بررسی وابستگی محتوای درونی هورمون ABA و تحمل شوری در واریته های برنج

سعید سعیدی پور*

دانشگاه آزاد اسلامی، واحد شوشتر، استادیار گروه زراعت، شوشتر، ایران.

* نویسنده مسئول مکاتبات saeeds79@gmail.com

تاریخ دریافت: ۱۳۸۹/۱۱/۰۶ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۰/۰۱/۱۸

چکیده

برنج یکی از گونه‌های نسبتاً حساس به تنش شوری است که از نظر تحمل یاحساسیت به تنش شوری، تنوع ژنتیکی زیادی در مخزن ژنتیکی انواع زراعی آن نیز دیده می‌شود. برای ارزیابی اثرات شوری بر غلظت سدیم، پتاسیم و ABA و همینطور ماده خشک ریشه و ساقه دو رقم حساس (IR29) و متحمل (IR651) معرفی شده IRRI در محیط آبکشت بررسی گردید. تیمار شوری در دو سطح محلول عادی یوشیدا و یا حاوی ۱۰۰ میلی مولار کلرید سدیم ($EC=12ds.m^{-1}$) در مرحله شش برگی به مدت یک هفته اعمال شد و نمونه گیری طی این مدت در فواصل زمانی (صفر ، ۴، ۱۲، ۲۴ ،۴۸،۹۶ و ۱۶۸ ساعت) پس از اعمال تیمار، از پهنک برگ اول غلاف برای اندازه گیری غلظت ABA و در آزمایش دیگر ۴ ساعت پس از اعمال تیمار شوری هورمون فلوریدن با غلظت ۵۰ میکرو مول فقط برای یکبار بر روی برگ ها پاشیده شدو در پایان دوره تنش از برگ رفرنس برای اندازه گیری میزان سدیم و پتاسیم استفاده شد. در این آزمایش ماده خشک ریشه و اندام هوایی در هر دو رقم تحت اثر تیمار شوری نسبت به شرایط نرمال بصورت معنی دار کاهش یافت، ولی این کاهش د ر رقم حساس به شوری (IR29) بسیار بیشتر بود. تغییرات غلظت پتاسیم تحت شرایط تنش نسبت به تیمار نرمال در ارقام معنی دار نبود، تیمار شوری موجب ازدیاد تجمع معنی دار سدیم در هر دو رقم حساس و متحمل در تیمار پاشش فلوریدن گردید. البته میزان تجمع سدیم در رقم متحمل کمتر از نصف میزان تجمع آن در رقم حساس بود. در رقم متحمل تحت تیمار تنش غلظت ABA بصورت معنی داری افزایش یافت، حال آنکه در رقم حساس این افزایش معنی دار نبود.

واژه های کلیدی: برنج، شوری، ماده خشک،ABA، فلوریدن.

مقدمه

آشکارترین و روشن ترین اثر شوری تأخیر در رشد گیاه است. چنانچه غلظت نمک در خاک افـزایش پیـدا کنـد و بـالاتر از سطح آستانه تحمل گیاه باشد، هم رشد و هم اندازه نهایی اکثر گونه های گیاهی بطور فزاینده ای کاهش پیدا می کند، قسمت هوایی گیاه اغلب بیش از رشد ریشه تحت تأثیر قرار می‌گیـرد (MeCree, 1986). پژوهشـگران زیـادی تنـوع واریتـه ای بـه شوری را در مرحله رشد رویشی گزارش نموده اند (Galves *et al.*, 1993). در بسیاری از مطالعات گیاهی اثر شوری بر رشد ریشه گیاه به غلظت نمک بستگی دارد، در گیاهان حساس به شوری نظیر برنج رشد ساقه و ریشه به شکل دائم کاهش می یابد مقیاس زمانی که طی آن خسارت ویژه سدیم آشکار می گردد بستگی به نرخ تجمع سدیم در برگها و همینطور توانایی گیاه در جداسازی آن دارند یونهای خاصی نظیر سدیم و کلر سبب گسیختگی ساختار پایه ای مولکولهای پروتئین مـی شـوند. برگهـای قدیمی گیاهان غیر هالوفیت که در شوری بالا رشد می کنند معمولا" دارای غلظتهای سدیم بیشتری نسبت به برگهـای جـوان نظیر جو (Greenway, 1973) و برنج (Yeo and Flowers, 1986) می باشند. مطالعات متعددی نشان داده اند. زمانی که Na^+ یا Na^+/K^+ در محیط کشت افزایش یابد، کاهش شدیدی در جذب پتاسـیم اتفـاق افتـاده و غلظـت K^+ در بافتهـای گیاهی کاهش می یابد، این در حالی است که جذب سدیم در اندام هوایی افزایش یافت است (Tardieu *et al.*, 1992).

همچنین بطور واضح ثابت شده است که ژنوتیپ‌های متحمل به شوری در گندم نسبت به ژنوتیپ‌های حسـاس بـه شـوری جابجایی کندتر Na^+ از ریشه به اندام‌های هوایی را انجام می‌دهد (Sharma, 1987). گیاهانی که تحمـل شـوری متوسـطی دارند، توانایی بیشتری در دفع سدیم از ساقه و یا حد اقل از پهنک برگ دارند و این وضعیت با نگهداری سطوح بـالای پتاسـیم مطابقت دارد، این همبستگی خصوصا" در گونه های گرامینه پیدا شده است، گرچه در این مورد برنج و ذرت استثناء هسـتند، زیرا در برنج بدلیل وجود نشت آندودرمی امکان نفوذ سدیم و راه یافتن آن به اندام های هوایی بسـیار بـالا اسـت، بطوریکـه بـر اساس برآورد صورت گرفته نفوذ سدیم از این مسیر در برنج نسبت به گندم ۱۰ برابر است (Garcia *et al.*, 1997).

تنوع بسیار گسترده ای در بین گیاهان از د فع فعال سدیم گرفته تا جذب و تجمع آن دیده می شـود، و صـفت تحمـل بـه شوری در گونه های مختلفی نظیر برنج مشاهده شده است (Albert and Popp, 1977). در گیاهان حساس به شوری مثل برنج، حتی سطوح کم شوری خارجی (۵۰ mM) می تواند منجر به تجمع مقادیر بسیار بالا و خسارت نمک در اپوپلاست بـرگ شود که این امر به خاطر کنترل ضعیف ورود کلرید سدیم به داخل مسـیر تعـرق مـی باشـد (Flowers, 1991). گیـاه بـرنج تقریبا" همان میزان کلرید سدیم از ریشه به تاج منتقل می کند که شورزیها منتقل می کنند، ولی بر خـلاف آنهـا، گیـاه بـرنج فاقد قدرت مدیریت نمک رسیده به برگها می باشد (Yeo *et al.*, 1985; Yeo *et al.*, 1977). آزمایشهای به گزینی ارقـام برنج در مقابل شوری نشان داد که ارقام دارای سرعت رشد ژنتیکی زیاد تحمل به شوری بیشتری از ارقـام دارای سـرعت رشـد

کم از خود نشان دادند (Yeo *et al*., 1985; Yeo *et al*., 1977). همچنین مطالعات روی واریته های برنج با مقاومتهای مختلف به شوری خاک نشان داد که غلظت بالای سدیم در واریته های حساس بیشتر بوده و توزیع آن به ترتیب در برگهای پیر بیشتر از خوشه ها و خوشه ها بیشتر از ساقه و در ساقه بیشتر از برگهای سبز جوان بود، در حالی که در واریته مقاوم در برگهای پیر بیشتر از ساقه ها و ساقه ها بیشتر از برگهای سبز جوان و برگهای سبز جوان بیشتر از خوشه ها بود (Sharma, 1987).

تنش شوری موجب افزایش محتوای آبسزیک اسید در ارقام حساس و مقاوم برنج می شود، افزایش آبسزیک اسید داخلی گیاه در پاسخ به برخی تنش ها در بسیاری از گیاهان چوبی و گونه های علفی تحت شرایطی نظیر شوری، سرما یا تنش اسمزی گزارش شده است (Yongyin *et al*., 2001). در برخی از مطالعات نشان داده شده که تجمع آبسزیک اسید در بافت برگ در واکنش به تنش محیطی در طی ۱۰ دقیقه، ۶ برابر شده است، مدت زمان تجمع آبسزیک اسید در بافت برگهایی که تعرق می کنند به همراه اثر فیزیولوژیکی آن بر روزنه ها نشان می دهد که آبسزیک اسید موجب افزایش پتانسیل آب زایلم و بهبود رشد برگها می شود، و این عمل از طریق حفظ آماس صورت می گیرد (Fricke, 2004). در مطالعه ای دیگر رها شدن آبسزیک اسید در داخل زایلم علت کاهش هدایت روزنه ای پیش از کاهش پتانسیل آب برگها است (Ali *et al*,1999). در مقایسه بین ارقام متحمل و حساس یک گونه گیاهی, برخی گزارشات سطوح بالاتر ABA را در ارقام متحمل نشان می دهد، گرچه این اختلافات در شرایط عادی (Brault and Maldiney, 1999)، و یا پس از تنش پیدا شده است (Main, 1993). در برنج میزان ABA، در واریته‌هایی با تحمل متوسط افزایش یافته، اما در واریته‌های متحمل و حساس این تغییرات اندک بوده است (Bohra *et al*., 1995). کاربرد ABA پیش از در معرض قرارگرفتن گیاهان یا بافتها در برابر وضعیت های زیان آور موجب تحمل به سرما(Bornman and Jansson, 1980) یا تنش اسمزی شده است (Clipson, 1988). در برخی مطالعات نشان داده شده که درجو و یولاف علت افزایش تحمل به تنش شوری، محتوای مطلق ABA موجود در بافتها نیست، بلکه سنتز جدید ABA نقش تعیین کننده داشته است (Bravo, 1988).

فلوریدن (Fluridon) بازدارنده سنتز آبسزیک اسید بوده و غلظت ۱ mM آن به شدت تا نزدیک صد در صد از سنتز ABA جلوگیری می کند (Bianco-Trinchant and Le Page-Degivry, 1995). پیش تیمار کالوس به مدت ۱۲ روز با فلوریدن به غلظت ۰/۳ mM به شدت تحمل کالوس را به تنش های محیطی کاهش داده است (Perales, 2005).

مواد و روش ها

در این آزمایشها، دو لاین خارجی به ترتیب حساس و متحمل IR651 وIR29 (Moradi, 2002) از بخش فیزیولوژی پژوهشکده بیوتکنولوژی انتخاب و به صورت آبکشت در محلول غذایی یوشیدا کشت شدند.

محلول کشت شامل دو سطح شاهد (NaCL= 0) و شوری NaCL= 100mM ($EC= 12dSm^{-1}$) بود. pH به طور روزانه با KOH و NaOH ، ۰/۱ نرمال در سطح 5.5 تنظیم شد و محیط کشت هر هفته تعویض می شد. در طول آزمایش، دما در دامنه ۳± ۳۲/۲۵ درجه سانتیگراد شب/ روز و رطوبت نسبی ۷۰ درصد و شدت نوری معادل ۷۵درصد شرایط طبیعی (۹۰۰-۱۶۰۰ میکرو مول فتون بر متر مربع در ثانیه) نگهداری شد. در آزمایش اول لاینهای IR651 و IR29 (به ترتیب متحمل وحساس) در مرحله رویشی کشت داده شد، زمان آغاز تنش ۲۱ روز پس کاشت (مرحله شش برگی) و دوره اعمال تنش نیز یک هفته بود. پاشش فلوریدن پس از اعمال تنش شوری در مرحله ۶ برگی در غلظتی به میزان ۵۰ میکرو مول صورت پذیرفت. مقدار ۱۰ میلی گرم از پودر فلوریدن را در یک میلی لیتر دی اتیل اتر حل کرده و سپس حجم محلول را با آب مقطر به یک لیتر رساندیم. هورمون پاشی به هنگام غروب انجام گرفت، و به جهت ایجاد سطح تماس مناسبتر هورمون با سطح برگ از Teepol به عنوان surfactant به نسبت v/v ۰/۵٪ برای هر ۱۰۰CC استفاده شد، هورمون پاشی فقط یک بار ۸ ساعت پس از اعمال تنش صورت گرفت این آزمایش در ۳ تکرار و به صورت فاکتوریل در قالب طرح کامل تصادفی اجراء شد. در پایان یک هفته میزان غلظت عناصر در آخرین برگ توسعه و میزان ماده خشک تجمع یافته در اندام هوایی و زیر زمینی اندازه گیری شد. تجزیه های آماری با استفاده از نرم افزار MSTAT-C انجام گرفت.

اندازه‌گیری عناصر

به منظور بررسی غلظت یونها و عناصر در اندام گیاهی، ابتدا اندام هوایی گیاه برداشت شده و سپس برگ و ساقه از یکدیگر تفکیک شد، ریشه نیز از محیط کشت خارج گردید و با جریان آب شستشو داده شد. سپس نمونه‌ها درون پاکت خشک کن قرار داده شد و در آون با دمای ۶۰ درجه سانتیگراد به مدت ۴۸ ساعت خشک گردید (Hamada, 1996). برای هضم نمونه‌ها جهت استخراج عناصر از روش هضم مرطوب و با استفاده از ۰/۳ گرم ماده گیاهی، و تعیین غلظت سدیم و پتاسیم برگ ها با استفاده از دستگاه نشر شعله‌ای مدلCorning-410 انجام گرفت.

بررسی وزن خشک اندام هوایی

به منظور بررسی اثر تنش شوری بر میزان مادهٔ خشک اندام هوایی در پایان آزمایش از هر تیمار مربوط به هر رقم ۱۲ بوته جهت تعیین وزن خشک اندام هوایی و ریشه برداشت شد. بوته ها ابتدا با آب مقطر شسته شده و درون پاکت خشک کن قرار داده شده سپس در آون با دمای ۷۵ درجهٔ سانتی گراد به مدت ۴۸ ساعت خشک گردید.

نمونه های خشک شده با استفاده از ترازوی ۰/۰۰۱ گرم توزین شد. در نهایت وزن خشک اندام هوایی و ریشه ها محاسبه گردید.

بررسی تغییرات غلظت ABA

روش اعمال تنش

در این آزمایش لاینهای IR651 و IR29 (به ترتیب متحمل و حساس) در مرحله رویشی طبق آزمایش اول کشت داده شد. زمان آغاز تنش ۲۱ روز پس کاشت و دوره اعمال تنش نیز یک هفته بود. شوری در دو سطح نرمال و EC12 دسی زیمنس بر متر اعمال شد. این آزمایش در ۴ تکرار و بصورت فاکتوریل در قالب طرح کامل تصادفی اجراء شد. در این آزمایش بلافاصله قبل از شروع تنش، و پس از آن در زمان های۰، ۴، ۱۲، ۲۴، ۴۸، ۹۶ و ۱۶۸ساعت، نمونه برداری از برگهای رفرنس (آخرین برگ توسعه یافته) به عمل آمد. در این آزمایش نمونه ها پس از انجماد بوسیله ازت مایع در دمای ۸۰- تا زمان اندازه گیری نگهداری شدند.

روش استخراج و اندازه گیری ABA

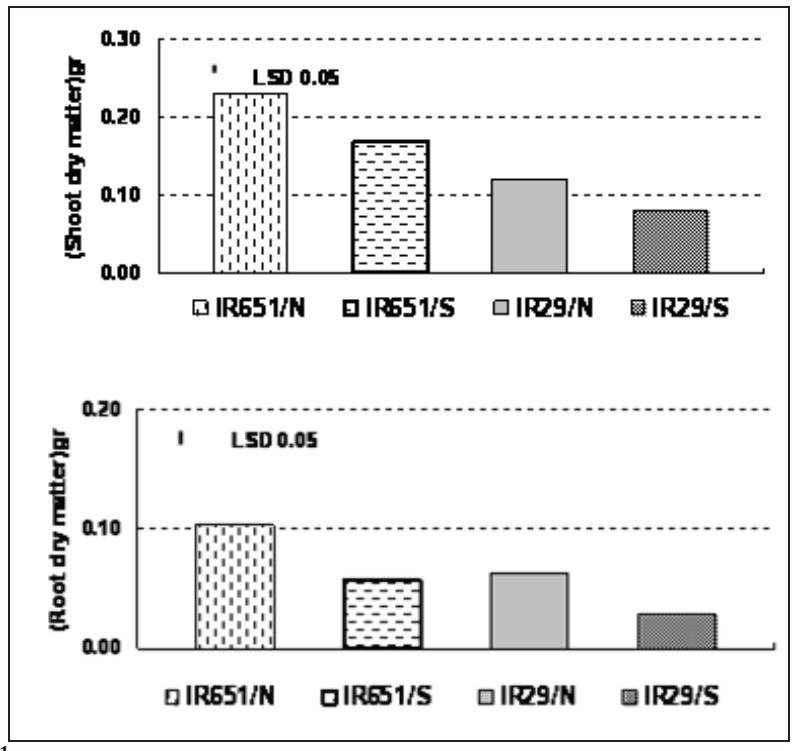
۲ گرم از نمو نه های منجمد شده با استفاده از هاون چینی پودر شده و در فالکن ۵۰ میلی لیتر ریخته می شود. سپس ۴۰ میلی لیترمحلول متانول ۸۰٪ حاوی ۰/۲۵ butylated hydroxytoluene mg mL^{-1} و sodium ascorbate 0.5 mg mL^{-1} به آن افزوده شده و به مدت ۱۶ ساعت در تاریکی در دمای ۴ درجه سانتیگراد نگهداری می شوند تا عمل انحلال ABA در محلول به خوبی انجام شود. سپس نمونه ها توسط کاغذ صافی واتمن ۴۰ صاف می گردد. متانول اضافی با استفاده از دستگاه تبخیرکننده گردان (RFE) در دمای ۳۵ درجه سانتیگراد از محلول صاف شده حذف خواهد شد (در این زمان حجم محلول باقی مانده در حدود ۵-۴ ملی لیتر خواهد بود). به محلول باقی مانده به مقدار مساوی محلول بافر فسفات (8g NaCl; 0.2g KH_2PO_4; 9.6g $Na_2HPO_4 \cdot 12\ H_2O\ L^{-1}$) اضافه شده و pH آن با استفاده از کاغذ pH و KOH ۰/۲ نرمال در حد ۸/۵ تنظیم می گردد. محلول حاصل دوبار توسط ۸-۵ میلی لیتر Ethyl acetate (HPLC grade) شستشو می شود. پس از اضافه کردن استات اتیل, محلول دو فاز خواهد شد . در این زمان محلول موجود در فالکون به شدت باید ورتکس شده و فاز روین (استات اتیل) باید دور ریخته شود. این عمل سبب حذف بسیاری از ناخالصی ها خواهد شد. باقی مانده استات اتیل در محلول باید توسط REF در دمای ۳۵ درجه سانتگراد حذف شود. سپس pH بخش آبکی باقی مانده توسط HCl ۰/۲ نرمال در حدود ۳-۲ تنظیم شده و دو بار دیگر با استات اتیل شستشو خواهد شد, با این تفاوت که این بار استات اتیل در فالکون جداگانه نگهداری می شود. سپس استات اتیل توسط REF در دمای ۳۵ درجه کاملاً تبخیر می شود. پس از تبخیر کامل استات اتیل، بلافاصله باقی مانده در ۴ میلی لیتر متانول (HPLC grade) حل گشته و از فیلتر

یک بار مصرف 0.45-polytetrafluoroethylene عبور داده خواهند شد. محلول بدست آمده توسط دستگاه HPLC با استفاده از ستون C18 و شدت جریان ۰/۸ میلی لیتر درثانیه و حلال استیک اسید ۰/۱ نرمال و متانول ۸۰٪ مخصوص HPLC به نسبت ۵۰:۵۰ تجزیه شد. غلظت ABA با استفاده از غلظت نمونه های استاندارد تعیین شد.

نتایج و بحث

بررسی رشد رویشی

تغییرات ماده خشک ریشه و اندام هوایی در ارقام خارجی و ایرانی در شکل ۱ آمده است. تجمع ماده خشک در اندام هوایی و ریشه کلیه ارقام در وضعیت نرمال تفاوت معنی داری با تیمار تنش نظیر خود داشت . مقادیر ماده خشک اندام هوایی برای رقم IR651 در وضعیت نرمال و تنش ۰/۲۴ و ۰/۱۸ گرم و برای رقم IR29 به ترتیب ۰/۱۲ و ۰/۰۹ گرم بود (شکل ۱). میزان ماده خشک اندام هوایی تجمع یافته در وضعیت نرمال و تنش در رقم IR651 دو برابر تیمار نظیر خود در رقم IR29 بود (شکل ۱). شوری موجب کاهش ماده خشک ریشه هردو رقم شد ولی تأثیر آن بر رقم IR29 بیشتر بود. این مقادیر در ارقام IR29 وIR651 در وضعیت نرمال و تنش بترتیب (۰/۰۵۵، ۰/۰۲) و (۰/۱، ۰/۰۵) بود.



شکل۱: روند تغییرات ماده خشک ریشه و اندام هوایی تحت شرایط نرمال (N) و تنش(S) ($EC=12\ dsm^{-1}$) در ارقام خارجیIR651 ،IR29 در مرحله شش برگی، میله نمایش داده شده بیانگر کمترین اختلاف معنی دار در سطح ۵٪ است.

جدول۱: جدول تجزیه واریانس مقادیر سدیم و پتاسیم که فاکتوررقم و فاکتورهای شوری و هورمون فلوریدن به صورت فاکتوریل در قالب طرح کامل تصادفی اجرا شده است.

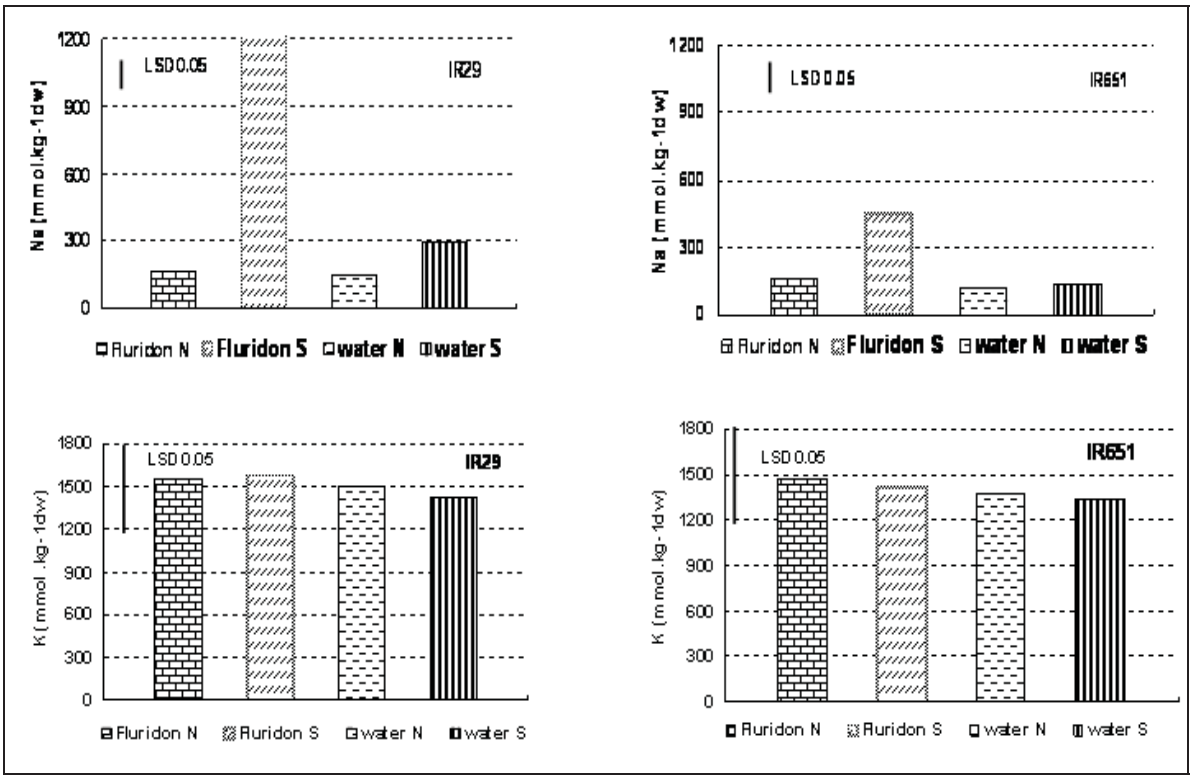
منابع تغییر	درجه آزادی	میانگین مربعات برگ اول K	میانگین مربعات برگ اول Na
رقم	۱	۷۱۲۸۶ ns	۳۲۷۶۰۰/۶۷**
شوری	۱	۷۲۸۰/۱۷ ns	۸۱۶۹۶۶**
شوری× رقم	۱	۴۶۸ /۱۷ ns	۲۸۰۸۰۰/۶۷**
زمان	۱	۵۴۹۱۲/۶۷ ns	۶۴۵۰۶۰/۱۷**
زمان× رقم	۱	۴۵۰/۶۷ ns	۱۴۱۳۷۳/۵**
زمان× شوری	۱	۲۸۶۰/۱۷ ns	۵۵۸۷۶۰/۱۷**
زمان× شوری× رقم	۱	۵۵۸۱/۵ ns	۱۶۴۳۴۱/۵ **
خطا	۱۶	۳۲۳۹۵/۲۹	۱۳۴۶/۴۵۸

ns و ** به ترتیب بیانگر غیر معنی دار بودن و معنی دار بودن در سطح ۱٪ است.

کاربرد فلوریدن و تجمع یونها

کاربرد فلوریدن به صورت اسپری در مرحله ۶ برگی بر روی دو رقم حساس و مقاوم به شوری تحت شرایط نرمال و تنش انجام گرفت. فلوریدن موجب افزایش معنی دار تجمع سدیم در برگ اول (برگ رفرنس) در هر دو رقم حساس و متحمل در شرایط تنش گردید، اما تجمع میزان سدیم در رقم حساس (IR29) به صورت قابل ملاحظه ای بیشتر از رقم متحمل بود. در وضعیت عدم کاربرد فلوریدن (اسپری آب) بین تیمار تنش و نرمال در رقم IR29 تفاوت معنی داری در تجمع سدیم مشاهده شد. در رقم متحمل به تنش (IR651)، بین تیمار کاربرد فلوریدن در وضعیت نرمال و تیمار عدم کاربرد آن (اسپری آب) در دو حالت نرمال و تنش تفاوت معنی دار مشاهده نشد (شکل ۲). تنها در وضعیت تنش بود که کاربرد فلوریدن موجب تجمع معنی دار سدیم در برگ ششم این رقم شد و این خود نشانگر در گیر بودن ABA در متحمل ساختن این رقم به شوری با جلوگیری از تجمع سدیم در این برگها می باشد. میزان تجمع سدیم در این رقم در تیمار تنش شوری و کاربرد فلوریدن بیش از $۴۰۰ mmol.kg^{-1}dw$ بود، در حالی که در رقم حساس این مقدار بیش از $۱۲۰۰ mmol.kg^{-1}dw$ بود (شکل ۲).

میزان تغییرات پتاسیم در هر دو رقم حساس و متحمل به شوری در تیمارهای مختلف کاربرد و عدم کاربرد فلوریدن تفاوت معنی دار نشان نداد (شکل ۲).



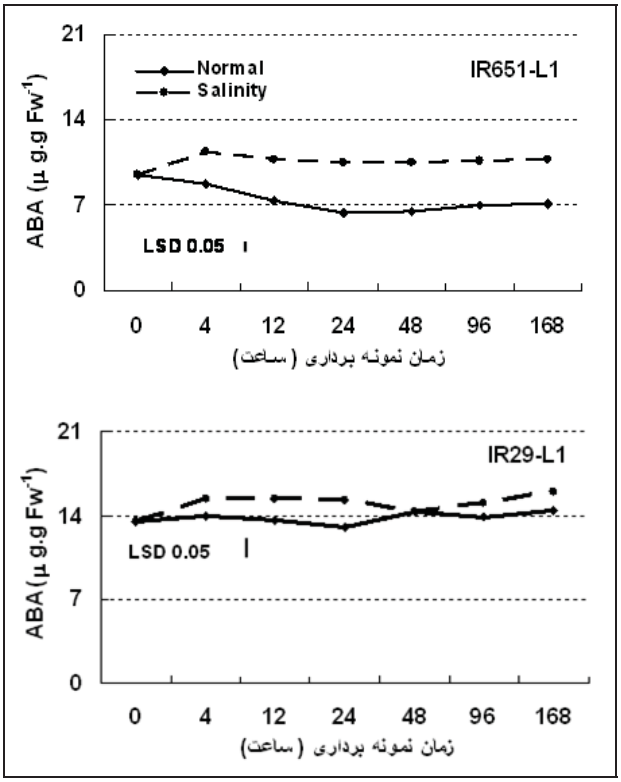
شکل ۲: تغییرات غلظت سدیم و پتاسیم در برگ اول در کاربرد برگی فلوریدن تحت شرایط نرمال و تنش ($EC=12\ dsm^{-1}$) در ارقام خارجی IR651 و IR29 در مرحله شش برگی، میله نمایش داده شده بیانگر کمترین اختلاف معنی دار در سطح ۵٪ است.

تنش شوری دارای دو اثر متفاوت است. در فاز اول موجب القاء تنش اسمزی شده و طی این فاز گیاه تنش خشکی را تجربه می کند، که نتیجه آن کاهش در نرخ رشد ریشه و برگ بدلیل تنش رطوبتی و نه تنش یونی می باشد، چرا که غلظت Na^+ و Cl^- در ساعات اولیه اعمال تنش پایین تر از غلظت های سمی برای سلول می باشد (Munns and James, 2003). از این رو این غلظت ها موجب بازداری رشد نمی شود ولی برای اتساع واکوئل جهت تنظیم اسمزی کافی است (Gadallah, 1996). در صورتی که دوره تنش طولانی تر شود گیاهان عدم تعادل یونی (زیاد بود و یا کمبود برخی یون ها) را نیز تجربه می کنند، که می تواند موجب پیری زود هنگام برگ ها و کاهش سطح فعال فتوسنتز کننده شود. کاهش فتوسنتز بدلیل کاهش کارآیی تثبیت CO_2 در واحد سطح برگ نبوده بلکه بدلیل کاهش سطح فتوسنتز کننده می باشد. کاهش ماده خشک در نتیجه کاهش فتوسنتز می تواند تا حدودی ناشی از کاهش هدایت روزنه ای (g_s) (Lakshmi, 1996) و قسمتی مربوط به کاهش غلظت پروتئین (Sibole *et al.*, 1998) و بخشی بدلیل کاهش در غلظت رنگدانه های فتوسنتزی Kolchevskii

و همکاران در سال و یا غلظت یونی است (Khan, 1997). Yeo در سال ۱۹۸۵ عنوان کرد که بازداری فتوسنتز خالص در برنج توسط شوری بدلیل نقصان آب در سلولهای برگ بدلیل تجمع Na^+ در اپوپلاست می باشد. خسارت اسمزی می تواند در نتیجه غلظت های بالای سدیم در اپوپلاست برگها رخ دهد، هنگامی که سدیم از طریق جریان تعرقی وارد برگها شده و به دنبال از دست رفتن آب در برگها باقی می ماند، از این رو تجمع سدیم تا ۶۰۰ میلی مول در اپوپلاست برگهای برنج تحت تنش متوسط شوری گزارش شده است (Flowers, 1991).

مطالعات ژنتیکی در حال حاضر بر روی منابع ژنتیکی جدید در خصوص نرخ های پایین جذب Na^+ بوسیله برگها متمرکز شده است و بر روی منابع ژنتیکی تحمل غلظت های بالای Na^+ در برگها بدلیل مشکل بودن کمی کردن این صفات کمتر متمرکز شده است (Munns *et al.*, 2006)، چرا که همبستگی زیادی بین Salt exclusion در برنج و تحمل به شوری وجود دارد (Zhu *et al.*, 2004; Lee *et al.*, 2003). اساسا" ژنوتیپ های متحمل به شوری دارای نرخ های پایین انتقال Na^+ به اندام هوایی بوده و دارای توانایی جذب اختصاصی یونی، خصوصا" پتاسیم نسبت به سدیم می باشند (Sarwar *et al.*, 2003). سلولهای گیاهی جهت حفظ فعالیت متابولیکی نرمال و همین طور حفظ فشار آماس خود می بایست سطوح بالای غلظت پتاسیم را در حدود ۱۰۰ تا ۲۰۰ میلی مول در سیتوپلاسم نگه دارند، در حالی که غلظت سدیم را در سطحی معادل کمتر از یک میلی مول نگه می دارند و هر گونه سدیم اضافی می بایست از سلول دور نگاه داشته شده و یا اینکه به واکوئل ها منتقل شود(Qadar, 1995). نتایج آزمایشات نشانگر تجمع غلظت بالای Na^+ در برگهای جوان و فعال رقم حساس (IR29) تحت تیمار تنش بود که بیش از $mM.Kg^{-1}dw$ ۲۴۰ بود، در حالی که در رقم متحمل IR651، میزان تجمع در آخر دوره تنش حد اکثر $mM.Kg^{-1}dw$ ۱۶۰ بوده که با تیمار نرمال تفاوت معنی داری نشان نداد(شکل ۲)، و این احتمالا"دلالت بر فعال بودن مکانیسم دفع سدیم از برگهای جوان در این رقم دارد. این وضعیت بیانگر آن است که این رقم احتمالا" در نقطه کنترل اول، یعنی انتقال از ریشه به اندام هوایی در مقایسه با رقم حساس به شکل کارآمدی عمل می کند. همانطور که پیشتر هم عنوان شد مطالعات نشان داده که ارقامی با نسبت بالای K^+/ Na^+ ومحتوای آب نسبی بالاتر دارای تحمل بیشتری نسبت به تنش شوری می باشند (Munns and James, 2003). در دیگر مطالعات فیزیولوژیکی نشان داده شده که سمیت

سدیم تنها به دلیل غلظت بالای آن در سیتوسول نبوده، بلکه می تواند به دلیل بهم زدن دامنه زیستی پتاسیم بدلیل توانایی رقابت بر سر جایگاه اتصال پتاسیم باشد، از این رو حفظ نسبت بالای K^+/Na^+ در برخی گونه ها نظیر جو و پنبه که غلظت های بالایی از سدیم را تجمع می دهند مهمتر از پایین نگاه داشتن غلظت سدیم تنها می باشد (Sarwar *et al.*, 2003).



شکل ۳: غلظت ABA در جوانترین(Leaf1) برگ رقم حساس IR29 و رقم متحمل IR651 تحت اثر تیمار شاهد ۱/۶۵ و شوری dSm^{-1} ۱۲ ، میله نمایش داده شده بیانگر کمترین اختلاف معنی دار در سطح ۵٪ است.

نتایج این تحقیق نشان داد که ABA به عنوان یک پیام رسان، احتمالاً در ریشه تولید شده و در افزایش تحمل به شوری نقش داشته است؛ تحمل به شوری رقم IR651 ارتباطی نزدیکی با افزایش غلظت ABA داشته است، و مشاهده نسبت تغییرات در غلظت این هورمون دلالت بر همین نتیجه دارد. مرادی در سال ۲۰۰۲ نشان داد که اولین و سریع‌ترین واکنش رقم متحمل IR651 به تنش شوری بسته شدن روزنه ها تا حدود ۵۰ درصد نسبت به شاهد، تنها ۴ ساعت پس از شروع تنش بوده است، در حالی که در رقم IR29 این حالت پس از ۷۲ ساعت رخ داد. وی اظهار داشت که این سرعت واکنش احتمالاً مربوط به تولید بیشتر هورمون ABA در ریشه و یا انتقال سریعتر آن از اندامهای ساختاری به برگها بوده است. ولی تحقیق

کنونی نشان داد که برخلاف انتظار غلظت ABA در رقم متحمل (IR651) نه تنها از رقم حساس به شوری (IR29) بیشتر نبوده بلکه حتی کمتر از نصف آن بوده است. نکته مهمی که در IR29 دیده شد این بود که این افزایش متاثر از تیمار شوری نبوده و میزان ABA بطور مطلق و به شکل طبیعی در این رقم بالاتر از IR651 بوده است. بنابراین بالا بودن مقدار ABA به شکل طبیعی مزیتی نداشته و این نتیجه نشان می دهد که مقدار مطلق اولیه ABA در ایجاد تحمل به شوری نقشی ندارد. این موضوع بار دیگر نشان می دهد که صرفاً بالا بودن یا تولید بیشتر ABA نقشی در ایجاد تحمل به تنش هایی مانند تنش شوری ندارد و عواملی مانند حساسیت بافت (هدف) پاسخ دهنده نیز یکی از شروط اصلی است (Bravo,1998). از نظر تجمع ABA در بین ارقام برنج ایندیکای متحمل به تنش شوری، تفاوت واریته ای مشاهده شده است (Bohra, 1995). در مقایسه ای که بین وایته های متحمل به شوری برنج *Pokali* و *Nona Borka* صورت گرفت، تحت شرایط تنش شوری میزان ABA تجمع یافته در رقم *Nona* و *Pokali* به ترتیب ۲۳/۸ و ۴/۲ $nmolg^{-1}Fw$ بود. در رقم Pokali علی رغم پایین تر بودن غلظت ABA، میزان سنتز پروتئین های مشابه با پروتئین های سنتز شده در رقم Nona بسیار بیشتر بوده است (Bohra, 1995). از این رو با توجه به شواهد عنوان شده، صرف وجود غلظت های بالاتر ABA نمی تواند در القاء تحمل به شوری نقش تعیین کننده داشته باشد و با توجه به القاء سنتز پروتئین ها توسط ABA بخشی از این تحمل را می توان به تفاوت در سنتز پروتئین ها نسبت داد. در برخی از آزمایشات پاسخ رقم حساس به کاربرد ABA خارجی در ایجاد تحمل مثبت ارزیابی شده است، به عکس در مورد ارقام متحمل نتیجه گاهی معکوس بوده است، از این رو احتمالا" یک آستانه ای جهت تحریک پذیری بافت (نظیر برگ ها) باید وجود داشته باشد، لذا در رقم حساس IR29 با وجود افزایش میزان ABA تحت تیمار شوری، احتمالا" بدلیل بالا بودن آستانه تحریک پذیری بروز هیچ گونه اثر تحملی دیده نشد، نحوه عکس العمل رقم متحمل در تیمارهای اسپری و عدم اسپری فلوریدن تحت تیمار تنش نقش ABA را علی رغم سنتز محدود آن نسبت به رقم حساس بیشتر روشن می کند. در آزمایش انجام شده میزان تجمع معنی دار غلظت سدیم در تیمار مربوط به اسپری فلوریدن در رقم متحمل نزدیک به ۵۰۰ $mmol/kg^{-1}dw$ بود، حال آنکه در تیمار شوری نظیر آن (اسپری آب) میزان تجمع سدیم در برگ اول کمتر از ۱۵۰$mmolkg^{-1}dw$ بود (شکل ۲). با توجه به اینکه فلوریدن، بازدارنده ABA می باشد. این

وجه تمایز در میزان تجمع سدیم را می توان به آستانه پایین تحریک پذیری بافت های رقم متحمل از جمله سلولهای روزنه به ABA تلقی کرد که با بستن روزنه ها و کنترل جریان تعرقی از تجمع غلظت های زیان آور سدیم جلوگیری به عمل آورده است، لذا علی رغم سنتز محدود ABA در مقایسه با رقم حساس ولی بدلیل تحریک پذیری بالای بافت (وجود آستانه پایین در تحریک پذیری) مانع تجمع سدیم در تیمار مربوط به عدم اسپری فلوریدن در رقم متحمل شده است (شکل ۲) . میزان تجمع سدیم در رقم حساس IR29 تحت تیمار تنش و اسپری فلوریدن ۱۲۰۰ $mmol.Kg^{-1}dw$ در مقایسه با رقم متحمل ۵۰۰ $mmol.Kg^{-1}dw$ بود. نظر به اثر بازدارنده فلوریدن بر ABA، عکس العمل این ارقام به تنش شوری در تجمع غلظت های مختلف سدیم مستقل از اثر ABA می باشد. این وضعیت البته می تواند نشانگر اثر گذاری مکانیسم های دیگری بجز آستانه تحریک پذیری باشد، که می بایست مستقل از جریان تعرقی و اثر گذاری ABA عمل کند، لدا با توجه به میزان کمتر سدیم تجمع یافته در بخش های مختلف اندام هوایی رقم متحمل نسبت به رقم حساس، این وجه تمایز را می توان به نقطه کنترل اول، یعنی انتقال از ریشه به ساقه (Xylem loading) نسبت داد. در این خصوص گزارشاتی مبنی بر انتقال کمتر سدیم در ژنوتیپ های متحمل برنج عنوان شده است (Sarwar *et al*, 2003). Bohra و همکاران در سال ۱۹۹۵ عکس العمل های مختلفی به ABA خارجی در سه رقم مورد آزمایش برنج تحت شرایط شوری گزارش کردند و میزان تجمع متفاوتی در بین ژنوتیپ ها توسط مون و همکاران (۱۹۹۵) نیز گزارش شده است.

بدین ترتیب نتایج حاصله از این تحقیق عبارت است از:

۱-ABA در القاء تحمل به شوری دارای نقش تعیین کننده است.

۲- دامنه تحریک پذیری بافت های هدف در بین ژنوتیپ های حساس و متحمل نسبت به ABA متغیر است.

۳- سنتز ABA و نه مقدار مطلق آن در القاء تحمل دارای نقش است.

۴- در رقم متحمل علاوه بر ABA، مکانیسم های دیگری در القاء تحمل دخالت داشتند، زیرا علی رغم کاربرد فلوریدن و خنثی کردن اثر ABA، میزان تجمع سدیم تقریبا" ۱/۳ رقم حساس بود.

جدول۲: جدول تجزیه واریانس مقادیر ABA که فاکتوررقم بعنوان تیمار اصلی و فاکتورهای شوری و زمان به عنوان تیمارهای فرعی در اسپلیت پلات اجرا شده است.

منابع تغییر	درجه أزادی (df)	میانگین مربعات برگ اول (MS L1)
نکرار	۳	۱/۰۲۲ ns
رقم	۱	۱۱۵۶xxx
خطای کرت اصلی	۳	۰/۱۹۸
شوری	۱	۱۱۲/۸xxx
شوری× رقم	۱	۸۹/۵xxx
زمان	۶	۳۴/۱xxx
زمان × رقم	۶	۲۸/۶xxx
زمان× شوری	۶	۱۳/۴۴ xxx
زمان× شوری× رقم	۶	۲۴/۱xxx
خطای کرت فرعی	۲۶	۰/۰۵۳

ns وxxx به ترتیب بیانگر غیر معنی دار بودن و معنی دار بودن در سطح ۰۱٪ است.

منابع

-**Albert, R., and Popp, M., 1977.** Chemical composition of halophytes from the Neusieder Lake Region in Austria. Oecologia. 27: 157-170.

-**Ali, M., Jensen, C.R., Mogensen, V.O., Andersen**. **M.N**. **and Henson**. **I.E., 1999.** Root signaling and osmotic adjustment during intermittent soil drying sustain grain yield of field-grown wheat. Field Crop Res. 62: 35-52.

-**Bianco-Trinchant, J. and Le Page-Degivry, M.T., 1995.** ABA synthesis in protoplasts of different origin in response to osmotic stress. Plant Growth Regul. 25: 135-141.

-**Bohra, J.S., Dorffling, H., Dorffling, K. and Agron, J., 1995.** Salinity tolerance of rice (*Oriza sativa* L.)with reference to endogenous and exogenous abscicic acid. Crop Sci. 174:79-86.

-**Bornman, C.H. and Jansson, E.,1980.** Nicotina tabacum callus studies, X.ABA increases resistance to cold damage, Plant Physiol. 48:491-493.

-**Brault, M. and Maldiney, R.,1999.** Mechanisms of cytokinin action. Plant Physiol. Biochem. 37: 403-412.

-**Bravo, L.A., Zuniga, G.E., Alberdi, M. and Corcuera, L.J., 1998.** The role of ABA in freezing tolerance and cold acclimation in barely,Plant Phsiol. 103:17-23.

-**Clipson, N.J.W., Lachno D.R. and Flowers, T.J., 1988.** Salt tolerance in the halophyte Suaeda maritime L. Dum: abscicic acid concentrations in response to constant and altered salinity .J.Exp.Bot. 39:1381-1388.

-**Flowers, T.J., Hajibagheri M.A. and Yeo, A.R., 1991.** Ion accumulation in the cell walls of rice plants growing under saline conditions- evidence for the Öertli hypothesis. Plant and Environ. 14: 319-325

-**Fricke, W., 2004.** Rapid and tissue-specific accumulation of solutes in the growth zone of barely leaves in response to salinity. Planta. 219: 515-525.

-**Gadallah, M., 1996.** Abscisic acid, temperature and salinity interactions on growth and some mineral elements in Carthamus plants. Plant Growth Regul. 23:79-103

-**Galves, A.F, Gulick P.J. and Dvorak, J., 1993.** Characterization of the early stages of genetic salt-stress responses in salt-tolerant Lophopyrum elogatum, salt-sensetive wheat, and their amphiploid. Plant physiol. 103:257-265.

-**Garcia, A., Rizzo, C.A., UD-Din, J., Bartos, S.L., Senadhira, D., Flowers, T.J. and Yeo, A.R., 1997.** Sodium and Potassium transport to the xylem are inherited independently in rice, and the mechanisms of sodium:potassium selectivity differs between rice and wheat. Plant Cell and Environ. 20: 1167-1174.

-**Greenway, H., 1973.** Salinity, plant grows and metabolism. J. Aust. Inst. Agric. Sci. 39:24-34.

- **Hamada, A.M.,1996.** Effect of NaCl, water stress or both on gas exchange and growth of wheat. Biologia Planta. 38(3):405-412.

-**Khan, M.S.A., Hamid, A., Salahuddin, A.B.M., Quasem, A. and Karim, M.A., 1997.** Effect of NaCl and mineral ions accumulation of different types of rice (*Oriza sativa* L). J. Agron. Crop Sci. 179: 149-161.

-**Kolchevskii, K.G., Kocharyan, N.I. and Koroleva, Q.Y., 1995.** Effect of salinity on photosynthetic characteristic and ion accumulation in C3 and C4 plant of Ararat Plain. Photosynthetica. 31: 277-282.

-**Lakshmi, A., Ramanjulu, S., Veeranjaneyulu, K. and Sudhakar, C., 1996.** Effect of NaCl on photosynthesis parameters in two cultivars of mulberry. Photosynthetica. 32: 285-289.

-**Lee, K.S., Choi, W.Y., Ko, J.C., Kim, T.S. and Gregoria. G.B., 2003.** Salinity tolerance of japonica and indica rice (*Oriza sativa* L.) at seedling stage. Planta. 216: 1043-1046.

-**Main, M.A.R, Emerson, D.N., Fredric, L.K. and Robert. H.T., 1993.** Root growth of wheat genotypes in hydroponic culture and in the greenhouse under different soil moisture regimes. Crop Sci. 33: 283- 286.

-**MeCree, K.J., 1986.** Whole plant carbon balance during osmotic adjustment to drought and salinity stress. Aust. J. Plant Physiol. 13: 33-45.

-**Moradi, F., 2002.** Physiological characterization of rice cultivars for salinity tolerance during vegetative and reproductive stages. PhD Dissertation. The University of the Philippines at Los Banos, Laguna, Philippines. pp.190

-**Munns, R. and James, R.A., 2003**. Screening methods for salinity tolerance: a case study with tetraploid wheat. Plant and soil. 253: 18۰-201.

-**Munns, R., 2002.** Comparative physiology of salt and water stress. Plant Cell and Environ. 25: 239-250.

-**Munns, R., Richard, A. and Lauchli, A., 2006.** Approaches to increasing the salt tolerance of wheat and other cereals. J. Exp. Bot. 57(5): 1025-1043.

-**Perales, L., Arbona, V., Gomez-Cadenas, A., Cornejo, M.J. and Sanz, A., 2005.** A relationship between tolerance to dehydration of rice cell lines and ability for ABA synthesis under stress. Plant Phsiol and Biochem. 35: 761-772.

-**Qadar, A., 1995.** Potasium and sodium contents of shoot and laminae of rice cultivars and their sodicity tolerance. J. Plant Nutr. 18: 2281-2290.

-**Sarwar, G., Ashraf, M.Y. and Nameen, M., 2003.** Genetic variability of some primitive bread wheat varieties to salt stress. Pak. J. Bot. 35: 771-777.

-**Sharma, S.K., 1987.** Mechanism of tolerance in wheat genotypes differing in sodicity tolerance. Plant Physiol and Biochem. India. 14: 87- 94.

-**Sibole, J.V., Montero, E., Cabot, C., Poschenrieder, C. and Barcelo. J., 1998.** Role of sodium in the ABA-mediated long-term growth response of bean to salt stress. Physiol. Plant. 104: 299-305.

-**Tardieu, F., Zhang J. and Davies, W.J., 1992.** Wheat information is conveyed by an ABA signal from maize roots in drying soil? Plant Cell and Environ. 15: 185-191.

-**Yeo, A.R. and Flowlers, T.J., 1986.** Ion transport in Suaeda maritime: its relation to growth and implications for the pathway of radial transport of ions across the root. J. Exp. Bot. 37: 143-159.

-**Yeo, A.R., Capron, S.J.M. and Flowers, T.J., 1985.** The effect of salinity upon photosynthesis in rice (*Oriza sativa* L): Gas exchange by individual leaves relation to their salt content. J. Exp. Bot. 36: 1240-1248.

-**Yeo, A.R., Krarner, D., Lauchli, A. and Gullasch, J., 1977.** Ion Distribution in salt stress mature Zea mays roots in relation to ultra structure and relation of sodium. J. Exp. Bot. 28: 17-29.

-**Yongyin W., Mopper, S. and Karl, H., 2001.** Effects of salinity on endogenous ABA, IAA, JA, and SA in Iris hexagona. J. Chemical Ecol. 27(2) 154-165.

-**Zhu, G.Y., Kinet, J.M. and Lutts, S., 2004.** Characterisation of rice (*Oriza sativa* L.) F3 population selected for salt resistance. 2. Relationship between yield-related parameters and physiological properties. Aust. J. Exp. Agri. 44: 333-342.

Study of Salinity Tolerance Related to Endogenous ABA in Rice (*Oriza sativa* L.) Varieties

Saied Saiedipour*

1) Assistant Professor, Islamic Azad University, Shooshtar Branch

***Corresponding author** saeeds79@gmail.com

Received: 2011/01/26 **Accepted: 2011/04/07**

Abstract

Rice (Oryza sativa), a salt-sensitive species, has considerable genetic variation for salt tolerance within the cultivated gene pool. To evaluate salinity effects on Na, K and ABA concentration and dry matter of shoot and root, two rice genotypes (IR29 and IR651, sensitive and tolerant respectively identified by IRRI) were grown in a green house experiment, in normal conditions till 6th leaf was fully expanded. Seedlings were exposed to salinity, EC 12 dS m^{-1} and normal conditions (EC = 1.65 dSm^{-1}, Ushida solution base EC) for one week. Samples were taken 0, 4, 12, 24, 48, 96, 168 hrs after starting the treatments for determining ABA concentration in the youngest leaf .In another experiment after four hrs of inserting the treatment of salinity, fluridone in 50µM was sprayed only once on leaves, then we used the youngest leaf for measuring Na , K concentration. In this experiment dry matter of root and shoot under salinity in contrast to normal treatment decreased significantly, but this decrease was more in sensitive cultivar. Variation of K was not significant under salinity and salinity cause to accumulate Na in fluridone treatment in a couple of cultivars, but Na concentration in tolerant cultivar was less than half in sensitive cultivar. ABA concentration increased significantly under salinity in tolerant cultivar, however, in sensitive cultivar increase was not significant.

Key word: Rice, Salinity, Dry matter, ABA, Fluridone.