بررسی تغییرات آبسزیک اسید (ABA) بافت برگ و مقاومت روزنه‌ای در ژنوتیپ‌های مقاوم و حسّاس به خشکی نخود (*Cicer arientinum* L)

محمد کافی[1]، علی گنجعلی[1*]، فروغ عباسی[2]

[1] گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه فردوسی مشهد، مشهد، ایران.

[2] گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه آزاد اسلامی، مشهد، ایران.

* مسئول مکاتبات- آدرس الکترونیکی: *ganjeali@ferdowsi.um.ac.ir*

(دریافت: ۸۴/۱۰/۲ ؛ پذیرش:۸۵/۲/۱۹)

چکیده

آبسیزیک اسید (ABA) یک هورمون تنشی است که در سازگاری‌های گیاه به محیط‌های تحت تنش، دارای نقش‌های متفاوتی است. افزایش ABA بافت برگ، خروج آب از گیاه را از طریق بستن روزنه‌ها کاهش می‌دهد. به منظور بررسی تاثیر تنش خشکی بر تغییرات ABA بافت برگ و مقاومت روزنه‌ای نخود، آزمایشی در شرایط گلخانه انجام گرفت. سه ژنوتیپ مقاوم شامل ICCV93040، MCC13 و MCC10 و دو ژنوتیپ حساس به خشکی شامل MCC120و MCC180 در دو شرایط تنش خشکی و رطوبت کافی در لوله‌های پلاستیکی (50 × cm12) حاوی شن شسته شده رشد نمودند و از محلول غذایی هوگلند برای تغذیه گیاهان استفاده شد. میزان رطوبت شن، در تیمار شاهد در حد ظرفیت زراعی و در تیمار تنش ۲۵٪ ظرفیت زراعی بود. غلظت ABA بافت برگ توسط دستگاه HPLC تعیین شد. تنش خشکی تاثیر معنی‌داری بر غلظت ABA بافت برگ داشت و با افزایش مدت زمان قرارگیری گیاه در معرض تنش تا زمان گل‌دهی غلظت ABA افزایش و پس از آن به دلیل پیر شدن برگها غلظت ABA کاهش یافت. ژنوتیپ‌های مورد بررسی از نظر تجمع ABA و مقاومت روزنه‌ای تفاوت نشان دادند. بیشترین و کمترین تجمع ABA به ترتیب در ژنوتیپ مقاوم به خشکی MCC13 و ژنوتیپ حساس به خشکی MCC120 با مقادیر(fw) $ng\ g^{-1}$ ۳ و ۲۹ مشاهده شد که یک اختلاف ۱۰ برابری است. تنش خشکی مقاومت روزنه‌ای برگ را در ژنوتیپ‌های مقاوم و حساس به خشکی هر دو نسبت به تیمار شاهد افزایش داد. اما در هر دو تیمار مقاومت روزنه‌ای در ژنوتیپ‌های مقاوم بیش از ژنوتیپ‌های حساس بود. همبستگی معنی‌دار و مثبتی بین غلظت ABA و مقاومت روزنه‌ای برگ در شرایط تنش خشکی مشاهده شد (r = ۰/۸۷) اما در شرایط رطوبت کافی رابطه فوق معنی‌دار نبود (r = ۰/۲۱).

واژه‌های کلیدی: آبسیزیک اسید، تنش خشکی، مقاومت روزآن‌ها ی، نخود.

مقدمه:

عوامل ژنتیکی و محیطی و اثرات متقابل آن‌ها نقش عمده‌ای در رشد و عملکرد گیاهان دارند. درک این عوامل می‌تواند موقعیتی را برای برنامه‌های تحقیقاتی مناسب فراهم آورد که دستاورد آن اصلاح گیاهان و بهبود مدیریت برای دستیابی به عملکردهای بالاتر خواهد بود. در مطالعات مربوط به تنش خشکی کاربرد اطلاعات مورفولوژیکی و فیزیولوژیکی مطمئن و قابل اعتماد یا مارکرهای فیزیولوژیکی برای گزینش ژنوتیپ‌های متحمل به خشکی بسیار سودمند خواهد بود. در این رابطه توافق عمومی وجود دارد که ABA یکی از هورمون‌های مهم گیاهی است که نقش عُمده‌ای در چرخه زندگی گیاه داشته و بسیاری از فرایندهای مهم فیزیولوژیکی، نموی و همچنین عکس‌العمل‌های سازگاری گیاه به محیط های تنشی را تنظیم می‌نماید. تنش‌های محیطی سیستم هورمونی گیاهان را تحت تاثیر قرار می‌دهند. در بعضی موارد تنش موجب تغییر سطح هورمونی در گیاه شده و آنرا افزایش می‌دهد یا اینکه حساسیت گیاه به تنش را تحت تاثیر قرار می‌دهند. تغییرات هورمونی اغلب با تغییرات ایجاد شده در رفتار گیاه همبستگی دارد. به عبارت دیگر هورمون‌ها در این شرایط بعنوان مکمل‌هایی برای فراهم نمودن زمینه‌های لازم برای مقاومت به تنش عمل می‌نمایند. جزئیات این مطالب هنوز ناقص است و مدارک مستندی برای آن ارائه نشده است با این حال پیشرفت‌های چشمگیری در این ارتباط وجود دارد.

در صورت وقوع تنش در دوره رشد رویشی بسیاری از نهاندانگان، ABA به سرعت در ریشه گیاه سنتز و به بخش‌های هوایی منتقل می‌شود، اگر چه گزارش‌هایی نیز وجود دارد که ABA تقریباً در تمام بافت‌هایی که دارای کلروپلاست و آمیلوپلاست هستند ساخته می‌شود. مطالعات متعدد نشان داده است که ABA در این رابطه بعنوان یک واسطه در واکنش پذیری گیاه به محرک‌های محیطی، عمل می‌نماید. این پدیده حداقل در گیاهانی مثل برنج، جو، سویا، گوجه فرنگی، پنبه

و یونجه نشان داده شده است. غلظت ABA در این گیاهان با افزایش شدت تنش افزایش و با تقلیل تنش و یا آبیاری‌های مجدد بسرعت کاهش و به سطح اولیه باز می‌گردد (Alsher & Cumming 1990).

شواهد معتبری وجود دارد که تأیید می‌نمایند افزایش غلظت ABA بافت برگ، خروج آب از گیاه را از طریق کاهش گشودگی روزنه‌ها کاهش می‌دهد (Katrina & Zeeevart 1986, Lee *et al.* 1993). عمل بسته شدن روزنه‌ها بسیار سریع و در عرض چند دقیقه انجام می‌شود. در این رابطه به نظر می‌رسد سلول‌های محافظ روزنه دارای گیرنده‌ویژه ABA هستند که در لایه بیرونی غشاء پلاسمایی آن‌ها قرار گرفته است (Ackerson 1980, Hartung 1983, Cornish & Zeevart, 1985b Roberts & Tucker 1998). وجود این گیرنده و عمل آن باعث تغییر در باز شدن کانال‌های یونی شده و شیب پروتئینی را فعال می‌نمایند (Cornish & Zeevart, 1985a, Hartung 1983). در واقع بسته شدن روزنه‌ها در پاسخ به عوامل شیمیایی از جمله ABA بعنوان یک ساز و کار اجتناب از تنش خشکی مطرح است(Austin *et al.*, 1982 Gollan *et al*., 1986, Alscher & Cumming 1990) . در مطالعه‌ای که روی گیاه گندم انجام شد، تجمّع ABA سریعاً بعد از قرارگیری گیاه در شرایط تنش خشکی افزایش یافت و غلظت این هورمون بشدّت تحت تاثیر مدّت، شدت تنش خشکی و درجه حرارت قرار گرفت (Hartung 1983). سایر مطالعات نیز تأیید نمودند که ABA یک تنظیم کننده مهم باز و بسته شدن روزنه‌ها است و میزان گشودگی روزنه‌ها همبستگی منفی بالایی با کاربرد خارجی ABA دارد (Davies & Mansfield 1983; Katrina & Zeevart 1986 Lee *et al*. 1993, Roberts & Tucker 1998) . درگیاه جو کاربرد خارجی ABA، تجمع پرولین و متعاقب آن تحمل به خشکی گیاه را افزایش داد (Stewart & Voetberg 1985).

زانگ و دیویس (۱۹۸۹) افزایش مقاومت روزنه‌ای را با افزایش غلظت ABA بافت برگ مرتبط دانستند. این محققان بیان داشتند که بین افزایش غلظت ABA در ریشه‌ها تا بسته شدن روزنه‌ها و ظهور علایم ناشی از آن به یک دوره زمان تکمیلی نیاز است. این محققان هنگامی که ریشه‌های گیاه را در شرایط تنش گرما یا تنش مواد اسمزی قرار دادند مشاهده کردند که غلظت ABA بافت ریشه ۱۰۰ برابر در گیاه توق (*Xanthium strumarium* L.) و ۱۵ برابر در گیاه گوجه فرنگی (*Lycopersicon esculentum*) افزایش یافت. این نتایج تایید کردند که ممکن است ریشه‌ها قبل از اینکه برگ‌ها تنش خشکی را تجربه نمایند، اقتصاد آب گیاه را تحت تاثیر قرار دهد. زانگ و دیویس (۱۹۸۹) و گولان و همکاران (۱۹۸۶) در مطالعات خود دریافتند مادامی که خاک در حال خشک شدن است و هدایت روزنه‌ای برگ کاهش می‌یابد، روابط آبی گیاه تغییری نمی‌کند. این محققان و دیگران تأیید کردند که احتمالاً ریشه‌ها پیام‌های مربوط به کاهش پتانسیل آب خاک و کمبود آب قابل دسترس را قبل از افت فشار آماس برگ، دریافت می‌نماید و بنابراین از طریق ارسال پیام‌های خاص، سنتز ABA را در برگ فعّال می‌نماید (Cornish & Zeevart 1985a Gollan *et al.* 1986, Gupta 1997). در آزمایش‌های دیگر، آبگیری از نوک ریشه، تولید ABA ریشه را افزایش داد و کاربرد ABA به صورت مصرف خارجی روی ریشه‌های گیاه، غلظت ABA بافت برگ را افزایش داد (Davies & Mansfield 1983). در یک مطالعه کمبود آب در منطقه ریشه تا ۴۰ برابر غلظت ABA بافت برگ را افزایش داد (Lee *et al*. 1995). موتانت گوجه فرنگی Flaca که در دسته موتانت‌های غیرکارآمد از نظر ABA جای می‌گیرد، قادر نیست روزنه‌های خود را در هنگام تنش خشکی بسته نگه دارد. غلظت ABA در این موتانت ۲۰ تا ۲۵ درصد گوجه فرنگی های کارآمد از نظر ABA می‌باشد (Alsher & Cumming 1990)

تنش‌هایی مثل سرما، شوری، گرما و تنش‌های مکانیکی نیز سبب افزایش سنتز ABA در گیاه می‌شوند (Levitt 1980 Austin *et al*. 1982, Dasgapta & Bcwley 1984, Alsher & Cumming 1990, Heikkila *et al*. 1984, Gupta 1997). غلظت ABA بافت برگ در گیاهانی مثل گندم زمستانه، سیب‌زمینی و یونجه طی دوره انطباق سرمایی (خوسرمایی یا Cold acclimation) و سخت شدن بشدت افزایش می‌یابد و معمولاً ABA در واریته‌های مقاوم به سرما نسبت به واریته‌های حساس بیشتر است (Davies & Mansfield 1983, Alsher & Cumming 1990 Lee *et al.* 1993, Gupta 1997). لی و همکاران (۱۹۹۵) در بررسی تحمل به سرمای ۱۱ رقم برنج با زمینه‌های ژنتیکی متفاوت از نظر تحمّل به سرما، تفاوت معنی‌داری را در تجمّع ABA بافت‌های هوایی و زمینی گیاهچه‌های این ارقام در شرایط تنش سرما مشاهده کردند امّا در شرایط غیرتنش این ارقام از حیث ABA تفاوت معنی‌داری نداشتند. در این مطالعه ارقامی که قابلیت تجمع ABA بیشتری داشتند تحمل بیشتری به سرما از خود نشان دادند. در بررسی ۱۶ واریته برنج که از نظر مقاومت به خشکی متفاوت بودند، یک اختلاف ۲/۷ برابری از نظر تجمع ABA بین واریته‌ها مشاهده شد (Gupta 1997). مطالعات بعدی محققان این آزمایش روی برگ‌های جدا شده ۵۰ رقم برنج یک اختلاف ۵ برابری بین ارقام از حیث صفات فوق را گزارش نمودند (Gupta 1997). کوآری (۱۹۸۰) در بررسی ۸ رقم گندم، غلظت‌های متفاوت ABA و نیز سرعت‌های متفاوت برای کاهش پتانسیل آب برگ این ارقام گزارش کرد. رگرسیون خطی بین غلظت ABA و پتانسیل آب برگ ۷۳ تا ۹۸ درصد از تغییرات موجود بین ارقام را توجیه نمود. سرانجام مطالعات متعدد تاکید نمودند که تنش‌های محیطی اغلب سبب تغییر ABA بافت گیاه می‌شوند و بنابراین از این ویژگی می‌توان

بعنوان یک نشانگر فیزیولوژی مناسب برای بررسی تحمل و مقاومت به تنش‌های محیطی استفاده کرد. آزمایش حاضر با هدف بررسی تغییرات ABA بافت برگ در ارقام مقاوم و حساس به خشکی نخود و چگونگی عکس‌العمل این ارقام به تنش خشکی طراحی شده است.

مواد و روش‌ها

سه ژنوتیپ کاندیدا برای مقاومت به خشکی نخود شامل ICCV93040، MCC13 و MCC10 و ۲ ژنوتیپ حساس به خشکی MCC120 و MCC180 برای آزمایش انتخاب شدند. بذور ژنوتیپ‌های فوق قبل از کاشت توسط قارچ کش ویتاواکس ضد عفونی شدند. هر واحد آزمایشی از یک لوله پلاستیکی به ابعاد ۱۲ × ۵۰ سانتی‌متر حاوی ماسه شسته شده تشکیل شد که در آن ۵ عدد بذر کشت شد و سپس به ۲ گیاهچه پس از سبز شدن در هر لوله تقلیل یافت. برای استقرار لوله‌ها، جعبه‌هایی طراحی شد که دارای ۳۰ حفره بطول ۵۵ سانتی‌متر و قطر ۱۵ سانتی‌متر بود و هر لوله پلاستیکی در درون یک حفره جای می‌گرفت. به این ترتیب ۵ ژنوتیپ نخود در سه تکرار و با دو شرایط تنش خشکی و فراهمی رطوبت بمدت ۷۰ روز (انتهای غلاف‌دهی) در درون لوله‌های پلاستیکی و در گلخانه تحقیقاتی دانشکده کشاورزی دانشگاه فردوسی مشهد رشد نمودند. به منظور بررسی تغییرات غلظت ABA بافت برگ از مرحله گیاهچه‌ای (سه برگی)، هر ۱۴ روز سه لوله پلاستیکی از هر تیمار حذف می‌شد (r = ۳)، بنابراین هر تیمار از ۱۵ تیوب پلاستیکی تشکیل شد. شن شسته شده برای بستر کاشت انتخاب شد و عناصر غذایی مورد نیاز گیاه از طریق محلول غذایی هوگلند در اختیار گیاهچه‌ها قرار گرفت. در تیمار تنش خشکی رطوبت خاک در طول اجرای آزمایش به اندازه ۲۵ درصد ظرفیت زراعی بود. اندازه‌گیری رطوبت با استفاده از بلوک‌های گچی که در عمق ۳۰ سانتی‌متری لوله‌های پلاستیکی نصب شده بودند و همچنین اندازه‌گیری درصد رطوبت وزنی خاک در فاصله زمانی معین، تعیین می‌شد.

برای استخراج ABA بافت برگ از روش (Hubick & Reid 1980) و (Stewart & Voetberg 1985) استفاده شد، به این ترتیب که در هر مرحله از نمونه‌برداری ۲ گیاه از هر تکرار برداشت و پس از تفکیک برگ و ساقه و توزین، آماده برای استخراج ABA شدند. برای این منظور ۲ تا ۵ گرم نمونه تر برگ از هر ژنوتیپ انتخاب و بلافاصله توسط ازت مایع منجمد و سپس پودر شدند. نمونه‌های آسیاب شده در ۲۰ میلی‌لیتر محلول حاوی متانول، اتیل استات و اسید استیک به ترتیب با نسبت‌های (۵۰: ۵۰: ۱) که به آن ۲۰ میلی‌گرم BHT (Butylated hydroxy toluene) بعنوان انتی اکسیدان اضافه شده بود حل شدند و یک محلول هموژن ایجاد شد. محلول حاصل توسط کاغذ واتمن شماره ۱ صاف و سپس حجم نهایی محلول به ۱۰۰ میلی‌لیتر رسانده شد (Dasgapta & Bcwley 1984). به منظور حذف حلال، محلول نهایی داخل بالون روتاری در شرایط خلاء و دمای ۳۵ درجه سانتی‌گراد قرار گرفت (Zhang & Davies 1989) . پس از حذف حلال، ۱۰ میلی‌لیتر فسفات هیدروژن پتاسیم ۵۰۰ میلی مولار pH برابر ۸ به باقیمانده اضافه و سپس محلول توسط کاغذ صافی مجدداً صاف شد. pH محلول بدست آمده با استفاده از اسید فسفریک ۱۰ درصد به ۲/۵ رسانده شد (Dasgapta & Bcwley 1984). در ادامه ۱۰ میلی‌لیتر اتیل استات به محلول آخری اضافه شد. برای جداسازی اتیل استات حاوی ABA و محلول فسفات هیدروژن پتاسیم از قیف دکانتور استفاده شد و برای آبگیری از محلول اتیل استات حاوی ABA، سولفات سدیم بکار رفت(Zhang & Davies 1989) . اتیل استات به فاصله چند ساعت در هوای آزاد تبخیر می‌شود. پس از تبخیر اتیل استات، ۵ میلی‌لیتر متیل کلراید به عصاره خشک باقیمانده اضافه و نمونه‌ها بمدت ۲۴ ساعت برای تبخیر متیل کلراید زیر هود نگاه داشته شدند. پس از تبخیر متیل کلراید ۳۰۰ میکرولیتر محلول متانول حاوی ۱ درصد اسید استیک به عصاره خشک باقیمانده اضافه و محلول حاصل توسط صافی میلی‌پور مجدداً صاف شد و محلول نهایی برای تعیین غلظت ABA مورد استفاده قرار گرفت.

برای تعیین غلظت ABA نمونه‌ها از ستون *HPLC* (۴/۶cm × ۱۵) با فاصله زمانی ۴ تا ۵ دقیقه مطابق ABA استاندارد استفاده شد. فاز ثابت ستون از استونیتریل، آب و اسید فرمیک بترتیب با نسبت‌های حجمی ۲۵: ۷۴/۹: ۰/۱۰ تشکیل شد (Ackerson 1980). در هر بار اندازه‌گیری مقدار ۸۰ میکرولیتر محلول تزریق و سپس سطح منحنی تعیین و از طریق روابط موجود (منحنی استاندارد) غلظت نمونه‌ها تعیین شد. براساس آزمایش های متعدد انجام شده و گزارش‌های موجود، با استفاده از این روش در بهترین حالت تنها ۴۰ تا ۶۰ درصد ABA قابل بازیافت می‌باشد (Zhang & Davies 1989).

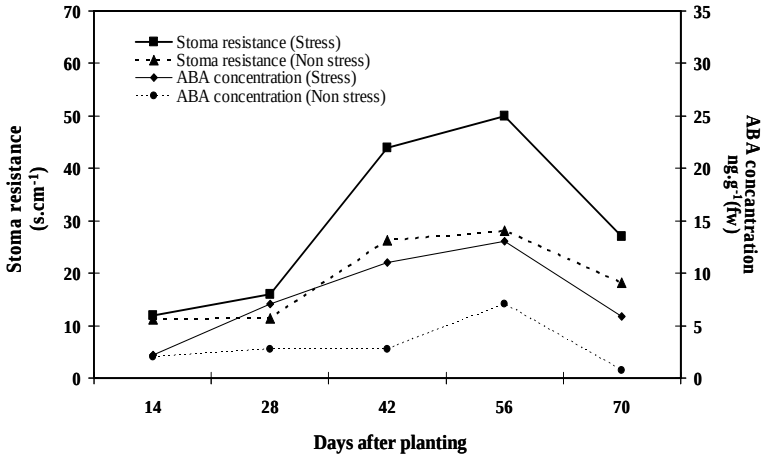
قبل از هر بار نمونه‌برداری به منظور تعیین غلظت ABA بافت برگ، مقاومت روزنه‌ای برگ ژنوتیپ‌ها نیز با استفاده از دستگاه پرومتر مدل AP4 (DELTA - T DEVICES-U.K.) برحسب ثانیه برسانتی‌متر در برگچه انتهایی هر برگ تعیین شد. پس از جمع‌آوری داده‌های آزمایشی در هر مرحله با استفاده از نرم افزارهای Excel و Power point، نمودارها و جدول‌های مربوطه تهیه شدند.

بحث و نتایج

تغییرات ABA بافت برگ در واکنش به تنش خشکی

شکل (۱) تغییرات غلظت ABA بافت برگ نخود را در واکنش به تنش خشکی و فراهمی رطوبت نشان می‌دهد. همانطور که در شکل

مشاهده می شود بجز در مرحله گیاهچه‌ای (۱۴ روز پس از کاشت) که تجمّع ABA در تیمار تنش خشکی و شاهد هر دو یکسان می‌باشد، در سایر مراحل رشدی تجمع ABA در تیمار تنش خشکی بطور معنی‌داری بیش از تیمار شاهد است. با گذشت زمان برغم ثابت بودن سطح تنش، تجمع ABA در هر دو شرایط افزایش و در مرحله گل‌دهی به حداکثر مقدار خود رسید، امّا پس از این مرحله در هر دو تیمار، تجمع ABA کاهش یافت.



شکل ۱- تغییرات مقاومت روزنه ی و غلظت ABA بافت برگ نخود در واکنش به تنش خشکی در طول فصل رشد.

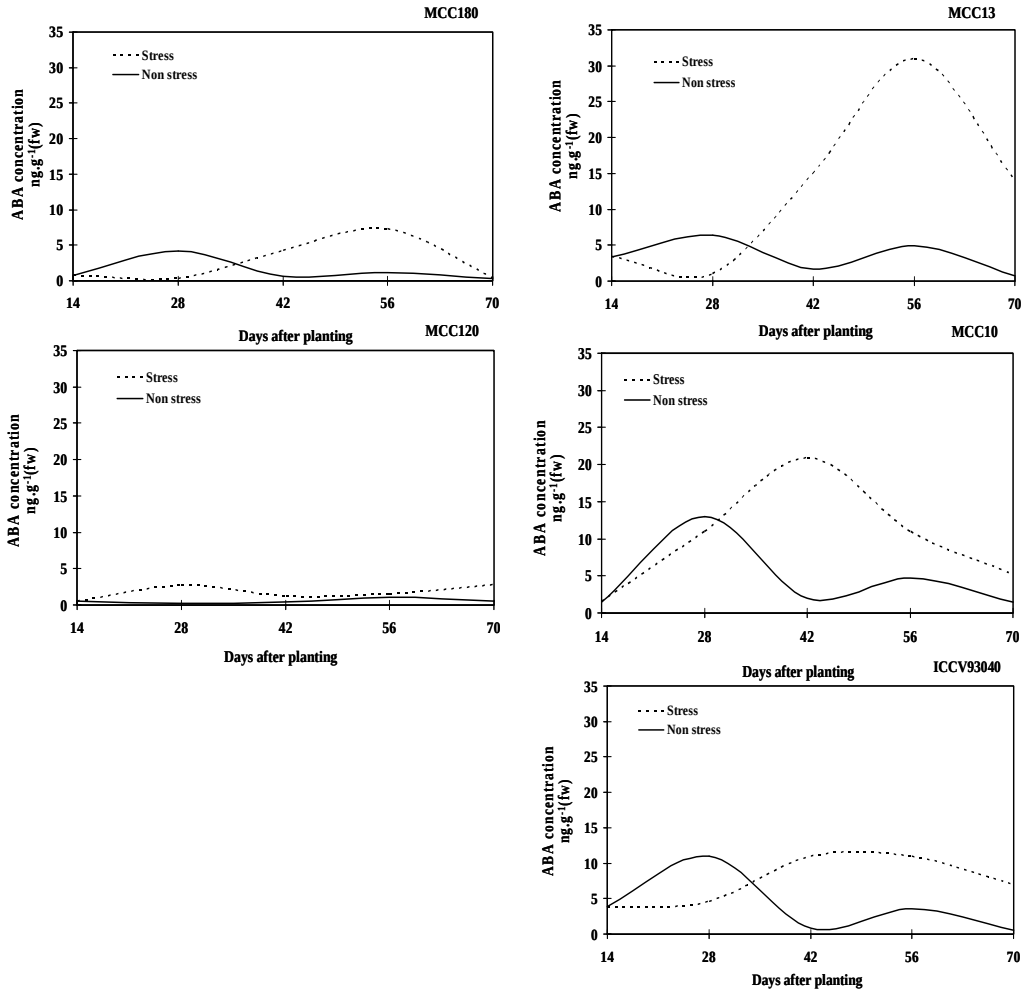
تغییرات هورمونی اغلب با تغییر رفتار گیاه همراه می‌باشد و تغییر رفتار گیاه نیز معمولاً در جهت بهبود مقاومت به تنش عمل می‌نماید (Zeevart & Creelman 1988, Lee *et al*. 1995). آزمایش های انجام شده با استفاده از اکسیژن نشان‌دار، نشان داده است که هم سلول‌های تحت تنش و هم بافت‌هایی که در حالت تورژسانس کامل هستند هر دو از پیش ماده گرانتوفیل (Xanthophyle)، ABA تولید می‌نمایند (Creelman *et al*., 1987) امّا در شرایط تنش خشکی به دلیل وجود تنش و استمرار آن احتمالاً سنتز ABA یا انتقال آن از ریشه به برگ افزایش یافته و در نهایت میزان تجمّع ABA بطور معنی‌داری افزایش یافته است. مطالب زیادی توسط محققین مختلف ارائه شده است که کمبود آب در منطقه ریشه و کاهش فشار تورگر در سلول‌های این منطقه، سنتز ABA را در بافت ریشه تحریک و انتقال آن را به اندام‌های هوایی افزایش می‌دهند (Davies & Mansfield 1983 Cornish & Zeevart 1985, Alscher & Cumming 1990). در این رابطه سلول‌های محافظ روزنه دارای گیرنده‌های مخصوص ABA هستند. وجود این گیرنده‌ها و عمل آن‌ها از طریق انجام مجموعه ای از فرایندهای شیمیای و فیزیکی منجر به بسته شدن روزنه‌ها می‌شوند و بنابراین گیاه از این طریق با توجه به پتانسیل موجود از تنش خشکی اجتناب می‌نماید. شکل (۱) افزایش مقاومت روزنه‌ای برگ را در واکنش به افزایش ABA نشان می‌دهد. در تیمار تنش خشکی بیشترین تجمّع ABA بافت برگ در مرحله گل‌دهی اتفاق افتاد. در این مرحله نیز مقاومت روزنه‌ای برگ در حداکثر مقدار ممکن بود. در تیمار رطوبت کافی نیز بیشترین تجمّع ABA و مقاومت روزنه‌ای در این مرحله مشاهده شد. بنابراین، نتایج بدست آمده تاثیر تنظیم کنندگی هورمون ABA را از نظر تنظیم تبخیر و تعرق از سطح روزنه‌های برگ و کاهش هدایت روزنه‌ای تأیید می‌کند.

مطالعات مختلف نشان داده است که ظرفیت برگ‌های مسن برای تبدیل ABA به PA بیش از برگ‌های جوان است (Zeevart & Creelman 1988). بنابراین به نظر می‌رسد به دلیل مسن شدن برگ‌ها در مراحل انتهایی رشد، تجمع ABA در بافت برگ کاهش یافته است. از طرفی ABAبیشتر در بخش‌های الکالاینی ذخیره می‌شود و در این ارتباط بیشترین میزان تجمع ABA در کلروپلاست و در حضور نور انجام می‌گیرد (Zeevart & Creelman 1988 Alscher & Cumming 1990) . این در حالی است که برگ‌های مسن از این حیث در تنگنا می‌باشند و لذا ظرفیت ذخیره برگ با افزایش سن گیاه و زرد شدن برگ کاهش یافته است.

تفاوت‌های ژنوتیپی از نظر تجمع ABA در واکنش به تنش خشکی

تغییرات غلظت ABA بافت برگ ژنوتیپ‌های مقاوم به خشکی نخود در عکس‌العمل به تنش خشکی در شکل (۲) نشان داده شده است. تنش خشکی در تمام ژنوتیپ‌ها تجمع ABA را در بافت برگ افزایش داد. بیشترین تجمع ABA در ژنوتیپ مقاوم به خشکی MCC13، ۵۶ روز پس از کاشت در شرایط تنش خشکی به میزان (fw)$^{-1}$ngg ۲۹

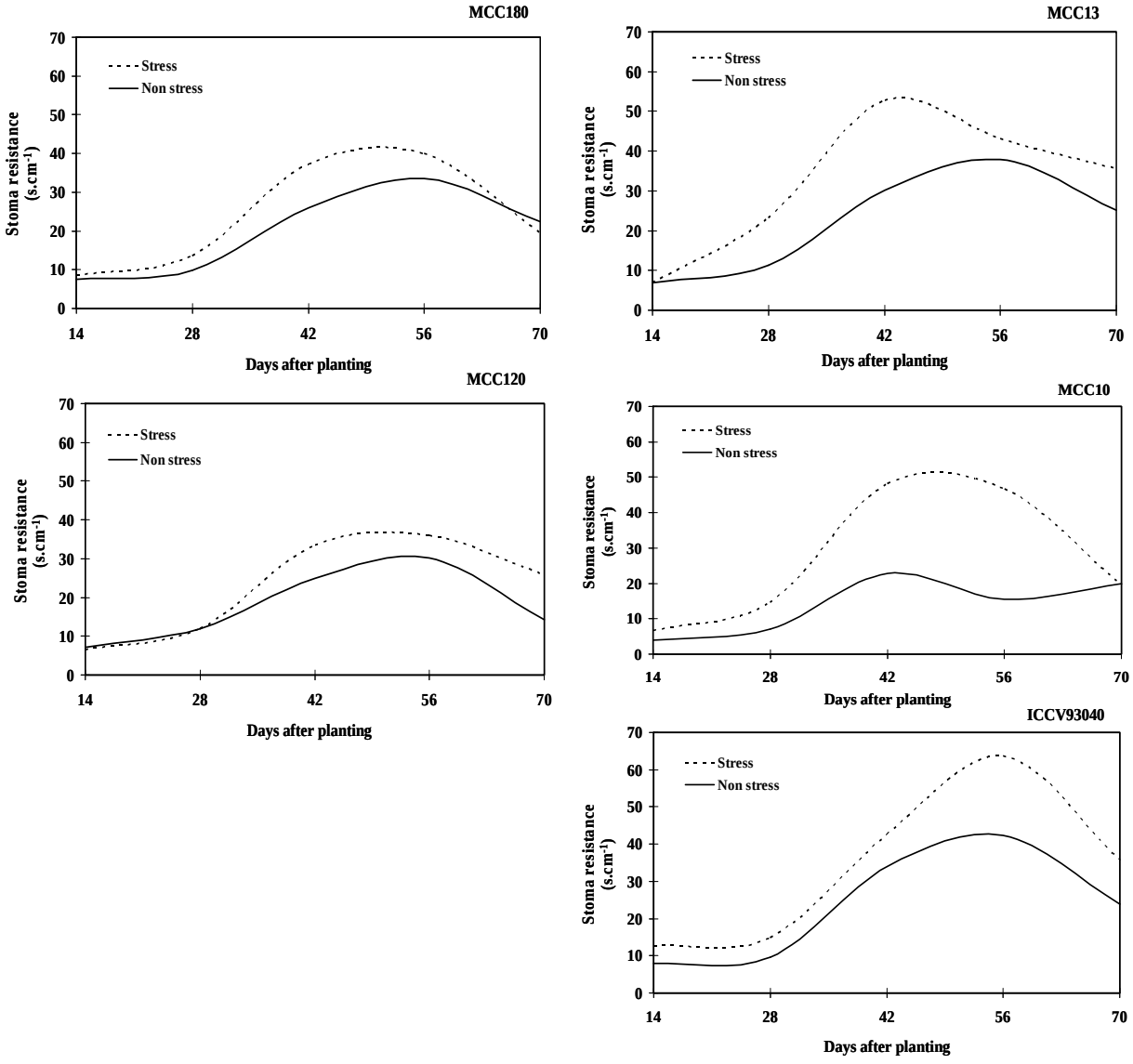
مشاهده شد. در این ژنوتیپ افزایش تجمع ABA دو هفته پس از کاشت شروع شد و پس از ۸ هفته به حداکثر مقدار خود رسید و سپس شروع به کاهش گذاشت. سایر ژنوتیپ‌های مقاوم به خشکی، MCC10 و ICCV93040 به ترتیب با مقادیر تقریبی $ngg^{-1}(fw)$ ۲۰ و ۱۰/۵ به حداکثر مقدار خود رسیدند. در این آزمایش بیشترین و کمترین تجمّع ABA به ترتیب در ژنوتیپ مقاوم به خشکی MCC13 و ژنوتیپ حساس به خشکی MCC120 با مقادیر $ngg^{-1}(fw)$ ۲۹ و ۳ مشاهده شد که یک اختلاف تقریباً ۱۰ برابری است. تغییرات غلظت ABA در شکل (۲) نشان می‌دهد که در شرایط رطوبت کافی بیشترین تجمّع ABA تقریباً چهار هفته پس از کاشت در تمامی ژنوتیپ‌ها به استثنای ژنوتیپ MCC120 به حداکثر مقدار خود رسید و با گذشت زمان بتدریج غلظت ABA کاهش و در زمان گل‌دهی پس از افزایش جزئی، مجدداً در تمامی واریته‌ها کاهش یافت. در این رابطه گزارش‌هایی از تفاوت‌های ۱۰۰ و ۱۵ برابری در واریته‌های گیاهانی مانند توق (*Xanthium strumarium*) (Creelman *et al*., 1987) و گوجه‌فرنگی (*Lycopersicon esculentum*) (Alscher & Cumming 1990) گزارش شده است. لارک و وین (۱۹۷۴) در مقایسه تجمع ABA در واریته بسیار مقاوم به خشکی ذرت Latene با واریته حساس به خشکی Anjou و LG۱۱، اظهار داشتند میزان ABAدر برگ‌های واریته Latene چهار برابر بیشتر از دو واریته دیگر است. در این آزمایش افزایش تجمّع ABA در همه واریته ها در واکنش به تنش خشکی مشاهده شد امّا این افزایش در واریته Latene بسیار بالاتر بود. این محقق نیز گزارش کرد که برگ‌های ذرت و سورگوم مقاوم به خشکی نسبت به ژنوتیپ‌های حساس، ABA آزاد بیشتری دارند. در این ژنوتیپ‌ها سطح بالای ABA ، بسته شدن روزنه‌ها را تسریع نموده و تعرق برگ را بشدت کاهش داد. در یک مطالعه روی ۱۶ واریته برنج که از نظر مقاومت به خشکی متفاوت بودند یک اختلاف ۲/۷ برابری از نظر تجمع ABA، بین واریته‌ها مشاهده شد. در مطالعه محققان آزمایش روی ۵۰ رقم برنج، یک اختلاف ۵ برابری از این حیث را گزارش کردند (Caff & Loveys 1984).



شکل ۲- تفاوت های ژنوتیپی نخود از نظر تجمع ABA در واکنش به تنش خشکی در طول فصل رشد.

دینامیسم مقاومت روزنه‌ای ارقام مقاوم و حساس نخود در واکنش به تنش خشکی

شکل (۳) تغییرات مقاومت روزنه‌ای برگ را در ژنوتیپ‌های مقاوم و حساس به خشکی نخود در عکس‌العمل به تنش خشکی نشان می‌دهد. تنش خشکی مقاومت روزنه‌ای را در ژنوتیپ‌های مقاوم و حساس به خشکی هر دو نسبت به تیمار شاهد افزایش داد. در تمامی ژنوتیپ‌ها بیشترین مقاومت روزنه‌ای حدوداً در زمان گل‌دهی و کمی قبل از آن مشاهده شد و در این زمان تجمع ABA نیز در اکثر ژنوتیپ‌ها حداکثر بود. مقاومت روزنه‌ای در ژنوتیپ‌های مقاوم MCC13، MCC10 و ICCV93040 در هر دو شرایط تنش خشکی و رطوبت کافی بیش از ژنوتیپ‌های حساس MCC180 و MCC120 بود. مقاومت روزنه‌ای در شرایط تنش خشکی و رطوبت کافی بطور متوسط به ترتیب ۵۰ و ۲۵ ثانیه بر سانتی‌متر بود که یک اختلاف دو برابری است. احتمالاً افزایش تجمع ABA در شرایط تنش خشکی نسبت به تیمار شاهد، دلیل اصلی افزایش مقاومت روزنه‌ای در تیمار تنش خشکی نسبت به شاهد می‌باشد. در این رابطه احتمال می‌رود که بخش خارجی پلاسمالمای سلول‌های محافظ، محلّی است که ABA موجب بسته شدن روزنه می‌شود. مکانیزم عمل به اینصورت است که ABA باعث خروج K^+ و Cl^- از سیمپلاسم سلول به فضای آپوپلاست شده و متعاقب آن فشار تورگر سلول محافظ به سرعت کاهش و روزنه در واکنش به کاهش فشار تورگر بسته خواهد شد (Hartung 1983). اگر چه جزئیات افزایش غلظت ABA بافت برگ در واکنش به تنش خشکی هنوز

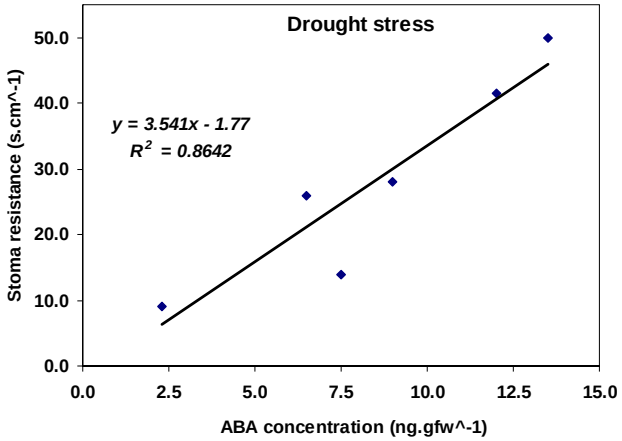


شکل۳- تغییرات مقاومت روزنه ی برگ در ژنوتیپ های مقاوم وحساس به خشکی نخود در واکنش به تنش خشکی در طول فصل رشد.

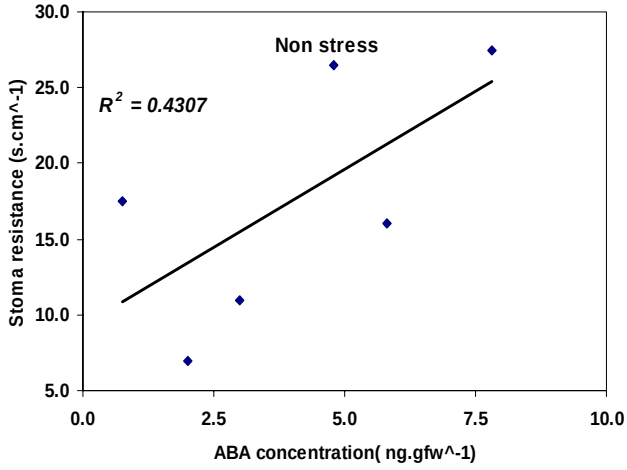
بخش تقسیم شده بود و بخشی از ریشه در شرایط تنش و بخش دیگر در شرایط رطوبت کافی نگهداری شد، ملاحظه گردید که مقاومت مشخص نشده است، امّا نامحتمل نمی‌باشد که تغییرات جزئی و سریع ABA در گیاه ممکن است بعنوان شروع اولیه برای بسته شدن روزنه‌ها مطرح باشد و تداوم بسته بودن روزنه‌ها در گرو تداوم افزایش غلظت ABA بافت برگ می‌باشد. در آزمایش هایی که در آن ریشه به دو روزنه‌ای به موازات افزایش غلظت ABA حتی در برگ‌هایی که تنشی دریافت نکرده بودند، افزایش یافت (Zhang & Davies 1989). بنابراین درک تنش توسط ریشه و ارسال پیام های لازم از این محل، احتمالاً سنتز و انتقال ABA را به محل سلول‌های محافظ افزایش داده که نتیجه آن کاهش گشودگی روزنه و افزایش مقاومت روزنه‌ای خواهد بود. بررسی‌های هنسون و همکاران (۱۹۷۴) در واریته‌های مقاوم و حساس به خشکی ارزن، نشان داد که واریته‌های مقاوم نسبت به واریته‌های حساس در یک پتانسیل آب خاک مشابه، ABA بیشتری ذخیره می‌نمایند و از حساسیت روزنه‌ای بالاتری نیز برخوردار می‌باشند. واریته‌های حساس به خشکی این گیاه در شرایط تنش خشکی، ABA بسیار کمتری ذخیره نمودند و دارای کمترین حساسیت روزنه‌ای بودند. کاربرد خارجی ABA تاثیر معنی‌داری بر مقاومت روزنه‌ای واریته‌های حساس به خشکی این گیاه نداشت. مقاومت روزنه‌ای پس از مرحله گل‌دهی در تیمار تنش خشکی و شاهد به دنبال کاهش غلظت ABA بافت برگ کاهش یافت (شکل ۱). مسن شدن برگ‌ها و تجزیه بیشتر ABA به PA که معمولاً در برگ‌های مُسن بیشتر از برگ‌های جوان اتفاق می‌اُفتد احتمالاً از دلایل اصلی کاهش غلظت ABA بافت برگ می باشد که متعاقب آن مقاومت روزنه‌ای نیز در تمامی ژنوتیپ‌ها کاهش یافت.

همبستگی‌های موجود بین مقاومت روزنه‌ای و تجمّع ABA بافت برگ

شکل‌های ۴ و ۵ همبستگی بین غلظت ABA بافت برگ و مقاومت روزنه‌ای را به ترتیب در شرایط تنش خشکی و رطوبت کافی نشان می‌دهد. در شرایط تنش خشکی همبستگی معنی‌دار و مثبتی بین غلظت ABA بافت برگ و مقاومت روزنه‌ای مشاهده شد (r = ۰/۸۶). همبستگی بین ABA و مقاومت روزنه‌ای ژنوتیپ‌ها در شرایط رطوبت کافی معنی‌دار نبود (r = ۰/۴۳). در این شرایط مقاومت روزنه‌ای ژنوتیپ‌ها مستقل از غلظت ABA، تحت تاثیر سایر عوامل داخلی و خارجی قرار گرفت. مطالعات متعددی وجود دارند که در آن رابطه مثبت و معنی‌دار بین غلظت ABA و مقاومت روزنه‌ای را تأیید می‌نمایند (Ackerson 1980; Levitt, 1980; Katrina & Zeevart 1986; Gupta, 1997). در این مطالعات با کاهش و یا افزایش غلظت ABA موجود در شیره آوند چوبی، مقاومت روزنه‌ای کاهش یا افزایش یافت. همچنین در اکثر موارد با افزایش تجمّع داخلی ABA، مقاومت گیاه به تنش بهبود یافت. هنسون (۱۹۸۴) رابطه معنی‌دار و مثبتی را بین مقاومت روزنه‌ای و غلظت ABA بافت برگ ارزن گزارش کرد. در مطالعات این محقق هیچگونه رابطه معنی‌داری بین غلظت ABA و مقاومت روزنه‌ای در واریته‌های حساس به خشکی این گیاه پیدا نشد.



شکل ۴- نمودار همبستگی بین مقاومت روزنه ی و غلظت ABA بافت برگ در شرایط تنش خشکی.



شکل ۵- نمودار همبستگی بین مقاومت روزنه ی و غلظت ABA بافت برگ در شرایط بدون تنش.

منابع:

Ackerson R. C. 1980: Stomatal response of cotton to water stress and abscisic acid as affected by water stress history. *Plant Physiol.* **65:** 455-459.

Alscher R.G. Cumming J.R. 1990: Stress Responses in Plants: Adaptation and A cclimation Mechanisms. John Wiley and Sons, INC Publication.

Austin R.B., Henson I.E., Quarrie S.A. 1982: Abscisic acid and drought resistance in wheat, millet and rice, In: Drought Resistance in Crops with Emphasis on Rice (ed. by L. Banos). Philippines, IRRI. 171-80.

Caff D.F., Loveys B.R. 1984: Abscisic acid content and effects during dehydration of detached leaves of desication tolerant plants. *J.Exp. Bot.* **35:** 1350-1358.

Cornish K., Zeevaart J.A.D. 1985a: Movement of abscisic acid into the apolpast in reponse to water stress in *(Xanthium strumarium* L.). *Plant Physiol.* **78:** 623-626.

Cornish K., Zeevaart J.A.D. 1985b: Abscisic acid accumulation by roots of *Xanthium strumarium* L. and *(Lycopersicon esculentum* Mill.) In relation to water. *Plant Physiol.* **79:** 653-658.

Creelman R.A., Gage D.A., Stults J.T., Zeevaart J.A.D. 1987: Abscisic acid biosynthesis in leaves and roots of *(Xanthium strumarium). Plant Physiol.* **85:** 726-732.

Dasgapta J., Bcwley J.D. 1984: Varations in protein synthesis in different regions of greening leaves of barley seedling and effects of imposed water stress. *J. Exp. Bot.* **35:** 1450-1459.

Davies P.J. Mansfield T.A. 1983: The role of abscisic acid in drought avoidance, In: Abscisic acid (ed. by F.T. Adicott). Praeger, New York. 237-268.

Gage D.A., Fong, F., Zeevaart J.A.D. 1989: Abscisic acid biosynthesis in isolated embryos of *(Zea mays* L.). *Plant Physiol*. **89:** 1039-1041.

Gollan T., Passioura J.B., Munns R. 1986: Soil water status affects the stomatal conductance of fully turgid wheat and sunflower leaves. *Aust. J. Plant. Physiol.* **13:** 459-464.

Gupta U.S. 1997: Crop Improvement: Vol II. Stress Toleronce. Oxford and IBH Publishing CO.

Hartung W. 1983: The site of action of abscisic acid at the guard cell plasmalemma of *Valerianella locusta*. *Plant Cell Environ.* **6:** 427-428.

Heikkila J.J., Papp J.E.T., Schultz G.A., Bewley, Y.D. 1984: Induction of heat shock protein messenger RNA in maize mesocotyles by water stress, abscisic acid and wounding. *Plant Physiol.* **76:** 270-274.

Henson I.E. 1984: The heritabity of abscisic acid accumulation in water stressed leaves of pearl millet *(Pennisetum americanum* L.*). Ann. Bot. London.* **53:** 1-11.

Henson I.E., Mahalakshmi V., Algerswamy G., and Bidinger F.R. 1983: The association between flowering and reduced stomatal sensitivity to warer stress in pearl millet *(Pennisetum americanum* L.*). Ann. Bot.* **52:** 641-648.

Hubick K.T., Reid D.M. 1980: A rapid method for the exraction and analysis of abscisic acid from plant tissue. *Plant physiol.* **65:** 523-525.

Katrina C. Zeevart J.A.D. 1986: Abscisic acid accumulation by in situ and isolated guard cells of *Pisum sativum* L. *and Vicia faba* L. in relation to water stress, *Plant Physiol.* **81:** 1017-1021.

Larque-Saavedra A. Wain R. L. 1974: Abscisic acid levels in relation to drought tolerance in varieties of *(Zea mays* L*.). Nature.* **251:** 716-717.

Lee T.M., Lur H.S., Chu C. 1993: Role of abscisic acid in chilling tolerance of rice *(Oryza sativa* L.*)* seedling I. Endogenous ABA levels. *Plant Cell Environ.* **16:** 481-490.

Lee T.M., Lur H.S., Chu C. 1995: Abscisic acid and putrescine accumulation in chilling tolerant rice cultivars. *Crop Sci.* **35**: 502-508.

Levitt J. 1980: Response of Plant to Environmental Stress. Vol II. second edition. Acadomic press. 25-28.

Li Y. Walton D.C. 1987: Xanthophylls and abscisic acid biosynthesis in water-stresses bean leaves. *Plant Physiol.* **85:** 910-915.

Ouarrie S.A. 1992: Implication of genetic differences in ABA accumulation for crop production, In: Abscisic acid: physiology and biochemistry, (eds. by W.J., Davies and H.G. Jones) Bioscientific Publisher, Oxford, England. 227-243.

Quarrie S.A. 1980: Genotypic differences in leaf water potential, abscisic acid and proline concentrations in spring wheat during drought stress. *Ann. Bot.* **46**: 383-394.

Roberts J., Tucker G.T. 1998: Plant Hormone. Humana press.

Stewart R.C. Voetberg G. 1985: Relationship between stress-induced ABA and proline accumulation and ABA-induced proline accumulation in excised barely leaves. *Plant physiol.* **79:** 24-27.

Zeevart J.A.D. Creelman R.A. 1988: Metabolism and physiology of abscisic acid. *Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.* **39:** 439-473.

Zhang J., W.J. Davies W.J. 1989: Abscisic acid produced in dehydrating roots may enable the plant to measure the water status of the Soil. *Plant Cell Environ.* **12:** 73 - 810.