

## بررسی اثرسیتوکینین بر شاخص‌های رشد و فتوسنتز گیاه *Cucurbita maxima* L. در سطوح مختلف خشکی

مریم نیاکان\*، معصومه حبیبی

گروه زیست‌شناسی، واحد گرگان، دانشگاه آزاد اسلامی، گرگان، ایران

تاریخ دریافت: ۹۵/۳/۱۳ تاریخ پذیرش: ۹۵/۶/۱۵

### چکیده

خشکی از جمله تنش‌های محیطی است که به‌عنوان مهمترین عامل محدود کننده رشد و تولید گیاهان در اکثر نقاط جهان شناخته شده است. هدف از این تحقیق، بررسی اثر سطوح مختلف خشکی بر شاخص‌های مورفوفیزیولوژیکی گیاه *Cucurbita maxima* L. به شکل مستقل و نیز به همراه کاربرد کیتین در دو غلظت به شکل محلول پاشی بر میزان پارامترهای رشد، رنگیزه‌های فتوسنتزی و قندهای محلول و نامحلول برگ و ریشه بود. جهت رسیدن به این هدف، آزمایشی گلدانی در محیط باز به‌صورت فاکتوریل در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی در قالب ۹ تیمار با ۴ تکرار مورد ارزیابی قرار گرفت. در مرحله رویشی سه سطح از تنش خشکی شامل ۲/۳ ظرفیت زراعی معادل تنش ملایم و ۱/۳ ظرفیت زراعی معادل تنش شدید خشکی به همراه کاربرد دو غلظت از کیتین شامل ۲ و ۴ میلی‌گرم در لیتر به شکل محلول پاشی بر اندام هوایی گیاهان اعمال شد. نتایج نشان داد که تنش خشکی موجب کاهش پارامترهای رشد، نشاسته و رنگیزه‌های فتوسنتزی و کاربرد کیتین منجر به افزایش معنی‌داری در آن‌ها شد. از سوی دیگر تنش خشکی قندهای محلول را افزایش داد در حالی که کاربرد کیتین موجب کاهش پارامترهای نامبرده شد. در مجموع کاربرد کیتین در این تحقیق توانست به‌طور قابل توجهی از اثرات منفی خشکی بر گیاه مورد تحقیق بکاهد.

واژه‌های کلیدی: خشکی، رنگیزه، قندهای محلول و نامحلول، کیتین

### مقدمه

شرایط خشکی باعث محدود شدن رشد گیاه می‌گردد. بررسی‌های متعدد نشان می‌دهد که تنش ناشی از کمبود آب سبب کاهش رشد، سطح برگ، تخریب و کاهش فتوسنتز، آسیب به غشای سلولی، تخریب و کاهش پروتئین‌ها، آنزیم‌ها، رنگیزه‌ها و پلاستیدها، کاهش کلروفیل و کاهش رشد ریشه می‌گردد (Reddy et al., 2004).

اثر عمده تنش خشکی کاهش فتوسنتز است که با کاهش سطح برگ، اختلال در فتوسنتز، پیری زودرس و کاهش تولید مواد غذایی همراه است. مهار فتوسنتز در اثر بسته شدن روزنه ایجاد می‌شود که باعث محدودیت

کمبود آب یکی از عوامل محدود کننده تولید گیاهان زراعی در سراسر جهان است. تنش یا کمبود آب به شرایطی اطلاق می‌شود که در آن سلول‌ها و بافت‌ها در وضعیتی قرار گرفته‌اند که آماس آنها کامل نیست. چنانچه شدت تنش آب زیاد باشد، کاهش شدید فتوسنتز و مختل شدن فرایندهای فیزیولوژیکی، توقف رشد و سرانجام خشک شدن و مرگ گیاه را در پی خواهد داشت (Shinozaki and Shinozaki, 2007). به‌طور کلی کاهش محتوای آب بافت‌های گیاهی تحت

\*نویسنده مسئول: mnniakan@yahoo.com

می‌باشند و نقش مهمی در توانایی گیاهان در سازش با محیط در حال تغییر دارند که این کار را بوسیله واسطه‌های رشد انجام می‌دهند. فیزیولوژیست‌های گیاهی نشان داده‌اند که هورمون‌های گیاهی در یک شبکه پیچیده به‌طور گسترده عمل می‌کنند. هورمون‌های گیاهی یا به‌طور مستقیم یا غیرمستقیم تحت تاثیر خشکی قرار می‌گیرند (Wilkinson et al., 2002).

سیتوکینین‌ها، پیام‌برهای شیمیایی ویژه گیاهان (هورمون‌ها) هستند که در تنظیم چرخه سلول گیاهی و بسیاری از فرایندها نقش ایفا می‌کنند. یکی از مشتقات سیتوکینینی، کیتین (۶-فورفوریل آمینوپورین) می‌باشد. این هورمون‌ها بر روی متابولیسم عمومی گیاه و به‌ویژه فعالیت آنزیم‌ها و کوانزیم‌های موثر در بیوسنتز مواد و رشد گیاه اثر می‌نماید (Shudo, 1994). تحقیقات نشان داده است که سیتوکینین بسیاری از فعالیت‌های فیزیولوژیکی القاء شده توسط تنش خشکی را تعدیل می‌کند (Werner et al., 2010). سیتوکینین می‌تواند مستقیماً پارامترهای فتوسنتزی مثل کلروفیل، سنتز و تجزیه پروتئین‌های فتوسنتزی، ترکیبات و فراساختمان کلروپلاست‌ها، انتقال الکترون و فعالیت‌های آنزیمی را تحت تاثیر قرار دهد (Pospisilova et al., 2000).

*Cucurbita maxima* L. یکی از انواع کدو و گیاهی یکساله متعلق به Cucurbitaceae می‌باشد. تیره کدو شامل گیاهانی علفی و غالباً پیچان و یا دارای اندام‌های پیچک مانندند. گیاهان این تیره نسبتاً کم نیاز بوده و در هر آب و هوایی از آب و هوای مناطق گرمسیری و نیمه گرمسیری تا آب و هوای مناطق خشک و استپی را تحمل می‌کند. این تیره از نظر دارویی ملین، ضددیابت، کاهش‌دهنده چربی و فشار خون می‌باشد. تخم آن ضدکرم روده، ضدصفرآ و بلغم است (Skilnyk et al., 1992).

تنش خشکی یکی از عوامل محیطی مهم در کاهش تولید محصولات زراعی و سیفی در سراسر دنیا است. با

جذب CO<sub>2</sub> در کلروپلاست شده همچنین کاهش فعالیت آنزیم‌های مختلف در چرخه کالوین، اختلال در واکنش‌های متابولیکی نظیر سنتز روبیسکو، تولید ATP و اختلال در انتقال الکترون را به دنبال دارد (Wahid and Rasul, 2005). گزارش شده است که اختلال در فتوفسفریلاسیون و سنتز آدنوزین تری فسفات عامل اصلی محدود کننده فتوسنتز حتی در خشکی خفیف است. در تنش شدید خشکی، فتوسنتز به علت کاهش فعالیت روبیسکو محدود می‌شود (Bota et al., 2004). قندهای محلول یکی از اسمولیت‌های سازگار محسوب می‌شوند که در شرایط خشکی تجمع یافته و ممکن است به‌عنوان عامل اسمزی و یا محافظ اسمزی عمل نمایند. در حالت اول افزایش قندها در اثر تنش با تنظیم اسمزی و نگهداری تورژسانس و در حالت دوم با پایدار کردن غشاءها و پروتئین‌ها در ارتباط می‌باشد (et Bohnert al., 1996). برای افزایش کربوهیدرات‌های محلول در شرایط تنش خشکی عوامل متعددی ذکر شده است. گزارشات مبین آن است که در شرایط خشکی ممکن است کربوهیدرات‌های مرکب به کربوهیدرات‌های ساده تجزیه شوند. تحت شرایط تنش افزایش نسبت ساکارز به نشاسته و تجزیه نشاسته، همچنین کاهش انتقال ساکارز به خارج از برگ‌ها منجر به افزایش کربوهیدرات‌های محلول می‌گردد (Pereira, 2000; Watanab et al., 1993; and Chaves). محققان افزایش قندهای محلول در گیاه مواجه با تنش کم آبی را به دلیل افزایش تجزیه کربوهیدرات‌های نامحلول و در نتیجه بالا رفتن سطوح قندهای محلول، سنتز مواد اسمتیک از مسیرهای غیر فتوسنتزی، توقف رشد، کاهش سرعت انتقال مواد و افزایش سنتز ساکارز به دلیل فعالسازی آنزیم ساکارز فسفات سنتاز نسبت داده‌اند (Oliviera-Neto et al., 2009).

فیتوهورمون‌ها با عملکردهای متفاوت فیزیولوژیکی برای انطباق گیاه با تنش‌های زنده و غیرزنده ضروری

توجه به اینکه بخش وسیعی از زمین‌های زیر کشت دنیا و ایران در شرایط آب و هوایی نیمه خشک قرار دارند لزوم توجه به روش‌های نوین جهت کاهش خسارات ناشی از این تنش، امری ضروری به حساب می‌آید. گزارشات مختلف نشان می‌دهد که گیاهان مختلف از جمله گیاهان تیره کدو تحت تنش خشکی دچار کاهش رشد و بازده محصولات کشاورزی می‌شود و استفاده از هورمون‌ها و تنظیم کننده‌های رشد باعث بهبود رشد گیاه تحت تنش خشکی می‌گردد. از این رو هدف از انجام تحقیق حاضر بررسی اثر محلول پاشی کیتین بر تغییرات رشد، رنگیزه‌های کلروفیلی و فندهای محلول و نامحلول به‌عنوان شاخص‌های فتوسنتزی در پاسخ این گیاه به سطوح مختلف خشکی بود.

#### مواد و روش‌ها

بذر *Cucurbita maxima* L. از مرکز فروش بذرهای استاندارد و هیبرید در گرگان تهیه شد. بذرها در پارچه نم‌دار به مدت ۳ روز قرار داده تا ریشه‌چه از آن خارج شد. سپس بذر جوانه‌زده به گلدان‌هایی با حجم ۵ کیلوگرم در خاکی که مخلوطی از خاک مزرعه + خاک برگ + ماسه با نسبت ۳:۱:۱ بود منتقل شدند. گلدان‌ها در شرایط محیط باز با دمای متوسط  $25 \pm 2$  درجه سانتی‌گراد و رطوبت نسبی ۷۰ درصد قرار گرفتند. مشخصات خاک مورد استفاده در گلدان‌ها در جدول (۱) آورده شده است. پس از خروج اندام هوایی از خاک تمام گلدان‌ها به مقدار مساوی آبیاری گشتند. **اعمال تنش خشکی:** در ابتدا ظرفیت زراعی خاک گلدان‌ها<sup>۱</sup> تعیین شد. سپس ۲/۳ مقدار آن جهت اعمال تنش خشکی ملایم (۲/۳ FC) و ۱/۳ آن برای تنش خشکی شدید (۱/۳ FC) در نظر گرفته شد. ۳۰ روز پس از کشت در اواسط دوره رویشی با توجه به نوع تیمار، گلدان‌ها با مقدار تعیین شده آبیاری گشتند. با

شروع اعمال تیمارهای خشکی محلول پاشی با کیتین در غلظت‌های ۲ و ۴ میلی‌گرم در لیتر در ۵ مرحله با فاصله ۴ روز بر اندام‌های هوایی گیاهان با توجه به نوع تیمار انجام شد. گیاهان در این تحقیق به مدت ۲۰ روز تحت تیمار قرار گرفتند.

**سنجش‌های پارامترهای رشد:** به‌منظور انجام سنجش‌های مورفولوژیکی و فیزیولوژیکی، ۶۰ روز پس از کاشت، گیاهان با دقت از گلدان خارج شده و ریشه‌ها با آب مقطر کاملاً شستشو گردید. طول بخش هوایی (ساقه) و ریشه توسط یک متر فلزی اندازه‌گیری شد. جهت تعیین وزن‌تر، برگ و ریشه مربوط به یک گیاه جدا و توسط ترازوی دیجیتال توزین شد. جهت اندازه‌گیری وزن خشک، برگ و ریشه نمونه‌هایی که وزن‌تر آن‌ها محاسبه شده بود به صورت مجزا به مدت ۷۲ ساعت در آون با دمای ۷۵ درجه سانتی‌گراد قرار داده شد و پس از خشک شدن با ترازوی دیجیتال توزین گشتند. برای تعیین سطح برگ، از برگ‌های مشخصی که دارای موقعیت مشابهی بر روی ساقه گیاهان تحت تیمار بودند استفاده شد. سطح برگ توسط دستگاه پلاتی متر اندازه‌گیری شد.

**سنجش رنگیزه‌های فتوسنتزی:** ابتدا یک گرم برگ توزین و با ۱۰ میلی‌لیتر استون ۸۰ درصد ساییده شد. سپس محلول فوق با کاغذ صافی واتمن ۲ صاف و با استون ۸۰ درصد به حجم نهایی ۲۰ میلی‌لیتر رسانده شد. جذب محلول در طول موج‌های ۶۴۵ و ۶۶۳ با استفاده از شاهد در دستگاه اسپکتروفتومتر خوانده شد. سپس محتوای کلروفیلی با استفاده از روابط زیر بر حسب میلی‌گرم برگ‌گرم وزن‌تر محاسبه گردید (Jenson, 1987).

$$\begin{aligned} \text{Chl (a)} &= 0.0127A_{663} - 0.00269A_{645} \\ \text{Chl (b)} &= 0.0229A_{645} - 0.00468A_{663} \\ \text{Chlt (a+b)} &= 0.0202A_{645} + 0.00802A_{663} \end{aligned}$$

1. Filed capacity

خصوصیات مورفولوژیکی گیاه: بر اساس مقایسه میانگین داده‌ها، بیشترین طول اندام هوایی در تنش ملایم (۲/۳ ظرفیت زراعی) همراه با کاربرد ۴ میلی‌گرم بر لیتر کیتین مشاهده شد. در بین سایر تیمارها اختلاف معنی داری مشاهده نشد. همچنین بیشترین طول ریشه در تنش شدید بدون کاربرد کیتین بدست آمد که نسبت به شاهد از لحاظ آماری معنی دار بود (جدول ۱). طبق نتایج بدست آمده کاربرد کیتین در تنش شدید در هر دو غلظت (۲ و ۴ میلی‌گرم در لیتر) موجب افزایش قابل ملاحظه وزن تر ریشه شد. در مورد وزن تر اندام هوایی نیز کاربرد کیتین ۴ میلی‌گرم در لیتر بدون تنش و نیز کاربرد این هورمون در غلظت‌های کاربردی افزایش وزن تر اندام هوایی را نسبت به عدم کاربرد آن به همراه داشت (جدول ۱).

چنانچه در شکل ۳ مشاهده می‌شود تنش ملایم و شدید خشکی موجب کاهش معنی دار وزن خشک اندام هوایی و ریشه شد و کاربرد کیتین در هر دو غلظت در شرایط تنش موجب افزایش معنی‌دار این پارامتر رشد گشت (جدول ۱).

طبق جدول ۱ تنش ملایم و شدید خشکی موجب کاهش معنی‌دار تعداد برگ شد. کاربرد کیتین چه در شرایط تنش خشکی و چه عدم تنش تعداد برگ را به طور قابل ملاحظه‌ای افزایش داد که این مطلب بویژه در مورد تنش ملایم قابل ملاحظه بود. در مورد تعداد غنچه و گل چنین نیز چنین افزایشی مشاهده شد. در مورد تعداد گل نیز روند افزایش گل در کاربرد کیتین در تنش ملایم قابل توجه بود.

سنجش قندهای محلول و نا محلول: ابتدا نمونه گیاهی در درجه حرارت ۹۰ سانتی‌گراد به مدت ۴۸ ساعت داخل آون خشک و توزین گشت. سپس ۱۰ میلی‌لیتر الکل اتانول ۷۰ درصد به نمونه‌ها اضافه و در یخچال به مدت یک هفته نگهداری شد. به ۱ میلی‌لیتر از محلول بالایی ۱ میلی‌لیتر آب مقطر اضافه شد. در مرحله بعد ۱ میلی‌لیتر فنل ۵ درصد و ۵ میلی‌لیتر اسیدسولفوریک غلیظ به محلول فوق افزوده و در طول موج ۴۸۵nm در مقابل شاهد جذب آن توسط دستگاه اسپکتروفتومتر خوانده شد. برای یافتن غلظت قندهای محلول (c) توسط منحنی استاندارد، از گلوکز با غلظت‌های مختلف استفاده گردید. در نهایت مقدار قندهای محلول بر حسب گرم بر گرم وزن خشک نمونه گیاهی محاسبه گردید.

برای استخراج نشاسته از نمونه‌ای که قند آن استخراج شد استفاده گردید. بدین ترتیب که نمونه با ۱۰ میلی‌لیتر آب مقطر ساییده سپس به مدت ۱۰ تا ۱۵ دقیقه جوشانده و سپس صاف گردید. سپس به ۱ میلی‌لیتر از این محلول ۱ میلی‌لیتر الکل ۷۰ درصد، ۱ میلی‌لیتر فنل ۵ درصد و ۵ میلی‌لیتر اسید سولفوریک خالص افزوده و پس از خنک شدن، جذب آن‌ها در ۴۷۵ نانومتر با استفاده از شاهد توسط دستگاه اسپکتروفتومتر خوانده شد (Kochert, 1987).

تجزیه و تحلیل داده‌ها از طریق واریانس دو عاملی و میانگین انجام گرفت. همچنین مقایسه بین تیمارها براساس آزمون دانکن توسط برنامه آماری SPSS برای چهار تکرار صورت گرفت. رسم نمودارها با کمک نرم‌افزار Excel انجام شد.

## نتایج

بررسی اثر تنش خشکی و کیتین برونزاد بر برخی

جدول ۱: اثر غلظت‌های مختلف کیتین (۲ و ۴ میلی‌گرم در لیتر) به همراه تنش ملایم (۲/۳ ظرفیت زراعی) و تنش شدید خشکی (۱/۳ ظرفیت زراعی) در کنار شاهد (ظرفیت زراعی) بر پارامترهای رشد.

تیمارها	طول ریشه Cm	طول اندام هوایی Cm	وزن تر ریشه g	وزن تر اندام هوایی g	تعداد برگ	تعداد غنچه	تعداد گل
شاهد (ظرفیت زراعی = FC)	۲۵ bc	۱۲b	۲/۵۴ ab	۱۵/۲۴ bc	۸/۷۵ b	۱/۶۳ ab	۳/۵ ab
کیتین ۲ mg/L	۱۸/۲۳ c	۱۲/۳۷b	۲/۵۷ ab	۱۹/۵۴ ab	۱۰/۲۵ ab	۱/۷۵ ab	۵/۲۵ a
کیتین ۴ mg/L	۲۳/۵ bc	۱۳/۸ ab	۳/۵۲ a	۲۸/۴۳ a	۱۱/۲۵ a	۲/۵ a	۵/۵ a
۲/۳FC (تنش ملایم)	۲۵/۵ b	۱۱/۵b	۲/۱۶ b	۱۲/۳۱ bc	۷ c	۱/۲۵ b	۷۵ c۱/
کیتین ۲ + ۲/۳ FC	۱۷/۷۵ c	۱۲/۱۲ b	۲/۵۴ ab	۱۴/۹۱ bc	۱۱/۷۵ a	۱/۷۵ ab	۳/۵ ab
کیتین ۲ + ۴/۳ FC	۲۷ bc	۱۷/۸۵ a	۲/۹۲ ab	۱۱/۲۰ ab	۱۲ a	۱/۷۵ ab	۳/۵ ab
۱/۳FC (تنش شدید)	۳۷/۲۵ a	۱۰/۲۷b	۱/۷۹ c	۸/۳۷ c	۶/۵ c	۱ b	۲ bc
کیتین ۲ + ۱/۳ FC	۲۵/۵ bc	۱۱/۳۷b	۲/۸۰ ab	۱۳/۷۳ bc	۸/۷۵ b	۱/۷۵ ab	۳/۵ ab
کیتین ۲ + ۴/۳ FC	۲۵/۲۵bc	۱۱/۳ b	۲/۵۸ ab	۱۲/۶۷ bc	۹/۲۵ b	۱/۷۵ ab	۳/۷۵ ab

\*حروف غیر مشابه نشان‌دهنده وجود اختلاف معنی‌دار در سطح ۵ درصد است

بررسی اثر تنش خشکی و کیتین برونزاد بر رنگیزه‌های فتوسنتزی: نتایج این تحقیق نشان داد که تنش خشکی موجب کاهش میزان کلروفیل a شد. از سوی دیگر کاربرد کیتین بویژه در غلظت ۴ میلی‌گرم در لیتر چه در شرایط تنش و چه عدم تنش موجب افزایش میزان کلروفیل a گشت. در مورد کلروفیل b اگرچه اعمال تنش‌های خشکی ملایم و شدید کاهش میزان کلروفیل b را به دنبال داشت ولیکن کاربرد کیتین هم در غلظت ۲ و هم ۴ میلی‌گرم در لیتر فقط در شرایط تنش شدید موجب افزایش قابل ملاحظه این رنگیزه

شد. در مورد کلروفیل کل نیز تنها تنش شدید موجب کاهش معنی‌دار نسبت به شاهد گشت و محلول پاشی با کیتین نیز تنها در تنش شدید افزایش معنی‌دار کلروفیل کل را به همراه داشت. نتیجه مشابه با رنگیزه‌های کلروفیلی در مورد کاروتنوئیدها نیز دیده شد بدین معنی که کاهش تنش خشکی شدید موجب کاهش معنی‌دار این ترکیبات در برگ گیاه شد علاوه بر اینکه تیمار با کیتین بویژه ۴ میلی‌گرم در لیتر در شرایط بدون تنش نیز میزان کاروتنوئیدها را به طور معنی‌داری افزایش داد (جدول ۲).

جدول ۲: اثر غلظت‌های مختلف کیتین (۲ و ۴ میلی‌گرم در لیتر) به همراه تنش ملایم (۲/۳ ظرفیت زراعی) و تنش شدید خشکی (۱/۳ ظرفیت زراعی) در کنار شاهد (ظرفیت زراعی) بر رنگیزه‌های فتوسنتزی

تیمارها	کلروفیل a mg.g <sup>-1</sup> FW	کلروفیل b mg.g <sup>-1</sup> FW	کلروفیل کل mg.g <sup>-1</sup> FW	کاروتنوئیدها mg.g <sup>-1</sup> FW
شاهد (ظرفیت زراعی = FC)	۴/۲۳ b	۷/۰۳ a	۱۱/۲۵ b	۲/۰۹ a
کیتین ۲ mg/L	۵/۰۵ ab	۷/۰۷ a	۱۲/۱۲ ab	۲/۸۲ a
کیتین ۴ mg/L	۵/۴۷ a	۶/۷۵ ab	۱۲/۱ ab	۳/۰۷ ab
۲/۳FC (تنش ملایم)	۳/۲۳ cd	۵/۶۳ bc	۸/۳۲ bcd	۱/۸۵ bc
کیتین ۲ + ۲/۳ FC	۵/۱ ab	۶/۴۵ b	۱۱/۵۵ b	۲/۲ b
کیتین ۲ + ۴/۳ FC	۴/۵۸ b	۵/۱۳ bc	۹/۶۴ ab	۲/۴۹ bc
۱/۳FC (تنش شدید)	۲/۷۳ d	۴/۸۴ c	۷/۴۵ cd	۱/۳۸ c
کیتین ۲ + ۱/۳ FC	۳/۶۵ bc	۶/۸۳ ab	۱۰/۸۴ bc	۱/۹۲ ab
کیتین ۲ + ۴/۳ FC	۵/۲۲ a	۶/۵ b	۱۲/۵۳ a	۲/۳۱ b

مورد قندهای نامحلول برگ تنش خشکی و محلول پاشی با کیتین تغییرات معنی داری را نسبت به شاهد در سطح احتمال ۵ درصد حاصل نکرد. در ریشه قندهای نامحلول در کاربرد کیتین در هر دو غلظت افزایش معنی دار و قابل ملاحظه ای را در شرایط خشکی نسبت به عدم اعمال کیتین ایجاد نمود (جدول ۳).

**بررسی اثر تنش خشکی و کیتین برونزاد بر قندهای محلول و نامحلول:** چنانچه در جدول ۳ مشاهده می شود اعمال تنش خشکی ملایم و شدید میزان قندهای محلول برگ و ریشه را افزایش داد در حالی که کاربرد کیتین در هر دو غلظت کاربردی موجب کاهش این ترکیبات شد. از سوی دیگر در شرایط عدم تنش اعمال تیمار کیتین در دو غلظت کاربردی تغییرات معنی داری را نسبت به شاهد ایجاد نکرد. در

**جدل ۳:** اثر غلظت های مختلف کیتین (۲ و ۴ میلی گرم در لیتر) به همراه تنش ملایم (۲/۳FC) و تنش شدید خشکی (۱/۳FC) بر قندهای محلول و نامحلول ریشه و برگ.

تیماها	قندهای محلول برگ mg.g <sup>-1</sup> DW	قندهای محلول ریشه mg.g <sup>-1</sup> DW	قندهای نامحلول برگ mg.g <sup>-1</sup> DW	قندهای نامحلول ریشه mg.g <sup>-1</sup> DW
شاهد (ظرفیت زراعی = FC)	۰/۱۶۵ bc	۰/۱۲۸ de	۰/۰۶۲ ab	۰/۰۴۶ bc
کیتین ۲ mg/L	۰/۱۵۱ c	۰/۱۱۵ e	۰/۰۸۰ a	۰/۰۸۳ ab
کیتین ۴ mg/L	۰/۱۵۰ c	۰/۱۱۲ e	۰/۰۳۹ bc	۰/۰۹۲ a
۲/۳FC (تنش ملایم)	۰/۲۰۵ a	۰/۱۷ a	۰/۰۵۰ b	۰/۰۲۷ cd
کیتین ۲ + ۲/۳ FC	۰/۱۸۴ b	۰/۱۴۶ bc	۰/۰۴۶ b	۰/۰۷۸ b
کیتین ۴ + ۲/۳ FC	۰/۱۶۹ bc	۰/۱۴۷ bc	۰/۰۴۶ b	۰/۰۸۱ b
۱/۳FC (تنش شدید)	۰/۲۱۷ a	۰/۱۷۹ a	۰/۰۳۷ bc	۰/۰۳۵ cd
کیتین ۲ + ۱/۳ FC	۰/۱۶۰ c	۰/۱۵۴ bc	۰/۰۴۸ b	۰/۰۸۶ ab
کیتین ۴ + ۱/۳ FC	۰/۱۵۱ c	۰/۱۲۵ e	۰/۰۵۲ b	۰/۰۸۵ ab

## بحث

**بررسی اثر تنش خشکی و کیتین برونزاد بر خصوصیات موفولوژیکی گیاه:** نتایج این پژوهش نشان داد که شاخص های رشد اندام هوایی گیاه *Cucurbita maxima* تحت تاثیر تنش خشکی کاهش یافت ولی کاربرد کیتین برونزاد سبب بهبود پاسخ گیاه به شرایط تنش شد که در اکثر موارد این پاسخ مثبت در تنش شدید قابل ملاحظه بود. در مورد تاثیر خشکی بر پارامترهای رشد گزارشات متعددی در مورد گیاهان مختلف وجود دارد که بیانگر کاهش رشد در شرایط کم آبی است (et al., 2015). در این راستا اعلام شده است توقف رشد می تواند مربوط به نگهداری کربوهیدرات ها برای

متابولیسم پایدار، تهیه انرژی به مدت طولانی و نیز بازیافت بهتر بعد از شرایط تنش باشد (Oliviera-Neto et al., 2009).

از سوی دیگر طبق داده های بدست آمده در مورد پارامترهای رشد نتایج نشان داد اثرات مخرب تنش بر اندام هوایی بیشتر از ریشه بود (جدول ۱). تحقیقات نشان داده است. در تنش خشکی، دهیدراسیون و کاهش حجم سلولی در شاخه ها بیشتر از ریشه ها به وقوع می پیوندد. به عبارت دیگر تحت تنش کم آبی، رشد شاخه ها بیشتر از رشد ریشه ها تحت تاثیر قرار می گیرد. در این رابطه عنوان شده است که تحت چنین شرایطی فرآورده های فتوسنتزی بیشتری به ریشه ها اختصاص داده می شود. به علاوه بالا بودن

رنگیزه‌های فتوسنتزی: تحقیقات نشان داده است خشکی باعث شکسته شدن کلروپلاست و کاهش میزان کلروفیل می‌گردد. همچنین در اثر تنش خشکی تشکیل پلاستیدهای جدید و نیز کلروفیل a و b کاهش یافته و نسبت کلروفیل a و b تغییر می‌کند (Saeidi and Abdoli, 2015). در پژوهش حاضر تنش خشکی شدید منجر به کاهش کلروفیل شد و استفاده از کیتین تاثیر معنی‌داری بر میزان کلروفیل داشت که با نتایج یافته‌های Kaya و همکاران (۲۰۱۰) در گیاه ذرت Ibrahim و همکاران (۲۰۰۷) در گیاه باقلا که نشان دادند کاربرد کیتین موجب افزایش رنگدانه‌های فتوسنتزی و محتوای کلروفیلی برگ گردید همخوانی دارد. در شرایط تنش خشکی، افزایش فعالیت کلروفیل‌از و پراکسیداز از عوامل موثر در کاهش کلروفیل می‌باشد. دوام فتوسنتز و حفظ کلروفیل برگ تحت شرایط تنش از جمله شاخص‌های فیزیولوژیک تحمل به تنش است. در مورد ریحان، پیاز، نعنای ژاپنی و تره ایرانی نیز کاهش میزان کلروفیل برگ تحت شرایط تنش خشکی گزارش شده است (Hassani Niaki, and Omid Beighi, 2002; Moshtaghi, 2008). عنوان شده است افزایش غلظت کلروفیل در گیاهان در تیمار با کیتین می‌تواند نشأت الکترولیتی را به حداقل برساند که برخی دلیل آن را اثر کیتین بر تراوایی غشاء دانستند (Kaya et al., 2010).

از طرفی انواع اکسیژن‌های مختلف که طی تنش خشکی تولید می‌شود باعث کاهش رنگیزه‌های فتوسنتزی می‌گردد (Sairam et al., 2002). کمبود آب شبیه سایر شرایط متغیر محیطی تنش اکسیداتیو ایجاد می‌کند. در این شرایط بسته شدن روزنه و در نتیجه کمبود CO<sub>2</sub> فتوسنتز را تحت تاثیر قرار داده و منجر

نسبت ریشه به شاخه در شرایط تنش خشکی می‌تواند با حساسیت متفاوت ریشه‌ها و شاخه‌ها به اسید آبسازیک ABA درون زا و وقوع تنظیم اسمزی بیشتر ریشه‌ها مرتبط باشد. بنابراین برخی گیاهان در پاسخ به تنش خشکی، میزان جذب آب را از راه حفظ نسبی رشد ریشه افزایش می‌دهند و به این ترتیب مقدار آب خاک بیشتری را در اختیار گیاه قرار می‌گیرد (Kaya et al., 2006). همچنین طبق نتایج بدست آمده سیتوکینین توانست موجب ازدیاد غنچه و نیز تعداد گل در شرایط تنش شود. طبق نظر برخی محققان سیتوکینین‌ها در فرایندهای مختلف رشد و نمو و تولید مثل گیاهان دخیل‌اند (Tardieu and Davies, 1993) در این راستا تحقیقات نشان داد که نرخ تقسیم سلولی به‌طور نزدیکی با غلظت‌های داخلی سیتوکینین‌ها در گیاه برنج در ارتباط است و کاربرد اگزورژن زاتین نمو گلدهی برنج را بهبود بخشید و به‌طور معنی‌داری تعداد گل‌ها را افزایش داد (Wang et al., 2009). کاهش سطوح درونزاد سیتوکینین‌ها در گیاهان در معرض تنش بر امکان اینکه کاهش مقدار یافته سیتوکینین‌ها عامل محدود کننده رشد تحت شرایط تنش باشد اشاره دارد و بر این نکته تأکید می‌کند که کاربرد خارجی کیتین می‌تواند منجر به افزایش رشد در شرایط تنش گردد (Hare et al., 1997). دیده شده است میزان سیتوکینین‌های درون زاد در بافت گیاهی در پاسخ به تنش خشکی کاهش می‌یابند (Wang et al., 2009). بنابراین کاربرد سیتوکینین برون‌زاد در پاسخ به شرایط نامناسب محیطی می‌تواند موجب افزایش کارایی گیاه در پاسخ به تنش گردد (Hare et al., 1997).

**بررسی اثر تنش خشکی و کیتین برونزاد بر**

نتایج پژوهش Niakan and Ahmadi (۱۳۸۹) در گیاه گوجه فرنگی نشان داد قندهای محلول با اعمال تنش خشکی افزایش یافت و محلول پاشی باکیتین تحت هر دو تنش خشکی ملایم و شدید با کاهش قندهای محلول و افزایش نشاسته در سطوح مختلف خشکی همراه بود. در پژوهش حاضر نیز تنش خشکی منجر به افزایش چشمگیری در میزان قندهای نامحلول گشت و کاربرد کیتین کاهشی را در میزان قندهای محلول ایجاد نمود.

### نتیجه‌گیری نهایی

نتایج این تحقیق نشان داد خشکی در سطوح مختلف توانست شاخص‌های رشد و دستگاه فتوسنتزی گیاه را تحت تاثیر قرار دهد و کاربرد کیتین به‌خصوص در غلظت ۴ میلی‌گرم در لیتر جهت رفع اثرات سوء ناشی از تنش خشکی بر گیاه دارای عملکردی مناسب بود و سبب بهبود پاسخ گیاه به تنش خشکی گردید.

### References

- Bohnert, H.J. and Jensen R.G. (1996).** Strategies for engineering water stress tolerance in plants, Trends in Biotechnology. Elsevier Science. 14: 89-97.
- Bota J., Flexas J. and Medrano H. (2004).** Is photosynthesis limited by decreased Rubisco activity and RuBP content under progressive water stress? New Phytology. 162: 671-681.
- Ghaderi, N., Normohammadi, S. and Javadi, T. (2015).** Morpho-physiological responses of strawberry (*Fragaria×ananassa*) to exogenous salicylic acid application under drought stress. Journal of Agricultural and Technology. 17 (1):167-178.
- Hare, P.D., Cress W.A. and van Staden. J. (1997).** The involvement of cytokinin in plant responses to environmental stress. Plant Growth Regulation. 23: 79-103.
- Hassani, A., Omid Beighi, R. (2002).** Effects of water stress on some morphological, physiological and metabolical characteristics of basil (*Ocimum basilicum*). Agricultural Knowledge. 12 (3): 47-59.
- Hissao, T. (1973).** Plant responses to water stress. Annual Review of Plant Physiology. 24: 519-570.

به تشکیل گونه‌های اکسیژن فعال (ROS) کلروپلاست می‌شود (Turkan et al., 2005). در پژوهش حاضر تنش خشکی منجر به کاهش چشمگیر در میزان رنگیزه‌های فتوسنتزی شد ولی کاربرد کیتین نه تنها مانع از آسیب ناشی از تنش خشکی بر این رنگیزه‌ها شد بلکه در این شرایط بر میزان آنها افزود. پیشنهاد شده است کیتین ممکن است دو اثر بر کلروفیل داشته باشد اولاً می‌تواند باعث تجمع کلروفیل گردد (که این کار توسط تحریک سنتز پروتوکلوروفیلید انجام می‌گردد) و دوماً از تجزیه کلروفیل از طریق اثر بر فعالیت کلروفیل‌از جلوگیری نماید (Xiaotao et al., 2013). بررسی اثر تنش خشکی و کیتین بر وزن قندهای محلول و نامحلول برگ و ریشه: تجمع کربوهیدرات‌های محلول در پاسخ به تنش‌های محیطی در ارتباط با تنظیم اسمزی و یا حفاظت غشاهای سلولی می‌باشد و محتوای قندهای محلول ممکن است روشی مفید در انتخاب گونه‌های مقاوم به شوری و خشکی باشد (Kerepesi, 1998). قندهای الکلی (مانند گلیسرول، اینوزیتول و پینیتول) و قندهای ساده (اساساً فروکتوز و گلوکز) و قندهای مرکب (مانند ترهالوز و رافینوز فروکتان‌ها) به‌عنوان تنظیم‌کننده‌های سازشی تولید می‌شود (Bohnert et al., 1996). عمل فیزیولوژیک این قندها ممانعت از اتصال بین غشاهای مجاور هم در طول دوره تنش از طریق نگهداری لیپیدها و پایداری پروتئین‌ها از طریق ایجاد پیوندهای هیدروژنی با دنباله‌های خطی پروتئین‌ها، تنظیم ژن و تنظیم اسمزی می‌باشد (Yin et al., 2010). در مجموع افزایش قندهای محلول در طی تنش خشکی را می‌توان به دلایل زیر دانست: تخریب کربوهیدرات‌های نامحلول که منجر به افزایش قندهای محلول می‌گردد، سنتز این ترکیبات از مسیرهای غیر فتوسنتزی و متوقف شدن رشد (Hissao, 1973).



- Ibrahim, M.E., Bekheta M.A., El-Moursi A., and Gaafar N.A. (2007).** Improvement of growth and seed yield quality of *Vicia faba* L. Plants as affected by application of some bioregulators. Australian Journal of Basic and Applied Sciences. 1 (4): 657-666.
- Jenson, A. (1978).** Chlorophyll and carotenoid. PP. 147-158. In: Hellebust, J.A. and J.S. Craigie (Eds.), Handbook of Phycological Methods: Physiological and Biochemical Methods, Cambridge Univ. Press
- Kaya, C., Tuna. A.L. and Abdulkadir, M.O. (2010).** Effect of foliar applied kinetin and indole acetic acid on maize plants grown under saline conditions. Turkish Journal of Agriculture. 34 : 529-538.
- Kaya, M.D., Okçub G., Ataka M., Çikilic Y., and Kolsaricia Ö. (2006)** Seed treatments to overcome salt and drought stress during germination in sunflower (*Helianthus annuus* L.). European Journal of Agronomy. 24: 291-295
- Kerepesi, I. (1998).** Osmotic and salt stresses induced differential alternation in water-soluble carbohydrate content in wheat seedling. Journal of Agricultural and Food Chemistry. 3(4):5347-5354.
- Kochert, G. (1978).** Carbohydrate determination by the phenol sulfuric acid method in: Helebust., J.A. Craig, J.s. (ed) :Hand book of phycologia method :56-97. Cambridge univ. Press. Gambridge.
- Moshtaghi Niaki, M. (2008).** The effect of water deficit stress on some morphological and physiological characteristics of three onion (*Allium cepa* L.) cultivars. M.Sc. Thesis in Horticultural Science. Faculty of Agriculture, Bu-Ali Sina University, pp. 62.
- Niakan, M. and Ahmadi, A. (2014).** Effects of foliar spraying kinetin on growth parameters and photosynthesis of tomato under different levels of drought stress. Iranian Journal of Plant Physiology. 4(2): 939- 947.
- Oliviera-Neto, C.F., Silva-Lobato, A.K., Goncalves-Vidigal, M.C., Costa, R.C.L., Santos. Filho. B.G., Alves, G.A.R. and Silva-Maia, W.J.M (2009).** Carbon compounds and chlorophyll contents in sorghum submitted to water deficit during three growth stages. Science and Technology. 7: 588-593.
- Pereira, J.S. and Chaves, M.M. (1993).** Plant water deficits in mediteranian ecosystems. In: Water Deficits and Plant Growth. Eds. By Kozlowski, T.T. IV: 237-251. Academic Press New York.
- Pospisilova, J., Vagner. M., Malbeck. J., Travnickova. A. and Batkova. P. (2005).** Interactions between abscisic acid and cytokinin during water stress and subsequent rehydration. Biologia Planta. 49: 533-540.
- Reddy, A., Chaitanya, K. and Vivekanandan, M. (2004).** Drought-induced responses of photosynthesis and antioxidant metabolism in higher plants. Journal of Plant Physiology. 16(11): 1189-1202.
- Saeidi, M. and Abdoli, M. (2015).** Effect of drought stress during grain filling on yield and its components, gas exchange variables, and some physiological traits of wheat cultivars. Journal of Agricultural and Tecnology. 17 (4): 885-898.
- Sairam, R.K., Veerabhadra Rao, K. and Srivastava, G.C. (2002).** Differential response of wheat genotypes to long term salinity stress in relation to oxidative stress, antioxidant activity and osmolyte concentration. Plant Science, 163: 1037-1046
- Shinozaki, K. and Shinozaki, K.Y. (2007)** Gene networks involved in drought stress and Tolerance. Experimental Botany. 58: 221-227.
- Shudo, K. (1994).** Chemistry of phenylelurea cytokinins. In cytokinik: Chemistry, activity and function (Ed by D.V. Mokka and MC Mok), CRC Press, Boca Raton. pp: 35-42.
- Skilny, K., Hilary, R., and Lott John, N.A. (1992).** Mineral analyses of storage reserves of *Cucurbita maxima* and *Cucurbita andreana* pollen. Canadian Journal of Botany. 70(3): 491-495.
- Stavir, K., Gupta, A.K. and Kaure, N. (1998).** Gibberelic A3 reverses the effect of salt stress in chick pea (*Cicer arietinum* L.) seedlings by changing amylase activity and mobilization of starch in cotyledo. Plant Growth Regulation. 26: 85-90.
- Tardieu, F. and Davies, W.J. (1993)** Integration of hydraulic and chemical signaling in the control of stomatal conductance and water status of droughted plants. Plant Cell Environment. 16: 341-349.
- Turkan, I., Bor, M., Ozdemir, F. and Koca, H. (2005).** Differential responses of lipid peroxidation and antioxidants in the leaves of drought - tolerant *P. acutifolius* Gray and drought-sensitive *P. vulgaris* L. subjected to polyethylene glycol mediated water stress. Plant Science. 168:223-231.
- Wahid, A. and Rasul, E. (2005).** Photosynthesis in leaf, stem, flower and fruit In: Pessaraki M. (Ed). Hand book of Photosynthesis, 2nd Ed. PP: 235.
- Wang, J.R., Hu, H., Wang, GH., Li, J., Chen, J.Y. and Wu, P. (2009).** Expression of PIN

- genes in rice (*Oryza sativa* L.): tissue specificity and regulation by hormones. *Molecular Plant*. 2:823-831.
- Watanabe, Sh., Kojima.K., Ide, Y. and Sasaki. S. (2000).** Effects of saline and osmotic stress on proline and sugar accumulation in *Populus euphratica* In vitro. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*. 63:199-206.
- Werner, T., Nehnevajova, E., Köllmer, I., Novák, O., Strnad, M., Krämer, U. and Schmülling, T. (2010).** Root-Specific reduction of cytokinin causes enhanced root growth, drought tolerance, and leaf mineral enrichment in *Arabidopsis* and Tobacco. *Plant Cell* . 22 (12): 3905-3920.
- Xiaotao, D., Yuping, J., Hong, W., Haijun, J., Hongmei, Z., Chunhong, C. and Jizhu, Y. (2013).** Effects of cytokinin on photosynthetic gas exchange, chlorophyll fluorescence parameters, antioxidative system and carbohydrate accumulation in cucumber (*Cucumis sativus* L.) under low light. *Acta Physiologiae Plantarum*. 35(5): 1427-1438.
- Yin, Y.G., Kobayashi, Y., Sanuki, A., Kondo, S., Fukuda, N., Ezura, H. and Matsukura, CH. (2010).** Salinity induces carbohydrate accumulation and sugar-regulated starch biosynthetic genes in tomato (*Solanum lycopersicum* L. cv. 'Micro-Tom') fruits in an ABA- and osmotic stress-independent manner. *Journal of Experimental Botany*. 61 (2): 563-574.