

## بررسی تأثیر کلسیم در افزایش مقاومت به شوری و سرما یونجه یکساله *M. polymorpha* در مرحله جوانه‌زنی

صدیقه صادقی، زهیر یعقوبی اشرفی، آسیه غیائی و منوچهر گرجی

استادیار گروه زراعت، دانشجویان کارشناسی ارشد دانشگاه تهران، استادیار دانشکده مهندسی علوم خاک پردیس کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه تهران.

### مقدمه

وسعت خاکهای شور ایران در حدود ۲۴ میلیون هکتار برآورد شده که معادل ۱۵٪ اراضی کشور است. شوری در اکثر خاکهای ایران بصورت کلرید سدیم و یا سولفات سدیم است. نمک کل در این خاکها به حدود ۳٪ می‌رسد. مقاومت عده‌ای از گیاهان زراعی را به ترتیب افزایش مقاومت به شوری در مرحله جوانه‌زنی شامل لگومینوزها به استثناء یونجه، ذرت چغندر، گندم، یونجه، چاودار، یولاف و جو است. با بررسی اثر شوری حاصل از NaCl بر روی جوانه‌زنی و گیاهچه‌های یونجه اعلام نمودند که با افزایش شوری درصد جوانه‌زنی، طول ریشه‌چه، ساقه‌چه و وزن خشک گیاهچه‌ها کاهش معنی‌داری یافته است و این کاهش در ارقام متحمل به مراتب کمتر از ارقام حساس بوده ولی نسبت ریشه‌چه به ساقه‌چه در ارقام متحمل افزایش نشان می‌دهد. کاهش دما موجب تغییر غلظت یا فعالیت آنزیمهای تنظیم کننده فرآیندهای بیوشیمیایی درون سلول می‌شود. کاهش فعالیت آنزیمهای غشاء سلولی سبب اختلال در انتقال یونها و مواد می‌شود. تغییر فعالیت آنزیمهای درون سلول (کاهش یا افزایش) منجر به تولید ترکیبات مختلفی می‌شود. بعضی از این ترکیبات سمی هستند اما بعضی مفید و موثر در مقاومت به سرما هستند. وجود یون کلسیم در فضای بین سلولی در ترکیبات پکتینی سبب استحکام بافت نیز می‌شود. تأثیر کلسیم بر استحکام غشاء درونی آن طی آزمایشهای متعددی مشاهده است. استحکام غشاء اثر مستقیمی روی خاصیت نیمه تراوایی غشاء دارد و به همین دلیل کمبود کلسیم در اطراف سلول (در اثر عدم انتقال یا عدم جذب) موجب از بین رفتن خاصیت نیمه تراوایی و تراوش مواد درون سلولی به خارج و نفوذ مواد مضر به داخل سلول و نهایتاً "منجر به مرگ سلول می‌گردد. لذا وجود غلظت ۱ تا ۵ میلی مول این یون در اطراف سلول برای حفظ غشاء سلول ضروری شناخته شده است. تنشهای محیطی مانند کمبود آب، شوری، سمیت آلومینیوم و PH پائین که جذب و انتقال کلسیم را مختل می‌کنند. سبب کاهش غلظت برون سلولی این یون و از بین رفتن استحکام غشاء سلول و در نتیجه در این شرایط تراوش مواد درون سلولی مانند پتاسیم مشاهده می‌شود. به همین دلیل گزارشهایی وجود دارد که در شرایط تنش یون کلسیم از خروج پتاسیم جلوگیری می‌کند و سبب مقاومت سلول می‌گردد. در شرایط سرما مقداری کلسیم از غشاء سلولی جدا می‌شود. یون کلسیم در شرایط سرما می‌تواند نقش مهمی در حفاظت غشاء سلولی ایفاء کند.

### مواد و روشها

آزمایش در شرایط آزمایشگاهی با استفاده از ژرمیناتور بر روی یونجه یکساله گونه *Medicago polymorpha* cv. Santiago در دانشکده علوم زراعی و دامی پردیس کشاورزی دانشگاه تهران اجرا گردید. جهت ضدعفونی سطحی بذور از محلول هیپوکلریت سدیم به مدت ۷ دقیقه استفاده شد. سپس بذور با آب مقطر استریل سه بار شسته شدند. برای اعمال تیمار کلسیم، بذور به مدت ۲۴ ساعت در محلولهای کلرید کلسیم ( $\text{CaCl}_2$ ) خالص با غلظتهای ۰، ۵۰، ۱۰۰، ۱۵۰ و ۲۰۰ میلی‌مول در لیتر استفاده شد. ۱۵ و ۲۰ میلی‌مول در لیتر قرار داده شدند. پس از سپری شدن مدت زمان مذکور، ۲۵ بذر سالم را در داخل پتری دیش‌ها (پتری‌دیش با اتانول ۹۸ درصد ضد عفونی شدند) و در بین دو لایه کاغذ صافی قرار داده شدند. برای اعمال تیمار شوری از کلرید سدیم (NaCl) خالص در پنج سطح ۰، ۵۰، ۱۰۰، ۱۵۰ و ۲۰۰ میلی‌مول در لیتر استفاده شد. محلولهای نمک به ازاء هر تیمار به میزانی که بذور کاملاً با محلول آغشته شوند به تمام ظروف اضافه گردید. سپس پتری دیش‌ها در دو دمای ۵°C و ۱۵°C درجه سانتیگراد به مدت ۱۴ روز در داخل ژرمیناتور نگهداری شدند. آزمایش در قالب طرح فاکتوریل بر پایه کترهای کاملاً تصادفی با چهار تکرار انجام گرفت. در روز چهاردهم تعداد بذور جوانه

زده، تعداد جوانه‌های عادی و غیر عادی و طول ریشه‌چه و ساقه‌چه، وزن تر و خشک گیاهچه و نسبت ساقه‌چه به ریشه‌چه تعیین گردید. تجزیه و تحلیل داده‌ها بوسیله نرم‌افزار SAS و مقایسه میانگین‌ها توسط آزمون دانکن در سطح ۵ درصد انجام گرفت.

### نتایج و بحث

اثرات اصلی شوری، کلسیم و دما جوانه زنی و اثرات متقابل آنها بر روی طول ساقه‌چه و ریشه‌چه نسبت ساقه‌چه به ریشه‌چه، وزن خشک گیاهچه و تعداد و درصد بذور جوانه‌زنی در سطح ۱٪ معنی‌دار بود. در دمای  $15^{\circ}\text{C}$  حداکثر وزن خشک گیاهچه، تعداد و درصد بذور جوانه‌زده طول ساقه‌چه و ریشه‌چه و نسبت ساقه‌چه به ریشه‌چه و در دمای  $5^{\circ}\text{C}$  حداقل آنها بدست آمد. با توجه به نتایج حاصله می‌توان اظهار داشت که دمای  $15^{\circ}\text{C}$  احتمالاً با افزایش فعالیت آنزیمها و تاثیر بر روی تراوانی پوسته بذر تاثیر گذاشته و باعث افزایش جوانه‌زنی و رشد گیاهچه یونجه یکساله شده است. حداکثر تاثیر کاهنده شوری بر روی جوانه‌زنی گیاهچه در غلظت ۲۰۰ میلی مول در لیتر NaCl مشاهده گردید. که به دلیل تاثیر سوء اسمزی و سمی افزایش غلظت نمک بر جوانه‌زنی گیاهچه‌ها می‌باشد.

بیشترین طول ساقه‌چه و ریشه‌چه در غلظت ۲۰ میلی مول در لیتر کلسیم و حداکثر تعداد و درصد بذور جوانه‌زده در غلظت ۱۰ میلی مول در لیتر کلسیم و بیشترین میزان نسبت ساقه‌چه به ریشه‌چه و ماده خشک گیاهچه در غلظت ۵ میلی مول در لیتر کلسیم بدست آمد، که این امر حاکی از تاثیر مثبت کلسیم بر روی جوانه‌زنی و رشد گیاهچه یونجه یکساله می‌باشد. اثرات متقابل دما با کلسیم و شوری نشان داد که بیشترین طول ساقه‌چه در دمای  $15^{\circ}\text{C}$  درجه سانتیگراد و در غلظت ۵ میلی مول در لیتر کلسیم و غلظت صفر نمک و کمترین طول ساقه‌چه در دمای ۵ درجه سانتیگراد و در غلظت‌های ۱۰۰، ۱۵۰ و ۲۰۰ میلی مول در لیتر نمک و در تمام سطوح کلسیم بوجود آمد. همچنین نتایج حاصله نشان داد که تیمار بذور با کلسیم قبل از جوانه‌زنی تاثیر زیادی در افزایش مقاومت به شوری در مرحله جوانه‌زنی یونجه یکساله داشته است که این امر احتمالاً مربوط به تاثیر مثبت کلسیم بر روی غشاء سلولها می‌باشد.

با توجه به نتایج حاصله می‌توان اظهار داشت که اولاً دما بر روی جوانه‌زنی بذور یونجه یکساله تاثیر زیادی داشته است احتمالاً افزایش دما موجب افزایش فعالیت آنزیمها و افزایش فرایندهای متابولیکی بذر و در نتیجه افزایش سرعت و قدرت جذب گیاهچه شده لذا تعداد بذور جوانه‌زده و نیز وزن گیاهچه‌های حاصل نسبت به دمای پائین افزایش می‌یابد. ثانیاً افزایش غلظت نمک بدلیل اثرات سوء اسمزی و اثرات سمی آن موجب کاهش جوانه‌زنی و رشد گیاهچه شده است. ثالثاً پیش تیمار بذور یونجه یکساله گونه *M. polymorpha* با کلسیم موجب افزایش رشد گیاهچه‌ها و درصد و تعداد بذور جوانه‌زده شده است در نهایت با توجه به نتایج حاصله از این تحقیق می‌توان اظهار داشت که در یونجه یکساله گونه *M. polymorpha* پیش تیمار کلسیم با غلظتهای ۵ و ۱۰ میلی‌مول در لیتر قبل از جوانه‌زنی موجب افزایش مقاومت گیاهچه به شوری شده و درصد و تعداد بذور جوانه زده زیاد شده و رشد گیاهچه بهبود می‌یابد که این امر مربوط به نقش محافظتی کلسیم در سلولها و غشاء سلولی می‌باشد که موجب حفظ خصوصیت غشاء در غلظت بالای نمک شده و از اثرات سمی یون Na بر روی غشاء و تخریب آن جلوگیری کرده و نیز بعلت نقش کلسیم بعنوان Secand messenger در افزایش مقاوت سلولها به استرسهای محیطی می‌باشد.

### منابع

- [1] Arora R., and Palta J.P. 1991. A loss in the plasma membrane ATPase activity and its recovery coincides with incipient freeze-thaw injury and post-thaw recovery in onion bulb scale tissue. *Plant Physiol.* 95: 846-852.
- [2] Awada, S., Campbel, W.F., Dudley, L.M. and Jurinak, J.J. 1995. Interactive effects of Sodium chloride, Sodium sulfate, Calcium sulfate and calcium chloride on snap bean growth, photosynthesis and ion uptake. *J. Plant Nutr.* 18: 889-900.
- [3] Cattivell L., and Bartels D. 1992. Biochemistry and molecular biology of cold-inducible enzymes and proteins in higher plants. In: Waray J.L. (ed). *Inducible plant proteins*. Cambridge University Press. 267-288 pp
- [4] Glenn, E.P., Brown, J. and Jamal Khan, M. 1997. Mechanisms of salt tolerance in higer plants the university of Arizona, pp: 83-110.