/۶۶ درصد و در بذور با پوشینه ۸/۳۳ درصد از بذور جوانه زده‌اند (شکل ۱). درصد جوانه‌زنی بذرهای بدون پوشینه در غلظت ۲۰۰، ۳۰۰ و ۴۰۰ میلی‌مولار NaCl به‌ترتیب برابر با ۲۱/۳۳، ۴/۳۳ و ۳/۶۶ و درصد جوانه‌زنی بذرهای با پوشینه در غلظت‌های ذکرشده به‌ترتیب برابر با ۵۰، ۱۸ و ۸/۶۶ است. همچنین نتایج آزمایش نشان داد که فرم جوانه‌زنی روزانهٔ بذرهای پوشینه‌دار و بدون پوشینه در شوری‌های مختلف تقریباً از یک الگو پیروی می‌کنند و همان‌طور که درشکل ۲ (الف و ب) ملاحظه می‌شود، هر دو نوع بذر در روز دوم تا دوازدهم روند افزایشی دارند و در روزهای ۱۲ تا ۱۴ تنها چند درصد بذور جوانه می‌زنند. بر اساس شکل ۲ (الف و ب) عمده تفاوت در روند روزانه

جوانه‌زنی بین بذرهای مورد آزمایش در سطوح ۳۰۰ و ۴۰۰ میلی‌مولار مشاهده می‌شود به‌نحوی که بذرهای بدون پوشینه علاوه بر این که در این سطوح بالاتر شوری دیرتر شروع به جوانه‌زدن کردند، بلکه روند جوانه‌زنی در آنها با سرعت کندتری پیش رفته و زودتر (از روز دوازدهم) متوقف شده‌اند، در حالی‌که بذرهای پوشینه‌دار زودتر جوانه می‌زنند و روند جوانه‌زنی آنها با سرعت بیشتری پیش می‌رود و همچنان در روز ۱۶ ام بالاخص در سطح ۴۰۰ میلی‌مولار روند افزایشی خود را حفظ کرده‌اند. همچنان در روز ۱۶ام بالاخص در سطح ۴۰۰ میلی‌مولار روند افزایشی خود را حفظ کرده‌اند.

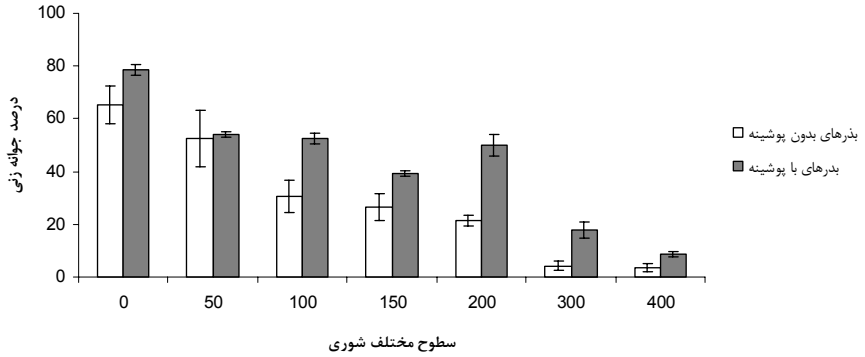
اثر شوری بر درصد جوانه زنی نهایی بذرها در روز

اولین روز جوانه‌زنی بذر در غلظت‌های مختلف شوری نشان‌دهندهٔ اثر تنش‌های محیطی درآغاز فعالیت جوانه‌زنی است. با افزایش تعداد روز میزان جوانه‌زنی افزایش پیدا می‌کند (شکل۲) اما این میزان تا جایی ادامه پیدا می‌کند که بذر گیاه برای مقابله با تنش از جوانه‌زنی پرهیز می‌کند اما خصلت جوانه‌زنی آن از دست نرفته است. همان طور که در شکل ۳ ملاحظه می‌شود درصد جوانه‌زنی بذرهای با پوشینه (به‌جز روز چهارم در غلظت ۵۰ میلی‌مولار کلریدسدیم) بیشتر از بذرهای با پوشینه است، که این امر نشان‌دهندهٔ تأثیر پوشینه بر روی جوانه‌زنی بذور است.

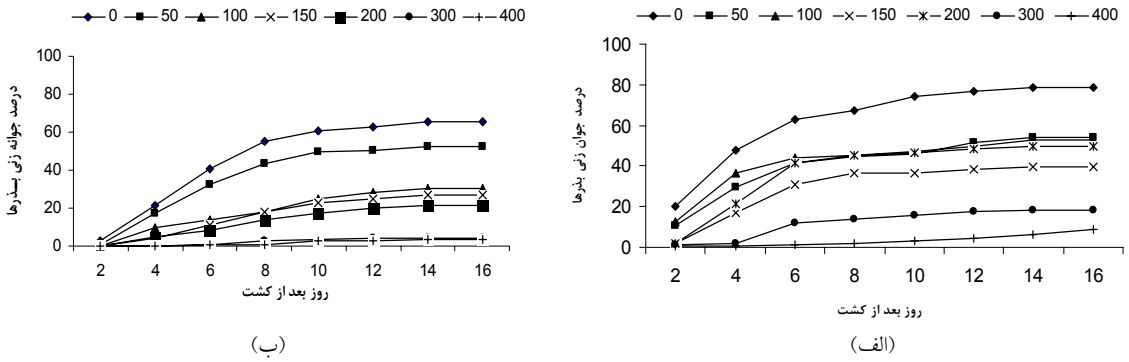
جدول ۱- نتایج تجزیهٔ واریانس (درصد و سرعت جوانه‌زنی) بذرهای با پوشینه و بدون پوشینه

منابع تغییرات	درجهٔ آزادی	میانگین مربعات		F	
		سرعت جوانه‌زنی	درصد جوانه‌زنی	سرعت جوانه‌زنی	درصد جوانه‌زنی
شوری	۶	۰/۰۱۸۱	۰/۳۰۹	۱۲۷/۵۲۸**	۶۵/۰۶۲ **
نوع بذر	۱	۰/۰۲۸۹	۰/۱۵۷	۲۰۲/۸۲۷**	۳۳/۰۹۱**
شوری× نوع بذر	۶	۰/۰۱۷۲	۰/۰۱۱۸	۱۲/۰۷۳**	۲/۵*
خطا	۲۸	۰/۰۰۰۱۴	۰/۰۰۴۷		

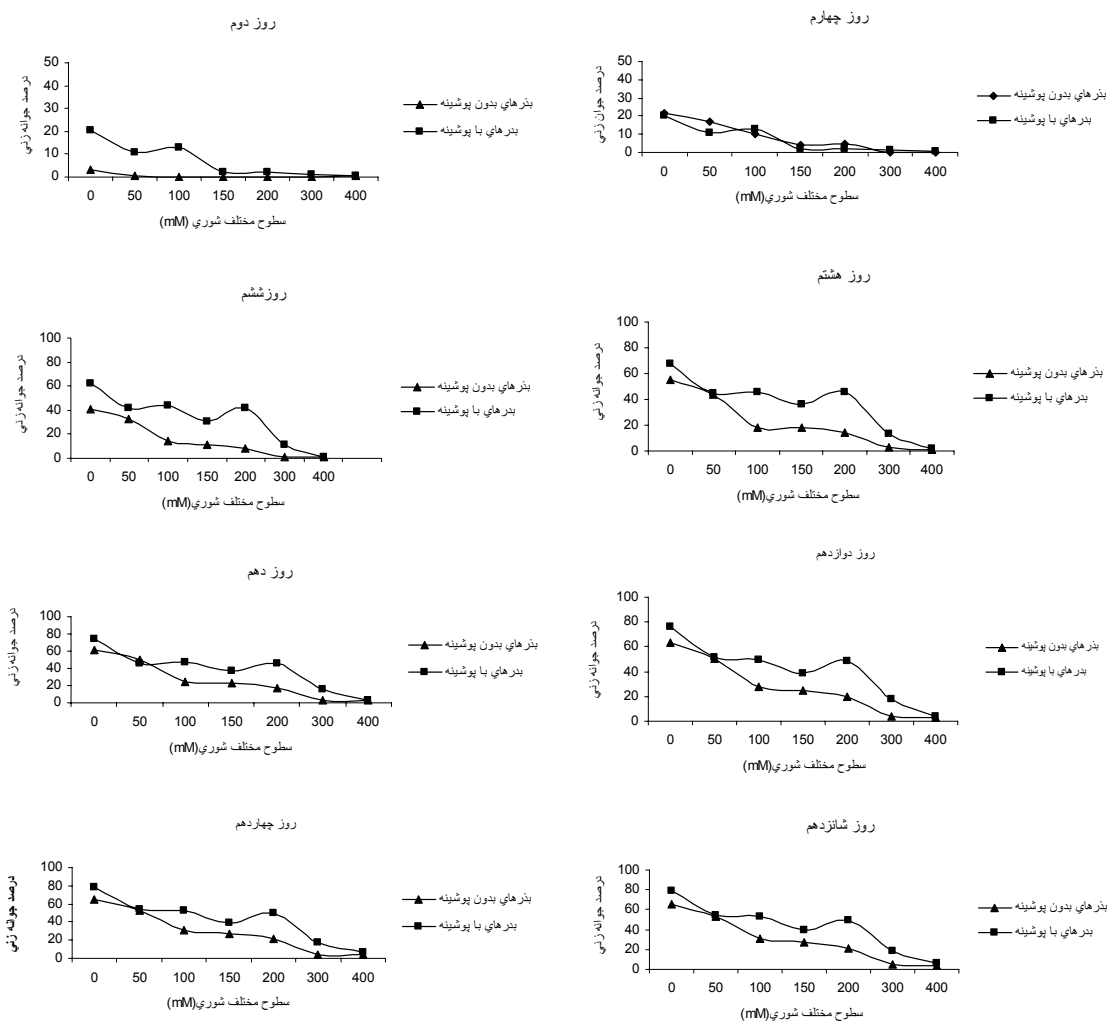
* و ** به‌ترتیب معنی‌داری در سطح احتمال ۵ و یک درصد را نشان می‌دهند



شکل ۱- مقایسهٔ درصد جوانه زنی نهایی بذرهای با پوشینه و بدون پوشینه



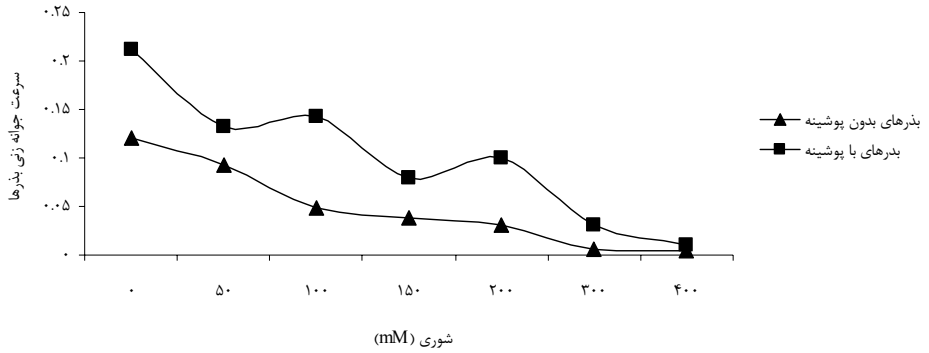
شکل ۲- نمودار میانگین درصد جوانه‌زنی نهایی بذرهای با پوشینه (الف) و بدون پوشینه (ب) در سطوح مختلف



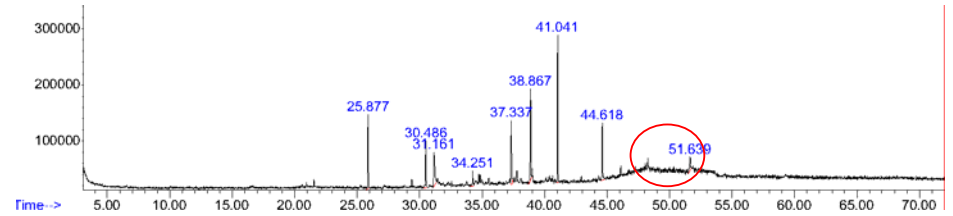
شکل ۳- نمودار میانگین درصد جوانه‌زنی بذرهای با پوشینه و بدون پوشینه در سطوح مختلف شوری در یک دورۀ ۱۶ روزه

اثر شوری بر سرعت جوانه‌زنی نهایی بذرها

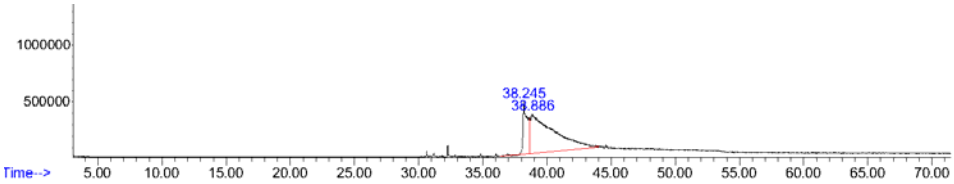
سرعت جوانه‌زنی با افزایش شوری در بذرهای با پوشینه و بدون پوشینه کاهش یافت. به‌طوری‌که بالاترین سرعت جوانه‌زنی در بذرهای با پوشینه و بدون پوشینه در تیمار شاهد و پایین‌ترین سرعت جوانه‌زنی در تیمار ۴۰۰ میلی‌مولار مشاهده شد. روند کاهش سرعت جوانه‌زنی از سطح شوری ۲۰۰ میلی‌مولار به بعد از شدت بالاتری در بذرهای بدون پوشینه برخوردار بود، به‌طوری‌که با افزایش شوری از سطح ۲۰۰ میلی‌مولار به ۴۰۰ میلی‌مولار حدود ۲۵ درصد کاهش در سرعت جوانه‌زنی مشاهده شد در حالی‌که این کاهش در بذرهای با پوشینه حدود ۹ درصد بود (شکل ۴). سرعت جوانه‌زنی در روز نیز مانند درصد جوانه‌زنی در بذرهای بدون پوشینه با سرعت بیشتری در سطوح مختلف شوری کاهش پیدا می‌کند.



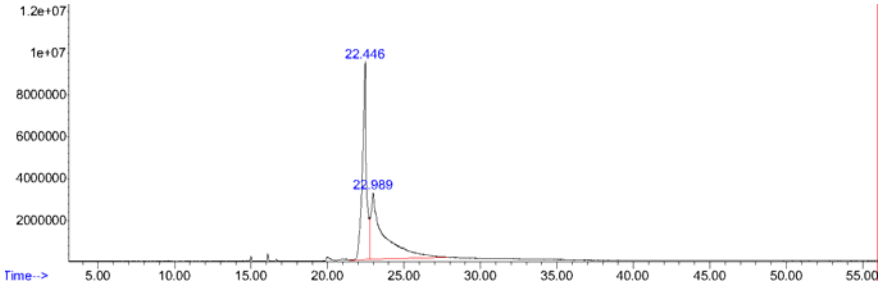
شکل ۴- نموار مقایسهٔ سرعت جوانه‌زنی بذرهای با پوشینه و بدون پوشینه



(الف)



(ب)




```
The 3 best hits from each library.          Ref\#    CAS\#       Qual
-------------------------------------------------------------------
    C:\Database\wiley7n.l
     1 Allogibberic acid                     231236 000427-79-2    99
```

(ج)

شکل ۵- طیف‌های به‌دست آمده از ترکیبات پوشینه توسط دستگاه کروماتوگرافی گازی با آشکارساز جرمی (الف)، طیف جذبی استاندارد آلوجیبیریک اسید (ب)، طیف جذبی استاندارد آلوجیبیریک اسید همراه با عصارهٔ پوسته (ج)

تجزیهٔ GC-MS

عصارهٔ تهیه‌شده از پوشینه تحت شرایط دمایی مختلف به دستگاه GC-MS تزریق شد. نتایج حاصل از تزریق نشان داد که در پوشینه، ترکیب آلوجیبیرلیک اسید که یکی از مشتقات هورمون جیبیرلیک (GA_3) است، وجود دارد (شکل ۵- الف)، سپس در ادامه برای تأیید بیشتر

نتیجهٔ به‌دست آمده و همچنین کمّیت‌سنجی ترکیب یاد شده، از استاندارد آلوجیبیریک اسید شرکت MERK استفاده شد (شکل ۵-ب). با مقایسهٔ طیف‌های GC و زمان‌های بازداری به‌دست آمده از عصارهٔ پوشینه با استاندارد آلوجیبیریک اسید وجود ترکیب آلوجیبیریک اسید با احتمال ۹۹ درصد در پوشینه شناسایی شد (شکل ۵-ج). شایان ذکر است که این ترکیب در عصارهٔ بذرهای بدون پوشینه شناسایی نشد.

بحث و نتیجه‌گیری

اثرات بازدارندگی نمک روی جوانه‌زنی بذر می‌تواند به دلیل تأثیر مستقیم آن بر روی رشد جنین باشد، محققین دریافتند که طویل شدن محور جنینی تحت تأثیر غلظت‌های مختلف نمک کاهش پیدا می‌کند (۲۶) همچنین کاهش درصد جوانه‌زنی علاوه بر اثر اسمزی که باعث کاهش جذب در اثر سمّیت ویژهٔ یون‌ها می‌شود ممکن است به‌دلیل اختلال در جذب عناصر غذایی نیز باشد، که این مطلب توسط صفرنژاد و همکاران (۱۹۹۶)، پنیولاس[1] و همکاران (۱۹۹۷) و شلهوت[2] و همکاران (۱۹۹۵) تأیید شده است. جیبرلین می‌تواند از طرق مختلفی باعث تنظیم عمل جوانه‌زنی شود. این هورمون پتانسیل رشد جنین را از طریق تسهیل در حرکت اندوختهٔ بذر به سمت جنین در حال رشد افزایش می‌دهد و همچنین باعث تضعیف و سست شدن لایه‌های پوشانندهٔ بذر بالاخص در محل خروج ریشه‌چه می‌شود و در سطح ژن نیز اثرات تنظیمی دارد(۲۱ و ۳۰). به‌عنوان مثال در این خصوص تحریک سنتز mRNAهای ویژهٔ آنزیم آلفا آمیلاز به اثرات این هورمون نسبت داده می‌شود. تنش شوری با کاهش بیوسنتز هورمون جیبیرلین باعث تأخیر در جوانه‌زنی می شود. در واقع شوری‌های زیاد با اعمال اثر در مسیر بیوسنتزی هورمون جیبیرلین باعث کاهش فعالیت، سرکوب کردن و خاموشی برخی ژن‌های کد کنندهٔ آنزیم‌های مهم در مسیر بیوسنتز جیبیرلین می‌شوند. بیوسنتز جیبیرلین در بذرهای در حال نمو بسیاری از گونه‌ها منجر به تجمع و ذخیرهٔ پروکاسورها، مشتقات غیرزیست فعال و یا جیبرلیک اسید زیست فعال در بخش‌های مختلف بذر می‌شود (۳۰). یافته‌های پژوهش حاضر نشان می‌دهد که جوانه‌زنی بذور *A. littoralis* به‌طور معنی‌داری تحت تأثیر غلظت کلریدسدیم، پوشینه و اثر متقابل آنها قرار گرفته است. بر این اساس به‌نظر می‌رسد پوشینه دارای نقش مهمی در تحمل به شوری بذور هالوفیت مورد بررسی در مرحلهٔ جوانه‌زنی است. تأثیر پوشینه در تخفیف اثرات بازدارندهٔ شوری در مرحلهٔ جوانه‌زنی می‌تواند ناشی از اثرات بیوفیزیکی، بیوشیمیایی و اثرات تلفیقی آنها باشد. در همین راستا وجود ترکیب آلوجیبیریک اسید در پوشینه بذور این گیاه را می‌توان یک نوع راهکار بیوشیمیایی در مقابله با تنش‌های محیطی محسوب کرد. در واقع به‌نظر می‌رسد مکانیسم‌هایی در بذور در حال نمو این هالوفیت تکامل یافته‌اند که منجر به ذخیره‌سازی هورمون جیبیرلین در بخش‌های مشخصی از بذور و پوشینه‌ها می‌شوند. آلوجیبریک اسید ترکیبی است که در اثر هیدرولیز اسیدی ملایم جیبرلیک اسید و از طریق آروماتیکی شدن حلقهٔ A به‌وجود می‌آید، بنابراین آلوجیبریک اسید با جیبرلین فقط در حلقهٔ A تفاوت دارد. هرچند درخصوص نقش آلوجیبیرک اسید در شرایط تنش شوری مطالعه‌ای انجام نشده است امّا گریفیث و همکاران (۱۹۶۴) در یک بررسی نشان دادند که ترکیب یادشده تقریباً همانند سایر جیبیرلین‌ها باعث تحریک عمل جوانه‌زنی در جو می‌شود. طبق نتایج این محققان فعالیت نسبی آلوجیبریک اسید از لحاظ میزان تأثیرگذاری بر جوانه‌زنی از هورمون‌های A_1, A_7, A_4, A_3 و A_8 کمتر و از A_9 بیشتر است.

با توجه به اثرات گزارش‌شده؛ آلوجیبیریک اسید در جوانه‌زنی تحت شرایط بدون تنش و همچنین با توجه به یافته‌های پژوهش حاضر می‌توان بخشی از تفاوت مشاهده‌شده در میزان جوانه‌زنی بذور پوشینه‌دار و بدون پوشینه را مربوط به اثرات این ترکیب دانست. البته انجام تحقیقات بیشتر برای تعیین میزان اثر بخشی ترکیب ذکرشده در محیط‌های شور ضروری است. بر اساس دانش فعلی ما، پژوهش حاضر نخستین تلاش برای درک اثرات پوشینهٔ بذر در جوانه‌زنی تحت شرایط تنش شوری محسوب می شود. بدیهی است تلاش‌هایی از این دست که

1-. Penuelas
2- Shalhevet

سعی در شناسایی مکانیسم تحمل نمک در سطح فیزیولوژی مولکولی را دارند موجب فراهم‌سازی اطلاعاتی می‌شوند که می‌تواند از لحاظ مهندسی ژنتیک برای افزایش میزان تولید و تحمل به شوری در سایر گونه‌های رایج زراعی، دارویی و تجاری کارآمد باشند.

تشکر و قدردانی

از ریاست پژوهشکدهٔ ژنتیک و زیست‌فناوری کشاورزی طبرستان که همکاری‌های لازم را در این پژوهش داشتند، تشکر و قدردانی می‌شود.

منابع

1. Abarsaji, G.H., 1996. Survey of *Aeluropus* habitats in saline and alkaline pasture north of Gorgan. A Thesis Presented for the degree of MS.c in Agriculture and Natural Recourse University, Gorgan University, 235p. (In Persian)
2. Afroz, S., M. Firoz, S. Hayat & M.H. Siddiqui, 2005. Exogenous application of gibberellic acid counteracts the ill effect of sodium chloride in mustard, Turk J. Biol, 29:233-236.
3. Akhani, H & M. Ghorbanli, 1993. A contribution to the halophytic vegetation and flora of Iran, Towards the rational use of high salinity tolerant plant, 1:35-44, (In Persian).
4. Arshi, A., M.Z. Abdin & M. Iqbal, 2002. Growth and metabolism of senna as affected by salt stress, Biologia Plantarum, 45(2): 295-296.
5. Asri, Y., 1988. Vegetation of salty lands on Uromie Lake, Research Institute of Forests and Rangelands, 191: 125p. (In Persian)
6. Basra, A.S & P.K Basra, 1997. Mechanisms of environmental stress resistance in Plants. Hardwood Academic Publishers, 83-111pp.
7. Chadho, K & G. Rajender, 1995. Advance in Horticulture Medicinal and Aromatic Plants, Maldorta. Pub. New Delhi, 11:165-167.
8. Chakraborti, N., & S. Mukherji, 2003. Effect of phytohormone pretreatment on nitrogen metabolism in Vigna radiata under salt stress, Biol. Plant, 46:63-66.
9. Fan, L., X. Feng & X.W. Deng, 2007. Gibberellins Signal Transduction in Rice, Journal of Integrative Plant Biology, 49(6): 731−741.
10. Griffiths, C., M. MacWilliam & T. Reynolds, 1964. Relative Activity of Gibberellins and their Derivatives on Barley, Nature, 202(4936): 1026-1027.
11. Hedden, P., & A.L. Phillips, 2000. Gibberellins metabolism: new insights revealed by the genes,Trends Plant Sci., 5:523-530.
12. Heidari Sharif Abad, H., 2001. Plant and Salinity. Research Institute of Forests and Rangelands. 200p. (In Persian)
13. Humaria, M., I.S. Shoaib, A. Farkhunda & A. Rafig, 1995. Studies on growth and salt regulation in some halophytes as influenced by edifice and climatic condition, Pakistan J. of Botany, 27(1): 151-163.
14. Karimi, G.H., H. Heidari Sharif Abad & M.H Osareh, 2003. Effect of salinity stress on germination, seedling establishment and praline content in *Atriplex verrucifera*, Iranian J. of genetic and range plant breeding research, 12(4):419-439. (In Persian)
15. Khan, M.A & S. Gulzar, 2003a. Germination responses of *Sporobolus ioclados*, A salin desert grass. J. of Arid Environments, 55:453-464.
16. Khan, N.A., H.R. Ansari, M. Khan, & R. Mir Samiullah, 2002. Effect of phytohormones on growth and yield of Indian mustard, Indian J. Plant Physiol, 7:75-78.
17. Kochaki, E., A. Soltani & M. Azizi, 1996. Physiological Plant Ecology, Jahad daneshgahi of Mashhad publications, 513p. (In Persian)
18. Moinuddin, M., A.A. Vahidy & S.I. Ali, 1994. Chromosome counts in Arundinoideae, Chlorinoideae and Poideae (Poaceae) from Pakistan, Ann. Missouri. Botanicals Garden, 81: 784-791.
19. Moons, A., G. Bauw, M.V. Montagu & D. Van Der Stratent, 1995. Molecular and physiological salt tolerance of indicia rice varieties, Plant Physiol, 107: 177-186.
20. Xiaomu, N., R.A. Bressan, P.M. Hasegawa & J.M. Pardo, 1995. Ion homeostasis in NaCl stress environments, Plant Physiol, 109:735-742.
21. Olszewski, N., T.P Sun & F. Gubler, 2002. Gibberellins signaling: biosynthesis, catabolism, and response pathways, Plant Cell, 14: 61-80.
22. Penuelas, J., R. Isla, I. Filella & J.L. Araus, 1997. Visible and near- infrared reflectance assessment of salinity effects on barley, Crop Sci, 37:198-202.
23. Pouresmaeil, M., M. Ghorbanli & M. Khavarinejhad, 2003. Effect of salinity on germination, fresh and dry mass, ion content, praline, soluble sugar and starch content in *Suaeda Fruticosa*, Desert Jl, 10(2):257-267, (In Persian).
24. Razavi, K.H., M.A. Malboobi, S.F. Aschtiani & F. Ghanati, 2005. Physiological and Molecular Responses of the Wild Relative of Wheat (Aeluropus) to Salt Stress, A Thesis Presented for the degree of Ph.D in Biology. Tarbiat Modares University, 242p. (In Persian)
25. Rehman, S., P.J.C. Harris, W.F. Bourne & J. Wikin, 1996. The effect of sodium chloride on germination and the potassium and calcium contents of Acacia seeds, Seed Science & Technology, 25:45-57.
26. Safarnejad, A., H. Collin, K.D. Bruce & T. McNeillly, 1996. Characterization of alfalfa following in vitro selection for salt tolerance, Euphytica, 92: 55-61. (In Persian)
27. Shalhevet, J., G.H. Morris & B.P. Schroeder, 1995. Root and shoot growth responses to salinity in maize and soybean, Agronomy J., 87(5): 12-16.
28. Taiz, L & E. Zeiger, 1991. Plant physiology, The Benjamin/Cummings Publishing Company, 690p.
29. Torbatinejad, N., H. Maghsoodloward & A.M. Gharabash, 2000. Nutritive value of *Aeluropus littoralis* and *Aeluropus lagopoides* in sheep, J Agriculture Science Natural Resource, 7:31-45. (In Persian)
30. Watson, L & M.J. Dall Witz, 1992. The grass genera of the world, Cab International**,** Wallingford**,** Oxon. ISBN 0-85198-802-4, 1038p.
31. Weissenebock, G., 1964. The effect of salt content of the soil up to the morphology and ion accumulation of halophytes. Flora, B, 158:369-389.