بررسی برخی خصوصیات مورفولوژیکی، فیزیولوژیکی دانهالهای ارقام تجاری بادام (*Prunus amygdalus* L.) تحت تنش خشکی ناشی از پلی اتیلن گلایکول (PEG)

عبدالباسط رنجبر[1*]، علی ایمانی[2]، سعید پیری پیر ایواتلو[3] وحید عبدوسی[4]

۱- دانشجوی دکتری تخصصی گروه علوم باغبانی دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه آزاد اسلامی واحد علوم و تحقیقات تهران، تهران. ۲- دانشیار موسسه تحقیقات باغبانی کشور، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، تهران، کرج. ۳- استادیارگروه علوم باغبانی دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه آزاد اسلامی واحد ابهر، ابهر. ۴- استادیارگروه علوم باغبانی دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه آزاد اسلامی واحد علوم و تحقیقات تهران، تهران

*نویسنده مسئول:r.abd@mihanmail.ir

چکیده

این پژوهش به منظور بررسی و مقایسه ارقام بادام و توانایی رشد آنها تحت تنش خشکی ناشی از پلی اتیلن گلایکول بر پایه آزمایش فاکتوریل در قالب طرح کاملا تصادفی با سه تکرار (هر کرت ۱۰ نهال) در سال ۲۰۱۵ در ایستگاه تحقیقات باغبانی موسسه اصلاح و تهیه نهال و بذر کرج انجام شد. در این تحقیق بذور ۵ رقم بادام (سوپرنووا، تگزاس، مارکونا، شکوفه و *K13-40*) با ۳ سطح تنش اسمزی (۰، ۴- و ۸- بار) حاصل از *PEG* در شرایط کنترل شده بذر انجام شد. نتایج نشان داد که تنش خشکی محتوای غلظت پرولین، نشت الکترولیت و برگ های زرد را افزایش و محتوای نسبی آب، محتوای کلروفیل و ارتفاع بوته را کاهش می‌دهد. بر اساس نتایج به دست آمده، ارقام مارکونا و سوپرنووا نسبت به دیگر ارقام نسبت به خشکی مقاوم تر بودند، در حالی که *K13-40* و تگزاس حساس. همچنین رقم شکوفه نسبت به سایر ارقام مقاومت به خشکی متوسطی از خود نشان داد.

کلمات کلیدی: بادام، تنش خشکی، ویژگی‌های مورفولوژیکی، ویژگی‌های فیزیولوژیکی

مقدمه

بیش از ۴۵٪ زمین‌های کشاورزی که در آن ۳۸٪ جمعیت کره زمین زندگی می کنند در معرض خشکی و شوری همیشگی است (Kirnak et al., 2001; Jaleel et al., 2009). ارزیابی و شناسایی ارقام متحمل درختان میوه به تنش خشکی و میزان توانایی رشد آنها در این شرایط اهمیت بسیار زیادی دارد (Yadollahi *et al.*, 2011) چون می‌تواند در برنامه‌های اصلاحی مورد استفاده واقع شود (Petridis et al., 2012). برخی از مکانیسم‌های تحمل خشکی در ارتباط با خصوصیات برگ و ریشه است و یا با تغییر در نسبت حجم و وزن تر و خشک ریشه به اندام هوایی کل گیاه را متاثر می کند (Rieger and Duemmel,1992). مکانیسم هایی مانند پرهیز از خشکی به وسیله عادت ریشه‌دهی عمقی، ریزش برگ‌ها، کاهش اندازه برگ، تراکم بالای روزنه‌ای، کاهش تعرق روزنه‌ای و تطابق اسمزی از طریق سنتز ترکیبات سازگار کننده در بادام مشاهده شده است (Isaakidis et al.,2004 ;Torrecillas et al., 1996). برای اعمال تنش خشکی از عوامل اسمتیک مانند پلی اتیلن گلایکول (PEG) که در ایجاد پتانسیل اسمزی نقش مهمی دارد استفاده می‌شود (Berg et al., 2006). این آزمایش به منظور ارزیابی برخی خصوصیات مورفولوژیکی، فیزیولوژیکی ارقام تجاری بادام تحت تنش خشکی ناشی از PEG برای شناسایی و معرفی متحمل‌ترین رقم از میان ارقام انتخابی طراحی و اجرا گردید.

مواد و روش ها

این تحقیق برای آزمون تحمل دانهال‌های حاصل از گرده افشان آزاد ارقام انتخابی بادام و میزان توانایی رشد آنها تحت شرایط تنش خشکی ناشی از پلی اتیلن گلایکول (PEG) به صورت فاکتوریل در قالب طرح پایه کاملا تصادفی با سه تکرار و هر تکرار ۱۰ دانهال در شرایط گلدانی با استفاده از بذور ۵ رقم بادام (سوپرنووا، تگزاس، مارکونا، شکوفه و K13-40) و ۳ سطح تنش اسمزی (۰، ۴- و ۸- بار) حاصل از PEG در سال ۱۳۹۴ در ایستگاه تحقیقات باغبانی موسسه اصلاح و تهیه نهال و بذر کرج انجام شد. در ابتدا بذور با محلول ۲٪ قارچ کش تترا متیل تیورام دی سولفید برای ۲ دقیقه ضد عفونی و سپس به مدت ۲۴-۴۸ ساعت با آب جاری شسته شده و در پرلیت مرطوب (درحد ظرفیت زراعی) به مدت ۸ هفته در دمای ۷ درجه سانتیگراد قرار داده شدند و بعد از جوانه زدن بذرها، به گلدان‌های حاوی مخلوط پرلیت و پیت (به نسبت ۲ به ۱) منتقل شدند. پس از استقرار تاثیر تنش خشکی بر کار آیی دانهال‌ها از طریق ایجاد تنش اسمزی با استفاده از PEG مورد مطالعه قرار گرفت (Zamani *et al.*,2002). برای این منظور ابتدا محلول PEG (با وزن مولکولی ۶۰۰۰)، در سه سطح خشکی (صفر، ۴- و ۸- بار) به کمک معادله زیر محاسبه گردید (Kaufman and Eckard, 1971).

$$\Psi = -C\ (1/18 \times 10\text{-}2) - (1/18 \times 10\text{-}4)\ C2 + (2/67 \times 10\text{-}4)\ CT + (8/39 \times 10\text{-}7)\ C2T$$

Ψ = پتانسیل اسمزی بار، C = غلظت (گرم در لیتر)، T = درجه حرارت (سانتیگراد)

سپس دانهال ها با محلول PEG تیمار شده و دو ماه بعد صفات تعداد برگ زرد شده یادداشت و پرولین، نشت یونی، محتوی رطوبت نسبی و کلروفیل a، b اندازه گیری شد. برای اندازه گیری کلروفیل a، b ۰/۲ گرم از بافت برگ‌های جوان کاملاً توسعه یافته توزین و در هاون چینی با استون ۸۰ ٪ عصاره گیری شد. از محلول فوقانی پس از سانتریفوژ به منظور اندازه گیری کلروفیل a و b استفاده و سپس میزان جذب با اسپکتروفتومتر در طول موج های ۶۶۳ و ۶۴۵ نانومتر قرائت و از روابط زیر محاسبه شد (Arnon, 1949).

$$\text{Chlorophyll a} = (19.3 \times A663 - 0.86 \times A645)\ V/100W$$
$$\text{Chlorophyll b} = (19.3 \times A645 - 3.6 \times A663)\ V/100W$$

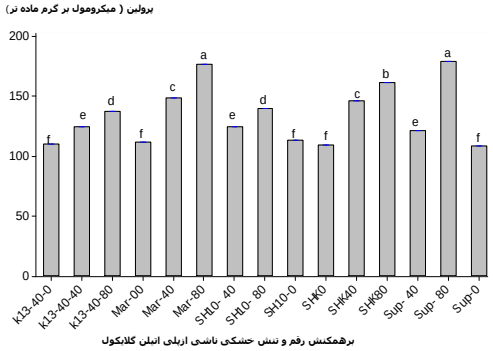
به منظور اندازه‌گیری میزان نسبی آب برگ (RWC)، ۴ برگ کامل از بالای شاخه اصلی هر گیاه انتخاب و پس از محاسبه وزن تر (FW)، در دمای ۴ درجه سانتیگراد درون آب مقطر و در تاریکی قرار داده شدند. بعد از ۲۴ ساعت از آب مقطر خارج، رطوبت اضافی حذف و وزن آماس (TW)، تعیین شد. سپس به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۱۰۵ درجه سانتیگراد قرار گرفته و وزن خشک (DW) آنها و در نهایت (RWC)، از رابطه $RWC = [(FW - DW)/(TW - DW)] \times 100$ (Torrecillas *et al.*,1999) محاسبه شد. به منظور اندازه گیری میزان پرولین، ۰/۲ گرم از برگ‌های کاملاً گسترش یافته و جوان گیاه توزین و با استفاده از اسید سولفوسالیسیلیک ۳٪ عصاره همگنی به دست آمد. سپس به روش کلریمتریک با استفاده از اسید ناین هیدرین و مطابق روش (Bates et al.,1973) اندازه گیری و میزان پرولین برگ‌ها با اسپکتروفتومتر در طول موج ۵۲۰ نانومتر قرائت و از طریق فرمول زیر محاسبه گردید:

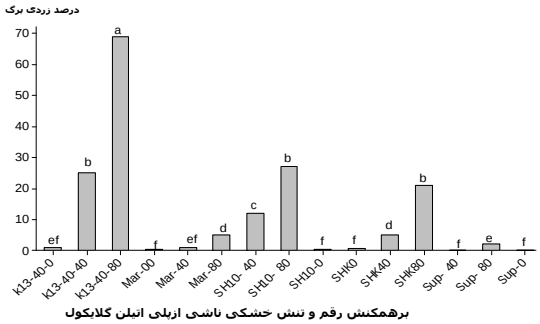
$$\mu moles \frac{Proline}{g}\ of\ fresh\ weight\ material = \frac{\left[\frac{\mu g \frac{Proline}{ml} \times ml\ Toluene}{115.5 \mu \frac{g}{\mu mole}}\right]}{(g\ sample/5)}$$

برای محاسبه میزان نشت یونی، یک گرم از برگ تازه با آب مقطر شسته شده و درون ارلن حاوی ۱۰ میلی لیتر آب دوبار تقطیر و در دمای اتاق (۲۵ درجه سانتی گراد) روی شیکر قرار گرفت و پس از ۲۴ ساعت هدایت الکتریکی آب داخل ارلن به وسیله EC متر اندازه‌گیری شد (Lt). ارلن حاوی نمونه یک ساعت در اتوکلاو در دمای ۱۲۰ درجه سانتیگراد قرار گرفت و مجدداً هدایت الکتریکی نمونه اندازه گیری شد (LO). در نهایت درصد نشت یونی طبق فرمول (LT/LO) ×100 محاسبه شد (Lutts et al.,1995). داده‌های به دست آمده با نرم افزار SAS و در قالب طرح کامل تصادفی تجزیه و مقایسه میانگین داده‌ها با آزمون چند دامنه‌ای دانکن انجام شد.

نتایج و بحث

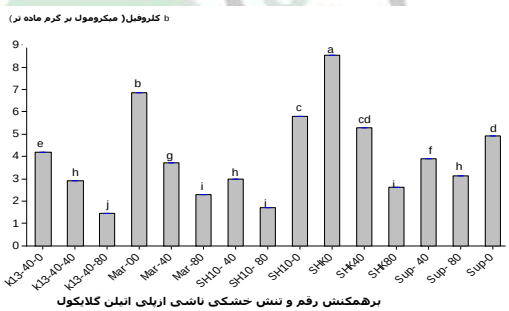
بر اساس نتایج بیشترین میزان پرولین مربوط به تیمارهای ۸- بار PEG در دانهال‌های رقم سوپرنووا و سپس مارکونا بود(شکل ۱). در آزمایشی روی بادام گزارش شده در تنش خشکی شدید، تجمع پرولین بیشتر می‌شود(Zamani et al.,2002). سیرکِلج و همکاران (Sircelj et al.,2005) الگوی ثابتی را در میزان پرولین در ارقام سیب تحت تنش خشکی بیشتر مشاهده نکردند. گزارش شده است که گیاهان در تنش‌های محیطی، از قبیل خشکی، شوری، گرما و غیره با ذخیره مواد تنظیم کننده اسمزی از قبیل قندهای الکلی، کربوهیدرات ها، قندهای مرکب و دیگر ترکیبات فعال نظیر پرولین، گلایسین بتایین، گلوتامات، پلیول و اکتین و یون‌های معدنی مانند پتاسیم با این تنش‌ها مقابله می‌کنند (Chen et al.,2001). در پژوهش حاضر مقدار کلروفیل a و b در برگ دانهال‌های ارقام متحمل بیشتر و زردی برگ‌ها کمتر بود (شکل ۲، ۳ و ۴). کمترین میزان کاهش کلروفیل مربوط به رقم سوپرنوا و سپس مارکونا بوده و دانهال های ارقام K13-40 و سپس تگزاس بیشتر از سایر دانهال های ارقام دچار کاهش میزان کلروفیل و زردی شدند و دانهال های رقم شکوفه نیز متوسط بود. طبق گزارش‌ها برگ ارقام در تیمار آبیاری نرمال دارای آهن بیشتری نسبت به برگ همان ارقام تحت تنش خشکی است. کمبود آهن موجب اخلال در انتقال الکترون، تنفس، سنتز کلروفیل و در نتیجه زردی برگ‌ها می‌شود. گلوتامات پیش ساز کلروفیل و پرولین است، در شرایط کمبود آب، غلظت اسید آمینه پرولین افزایش و لذا سنتز کلروفیل کاهش می‌یابد. تحت تنش، تغییر توازن عناصر تغذیه ای و معدنی و افزایش فعالیت آنزیم کلروفیلاز نیز غلظت کلروفیل را کاهش می‌دهد. در طی تنش، کلروفیل‌ها در کلروپلاست تجزیه و ساختارهای تیلاکوییید ناپدید می‌گردند (حیدری شریف آباد، ۱۳۸۰). دی هرالد (De Herralde, 2000)، تحمل به خشکی را در هشت رقم تجاری بادام در شرایط گلدانی بررسی و گزارش کرد که ارقام از نظر کاهش پتانسیل آب برگ، RWC، کارایی مصرف آب، سرعت فتوسنتز و رشد رویشی تفاوت نشان دادند. RWC و توانایی حفظ آن در ارقام آزمایش شده دارای تفاوت معنی داری بود. با افزایش شدت تنش اسمزی RWC برگ دانهال‌ها به طور معنی داری کاهش یافت اما میزان کاهش RWC در دانهال‌های رقم سوپرنوا با شدت کمتر و در دانهال های ارقام دیگر مخصوصاً دانهال های رقم K13-40 شدت کاهش RWC بیشتر از سایرین بود (شکل ۵). کمترین مقدار RWC در دانهال های رقم K13-40 در تیمار ۴- بار PEG بود در حالیکه بیشترین میزان RWC در سطوح تنش ۸- بار در دانهال های رقم سوپرنوا ثبت شد. تورچیلاس و همکاران (Torrecillas et al., 1996) اعلام نمودند که پتانسیل آب برگ قبل از طلوع آفتاب در دو گونه بادام تحت تنش خشکی به طور تصاعدی کاهش یافت و در پایان دوره تنش (۲۸ روز)، در رقم گریگوس (Garrigues) به ۰/۸۰- و در رقم رامیلت (Ramillete) به ۰/۹۸- مگاپاسکال رسید. دانهال های ارقام ارزیابی شده در آزمایش حاضر از نظر شدت نشت یون‌ها در تیمارهای مختلف دارای تفاوت معنی داری بودند. دانهال های ارقام K13-40 و تگزاس در سطوح بالای تنش خشکی، نشت یونی بیشتر اما دانهال های ارقام مارکونا و سوپرنوا آسیب غشائی سلولی و نشت یونی کمتر و رقم شکوفه هم متوسط بوده است (شکل ۶). قادری و همکاران (۱۳۸۵) در پژوهشی بر روی انگور، گزارش کردند که حفظ سلامت و استحکام غشا تحت شرایط تنش یکی از اصلی‌ترین عوامل تحمل گیاهان به تنش خشکی است. سلول‌هایی که با تنظیم اسمزی در برابر خشکی مقاومت می‌کنند از استحکام غشاء سلولی بالاتری بهره می‌برند (Liu *et al.*, 2002).

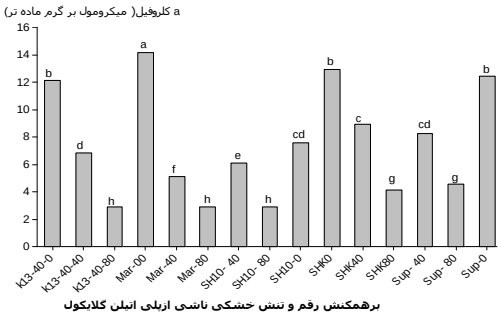




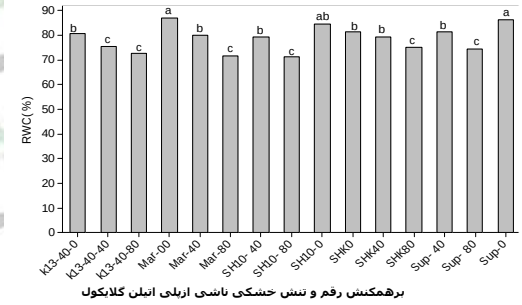
شکل ۱- اثر تنش اسمزی بر میزان تجمع پرولین ارقام بادام شکل ۲- اثر تنش اسمزی بر زردی برگ ارقام بادام

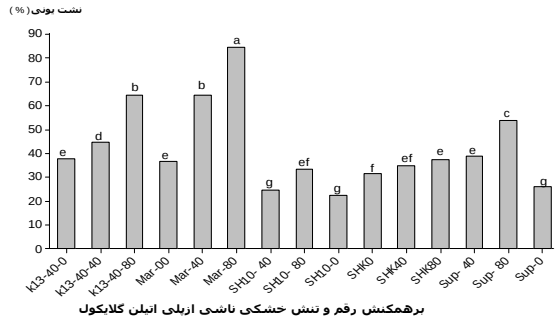
*k13-40-0=k13-40-40 شاهد. k13-40=k13-40-40 تحت تیمار تنش اسمزی ۴- بار. k13-40=k13-40-80 تحت تنش اسمزی ۸- بار. Sup=Sup-0 (سوپرنوا) شاهد. Sup=Sup-40 تحت تیمار تنش اسمزی ۴- بار. Sup=Sup-80 تحت تنش اسمزی ۸- بار. SHK0=شکوفه شاهد. SHK40=شکوفه تحت تیمار تنش اسمزی ۴- بار. SHK80=شکوفه تحت تنش اسمزی ۸- بار. SH10-SH10=0 (تگزاس) شاهد. SH10=SH10-40 (تگزاس) تحت تیمار تنش اسمزی ۴- بار. SH10=SH10-80 (تگزاس) تحت تنش اسمزی ۸- بار. Mar=Mar-00 (مارکونا) شاهد. Mar=Mar-40 تحت تیمار تنش اسمزی ۴- بار. Mar=Mar-80 تحت تنش اسمزی ۸- بار. * ستون هایی که دارای حروف مشترک هستند اختلاف معنی داری باهم ندارند.





شکل ۳- اثر تنش اسمزی بر میزان تجمع پرولین آزاد در برگ ریزنمونه ها شکل ۴- اثر تنش اسمزی بر میزان کلروفیل b در برگ





شکل ۵- اثر تنش اسمزی بر محتوای نسبی آب برگ ریز نمونه‌ها شکل ۶- تاثیر تنش اسمزی بر میزان نشت الکترولیت

نتیجه گیری کلی

دانهال‌های ارقام مختلف استراتژی‌های مختلفی را در برابر تنش‌های محیطی به کار می‌برند. بسته به شرایط این ویژگی‌ها و استراتژی‌ها در موقعیت‌ها و در تنش‌های مختلف می‌تواند درجه تاثیر متفاوتی داشته باشد. هرچه روش‌های گریز از تنش و یا مقابله با آن

در ژنوتیپی بیشتر باشد در برابر عوامل نامساعد محیطی مقاوم‌تر است. نتایج حاصل از بررسی صفات فیزیولوژیکی و بیوشیمایی با نتایج حاصل از اندازه‌گیری صفات رویشی نشان داد که دانهال های ارقام سوپرنووا و مارکونا که بیشترین میزان تولید پرولین و کمترین میزان نشت یونی را دارا بودند به عنوان مقاومترین دانهال ها و دانهال های رقم K13-40 به عنوان حساسترین به تنش خشکی مشخص شدند. ازاین نوع دانهال های ارقام سوپرنووا و مارکونا می توان به عنوان پایه های بذری در مقایسه سایرین توصیه نمود.

منابع

۱. حیدری شریف آباد، ح. ۱۳۷۹. گیاه، خشکی و خشکسالی. چاپ اول. انتشارات موسسه تحقیقات و مراتع کشور، ۲۰۰ صفحه.

۲. قادری، ناصر.، سی و سه مرده، عادل و شاهویی، سید صابر. ۱۳۸۵. بررسی اثر خشکی بر خصوصیات فیزیولوژیکی دو رقم انگور. مجله علوم کشاورزی ایران. جلد ۳۷، شماره ۱: ۵۵-۴۵.

3. Bates, L.S., Walderen, R.D. and Taere, I.D. 1973. Rapid determination of free proline for water stress studies. Plant and Soil Science. 39: 205-207
4. Bradford, K.J. 1995. Water relation analysis of seed germination rates. Plant Physiology. 94: 840 -849.
5. Berg, L.V.D. and Zeng, Y.J. (2006). Response of South African indigenous grass species to drought stress induced by polyethylene glycol (PEG) 6000. South African Journal of Botany, 72:284-286.
6. Chen, S., Li, S., Wang, A., Huttermann A. and Altman, A. 2001. Salt, nutrient uptake and transport, and ABA of Populus eupharatica; a hybrid in response to increasing soil NaCl. Trees-Structure and Function. 15: 186-194.
7. De Herralde, F. 2000. Integral study of the eco physiological responses to water stress. Characterization of almond varieties. Nucis-Newslette.r 9, 20-21.
8. Irigoyen, J.J., Emerich, D.W. and Sanchez-Diaz, M. 1992. Alfalfa leaf senescence include by drought stress: photosynthesis, hydrogen peroxide metabolism, lipid peroxidation and ethylene evolution. Physiologia Plantarum. 84: 67-72.
9. Isaakidis S. A., Xenos T. D., and Dris N. A . 2004. Tropospheric Ducting Phenomena over the Hellenic Region, Int. J. Commun. Syst., Wiley, 17: 337-346.
10. Jaleel, C.A., Gopi, R., Manivannan, P., Gomathinayagam, M., Ksouri Riadh, Jallali Inès, Zhao Chang-Xing, Shao Hong-Bo, R. Panneerselvam. 2009a. Antioxidant defense
11. Kaufman, M.R. and Eckard, A.N. 1971. Evaluation of stress control by polyethylene. Glycols by analysis of gulation. Plant Physiology. 47: 453-456.
12. Kirnak H. Kaya C., Tas, I. and Higgs, D. 2001. The influence of water deficit on vegetative growth, physiology, fruit yield and quality in eggplants. Bulgarian Journal of Plant Physiology, 27(3-4): 34-46.
13. Liu, B., Cheng, L., Ma, F., Zou, Y. and Liang, D. (2012). Growth, biomass allocation, and water use efficiency of 31 apple cultivars grown under two water regimes. Agroforestry Systems, 84(2):117-129.
14. Lutts, S., Kinet, J.M. and Bouharmont, J. 1995. Changes in plant response to NaCl during development of rice (Oryza sativa L.) varieties differing in salinity resistance. Journal Experimental of Botany. 46, 1843–1852.
15. Raggi, V. 1992. Changes in water relations and in some physiological functions of bean under very light osmotic shock induced by polyethylene glycol. Physiologia Plantarum, 84: 537-548.
16. Rieger, M. and Duemmel, M.J. (1992). Comparison of drought resistance among Prunus species from divergent habitats. Tree Physiology, 11:369-380.
17. Torrecillas, A., Alarcon, J. J., Domingo, R., Planes, J. and Sanches, M. J. 1996. Strategies for drought resistance in leaves of two almond cultivars. Plant Science. 118, 135-143.
18. Sircelj, H., Tausz, M., Grill, D. and Batic, F. (2005). Biochemical responses in leaves of two apple tree cultivars subjected to progressing drought. Journal of Plant Physiology, 162:1308-1318.
19. Yadollahi, A., Arzani, K., Ebadi, A., Wirthensohn, M. and Karimi, S. (2011). The response of different almond genotypes to moderate and severe water stress in order to screen for drought tolerance. Scientia Horticulturae, 129:403-413.
20. Zamani, Z., Taheri, A., Vezvaei, A. and Poustini, K. (2002). Proline content and stomata resistance of almond seedlings affected by irrigation intervals. Acta Horticulturae, 591:411-416.

Evaluation of some morphological And physiological Chractristics in Commercial Of Almond varieties (Prunus amygdalus .l) under Drought stress by Polyethylene Glycol(PEG)

A.Ranjbar[1 *], A.Imani[2], S.Piri piraivat lou[3] and V.Abdoosi[4]

1- PhD Student of Department of Horticulture Science, Tehran Science and Research branch, Islamic Azad University, Tehran, Tehran. 2- Associate Professor, Horticultural Dep. of Seed and Plant Improvement Institute (SPII), Karaj, Karaj- 3- Assistant Professor, Dep. of Horticulture Science, Abhar branch, Islamic Azad University, Abhar, Abhar. 4- Assistant Professor, Dep. of Horticulture Science, Tehran Science and Research branch, Islamic Azad University, Tehran, Tehran.

*Corresponding author: r.abd@mihanmail.ir

Abstract

This research to evaluate and compare the almond cultivars and their ability to grow under drought stress induced by polyethylene as glycol factorial experiment base on completely randomized design with three replication (each plot 10 seedlings) in the years 2015 at the Horticultural Research Station Seed and Plant Improvement Institute usingt he seeds of five varieties of almonds (Supernova, Texas, Markona, Shokofeh and K13-40) with 3 levels of osmotic stress (0, 4 and 8 times) from polyethylene glyco in controlled conditions was carried out. The results showed that stress increases the concentration content of proline, electrolyte leakage and yellow leaves and also reduces the relative water content, chlorophyll content and plant height. Based on the results obtained, the Marcona and Supernova varieties were more resistant to drought than other varieties, while K13-40 and Texas were Sensitive. Also Shokofeh showed a modest drought tolerance.

Key words: Almond, stress, morphological characteristics, physiological characteristics