بررسی برخی خصوصیات فیزیولوژیک ۵ رقم بادام تحت تنش خشکی در شرایط درون شیشه

احسان اکبرپور[1] علی ایمانی ۲

۱-دانشجوی مقطع دکتری اصلاح میوه،گروه علوم باغبانی دانشکده کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه هرمزگان ۲- دانشیار موسسه تحقیقات باغبانی کشور، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی ،تهران،ایران

*نویسنده مسئول: imani_a45 @yahoo.com

چکیده

در این تحقیق برخی ویژگی های فیزیولوژیک ۵ رقم تجاری بادام داخلی و خارجی (سوپرنوا، تونو، سهند، شاهرود ۱۲ و شاهرود۲۱) تحت ۴ سطح مختلف تنش خشکی ناشی از پلی اتیلن گلیکول شامل ۰ ، ۲، ۴ و ۶ درصد که به ترتیب معادل ۰، ۰/۱۴-، ۰/۳۶- و ۰/۶۶- بار پتانسیل آب به مدت ۴ هفته در محیط درون شیشه مورد بررسی قرار گرفت. در پایان دوره تنش شاخص های فیزیولوژیک شامل پرولین آزاد برگ، رنگیزه های فتوسنتزی و قندهای محلول اندازه گیری شد. نتایج آزمایشات نشان داد تنش خشکی باعث افزایش محتوای قندهای محلول، غلظت پرولین آزاد برگ و همچنین سبب کاهش محتوای کلروفیل گردید. بر اساس نتایج این بررسی مشخص گردید که ارقام سوپرنوا و تونو به نسبت سایر ارقام مقاومت بیشتری به خشکی دارند در حالیکه ارقام شاهرود ۲۱ و شاهرود ۱۲ از مقاومت کمتری برخودار هستند. همچنین رقم سهند به نسبت سایر ارقام در مورد مقاومت به خشکی کارایی متوسطی از خود نشان داد.

کلمات کلیدی: بادام، تنش خشکی، کشت بافت بادام، پلی اتیلن گلیکول

مقدمه

امروزه با استفاده از برخی پارامتر های فیزیولوژیکی در ارزیابی تنش خشکی از جمله محتوای پرولین در اندام های گیاهان تحت تنش به کار می گیرند. به طوری که طبق نظر تایلور (Taylor, 1996) پرولین مهمترین ملکول آلی است که در شرایط اغلب تنش های محیطی در بافت های گیاهان تجمع می یابد. ازطرفی محتوای رنگیزه‌های فتوسنتزی به عنوان یک نشانگر مهم تنش خشکی در بسیاری از گونه‌های گیاهی مطرح می‌باشد. (Sivritepe *et al*., 2008) در شرایط تنش درون شیشه ای بروز تنش اکسیداتیو را در گونه های چوبی تایید نمودند. (Ramanjulu *et al*., 1998) ، نشان دادند که تنش آبی باعث کاهش معنی دار مقدار کلروفیل برگ می شود. گزارش شده است در شرایط کمبود آب، کربوهیدرات های محلول سهم عمده ای از تنظیم اسمزی و حفاظت اسمزی در نقاط رشدی برگ ها، ساقه ها و ریشه ها را به خود اختصاص می دهند (Wang and Stutte, 1992). امروزه به منظور اعمال تنش خشکی در شرایط درون شیشه ای از پلی اتیلن گلیکول (PEG) استفاده می شود. از آن جایی که ایجاد و حفظ یک پتانسیل آب خالص در محیط خاک، کاری تقریباً مشکل است، در این راستا برقراری شرایط تنش آبی با استفاده از مواد اسمزی مختلف برای ایجاد پتانسیل های اسمزی، یکی ازمهم ترین روش های مطالعه تأثیر تنش آبی بر رشد درون شیشه تلقی می شود در این راستا و با توجه به منابع بررسی شده، مقاومت به خشکی ۵ رقم بادام یاد شده در محیط درون شیشه مورد بررسی و مقایسه قرار گرفت.

مواد و روشها

مواد گیاهی این تحقیق شامل ریز نمونه هایی است که از شاخه های سال جاری درختان ۵ ساله ارقام تجاری و دیرگل پربار شامل: سهند، تونو، شاهرود ۱۲ (فرانیس)، شاهرود ۲۱ و سوپرنووا بود. پس از تهیه ریز نمونه ها و ضد عفونی کردن در محیط کشت M.S استقرار یافتند، جوانه هایی از محل گره ها رشد نمودند. هنگامی که جوانه ها به اندازه مناسب رسیدند به طوری که هر جوانه حدود ۳-۴ برگ

توسعه یافته داشتند، *از* محل گره جدا شده و به محیط M.S حاوی ۱ میلی گرم در لیتر BAP که برای مرحله پرآوری تهیه شده زیر کشت شدند تا تعداد ریز نمونه به اندازه کافی برای اعمال تنش رسیدند.

این تحقیق به صورت یک آزمایش فاکتوریل در قالب طرح کاملاً تصادفی و در سه تکرار انجام شد که هر تکرار شامل ۲ شیشه و هر شیشه حاوی ۲ ریزنمونه بود. فاکتور اول ارقام بادام در ۵ سطح به شرح مذکور و فاکتور دوم تنش خشکی بود که بر اساس پتانسیل اسمزی محلول غذایی (ΨS) بر حسب مگاپاسکال تعیین شدند و شامل۴ سطح مختلف ماده اسموتیک پلی اتیلن گلیکول با جرم مولکولی ۶۰۰۰ با غلظت : ۰ ، ۲، ۴ و ۶ درصد که به ترتیب معادل ۰، ۰/۱۴-، ۰/۳۶- و ۰/۶۶- بار پتانسیل آب می شود، بودند. مقادیر مورد نیاز PEG برای برقراری پتانسیل‌های اسمزی مورد نظر بر اساس دستورالعمل (Berg and Zeng, 2006) تعیین گردید.

شاخص های مورد اندازه گیری در آزمایش درون شیشه ای

پس از انتهای مرحله تنش، گیاهان از محیط کشت بیرون آورده شدند و شاخص های زیر مورد ارزیابی قرارگرفت:

کلروفیلa و کلروفیلb

به منظور اندازه گیری کلروفیل a و b از روش (Guerfel *et al.*,2009) استفاده و میزان جذب با استفاده از اسپکتروفتومتر در طول موج های ۶۶۳ و ۶۴۵ نانومتر قرائت شد و مقدارشان محاسبه گردید.

محتوای پرولین محلول

برای اندازه گیری میزان پرولین از روش (Al-Khayri et al.,2004) استفاده شد و اندازه گیری میزان پرولین برگ ها توسط دستگاه اسپکتروفتومتر در طول موج ۵۲۰ نانومتر قرائت و محاسبه گردید.

کربوهیدرات

در این آزمایش برای تعیین میزان کربوهیدرات نمونه ها از روش تغییر یافته شندل و چوحان (Chandel and Chauhan, 1991) استفاده شد. نمونه ها توسط دستگاه اسپکتروفتومتر در طول موج ۴۸۵ نانومتر قرائت شده و میزان آنها محاسبه گردید.

نتایج و بحث

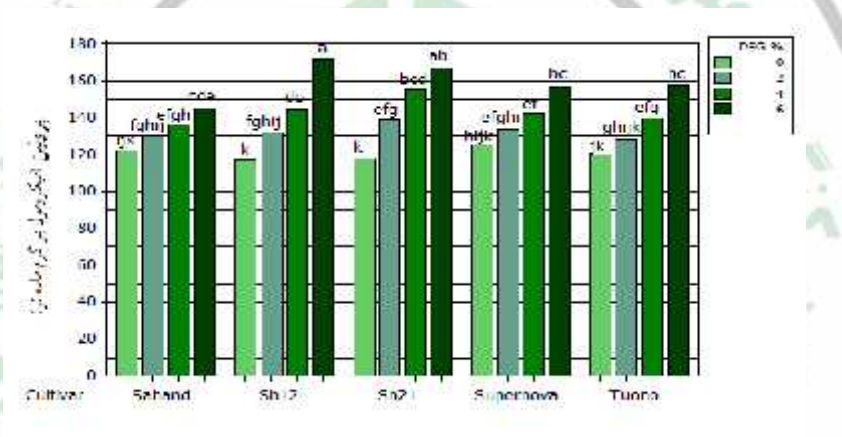
نتایج حاصل از اندازه گیری ویژگی های فیزیولوژیک در جدول ۱ نشان داده شده است.

نتایج حاصل از اندازه گیری میزان پرولین آزاد موجود در برگ ریز نمونه ها نشان داد که از نظر میزان پرولین تفاوت معنی داری بین تیمارهای تنش اسمزی مختلف وجود دارد. همچنین تفاوت میزان پرولین در ارقام مختلف نیز معنی دار بوده است(جدول **۱**). در پژوهش حاضر مقادیر بیشتری پرولین از برگ ارقام حساس به دست آمد. همانطور که در نمودار ۱ قابل مشاهده است بیشترین میزان پرولین در تیمارهای ۶ درصد پلی اتیلن گلیکول در رقم شاهرود ۱۲ با بیشترین میزان و پس از آن در رقم شاهرود ۲۱ بدست آمد در حالی که با افزایش شدت تنش اسمزی در ارقام مقاوم سوپرنوا و تونو سرعت تجمع پرولین کمتر از سایر ارقام بوده است. این مطلب نشان می دهد در تنش های خشکی بلند مدت و در شرایطی که رطوبت محیطی بالا است، احتمالا غلظت پرولین در برگ ارقام بادام نمی تواند به تحمل به خشکی آن ها کمک نماید.

جدول۱- نتایج تجزیه واریانس داده های حاصل از اندازه گیری ویژگی های فیزیولوژیک ریزنمونه ها

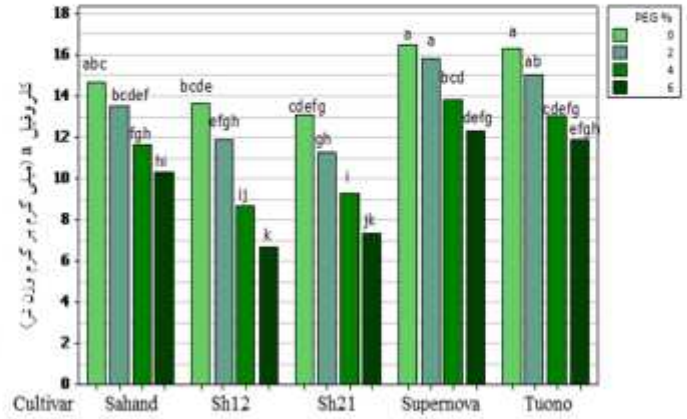
		میانگین مربعات				
منابع تغییرات	درجه آزادی	پرولین	aکلروفیل	bکلروفیل	کلروفیل کل	کربوهیدرات
رقم	۴	**۲۳۰/۳۳	**۵۱/۴۵۶	**۰/۷۷۵۳	**۶۱/۵۲۶	**۱۲/۰۶۸
تیمار	۳	**۴۱۵۵/۱۸	**۷۸/۷۹۷	**۲/۹۷۰۲	**۱۱۱/۰۶۸	**۷۵/۱۵۷
تیمار * رقم	۱۲	**۱۰۹/۷۶	**۰/۹۲۱	۰/۰۸۰۶ ns	۱/۰۳۱ ns	**۶/۹۸۸
خطا	۴۰	۱۵/۱۷	۰/۲۵۹	۰/۲۰۳۲	۰/۵۵۵	۰/۷۵۹
ضریب تغییرات	-	۱۱/۵۸	۲۲/۷۹	۱۶/۹۳	۲۰/۳۱	۱۴/۳۴

n.s: غیر معنی دار *: معنی دار در سطح ۵٪ **: معنی دار در سطح ۱٪

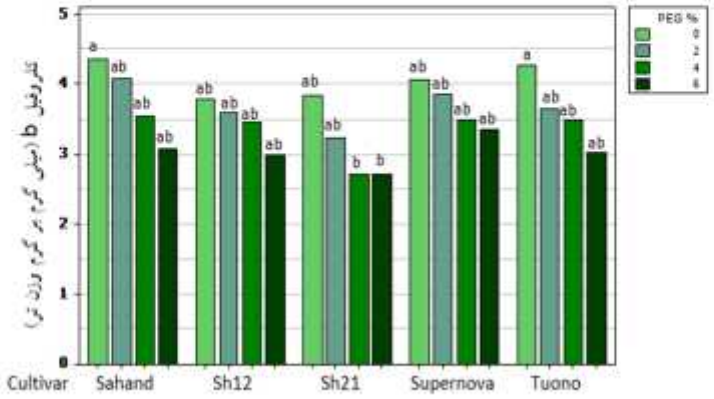


نمودار ۱- اثر تنش اسمزی بر میزان تجمع پرولین آزاد در برگ ریزنمونه ها

در پژوهش حاضر مقدار کلروفیل ها در برگ ارقام متحمل در حد بالاتری حفظ گردیده است. همانطور که در نمودارهای(۲ و ۳) قابل مشاهده است، رقم سوپرنوا و پس از آن رقم تونو کمترین میزان کاهش کلروفیل را داشته اند در حالی که ارقام حساس شاهرود ۱۲ و پس از آن شاهرود ۲۱ بیشتر از سایر ارقام دچار کاهش میزان رنگدانه کلروفیل شده اند. همچنین رقم سهند از این نظر عملکرد متوسطی داشته است. کاهش مقدار کلروفیل می تواند به دلیل افزایش فعالیت کلروفیلاز و یا کاهش فعالیت سنتاز باشد گورفیل و همکاران (Guerfel *et al.*,2009) اظهار داشتند که کاهشی که در میزان کلروفیل برگ گیاهان تحت تنش خشکی مشاهده می شود یک علامت مشخصه تنش اکسیداتیو است. همچنین (Smirnoff, 1993) نشان داد که کاهش محتوای رنگیزه‌ها، چه در اثر کاهش سرعت سنتز و چه در نتیجه تجزیه سریع‌تر آنها یکی از علائم آشکار تنش اکسیداتیو القاء شده توسط تنش خشکی می‌باشد. (Kraus *et al.*, 1995) و (Sairam *et al.*, 2002) نیز نشان دادند در شرایط تنش خشکی مقدار کلروفیل ها در برگ ارقام متحمل به خشکی در سطح بالایی حفظ می شود.



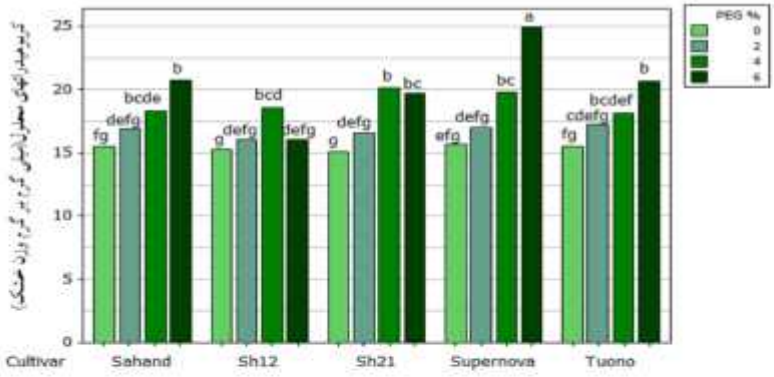
نمودار ۲- اثر تنش اسمزی بر میزان کلروفیل a در برگ ریزنمونه ها



نمودار ۳- اثر تنش اسمزی بر میزان کلروفیل b در برگ ریزنمونه ها

کربوهیدرات های محلول

نتایج حاصل از اندازه گیری میزان قندهای محلول برگ در جدول تجزیه واریانس نشان داد غلظت کربوهیدرات محلول برگ به طور معنی‌داری تحت تأثیر ژنوتیپ (رقم) و تیمارهای تنش خشکی قرار گرفته است(جدول۱). در پایان دوره تنش، ارقام مختلف بادام تفاوت معنی‌داری با یکدیگر نشان دادند(جدول۱). حداکثر غلظت کربوهیدرات مربوط به رقم سوپرنوا بود. حداقل غلظت کربوهیدرات‌های محلول مربوط به رقم شاهرود ۲۱ در تیمار شاهد بود که با سایر تیمارهای شاهد ارقام دیگر تفاوت آماری نشان نداد (نمودار ۴). در همه ارقام مورد بررسی، غلظت کربوهیدرات محلول گیاهان شاهد کمتر از گیاهان تحت تنش بود و با افزایش سطح تنش، کربوهیدرات محلول برگ نیز افزایش یافت. همان طور که نمودار۴ نشان می‌دهند، در همه ارقام مورد بررسی، روند افزایشی در غلظت کربوهیدرات-های محلول برگ تحت تأثیر تنش خشکی مشاهده می‌شود. در سه رقم سوپرنوا، تونو و سهند ، با افزایش شدت تنش، غلظت کربوهیدرات محلول به طور مرتب افزایش یافت و در تیمار ۶ درصد پلی اتیلن گلیکول به بالاترین حد خود رسید. در حالیکه در ارقام شاهرود ۱۲ و شاهرود ۲۱ ، بیشترین غلظت کربوهیدرات محلول مربوط به تیمار ۴ درصد بود و با افزایش بیشتر شدت تنش، از غلظت کربوهیدرات محلول برگ کاسته شد. در مجموع تجمع کربوهیدرات های محلول در این آزمایش در ارقام مقاوم بیشتر بود که نشان می دهد در ابتدای بروز تنش این ارقام در تنظیم اسمزی به جای پرولین بیشتر از قند های محلول استفاده می نمایند.



نمودار ۴- اثر تنش اسمزی بر میزان تجمع قندهای محلول در برگ ریزنمونه ها

نتیجه گیری

در پژوهش حاضر بر اساس داده های به دست آمده از آزمایشات، در بین ارقام مورد بررسی از نظر مقاومت به خشکی به ترتیب مقاوم تر به حساس تر می توان ارقام سوپرنوا، تونو، سهند، شاهرود ۲۱ و شاهرود ۱۲ رتبه بندی کرد. از طرفی بر اساس نتایج این پژوهش می توان اظهار داشت ارقامی مثل شاهرود ۱۲ و شاهرود ۲۱ از قدرت تحمل کمتری در مقابل تنش ناشی از خشکی نسبت به سایر ارقام تحت تیمار بر خوردار بودند در حالی که ارقام سوپرنوا و تونو بیشتر از سایرین قدرت تحمل آثار ناشی از تنش خشکی وارد شده به آنها را دارند و در صورتی که روی پایه های رویشی مثل GF677 و یا پایه های سری GN جهت ایجاد باغات یکنواخت پیوند شوند می توانند به عنوان ارقام متحمل جهت بالا بردن بهره وری مصرف آب توصیه شوند.

منابع

۱. موسوی، سید اصغر؛ تاتاری، مریم؛ محنت‌کش، عبدالمحمد و حقیقی، بیژن. (۱۳۸۸). پاسخ رشد رویشی دانهال‌های جوان پنج رقم بادام به تنش کم‌آبی. مجله به‌نژادی نهال و بذر. جلد ۱-۲۵، شماره ۴، صفحات ۵۶۷-۵۵۱.

2. Al-Khayri JM, and Al-Bahrany AM (2004). Growth, water content and proline accumulation in drought stressed callus of date palm. Biol Plant 48: 105-108.
3. 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.
4. Chandel, J.S. and Chauhan, J.S. (1991). Accumulation of proline, ABA and carbohydrate contents in starking delicious apple on clonal rootstocks and their correlation with drought resistance. *Progressive Horticulture*, 23:5-11.
5. Guerfel, M., Baccouri, O., Boujnah, D., Chaibi, W. and Zarrouk, M. (2009). Impacts of water stress on gas exchange, water relations, chlorophyll content and leaf structure in the two main Tunisian olive (Olea europaea L.) cultivars. *Scientia Horticulturae*, 119:257-263.
6. Krause, S.C., Raffa, K.F. and Wagner, M.R. (1993). Tree response to stress: a role in sawfly outbreaks? In: Wagner, M.R. and Raffa, K.F. (Ed.), Sawfly life history adaptations to woody plants. *Academic Press, New York*, pp. 211-227.
7. Ramanjulu, S., Sreenivasulu, N. and Sudhakar, C. (1998). Effect of water stress on photosynthesis in two mullberry genotypes with different drought tolerance. *Photosynthetica*, 35:279-283.
8. Sivritepe, N., N. Sivritepe, U. Erturk, C. Yerlikaya, I. Turkan, M. Bor and F. Ozdemir. 2008. Response of the cherry rootstock to water stress induced in vitro. *Biology of Plants* 52: 573–576 Slavin, J.L. 2006. Figs: Past, Present and Future. Nutrition today. 41: 180-184.
9. Smirnoff, N. (1993). The role of active oxygen in the response of plants to water deficit and desiccation. New Phytologist, 125:27-58.
10. Taylor CB 1996. Proline and water deficit: Ups, Ins, and Outs. Plant Cell 8: 1221-1224.
11. Wang, Z. and Stutte, G.W. (1992). The role of carbohydrate in active osmotic adjustment in apple under water stress. Horticulture Science, 117:816-823.

Effects of drought stress on the morphological factors of 5 almond explants in vitro

Ehsan Akbarpour[1] and Ali Imani[2*]

1- Ph.D Student, Department of Horticultural Science, Hormozgan Universit 2- Horticultural Department of Seed and Plant Improvement Institute (SPII), Agricultural Research Education and Extension Organization (AREEO), Tehran, Iran
*Corresponding author: imani_a45 @yahoo.com

Abstract:

in the present study, effects of drought stress on the physiological factors of explants of five commercial Iranian-native and imported almond cultivars (Supernova, Tuono, Sahand, Shahroud 12 and Shahroud 21) were studied. explants were exposed to four different mediums containing 0, 2, 4 and 6 percent concentration of polyethylene glycol, respectively equal to 0, -0.14, -0.36 and -0.66 (Ψs) osmotic potential for 4 weeks. At the end of the stress period, physiological factors including proline, Chlorophyll a, Chlorophyll b and carbohydrate were measured. results showed that drought stress increased the proline, and reduced Chlorophyll a and Chlorophyll b. based on our results, we can conclude that the supernova and Tuono cultivars are more resistant to drought stress while the shahroud 21 and shahroud 12 showed less resistance. Also, comparing to other cultivars, Sahand cultivar showed intermediate performance against drought resistance.

Keywords: Almond, Drought stress, Almond tissue culture, Polyethylene glycol