اثر تنش خشکی بر میزان پرولین و قندهای محلول در لوبیا (*Phaseaolus vulgaris* L.)

مریم بروجردنیا*[۱]، محمدرضا بی همتا[۲]، خلیل عالمی سعید[۳]، وحید عبدوسی[٤]

۱-دانشجوی دکتری گروه باغبانی ، دانشگاه علوم و تحقیقات، تهران.۲- استادگروه زراعت و اصلاح نباتات، دانشگاه تهران، کرج .۳- استادیار گروه اصلاح نباتات ، دانشگاه کشاورزی و منابع طبیعی خوزستان ، رامین.۴- استادیارگروه باغبانی ، دانشگاه علوم و تحقیقات، تهران.

*نویسنده مسئول: boroujerdnia@gmail.com

چکیده

خشکی یکی از مهمترین تنشهای محیطی است که رشد گیاه و تولید محصول را به طور نامطلوبی تحت تأثیر قرار می دهد . این مطالعه به منظور بررسی اثر تنش خشکی در طی مرحله گلدهی بر میزان پرولین ، قندهای محلول کل ، فروکتوز، گلوکز و ساکارز در برگ های لوبیا انجام شد. آزمایش بصورت فاکتوریل بر پایه بلوک های کامل تصادفی در ۴ تکرار با منظور نمودن تیمارهای ارقام مختلف لوبیا، Tylore و COS16 (ارقام مقاوم)، خمین و اختر (ارقام حساس)، تنش خشکی شامل آبیاری نرمال (۱۰۰٪ ظرفیت زراعی)، تنش متوسط (۶۰٪ ظرفیت زراعی) و تنش شدید (۳۰٪ ظرفیت زراعی) و مدت زمان تنش (۳ و ۹ روز) اجرا گردید. اثر رقم و تنش خشکی بر RWC%، پرولین، کربوهیدرات های محلول کل، فروکتوز، گلوکز و ساکارز در سطح یک درصد معنی دار بود. تنش خشکی باعث کاهش RWC% و ساکارز و افزایش مقدار کربوهیدرات های محلول کل، فروکتوز، گلوکز و پرولین شد. همبستگی منفی معنی داری بین RWC% و ساکارز با کربوهیدرات های محلول در آب، محتوای فروکتوز و گلوکز وجود داشت. در شرایط تنش آبی، ارقام مقاوم (Tylore و COS16) کربوهیدرات های محلول و پرولین بیشتر انباشته کردند و ارقام خمین و اختر (ارقام حساس)، کربوهیدرات محلول کمتری در شرایط تنش داشتند. در تنش ۹ روز نسبت به ۳ روز میزان پرولین ،گلوکز ، فروکتوز و قندهای محلول کل بیشتر بود. بنابراین متابولیسم کربوهیدرات ها و پرولین عموما تحت تأثیر تنش آبی خاک قرار می گیرد.

کلمات کلیدی: لوبیا، تنش خشکی، قندهای محلول ، پرولین.

مقدمه

تنش خشکی یکی از مهمترین عوامل محدود کننده رشد و عملکرد گیاهان در مناطق خشک و نیمه خشک دنیا و ایران است. گیاهان عموما مکانیسم های مختلفی برای مقابله با تنش های محیطی دارند گیاهان از طریق القا و برقراری انواعی از پاسخ های مورفوروژیکی، بیوشیمیایی و فیزیولوژیکی تحت تنش خشکی سازگار می شوند و توانایی ادامه حیات می یابند (Farooq *et al*., 2009). پاسخ گیاهان به تنش خشکی بستگی به نوع، شدت و مدت تنش و همچنین گونه گیاهی و مرحله وقوع تنش دارد. تنظیم اسمزی، یک نوع سازگاری به تنش کمبود آب است که از طریق تجمع مواد محلول درون سلولها، می تواند منجر به حفظ تورژسانس سلولها و فرآیندهای وابسته به آن در پتانسیلهای پایین آب شود .این تنظیم از طریق تولید بیشتر انواع مختلف مواد آلی مانند پرولین و قندهای محلول در ریشه ها و اندام های هوایی صورت میگیرد. قندهای محلول به عنوان تنظیم کننده های اسمزی، ثبات دهنده غشاهای سلولی و حفظ کننده تورژسانس سلولها، عمل می کنند. در حقیقت، در گیاهانی که قندهای محلول در پاسخ به تنش خشکی تجمع می یابند، تنظیم اسمزی بهتر صورت می گیرد. پرولین از دیگر از دیگر تنظیم کننده های اسمزی تحت تنشهای غیر زیستی می باشد که در تعداد زیادی از گونه های گیاهی، همبستگی بالایی با تحمل به این تنشها داشته و نقش فعالی را در تنظیم اسمزی سلول دارد .به طور کلی،

هدف از این تحقیق ارزیابی تغییرات ایجاد شده در میزان پرولین و قندهای محلول در پاسخ به تنش خشکی در ارقام متحمل و حساس لوبیا به خشکی در مرحله گلدهی می باشد.

مواد و روش‌ها

این آزمایش بصورت فاکتوریل بر پایه بلوک های کامل تصادفی با ۳ تکرار انجام شد. در این تحقیق فاکتورهایی شامل ارقام مختلف لوبیا، Tylore و COS16 (ارقام مقاوم)، خمین و اختر (ارقام حساس)، تنش خشکی شامل آبیاری نرمال (۱۰۰٪ ظرفیت زراعی)، تنش متوسط (۶۰٪ ظرفیت زراعی) و تنش شدید (۳۰٪ ظرفیت زراعی) و مدت زمان تنش (۳ و ۹ روز) مورد ارزیابی قرار گرفت. کشت گیاهان در شرایط گلخانه و در گلدان های پنج لیتری حاوی مخلوط دو قسمت خاک زراعی ، یک قسمت ماسه و یک قسمت کود دامی پوسیده انجام شد. در هر گلدان ۴ بذر از یک ژنوتیپ کشت گردید ولی نهایتا دو گیاه در هر گلدان نگهداری شد. تیمار خشکی در مرحله گلدهی اعمال و پس از رسیدن به ۶۰ و ۳۰ درصد ظرفیت زراعی نمونه برداری از برگهای کاملا توسعه یافته در روز سوم و نهم انجام گرفت. اندازه گیری قندهای محلول به روش فنل- اسید سولفوریک به روش Dabois *et al.*,(1956) انجام شد. برای تفکیک قندهای ساکارز، گلوکز و فروکتوز از دستگاه HPLC استفاده شد. در این مرحله محتوای آب نسبی برگ با استفاده روش Levitt(1980) اندازه گیری شد. برای تعیین مقدار پرولین برگ ها، از روش Bates *et al.*,(1973) استفاده گردید. به منظور انجام محاسبات آماری از نرم افزار آماری SAS استفاده شد . مقایسه میانگین ها نیز با استفاده از آزمون چند دامنه ای دانکن در سطح۱ درصد صورت گرفت.

نتایج و بحث

نتایج حاصل از تجزیه واریانس RWC% ، غلظت گلوکز، فروکتوز، ساکارز وکربوهیدرات های محلول در آب نشان داد که بین ژنوتیپ‌ها ، سطوح تنش و مدت زمان تنش در سطح آماری ۱ درصد اختلاف معنی داری وجود داشت. مقایسه میزان RWC در سطوح مختلف آبیاری نشان داد که با افزایش شدت تنش از میزان محتوای آب نسبی کاسته می‌شود، به طوریکه بیشترین مقدار محتوای آب نسبی مربوط به شرایط شاهد یا ۱۰۰٪ ظرفیت زراعی به میزان ۸۴/۶۶ درصد و کمترین مقدار آن مربوط به سطح تنش ۳۰٪ به میزان ۵۲/۹۵ درصد بود.(جدول۱) در بین ژنوتیپ ها، بیشترین مقدار محتوای آب نسبی مربوط به ژنوتیپ Taylor با میانگین ۷۲/۷۵ درصد و کمترین مقدار آن مربوط به ژنوتیپ اختر (۶۶/۵۵ درصد) می‌باشد. مقایسه میانگین ها نشان داد که با افزایش مدت زمان تنش از ۳ به ۹ روز مقدار محتوای آب نسبی به طور معنی داری کاهش یافت. اثر متقابل ژنوتیپ و شدت تنش بر محتوای نسبی آب معنی دار بود، در ژنوتیپ های مقاوم و حساس با افزایش شدت تنش محتوای نسبی آب کاهش یافت. در سطح تنش ۶۰ درصد، بیشترین محتوی نسبی آب در ژنوتیپ COS16 (۷۸/۰۲ درصد) و کمترین محتوای نسبی آب در رقم اختر (۶۸/۹۹ درصد) قرار داشت. در تنش ۳۰ درصد، بیشترین محتوای نسبی آب به ژنوتیپ های Taylor و COS16 اختصاص داشت که اختلاف معنی داری با هم نداشتند. کمترین محتوای نسبی آب در این سطح تنش مربوط به رقم اختر (۴۹/۵۲) بود. محتوای آب نسبی به عنوان یک شاخص مفید در گزینش برای تحمل به خشکی ارزیابی شده است (Dedio, 1975). نتایج نشان داد که ارقام مقاوم نسبت به حساس حتی در شرایط بدون تنش حاوی محتوای نسبی آب بیشتری بوده و قادر هستند در سطوح تنش بالا محتوای نسبی آب خود را در سطح بالایی نگه دارند و از صدمات کمتری ناشی از پسابیدگی و کاهش محتوای آب برخوردار گردند. . نظری و همکاران (۱۳۹۱) کاهش RWC را در شرایط تنش خشکی گزارش کرده بودند اما در تحقیق هایی که Martinez *et al.*, (2007) انجام داده بودند تفاوتی در مقدار محتوای آب نسبی گیاهان در شرایط تنش و شاهد مشاهده نشده بود.

در بین ارقام بیشترین مقدار متوسط گلوکز ، فروکتوز ، ساکارز و کربوهیدرات های محلول به ژنوتیپ های مقاوم Taylor و COS16و کمترین به ژنوتیپ های حساس اختر و خمین اختصاص داشت . با افزایش شدت تنش میزان ساکارز کاهش یافت در صورتیکه میزان گلوکز ، فروکتوز و کربوهیدرات های محلول در آب به طور معنی داری افزایش نشان داد.

جدول۱- نتایج مقایسه میانگین RWC% ، کربوهیدرات ها و پرولین

تیمار	RWC%	ساکارز (µmol g-1 dw)	گلوکز (µmol g-1 dw)	فروکتوز (µmol g-1 dw)	کربوهیدرات کل (µmol g-1 dw)	پرولین (mg g^{-1} FW)
سطح تنش						
۱۰۰٪ ظرفیت زراعی	۸۴/۶۹ a	۳۳۳/۵۵a	۷۵/۳۸ c	۶۷/۶۹ c	۳۸۵/۴۳ c	۰/۰۸۳c
۶۰٪ ظرفیت زراعی	۷۲/۶۶ b	۱۰۶/۰۶ b	۱۰۶/۵۳ b	۹۸/۸۰ b	۵۴۰/۷ b	۰/۱۴b
۳۰٪ ظرفیت زراعی	۵۲/۹۵ c	۳۰۲/۷۹ c	۱۲۱/۱۸ c	۱۱۸/۹۲c	۷۲۴/۵۹ a	۰/۱۸a
ارقام						
Tylore	۷۵/۷۱ a	۳۲۳/۱۱ a	۱۰۳/۹ a	۱۰۵/۳۲ a	۶۵۴/۳ a	۰/۱۴۷ a
COS16	۷۲/۴۲ a	۳۲۱/۱۹ a	۱۰۴/۸ a	۱۰۱ a	۵۹۳/۴۸ b	۰/۱۴۰ a
اختر	۶۶/۵۵ c	۳۱۵/۷۱ b	۱۰۲ a	۸۹/۶۰ b	۵۲۵/۶۰ c	۰/۱۲ d
خمین	۶۸/۷۱ b	۳۰۹/۸۶ c	۹۳/۴۴ b	۸۴/۶۴ b	۴۲۷/۵۹ d	۰/۱۳۱c
مدت تنش						
۳ روز	۷۰/۹۹ a	۳۱۷/۱۷ a	۹۹/۱ b	۹۲/۱۲ b	۵۲۱/۶۸ b	۰/۱۴ b
۹ روز	۶۹/۲ b	۳۱۷/۷۶ a	۱۰۲/۸۷ a	۹۸/۱۶ a	۵۷۸/۸ a	۰/۱۳ a

تنش خشکی باعث القای شدید در فعالیت آنزیم های هیدرولیزکننده نشاسته (آمیلاز) و ساکاروز (اینورتاز و ساکاروز سنتاز) می گردد. بیشترین مقدار متوسط گلوکز (۱۲۱/۱۸) و فروکتوز (۱۱۸/۹۲) در سطح تنش ۳۰ درصد و کمترین میزان متوسط گلوکز (۷۵/۳۸) و فروکتوز (۶۷/۶۷) در شاهد یا ۱۰۰ درصد ظرفیت زراعی مشاهده گردید. همچنین در ارقام مختلف با افزایش مدت زمان تنش میزان گلوکز ، فروکتوز و کربوهیدرات های محلول در آب افزایش و میزان ساکارز کاهش یافت. افزایش گلوکز و فروکتوز در طی تنش خشکی با نتایج Liu *et al.*,(2004) در برگ های سویا و Sato *et al.*,(2004) در کلم Jie *et al.*,(2010) در سیب مطابقت دارد. در بین ژنوتیپ ها بیشترین و کمترین مقدار پرولین به ترتیب در ژنوتیپ Taylor و اختر مشاهده شد. با افزایش شدت تنش میزان پرولین افزایش یافت بطوریکه میزان پرولین از ۰/۰۸۳۷ در شاهد (۱۰۰ درصد ظرفیت زراعی) به ۰/۱۸۱ در ۳۰ درصد تنش خشکی می رسد. همچنین در تنش ۹ روز (۰/۱۴۳) میزان پرولین به طور معنی داری نسبت به تنش ۳ روز (۰/۱۳) افزایش یافته است. با افزایش شدت تنش میزان پرولین در ژنوتیپ های مختلف افزایش یافت اما این میزان افزایش در ژنوتیپ های مقاوم بیشتر از حساس بود. اثر در تنش ۶۰ درصد ظرفیت زراعی بیشترین مقدار پرولین در ژنوتیپ مقاوم Taylor مشاهده گردید که مقدار پرولین از ۰/۰۸۳ در شاهد به ۰/۱۶ تحت تنش ۶۰ درصد ظرفیت زراعی افزایش یافت. کمترین میزان پرولین در این سطح تنش به رقم اختر اختصاص داشت که میزان پرولین آن از ۰/۰۸۵ در شاهد به ۰/۱۳ در تنش ۶۰ درصد ظرفیت زراعی رسید. در تنش ۳۰ درصد ظرفیت زراعی بیشترین میزان پرولین متعلق به ژنوتیپ های مقاوم Taylor و COS16 به ترتیب با ۰/۲۰ و ۰/۱۸۵ و کمترین میزان مربوط به ارقام حساس خمین و اختر به ترتیب با ۰/۱۷۰ و ۰/۱۷۱ اختصاص داشت. از آنجا که پرولین در تنظیم

اسمزی نقش دارد به نظر میرسد که برتری ارقام مقاوم با برتری نسبی پرولین این ارقام در شرایط تنش ارتباط داشته است. افزایش غلظت پرولین تحت شرایط خشکی درآفتابگردان ، ذرت و کلزا نیز گزارش شده است . بین محتوای نسبی آب و میزان سکروز همبستگی مثبت و معنی داری مشاهده شد(جدول۲). میزان RWC با پرولین و میزان فروکتوز ، گلوکز و کربوهیدرات های محلول همبستگی منفی معنی داری نشان داد که حاکی از آن است که هر چه میزان RWC کاهش یابد باعث تولید بیشتر پرولین و قندهای محلول می گردد.

جدول ۲- ضرایب همبستگی بین صفات مورد بررسی تحت تنش خشکی

	RWC	proline	Sucrose	Glucose	Fructose	WSC
Proline	-۰/۸۷**					
Sucrose	۰/۸۲**	-۰/۷۷**				
Glucose	-۰/۸۰**	۰/۹۲**	-۰/۷۹**			
Fructose	-۰/۷۹**	۰/۹٤**	-۰/٦۹**	۰/۹۲**		
WSC	-۰/۷٤**	۰/۸۹**	-۰/۵۵**	۰/۸٦**	۰/۹۳**	

با توجه به مجموعه نتایج به دست آمده در این پژوهش، ملاحظه شد که تنش خشکی سبب افزایش غلظت پرولین و قندهای محلول در ارقام حساس و مقاوم لوبیا شده است. تجمع کربوهیدرات های محلول در آب و پرولین به عنوان واکنش سازگاری گیاه در برابر تنش خشکی در نظر گرفته شده است.علیرغم کاهش تثبیت کربن در برگ های تحت تنش خشکی، مقدار زیادی کربوهیدرات محلول در آب مانند گلوکز، فروکتوز، سکروز، استاکیوز، مانیتول و پینیتول تجمع می یابند البته نوع کربوهیدرات های محلول در بین گونه ها متغییر می باشد(Valliyodan and Nguyen, 2006). کربوهیدرات های محلول و سایر املاح مانند پرولین به عنوان اسمولیت ها برای نگهداری تورژسانس سلول برگ، حفاظت غشاء ، حذف رادیکالهای آزاد و جلوگیری از دناتوره شدن پروتئین نقش دارند(Bartels and Sunkar, 2005) .در آزمایش انجام شده، همواره غلظت پرولین و کربوهیدراتهای محلول در ارقام مقاوم بیشتر از حساس بود. بنابراین ارقام مقاوم از طریق تجمع کربوهیدرات های محلول و پرولین بیشتر، تنظیم اسمزی بهتری را انجام می دهند و سازگاری بالاتری نسبت به شرایط نامساعد ناشی از تنش دارند. در شرایط تنش خشکی، تنظیم کننده های اسمزی قدرت جذب آب را از خاک توسط ریشه افزایش می دهند و باعث افزایش تحمل آنها نسبت به خشکی می گردند.

منابع

۱. نظری ناسی، ح.، جباری، ف.، عظیمی، م. ر و نوروزیان، م. ۱۳۹۱. ارزیابی اثر تنش خشکی بر پایداری غشای سلولی، سرعت فتوسنتز، محتوای نسبی آب و عملکرد دانه چهار رقم لوبیا چیتی. مجله علوم گیاهان زراعی ایران. دوره ۴۳. شماره ۳: ۴۹۹-۴۹۱.

2. Bartels, D., Sunkar, R. 2005. Drought and salt tolerance in plants. Crit Rev Plant Sci, 24:23–58.
3. Bates, L. S., Walderen, R. D. and Taere, I. D. 1973. Rapid determination of free proline for water stress studies. Plant Soil, 39: 205-207.
4. Dubois,D., Gilleres, K. A., Hamilton, J. K. 1956. Clorometric methode for determination of sugars and related substances. Analytical Chemistry: 350-356.
5. Liu, F., Jensen, R., & Andersen, N. 2004. Drought stress effect on carbohydrate concentration in soybean leaves and pods during early reproductive development: its implicationin altering pod set. Field Crop Res, 86: 1-13.

6. Jie, Z., Yuncong, Y., Streeter, J., Ferree, D. 2010. Influence of soil drought stress on photosynthesis, carbohydrates and the nitrogen and phosphorus absorb in different section of leaves and stem of Fugi/M.9EML, a young apple seedling. Afr. J. Biotechnol, 9:5320-5325.
7. Sato, F., Yoshioka, H., Fujiwara, T., Higashio, H., Uragami, A., Tokuda, S. 2004. Physiological responses of cabbage plug seedlings to water stress during low-temperature storage in darkness. Sci. Hort, 101: 349-357.
8. Valliyodan, B., Nguyen, H. T. 2006. Underestanding regulatory networks and engineering for enhanced drought tolerance in plants. Curr. Opin. Plant. Biol. 9:1-7.

The effect of drought stress on proline contents and soluble sugars in bean (*Phaseolus vulgaris* L.)

M. Boroujerdnia[*1], M. R. Bihamta[2], Kh. Alami Said[3], V. Abdossi[4]

1-Phd of Horticultural Sciences, Science and Research Branch, Islamic Azad Universi,Tehran.2- Professor, Dep. of Agronomy and Plant Breeding, Tehran University, Karaj.3- Assistant Professor ,Dep. of Plant Breeding, Khuzestan Ramin Agriculture and Natural Resources University.4- Assistant Professor, Horticultural Sciences, Science and Research Branch, Islamic Azad University, Tehran.

*Corresponding author: boroujerdnia@gmail.com

Abstract

Drought is one of the most important environmental stresses that adversely affect the plant growth and crop production. This study was carried out to investigate the influence of drought stress during the flowering stage on on RWC, proline and water soluble carbohydrate concentration, glucose and fructose content in bean (*Phaseolus vulgaris* L.) leaves. Experiment was conducted using randomized complete block design with 4 replications. Treatments included different bean cultivars, namely Tylore (tolerant cultivar), COS16(tolerant cultivar), Khomein (sensitive cultivar) and Akhtar (sensitive cultivar), drought stress including normal irrigation (100% FC) (available water), moderate stress conditions (60% FC), and high stress conditions (30% FC) and stress duration (3 and 9 day). Significant differences were observed among cultivars and levels of drought stress in RWC%,proline, carbohydrates,. Drought stress decreased RWC% and increased water soluble carbohydrate concentration, glucose, fructose and proline .A significant negative correlation was indicated RWC with water soluble carbohydrate concentration, glucose and fructose content. In deficient water condition, tolerant cultivars (Tylore and COS16) accumulated more soluble sugars, and Khomein and Akhtar as a susceptible cultivars had the lowest soluble sugar in both conditions. Thus, sugar metabolism was influenced greatly by soil water stress.

Key words: Bean, Drought stress, Soluble sugars, Proline.