بررسی روند تجمع پرولین در برگ رگه‌های نتاج متحمل و حساس به شوری (NaCl) در چغندرقند

ذبیح‌اله رنجی، اسلام مجیدی ، ابوالحسن هاشمی دزفولی و امیر قلاوند

بترتیب پژوهنده موسسه تحقیقات اصلاح و تهیه بذر چغندر قند - کرج ،

پژوهنده موسسه تحقیقات اصلاح و تهیه بذر و نهال ،دانشیاردانشکده کشاورزی دانشگاه شهید چمران و دانشیار دانشکده کشاورزی دانشگاه تربیت مدرس

تاریخ پذیرش مقاله ۷۵/۱۲/۲۲

چکیده

به منظور بررسی روند تجمع پرولین درگیاه چغندرقند، جهت استفاده از آن در برنامه‌های بهنژادی، بذور رگه های متحمل و حساس به شوری با استفاده از محلول‌های غذایی، در داخل سیلیس و در اتاقک رشد کشت گردیدند. در این بررسی از هر تیمار ۳۰ بوته حفظ و در ۲۸ روزگی با افزودن نمک طعام در محلول غذایی با هدایت‌های الکتریکی ۸ و ۱۶ میلی‌موس بر سانتی متر تحت تنش شوری قرارگرفتند. در دو آزمایش جداگانه ابتدا مقدار نیم‌گرم برگ از ساعت اول تا پنجم تنش هر ساعت یکبار جدا و برای اندازه‌گیری پرولین آماده‌سازی‌گردید. در آزمایش بعدی نمونه‌برداری هر۸ ساعت یکبار و به مدت ۲۴ ساعت انجام‌گرفت. نتایج نشان داد که سنتز و انباشتگی پرولین در آستانه تحمل به شوری (EC=۸) درگیاهان حساس بیش از متحمل بوده و با افزایش مقدار نمک (EC=۱۶) عکس‌العمل آنهاتغییر و مقدار پرولین در لاین متحمل بیش از حساس می‌گردد. همچنین در طول مدت تنش، مقدار پرولین در ساعات اول به شدت افزایش و پس از آن کاهش می‌یابد.

واژه های کلیدی :رگه‌های نتاج ،پرولین ، محلول هوگلند ، بتائین ، نین هیدرین ، کربوکسیلات ردوکتاز و ریبولوزبیس فسفات کربوکسیلاز (RUBP)

مقدمه

در تنش‌های محیطی مانند شوری و خشکی فشار اسمزی بافت‌های گیاهان تغییر می‌یابد. گیاهان برای مقابله با اثرات تنش، مواد تنظیم‌کننده فشار اسمزی[1] سنتز و انباشته می‌نمایند. بیشتر این مواد اسیدهای آمینه ، قندها و هورمون‌ها هستند. (۱) پرولین (اسید آمینه آزاد) گلیسین، بتائین و گلوتامین در تنظیم فشار اسمزی سلول‌های گیاهی نقش حیاتی دارند(۸). همچنین تغییر در مقدار مواد تنظیم‌کننده رشد مانند آبسیزیک اسید[2] نیز قابل ملاحظه است(۱۱). پرولین اسید آمینه غیر ضروری است که به کمک آنزیم هیدروژناز از اسید گلوتامیک سنتز و یک اسید آمینه قندساز محسوب می‌شود، که در الکل محلول نبوده و جزء آلفاامینو اسیدها(حلقوی ناهمگن) محسوب می‌گردد(۲).

پرولین را اسید پیرولیدین دی کربوکسیلیک نیز می‌نامند(۳). در اسید آمینه‌ها گروه آمین آنها با اسید نیترو[3] وارد عمل شده و ازت آزاد می‌شود که می‌توان آن را اندازه‌گیری کرد(۴). محققان زیادی عملکرد متابولیسمی پرولین را شرح داده‌اند.

از مهمترین آنزیم‌های سنتزکننده پرولین می‌توان پرولین - ۵ - کربوکسیلات ردوکتاز[4] را نام برد. فعالیت آنزیم یاد شده موجب افزایش گلوتامات می‌شود(۶).

تحقیقات زیادی در ارتباط با روند تجمع پرولین در گیاهان و

---

1 - Osmoregulator 2- ABA 3- HNO2 4- P5C ردکتاز

در شرایط تنش شوری انجام گرفته است در سال ۱۹۸۵ استوارت و وتبرگ بیان داشتند که تجمع پرولین در برگ جو به مدت ۳ تا ۵ ساعت تداوم داشته و امکان دارد دو ساعت طولانی‌تر شده و سپس کاهش یابد(۱۱).این ماده ۴۰درصداسیدآمینه‌هاراتشکیل می‌دهد(۷). در سال ۱۹۹۱ دیلی و همکاران در خانواده چغندر، پرولین و بتائین را دو تنظیم‌کننده فشار اسمزی در تنش شوری دانستند(۸).

اخیرا" مشاهده شده است که آنزیم فوق‌الذکر در غلاف سویا نیز نقش مؤثری در سنتز پورین و پرولین دارد. این آنزیم در الحاق پرولین به مولکول پروتئین مؤثر بوده و بستگی به نیکوتین آمید آدنین دی نوکلئوتید فسفات[1] دارد(۹).

اولین بار در سال ۱۹۷۳، بیتز و همکاران، استخراج مصنوعی پرولین را مطرح کرده و بیان داشتند که مؤثرترین ماده تنظیم‌کننده فشار اسمزی گیاهان عالی در تنش شوری و خشکی پرولین می‌باشد(۶). در سال ۱۹۹۲ ماس لنکووا و همکاران تحقیقاتی را در روی جو انجام داده و اظهار داشتند در اثر تنش شوری، پروتئین‌های گیاهی تغییر می‌یابد و امکان دارد در انواع تنش، پروتئین ویژه‌ای در اثر ژن کدکننده خاصی، بوجود آید(۱۰).

با توجه به نقش پرولین در تحمل تنش شوری در گیاهان، در این بررسی مقدا انباشتگی پرولین در رگه های چغندرقند حساس و متحمل به شوری مورد مطالعه قرار گرفته است.

مواد و روش

دو رگه نتاج متحمل[2] و حساس[3] به شوری که قبلا" آزمایش شده بودند در سال ۱۳۷۴ جهت تعیین روند افزایش اسید آمینه پرولین در طول تنش شوری انتخاب شدند. بذور را قبلا" ضدعفونی کرده و از هر رگه نتاج ۳۰ عدد بذر در گلدان‌هایی به ابعاد ۸ x ۱۳ سانتی‌متردرسیلیس(به قطر ۲/۰ میلی متر) و دراتاقک‌های رشد کشت شدند. سپس گلدان‌ها در داخل تشتک‌های پلاستیکی به ابعاد ۲۵ x ۸۰ x ۵۰ قرار داده شده و به اتاقک رشد با دمای ۲۰ درجه و شدت نور ۴۰۰ وات بر متر مربع انتقال داده شدند. طول مدت روشنایی ۱۶ ساعت و با استفاده از لامپ‌های فلورسنت ۵۰۰ وات و مهتابی های معمولی ۴۰ وات منظور شد. محلول غذایی هوگلند[4] با نصف غلظت از بدو کشت بذور تا ۲۸ روز پس از کشت گیاهچه‌ها استفاده شد. هر ۳ روز یکبار محلول داخل تشتک‌ها تعویض و عمق آن ۲ سانتی متر در نظر گرفته شد. بذور پس از یک هفته سبز گردید و ۲ هفته بعد گیاهان جوان تنک شده و از هر رگه نتاج ۳۰ جوانه باقی ماند. یک هفته پس از تنک شدن جوانه ها با افزودن نمک طعام در محلول غذایی با هدایت الکتریکی ۸ و ۱۶ میلی موس بر سانتی متر به گیاهان تنش اعمال گردید. از ساعت اول تا پنجم تنش از هر رگه ۳۰ گیاه و به‌طور تصادفی از هر کدام یک برگ در هر نوبت برداشت و جداگانه با هم مخلوط شدند، سپس نمونه‌های برداشت شده را به خوبی خرد کرده و پس از مخلوط کردن یک گرم از آنها در ۲ تکرار آماده‌سازی شدند. از ساعت اول تا ۲۴ تنش نیز هر ۸ ساعت یکبار نمونه‌برداری جداگانه انجام گرفت و در اینجا نیز نمونه‌ها را خرد کرده و پس از توزین در ۲ تکرار آماده شدند. تمام نمونه‌ها با روش بیتز[5] و به شرح زیر برای استخراج و تعیین مقدار پرولین آماده شدند. ابتدا نیم گرم برگ گیاهی توزین شده را در هاون چینی با نیم گرم کوارتز به خوبی سائیده و به آن ۱۰ سانتی متر مکعب محلول اسید سولفوسالیسیلیک (۳/۳ گرم اسید سولفوسالیسیلیک در ۱۰۰ سانتی مترمکعب آب مقطر حل گردید). اضافه و به خوبی تکان داده و در کاغذ صافی واتمن۲ ریخته و پس از ۵ دقیقه محلول صاف گردید. به این عصاره ۲ سانتی متر مکعب معرف نین هیدرین و دو سانتی متر مکعب اسید استیک گلاسیال اضافه و محلول حاصل به لوله‌های درب‌دار انتقال و به مدت یک ساعت در بن ماری در حال جوش قرار داده شد.

همزمان ۲ سانتی متر مکعب از محلول استاندارد(چون در چغندرقند پرولین تا ۵ ppm حاصل می‌شود لذا برای تهیه محلول استاندارد نیم تا ۵ میکروگرم پرولین خالص را در یک میلی‌لیتر آب مقطر حل می‌کنیم تا محلول استاندارد ۰/۵ تا ۵ppm حاصل شود)با ۲ سانتی متر مکعب نین هیدرین و ۲ سانتی متر مکعب اسید استیک گلاسیال مخلوط شده و در بن ماری قرار گرفتند. پس از یک ساعت کلیه نمونه‌ها از آب جوش خارج گردیده و در حرارت آزمایشگاه قرار داده شدند، پس از چند دقیقه لوله‌های آزمایش در داخل یخ آب گذاشته شد تا کاملا" سرد شوند. به هر نمونه ۴ سانتی متر مکعب

1 - NADPH
2- 7233-P-21
3- HIM
4- Hoagland
5- Bates

تولوئن اضافه گردید.نمونه ها به مدت ۳۰ ثانیه با دستگاه ورتکس به‌هم زده شدند. پرولین در مایع یاد شده به رنگ زرد متمایل به قرمز، رنگ‌آمیزی شده و در سطح رویی آن جمع گردید. برای اندازه‌گیری مقدار پرولین از دستگاه اسپکتروفتومتر(مدل D۳۰۱۶) در طول موج ۵۲۰ نانومتر استفاده شد. ابتدا مقدار پرولین محلول‌های‌استاندارد و سپس نمونه‌های گیاهی تهیه شده تعیین گردید.

نتایج و بحث

داده‌های آزمایش که با استفاده از روش بیتر به میکرومول پرولین در گرم وزن تر برگ تبدیل و آزمون T استودنت جفتی شده‌اند در جدول ۱ و ۲ آورده شده است.

داده‌ها به دو صورت تجزیه شدند، ابتدا میانگین داده‌های ساعات اول تا پنجم با آزمون T استودنت(نمونه‌های جفتی) مقایسه گردیده و سپس میانگین داده‌های ساعت اول تا بیست و چهارم نیز که هر ۸ ساعت یکبار نمونه‌برداری شده بودند با استفاده از T استودنت بررسی گردید. در هر دو مقایسه، داده‌های دو رگه نتاج در غلظتهای متفاوت نمک و در طول تنش از نظر آماری اختلاف معنی‌داری در سطح ۱ و ۵ درصد با یکدیگر نشان دادند (جدول ۱).

نتایج بررسی مشخص ساخت که مقدار پرولین انباشته شده در رگه متحمل در ۵ ساعت اول تنش در هر دو غلظت نمک طعام تفاوت معنی‌داری در سطح آماری ۱ %داشتند.تفاوت داده‌های رگه نتاج حساس نیز در این مدت در سطح آماری ۵ درصد معنی‌دار بود. در مقایسه دو رگه نتاج با همدیگر در غلظتهای ۸و۱۶ میلی‌موس در طول ۵ ساعت تنش مشخص شد مقدار پرولین این دو رگه نتاج در هر دو غلظت نمک با هم تفاوت داشته و در سطح آماری ۱ % معنی‌دار می‌باشد. در مقایسه داده‌ها در طول ۲۴ ساعت تنش نیز اختلاف پرولین در دو غلظت نمک و در هر دو رگه نتاج معنی‌دار می‌باشد به‌طوری که در غلظت EC=۸ در سطح ۱ درصد و در غلظت EC=۱۶ در سطح آماری ۵ درصد اختلاف دارند. در این بررسی به منظور پی بردن به روند تجمع پرولین با افزایش غلظت نمک طعام و همچنین ارتباط آن با تحمل به شوری رگه های نتاج در طول دوره تنش، با استفاده از مدل های خطی و منحنی درجه دوم و سوم، داده‌ها برازش شدند و مدل خطی y=a+bx متناسب‌تر از دو حالت دیگر وضعیت تجمع پرولین را روشن نمود.

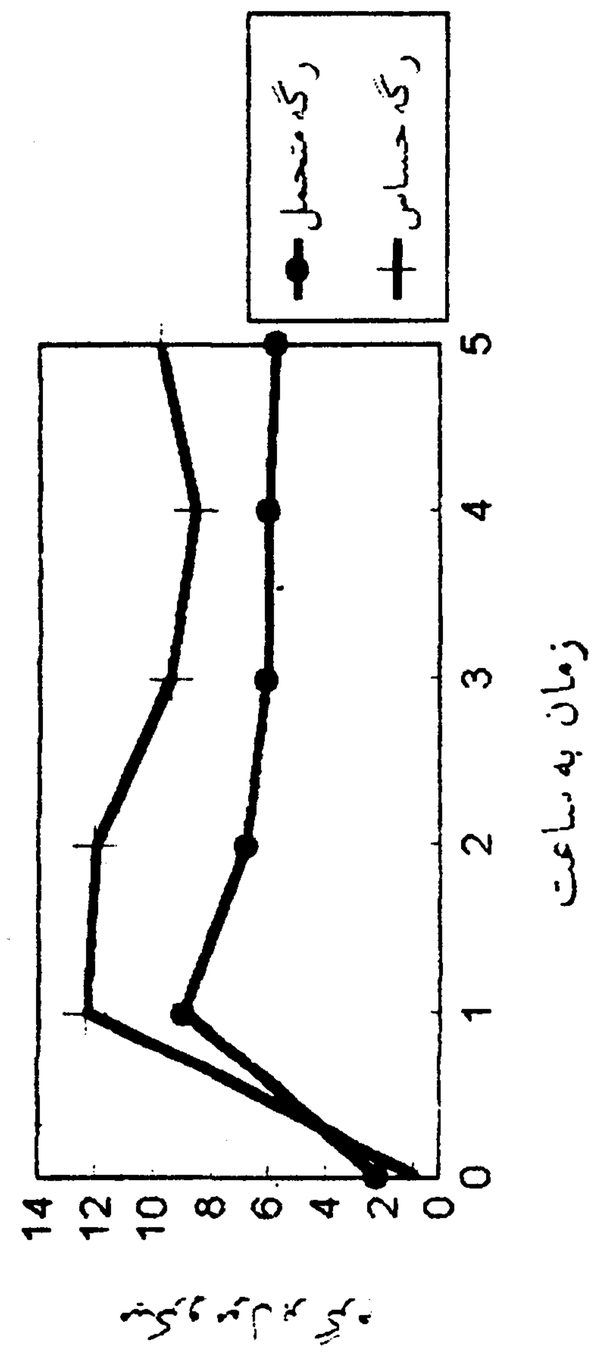
ضرایب a، b و همچنین ضریب همبستگی پرولین با غلظتهای نمک در طول ۵و۲۴ ساعت تنش محاسبه شد. در این بررسی مشخص شد که در رگه حساس a=۲/۲۸ و b=۰/۴۶ و در رگه متحمل a=۴/۷۴ و b=۰/۹۲ و ضریب همبستگی رگه

جدول۱:مقدارپرولین(میکرومول درگرم‌وزن تربرگ)رگه های نتاج چغندرقنددرغلظتهای‌مختلف نمک طعام‌درمدت۵ساعت تنش

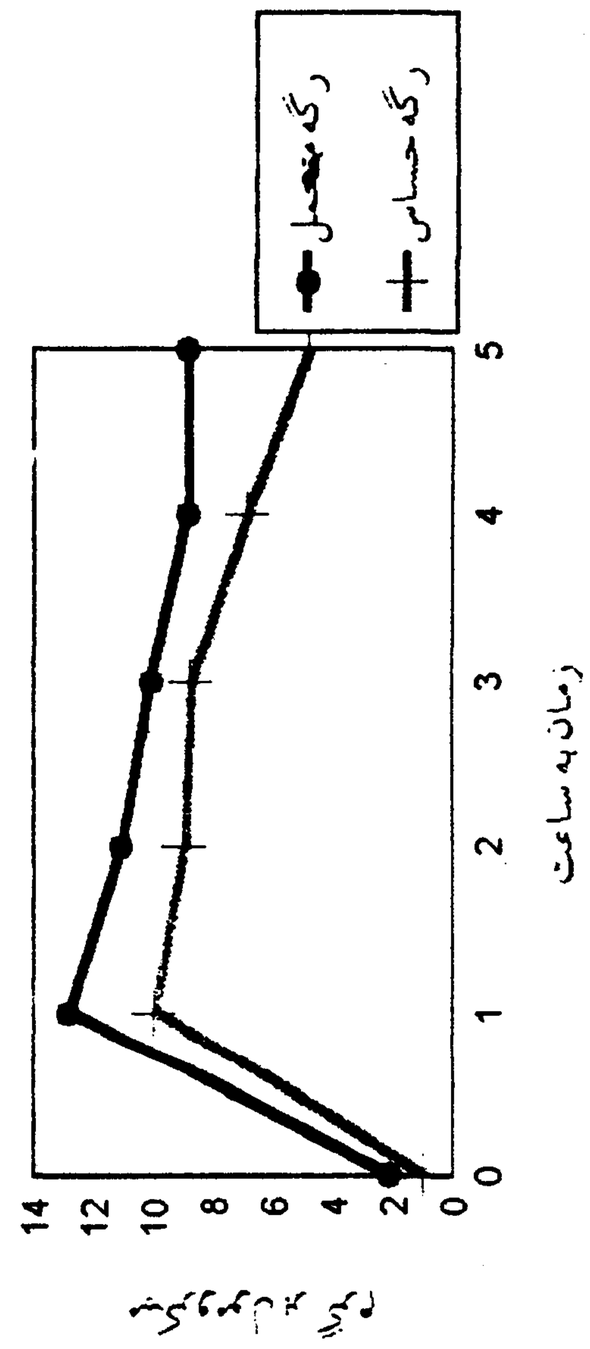
غلظت نمک	EC = ۸						EC = ۱۶							
زمان به ساعت تیمارها	۰	۱	۲	۳	۴	۵	۰	۱	۲	۳	۴	۵	SD	F
رگه متحمل	۲/۱۹	۸/۹۷	۶/۷۸	۶/۰۸	۶/۰۴	۵/۷۵	۲/۱۷	۱۲/۸۶	۱۱/۰۷	۱۰/۱۱	۸/۸۸	۸/۸۴	۱/۱۱	۰/۰۰۳
رگه حساس	۰/۸۶	۰/۸۶ ۱۲/۳۳	۱۱/۹۷	۹/۴۰	۸/۵۴	۹/۷۶	۱/۰۱	۹/۹۵	۸/۹۴	۸/۷۳	۶/۸۵	۴/۸۲	۱/۵۶	۰/۰۲

جدول ۲: مقدار پرولین(میکرومول در گرم وزن تر برگ)رگه های چغندرقند در غلظتهای مختلف نمک طعام در مدت ۲۴ ساعت تنش

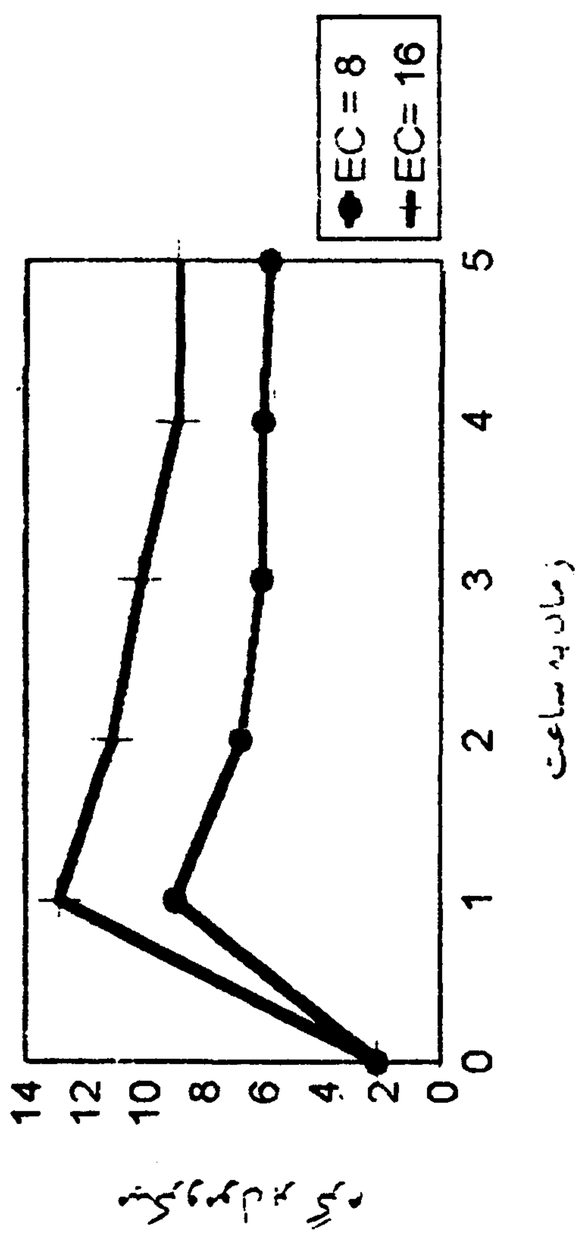
غلظت نمک	EC = ۸					EC = ۱۶						
زمان به ساعت تیمارها	۰	۱	۸	۱۶	۲۴	۰	۱	۸	۱۶	۲۴	SD	F
متحمل	۲/۱۹	۸/۹۷	۶/۰۹	۴/۳۶	۴/۲۵	۲/۱۷	۱۲/۸۶	۹/۷۳	۸/۱۲	۷/۳۶	۰/۵۶	۰/۰۰۲
حساس	۰/۸۶	۱۲/۳۳	۸/۸۲	۷/۹۲	۸/۳۷	۱/۰۱	۹/۹۵	۳/۹۰	۳/۷۴	۳/۲۹	۰/۹۲	۰/۰۱



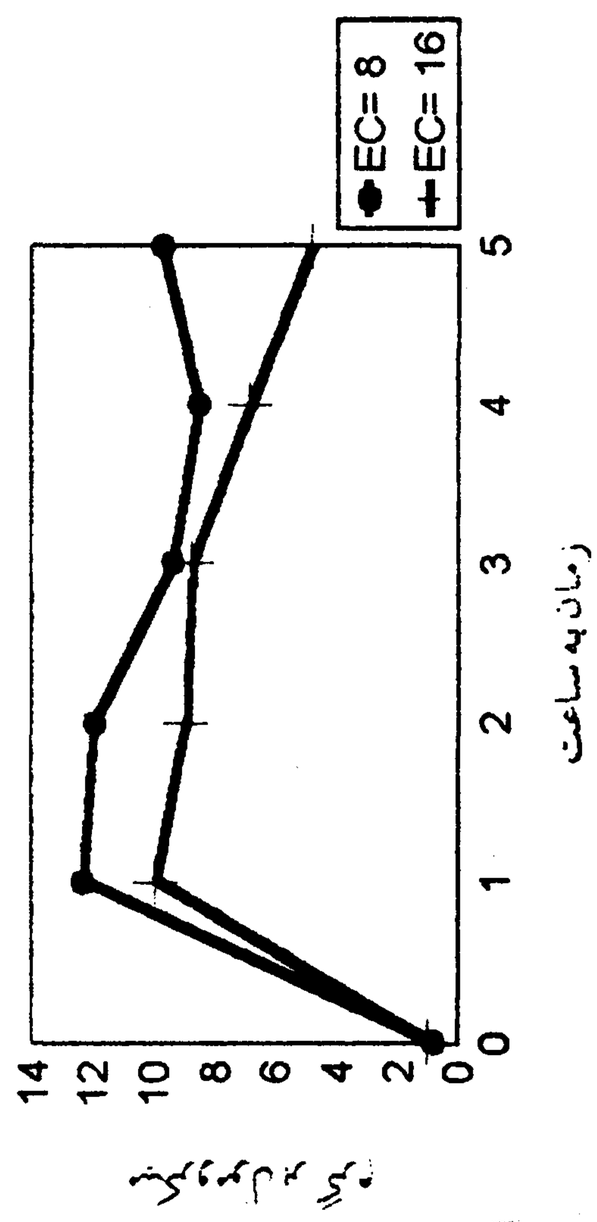
۳- روند تجمع پرولین در رگه های تاج در ۵ ساعت تنش (Ec = 8)



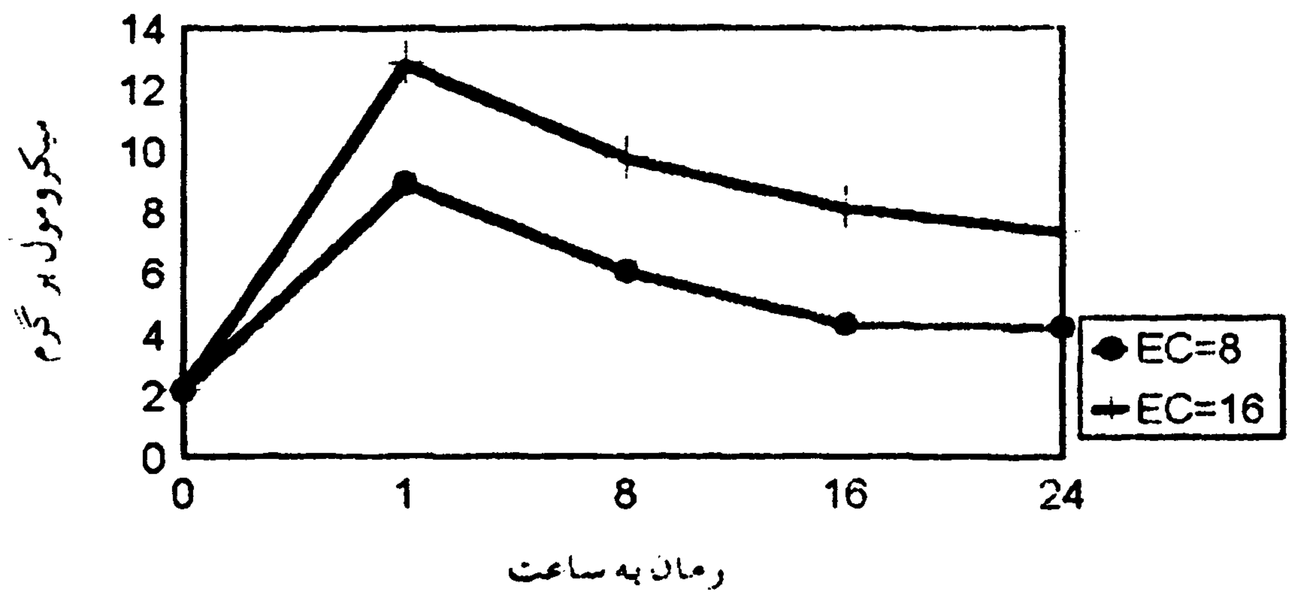
۴- روند تجمع پرولین در رگه های تاج در ۵ ساعت تنش (Ec = 16)



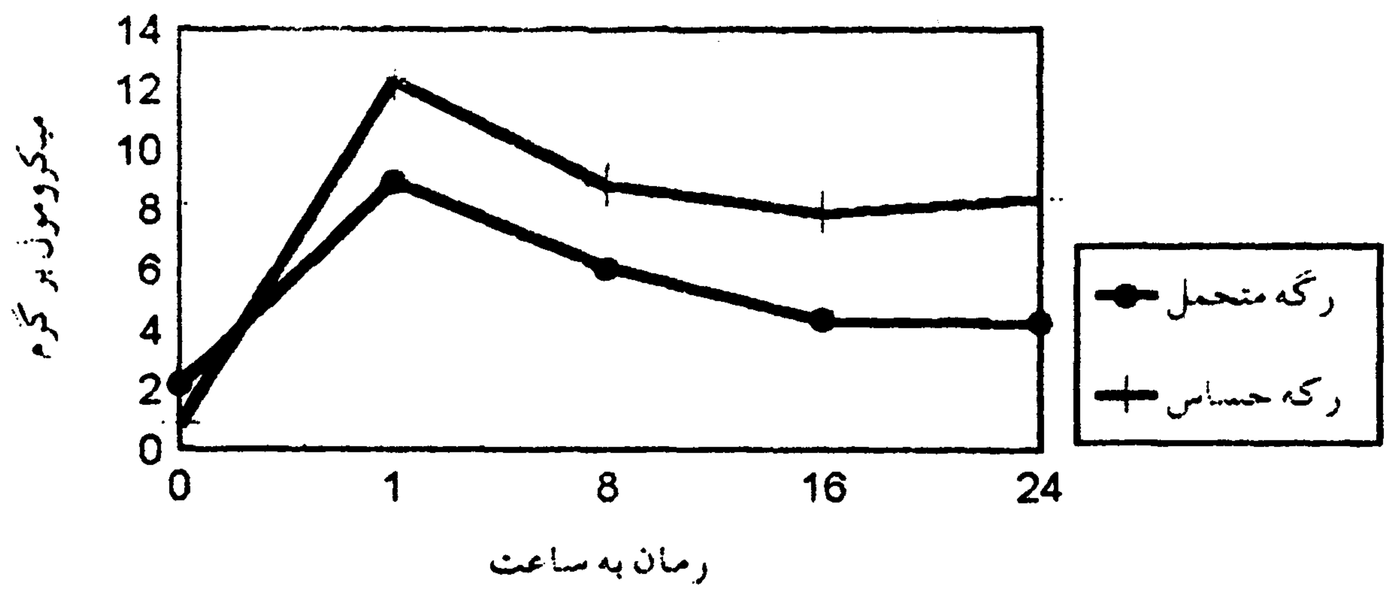
۱- روند تجمع پرولین در رگه متحمل در ۵ ساعت تنش



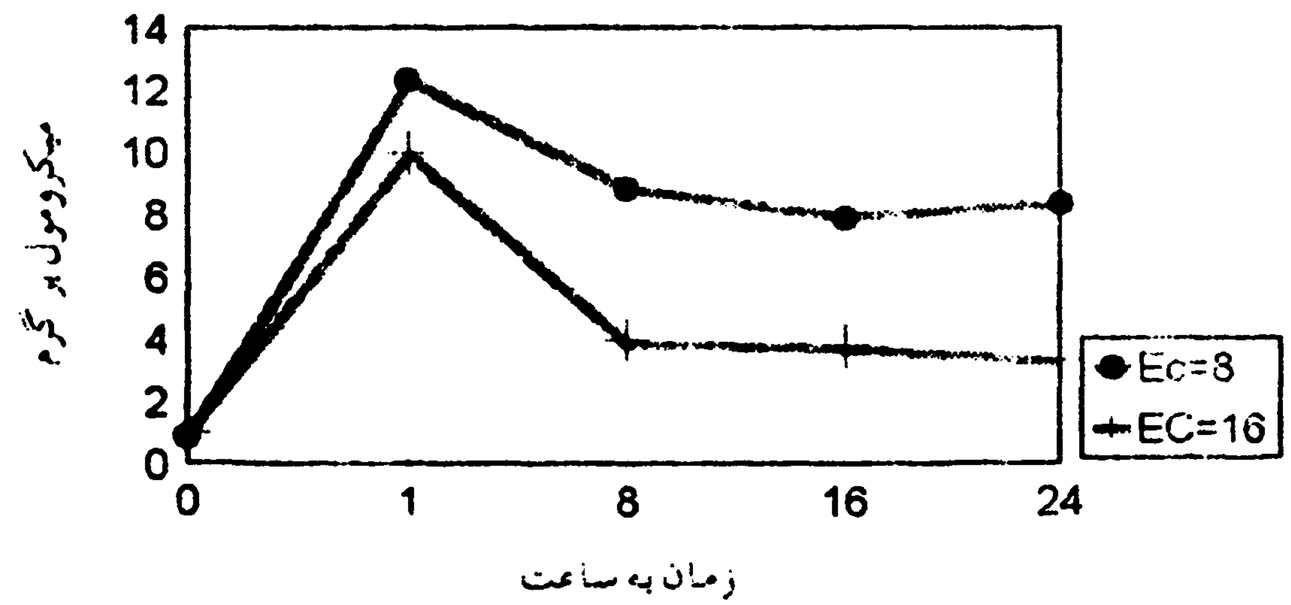
۲- روند تجمع پرولین در رگه حساس در ۵ ساعت تنش



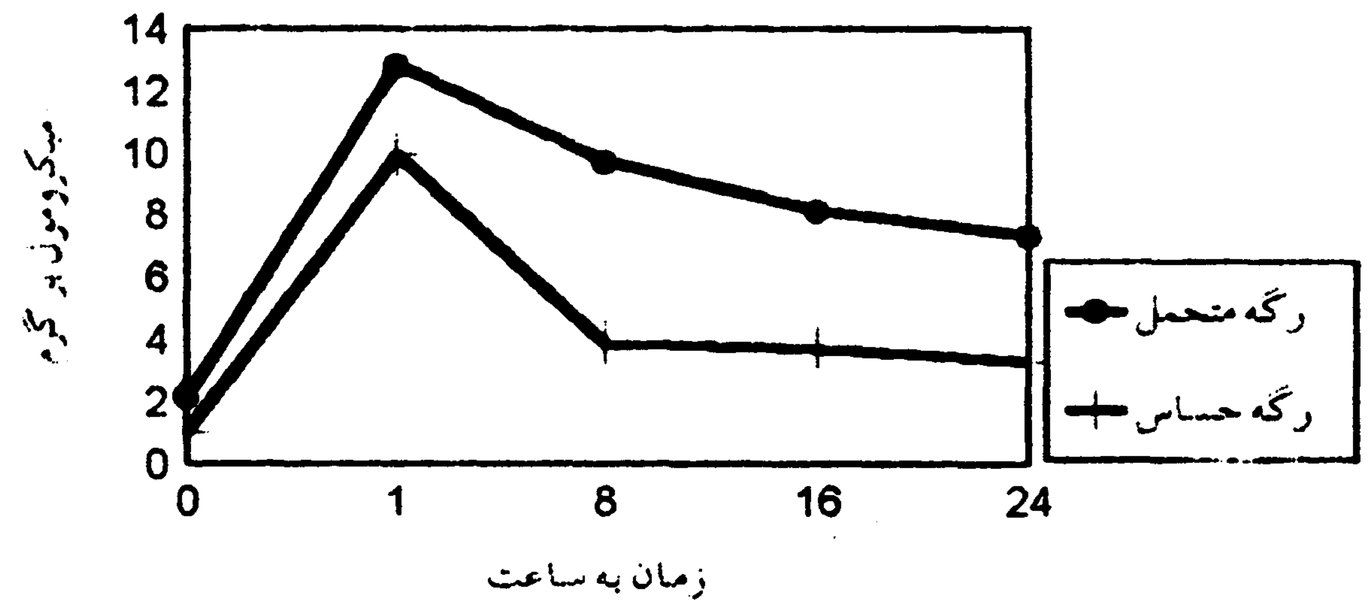
۵ - روند تجمع پرولین در رگه متحمل در ۲۴ ساعت تنش



۷ - روند تجمع پرولین در رگه های نتاج در ۲۴ ساعت تنش
(Ec = 8)



٦- روند تجمع پرولین در رگه حساس در ۲۴ ساعت تنش



۸ - روند تجمع پرولین در رگه های نتاج در ۲۴ ساعت تنش
(Ec = 16)

متحمل با افزایش غلظت نمک و تجمع پرولین r=۰/۸۱ و در رگه حساس r=-۰/۷۲ بود.

تغییرات تجمع پرولین در هر دو لاین در طول ۵و۲۴ ساعت تنش و در غلظتهای نمک طعام به صورت منحنی نیز در نمودارهای شمار ۱ الی ۸ مشاهده می‌شود. نمودار شماره یک مربوط به منحنی تجمع پرولین رگه متحمل در هر دو غلظت نمک و در طول ۵ ساعت تنش است. مشاهده شد با افزایش غلظت نمک مقدار پرولین نیز افزایش می‌یابد و روند آن در هر دو حالت یکسان است. بیشترین مقدار پرولین در ساعت اول و کمترین مقدار آن در ساعت پنجم حاصل می‌شود. همچنانکه مشاهده می‌شود روند تغییرات پرولین به صورت کاملا" خطی بوده که پیش از آن اشاره گردید. نمودار شماره ۲ مربوط به منحنی تغییرات تجمع پرولین رگه حساس در ۵ ساعت تنش است در این رگه برعکس رگه متحمل، میزان پرولین در غلظت کم بیشتر از غلظت زیاد است و تفاوت دیگر آن در این است که در غلظت EC=۱۶ روند کاهش در مقایسه باEC=۸ به صورت کاملا" خطی و با شیب بیشتری است و تا ساعت چهارم ادامه دارد، و از آن پس مقداری به پرولین خود می‌افزاید ولی به شدت ساعت اول نیست. نمودار شماره ۳ مربوط به منحنی تغییرات هر دو رگه نتاج در غلظت ۸ میلی‌موس بر سانتی متر نمک طعام و در ۵ ساعت اول تنش است که نشان می‌دهد رگه حساس بیش از رگه متحمل پرولین سنتز کرده است. روند تغییرات در رگه حساس متفاوت‌تر از رگه متحمل است بطوری که با گذشت زمان عکس‌العمل رگه متحمل به طور یکنواخت کاهش می‌یابد. در صورتی‌که عکس‌العمل رگه حساس تا ساعت دوم تغییر ندارد و سپس تا ساعت چهارم کاهش یافته و از آن پس مقداری به پرولین آن افزوده شده است و این نوع مکانیسم در رگه متحمل مشاهده نمی‌شود. نمودار ۴ مربوط به منحنی تغییرات تجمع پرولین در هر دو رگه و در غلظت ۱۶ میلی‌موس بر سانتی متر در ۵ ساعت تنش است. مقدار پرولین در رگه حساس کمتر از متحمل است. روند تغییرات پرولین در رگه متحمل بطی. بوده و در طول ۵ ساعت کاملا"یکنواخت پیش رفته است، در صورتی‌که در رگه حساس تا ساعت.سوم به حالت خطی و از آن پس کاملا"کاهش یافته است.

نمودار شماره ۵ مربوط به روند تغییرات و تجمع پرولین در رگه متحمل در دو غلظت و در طول ۲۴ ساعت تنش می‌باشد. این رگه در هر دو غلظت نمک طعام تغییرات کاملا" مشابهی در طول ۲۴ ساعت در مقدار پرولین نشان می‌دهد که کاملا" منطبق بر روند تجمع این ماده در ۵ ساعت اول تنش است. در نمودار ٦ عکس‌العمل رگه حساس در طول ۲۴ ساعت و در هر دو غلظت مشاهده می‌شود. در این حالت عکس‌العمل‌ها متفاوت‌تر از ۵ ساعت اول تنش است، بطوریکه در غلظت کم(EC=۸) و با گذشت زمان نوسانات سنتز پرولین یکنواخت‌تر از تغییرات آن در EC=۱٦ است. با بالا رفتن غلظت نمک در طول ۲۴ ساعت شیب تغییرات سنتز پرولین تندتر شده و شدت کاهش آن بیش از EC=۸ است در صورتی‌که در ۵ ساعت اول تنش و در غلظت زیاد شیب کاهش بطی‌تر می‌باشد(۷). به نظر می‌رسد در این غلظت به دلیل اثرات تخریبی سدیم و با طولانی شدن زمان تنش سلولهای برگ قادر به مقابله نمی‌باشند(۵).

در نمودار ۷ عکس‌العمل هر دو رگه نتاج در طول ۲۴ ساعت تنش با غلظت EC=۸ میلی‌موس مشاهده می‌شود. روند تغییرات برای هر دو رگه نتاج کاملا" مشابه بوده و به حالت خطی کاهش می‌یابد. وقتی که مقدار نمک کم می‌باشد با گذشت زمان سلولهای برگ هر دو رگه به خوبی با آن سازگاری پیدا می‌کنند و اثرات تخریبی نمک را با این غلظت در اثر سنتز پرولین از بین می‌برند. در نمودار ۸ روند سنتز پرولین با غلظت EC=۱٦ میلی‌موس و در ۲۴ ساعت مشاهده می‌شود. در مقایسه هر دو رگه نتاج با همدیگر مشخص شد رگه متحمل از نظر سنتز پرولین به‌طور یکنواخت عکس‌العمل نشان داده و با گذشت زمان مقدار پرولین کاهش می‌یابد و این کاهش کاملا" خطی است،در صورتی‌که در رگه حساس تا ساعت هشتم تنش،شدت کاهش زیاد بوده ولی از آن به بعد به صورت موازی با محور Xها پیش می‌رود. در اینجا می‌توان بیان کرد پس از ۸ ساعت تنش در غلظت EC=۱٦ میلی‌موس بر سانتی متر رگه حساس دیگر قادر به سنتز پرولین نبوده و عکس‌العمل آن بسیار کند شده است . در این بررسی مشاهد گردید پس از ۴۸ ساعت علائم سوختگی در کناره‌های حاشیهٔ برگ رگه حساس ظاهر می‌گردد. این پدیده دلیل بر عدم تحمل غلظت نمک و پاره شده دیواره سلولی است (۵ و ۱). وقتی که در اثر جذب زیاد سدیم فشار اسمزی بالا می‌رود رگه حساس اثرات تخریبی سدیم را ظاهر می‌سازد. جذب سدیم توسط ریشه و انتقال آن به برگها در رگه حساس و در غلظت بالا (EC=۱٦) با کد ژنتیکی خاصی انجام می‌شود واین نوع گیاهان در غلظتهای پائین نمک باسنتز

پروتئین‌اثرات نمک راخنثی می‌سازند (۱ و ۱۰). در گیاهان متحمل و در غلظتهای پائین نمک نیازی به سنتز زیاد پروتئین و اسید آمینه نمی‌باشد بلکه با کد ژنتیکی خاصی سدیم را در متابولیسم خود دخالت نداده و امکان دارد آن را در واکوئل مرکزی و یا برگهای قدیمی جای داده و یا به صورت انتخابی جذب نمایند. گیاهان حساس از این استعداد برخوردار نبوده (۵ و ۱)، و در غلظتهای بالای نمک عکس‌العمل گیاهان حساس تغییر یافته و به نظر می‌رسد در این گیاهان یون سدیم جایگزین پتاس می‌شود، و یا این‌که در دیواره سلولی و در ترکیبات کلسیمی جایگزین Ca^{2+} می‌گردد که در هر دو حالت قادر به انجام وظایف عناصر فوق نمی‌شود لذا اثرات تخریبی سدیم آغاز می‌گردد. پتاس بیش از ۵۰ نوع آنزیم را فعال می‌سازد ولی سدیم آنها را از کار می‌اندازد، آنزیمهایی نظیر ریبولوزبیس فسفات کربوکسیلازاکسیژناز[1] که در تثبیت گاز کربونیک و قندسازی دخالت دارند از آن جمله هستند (۱۲). جذب ازت نیز تحت تاثیر سدیم قرار می‌گیرد وروی این اصل رگه حساس قادر است در غلظت کم نمک با سنتز پرولین زیاد، رشد خود را تداوم بخشیده و جذب ازت را ممکن سازد (۱۱).

ضرورت دارد مطالعات زیادی در مورد نوع عمل ژن در برابر تنش شوری در این نوع گیاهان انجام پذیرد. با توجه به نتایج این آزمون می‌توان بیان داشت سنتز پرولین در طول دوره تنش شوری می‌تواند به عنوان یک شاخص فیزیولوژیکی مورد بررسی واقع شده و در غربال کردن رگه های نتاج چغندرقند مورد استفاده قرار گیرد. نتایج نشان داد هر چند که در آستانه تحمل به شوری (EC=۸) نیز پرولین سنتز می‌شود ولی برای گزینش رگه ها بایستی بیش از آستانه تحمل به آنها، تنش وارد ساخت. این تحقیق روشن نمود در غلظتهای کم نمک طعام نمی‌توان ژنوتیپ‌ها را به خوبی شناسایی کرد چون عکس‌العمل آنها کاملا" متفاوت است. ولی با افزایش غلظت نمک طعام مقدار پرولین در آنها تفاوت می نماید. در این بررسی مشخص گردید ۵ ساعت اول تنش برای غربال کردن رگه ها کفایت می‌کند و نیازی به تداوم تنش نمی‌باشد، چون امکان دارد تکیه بر اطلاعات آن موجب بروز اشتباهاتی شود. بهترین زمان برای ایجاد تنش شوری در چغندرقند ۲۸ روز پس از کاشت می باشد چون در این مرحله گیاه دارای ۱۰-۸ برگ است و سنتز پرولین سریع‌تر انجام می‌گیرد. رفتارهای ژنتیکی رگه های نتاج کاملا" متفاوت بوده و نوع عمل ژن در آنها تفاوت دارد. فعالیت آنزیمها در ساختن پروتئین و سایر ترکیبات نظیر اسید گلوتامیک می‌تواند در سنتز پروتئین بسیار مؤثر باشد (۹، ۱۱، ۸). غربال کردن رگه های نتاج با مدنظر قراردادن مقدار پرولین سنتز شده می‌تواند به عنوان یک شاخص فیزیولوژیکی کم هزینه ، سریع و راحت عملی شود.

توصیه شده است در مطالعه های تنش شوری، خشکی و سرما در گیاه چغندرقند شاخص‌های فیزیولوژیکی را به عنوان روش اصلاحی در آزمایشگاه و در انتخاب منابع مقاومت از رگه های نتاج ، رگه های خالص و رگه های مجزا شده نبایستی از نظر دور داشت(۵).

سپاسگزاری

لازم می‌دانیم از مساعدت آقای دکتر صادقیان ریاست محترم موسسه تحقیقات چغندرقند در ایجاد امکانات و همچنین از خانم نیک‌راه به دلیل همکاری در راه‌اندازی روش بیتر و آقای مهندس بهروز احسانی‌مقدم به‌خاطر همکاری در تعیین مقدار پرولین در نمونه‌ها تشکر و قدردانی بنماییم.

مراجع مورد استفاده REFERENCES

۱ - حکمت شعار، ح .۱۳۷۲ . فیزیولوژی گیاهان در شرایط دشوار نوشته می ناردجی‌هیل و همکاران ترجمه دانشگاه تبریز.

۲ - دانش پژوه، ح و ی.، عبده. ۱۳۵۷ . شیمی موادطبیعی جلد دوم دانشگاه تهران شماره ۱۶۸۰.

۳ - شهبازی، پ.و ن.، ملک‌نیا. ۱۳۶۲ . بیوشیمی عمومی برای پزشکی، دانشگاه تهران دانشکده‌پزشکی شماره۲/۱۶۲۲ صفحه ۲۱۵ - ۲۱۴. ۴ - طغرل، ف. ۱۳۵۶ . بیوشیمی مقدماتی(تالیف کن استامپ) ترجمه، دانشگاه تهران شماره ۱۴۶۰.

۵ - مصباح، م ؛ ن؛ یاوری و ر؛ قلی‌زاده. ۱۳۷۰ . خلاصه‌ای از اهمیت، تکنیک‌ها و کارهای انجام شده در ارتباط با ایجاد گیاهان مقاوم به شوری .موسسه تحقیقات اصلاح و تهیه بذر چغندرقند.

1 - RUBP Carboxylase Oxygenase

6- Bates, I. S., R. P. Waldren, and I. D., Teare (1973). Rapid determination of free proline for water-stress studies. Plant and Soil 39: 205- 207.

7- Larosa, P.C., D, Rhodes.J. C., Rhodes R. A., Bressan and L. N., Csonka (1991). Elevated accumulation of proline in NaCl - adapted tabacco cell is not due to Altered Δ1-Pyrroline-5

5- Carboxylate Reductase. Plant Physiol 96: 245- 250

8- Ledily, F. J. P., Billard, & J., Boucaud (1991). Polyamine levels in relation to growth and NaCl concentration in normal and habituated sugar beet callus cultures. Plant, Cell and Environment 14: 327- 332

9- Laliberte, G. and J. A., Hellebust (1989). Pyroline-5-Carboxylate Reductase in Chlorella autotrophica and Chlorella saccharophila in relation to osmoregulation. Plant Physiol. 91: 917- 923.

10- Maslenkova, L., T. T. S., Miteva and L.P. Popova (1992). Changes in the polypeptide patterns of barley seedling exposed to jasmonic acid and salinity.Plant Physiol 98: 700- 707

11- Stewart, C.R., and G., Voetberg (1985). Relationship between stress - Induced ABA and proline accumulations and ABA induced proline accumulation in excised barley leaves. Plant Physiol. 70: 24- 27.

12- Thomas, J. C, R. L., De Armond and H. J., Bohnert, H.J. (1992). Influence of NACl on growth, Proline and Phosphoenol pyrovate Carboxylase levels in Mesembryanthemum Crystallinum suspension cultures. Plant Physiol 98: 626- 631

Iranian J.Agric.Sci.Vol. 28 No.1 1997

A Study on Proline Accumulation in the Leaves of Tolerant and Sensitive Sugar Beet Lines to Salinity.

Z. RANJI, E. MAJIDI , A. HASHEMI DEZFULY AND A.GHALVAND

Respectivly Researchers of Sugar beet seed Institute and seed and plant Improvement Institute , Associate Professor, College of Agriculture , University of Shahid Chamran Ahvaze.

Associate Professor , College of Agriculture University of Tarbiat Modarres.

Accepted 12, March 1997

SUMMARY

In order to study the proline accumulation in sugar beet plant two sensitive and tolerant lines were sown in sand under the growth chamber condtion and watered by a saline solution. By adding NaCl nutrient solution, proline accumulation for eight mM/Cm^2 NaCl was higher in the sensitive line, but at 16 mM/Cm^2 NaCl, the proline synthesis of tolerant line was higher than the sensitive one. After five hours of stress the synthesis of proline increased at the beginning of the treatment and later decreased graduatly.The reasults showed that five hours of saline stress is enough to screen the sensitive and tolerant progeny lines in sugar beet. Moreover 28 days old plants are suitable for the study of proline accumulation. This physiological index can be utilized as a very easy and quick method of screening.