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

احسان اکبرپور[۱] علی ایمانی [*۲]

۱- دانشجوی مقطع دکتری 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 تحمل به خشکی و برخی ویژگی های مورفولوژیک 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 مورفولوژیک شامل قطر ریزنمونه، تعداد شاخه های جانبی، تعداد برگ های نکروز شده یا ریزش کرده اندازه گیری شد. نتایج آزمایشات نشان داد تنش خشکی باعث افزایش تعداد برگ های نکروز شده یا ریزش کرده و تعداد شاخه های جانبی ایجاد شده و همچنین سبب کاهش قطر ریزنمونه گردید. بر اساس نتایج این بررسی مشخص گردید که ارقام سوپرنوا و تونو به نسبت سایر ارقام مقاومت بیشتری به خشکی دارند در حالی که 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، رشد رویشی

مقدمه

بادام با نام علمی(*Prunus dulcis*) از دیرباز در ایران بدلیل قیمت بالا، آسان بودن حمل و نقل، سهولت انبار داری، امکان صادرات و همچنین به دلیل مقاومت آن به کمبود آب و امکان رشد در خاکهای آهکی فقیر و سنگلاخی، مورد اهمیت قرار گرفته و لذا در اغلب مناطق ایران گسترش یافته است (Zamani *et al*., 2002). با توجه به محدودیت منابع آبی در کشور جهت استفاده در کشاورزی، لزوم استفاده بهینه از این منابع و جلوگیری از اتلاف آن ضروری است. برای این منظور مطالعه نیاز آبی، شناسایی ارقام متحمل به خشکی در درختان میوه اهمیت زیادی دارد (موسوی و همکاران، ۱۳۸۸). 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 بین این مواد، پلی اتیلن گلیکول به دلیل ایجاد شرایطی شبیه محیط طبیعی، کاربرد زیادی دارد و بطور وسیعی در شرایط آزمایشگاهی به کار می رود (Ibrahim *et al*., 2001). در این راستا و با توجه به منابع بررسی شده، مقاومت به خشکی ۵ رقم بادام 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، نمونه ها در محیط کشت M.S استقرار یافتند و 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 (Ψ_S) 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: قطر ریزنمونه ها با استفاده از کولیس، میزان پرآوری ریزنمونه ها با شمارش تعداد شاخه های جانبی، و تعداد برگهای ریزش کرده شمارش و اندازه گیری شد.

نتایج و بحث

توضیحات

پس از اینکه نمونه ها به مدت ۴ هفته داخل محیط کشت حاوی مقادیر مختلف پلی اتیلن گلیکول قرار گرفتند، ویژگی های رشدی آنها مورد اندازه گیری قرار گرفت تا تاثیر تنش خشکی حاصل از این ماده روی آنها بررسی شود. با توجه به جدول ذیل ملاحظه می شود که اثر رقم بر روی شاخص های رشدی از قبیل قطر ریز نمونه، تعداد شاخه های جانبی و تعداد برگهای ریزش کرده در سطح ۱ درصد معنی دار بوده در حالی که تعداد شاخه های جانبی تحت تاثیر نوع رقم واقع نشده است(جدول ۱). به عبارت دیگر اختلاف معنی داری بین ارقام مشاهده نمی شود. همچنین اثرات تیمار نیز بر روی شاخص های رشدی با توجه به جدول۱ در سطح ۱ درصد معنی دار بوده است. همچنین اثر متقابل رقم در تیمار در برخی موارد ملاحظه می شود. شاخص های رشد تحت تاثیر اثر متقابل تیمار و رقم بوده به طوری که در برخی شاخص ها در سطح ۱ درصد معنی دار نشان داده است مثل تعداد برگ های ریزش کرده ولی در مقابل برخی دیگر تفاوت معنی داری از خود نشان نداده اند مثل تعداد شاخه های جانبی و قطر ریز نمونه ها. حفظ قدرت رویشی ارقام متحمل به خشکی در شرایط تنش خشکی قابلیت بالای آن ها در جذب و به کارگیری آب در شرایط تنش خشکی را نشان می دهد.

جدول ۱- نتایج تجزیه واریانس داده های حاصل از اندازه گیری ویژگی های رشدی ریزنمونه ها

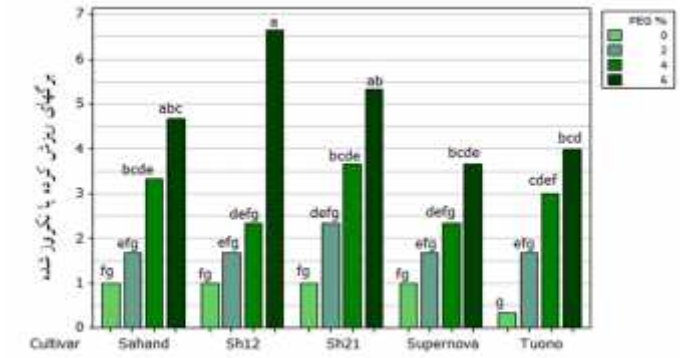
منابع تغییرات	درجه آزادی	میانگین مربعات		
		قطر ریز نمونه	برگهای ریزش کرده	شاخه های جانبی
رقم	۴	۰/۳۷۱**	۱/۹۴**	۰/۷۵۰ n.s
تیمار	۳	۳/۴۸۷**	۴۴/۴۶۱**	۱۰/۹۵۰**
تیمار * رقم	۱۲	۰/۲۰ n.s	۱/۳۰۸**	۰/۴۵۰ n.s
خطا	۴۰	۰/۰۱۶	۰/۴۳۳	۰/۳
ضریب تغییرات	–	۱۷/۳۲	۱۵/۶۶	۱۲/۲۲

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

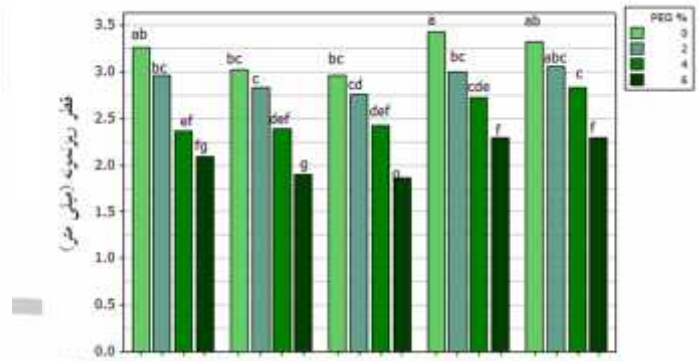
کاهش شاخص های رشد در شرایط تنش خشکی به عنوان یک واکنش کلی گیاهان به تنش خشکی شناخته می شود. دیگر پژوهشگران نیز قبلا نشان داده بودند که کاربرد بلندمدت PEG در شرایط درون شیشه ای باعث کاهش رشد و بازیابی گیاهان می گردد. کاهش شاخص های رشد در شرایط تنش اسمزی درون شیشه ای را می توان به محدودیت جذب آب توسط ریزنمونه های تحت تنش اسمزی ارتباط داد. باید توجه داشت که امروزه مشخص شده است که PEG بدون اینکه جذب شود و مسمومیت ایجاد نماید، تنها پتانسیل اسمزی محیط را کاهش داده و شرایط تنش آبی را در محیط درون شیشه ای ایجاد می نماید. امروزه این پدیده که تنش خشکی با کاهش پتانسیل آماس سلول های گیاهی باعث کاهش رشد گیاهان می شود، به صورت گسترده ای مورد پذیرش است. تحت تنش اسمزی، ریزش شدید برگ و نکروزه شدن آن ها به ویژه در ارقام حساس بادام با شدت بیشتری پیش رفت و از طرف دیگر تشکیل برگ های جدید محدود شد. در شرایط درون شیشه ای به علت اینکه گیاهان حالت هتروتروف داشته و فتوسنتز ناچیزی انجام می دهند، کاهش رشد آن ها ناشی از گرسنگی کربوهیدرات ها نیست. یافته های این پژوهش به روشنی نشان می دهد که در شرایط تنش خشکی درون شیشه ای، محدود شدن دسترسی به آب، عامل اصلی کاهش رشد ارقام بادام در شرایط تنش اسمزی است.

اثر تنش اسمزی بر قطر ریزنمونه ها

با توجه به جدول۱، نتایج نشان می دهد با افزایش شدت تنش در تمامی ارقام قطر ریزنمونه ها به طور معنی داری کاهش می یابد. همچنین در بین ارقام مختلف از نظر میزان کاهش قطر ریزنمونه تفاوت معنی داری وجود دارد. بیشترین میزان قطر ریزنمونه در تیمار شاهد رقم سوپرنوا دیده می شود و کمترین میزان آن در تیمار ۶ درصد رقمهای شاهرود ۱۲ و شاهرود ۲۱ مشاهده شد (نمودار ۱). همچنین نتایج حاصل از تجزیه اثرات متقابل تیمار در رقم معنی دار نشان نداد که ارقام مختلف پاسخ مشابهی به تنش اسمزی از خود نشان داده اند. با افزایش غلظت پلی اتیلن گلیکول در محیط کشت، قطر ریز نمونه ها به طور معنی داری کاهش یافت. دلیل این امر شاید به نوع زنوتیپ مربوط می شود که در مواجهه با تنش خشکی عکس العمل نشان می دهند (موسوی، ۱۳۷۱).



نمودار۱- اثر تنش اسمزی بر قطر ریزنمونه ها



نمودار ۲- اثر تنش اسمزی بر تعداد برگهای نکروز شده یا ریزش کرده

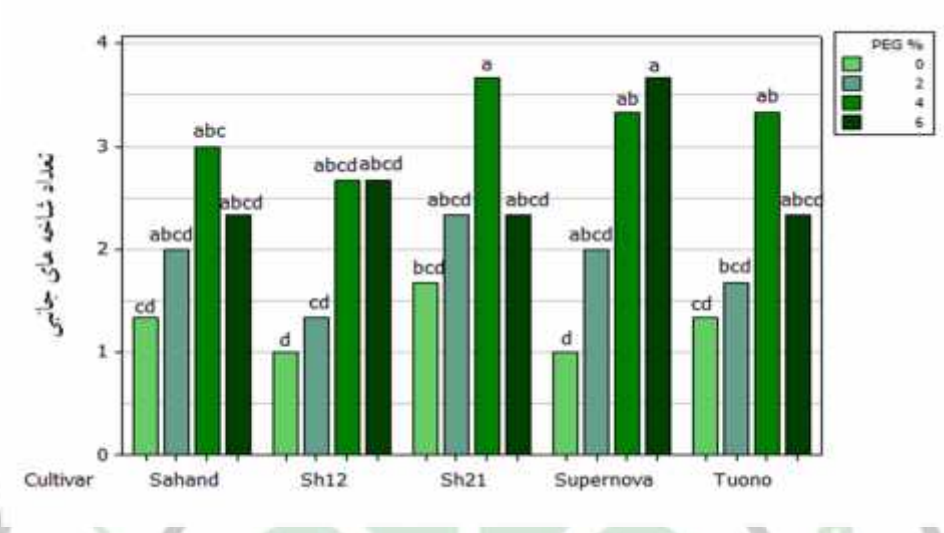
اثر تنش اسمزی بر تعداد برگهای ریزش کرده یا نکروز شده

نتایج حاصل از شمارش برگهای نکروز شده یا ریزش کرده در ریزنمونه ها نشان می دهد که با افزایش شدت تنش تعداد برگهای نکروزه یا ریزش کرده به طور معنی داری افزایش می یابد که این مسئله در نمودار ۲ نیز به خوبی قابل مشاهده است. نتایج حاصله نشان داد بیشترین میزان ریزش برگ در رقم شاهرود ۱۲ و در تیمار ۶ درصد اتفاق افتاده است. همچنین رقم شاهرود ۲۱ نیز پس از شاهرود ۱۲ بیشترین میزان ریزش را داشته است. از سوی دیگر کمترین شدت ریزش برگ در رقم سوپرنوا و پس از آن رقم تونو اتفاق افتاده است. تنش آبی می‌تواند با کاهش سطح برگ موجب کاهش فتوسنتز شود. تنش خشکی ضمن کاهش سطح برگ، پیری آنها را هم تسریع نموده و بدین وسیله می‌تواند میزان تولید را، خیلی بیشتر از آنچه که به علت اثرات ناشی از کاهش شدت فتوسنتز خالص تقلیل می‌یابد، کاهش دهد (Kulkarni and Deshpande, 2007).

اثر تنش اسمزی بر تعداد شاخه های جانبی ایجاد شده

نتایج شمارش تعداد شاخه های جانبی ایجاد شده در ریزنمونه های بادام در ارقام مختلف نشان داد که با افزایش شدت تنش، تعداد شاخه های جانبی به طور معنی داری افزایش می یابد. همچنین نتایج نشان داد که این افزایش شاخه های جانبی در مورد تیمارهای ۶٪ صادق نبوده است و به غیر از رقم سوپرنوا در سایر ارقام در تیمار ۶٪ تعداد شاخه های جانبی ایجاد شده نسبت به تیمار ۴٪ کمتر بوده است(نمودار ۳). همانطور که در جدول ۱ قابل مشاهده است نتایج حاصل از تجزیه واریانس داده ها نشان داد بین ارقام مختلف مورد بررسی از نظر تعداد شاخه های جانبی ایجاد شده تفاوت معنی داری وجود ندارد. به نظر می رسد که تمامی ارقام مورد بررسی از این نظر واکنش تقریبا یکسانی به تنش وارده از خود نشان داده اند و به غیر از رقم سوپرنوا بقیه ارقام با افزایش شدت تنش به یک میزان تعداد شاخه های جانبی افزایش یافته است. تشدید رشد جوانه های جانبی در شرایط تنش اسمزی درون شیشه ای را می توان به محدود شدن رشد مریستم انتهایی، نکروزه شدن و زوال آن ارتباط داد. مرگ بافت انتهای شاخساره در تیمار تنش اسمزی شدید بیشتر بود و با علائمی نظیر ریزش برگ ها و نکروزه شدن بافت سرشاخه همراه بود. با توجه به اینکه پرآوری شاخساره بیشتر در نتیجه فعالیت تقسیم سلول های مریستمی بوده و این فرآیند همانند فعالیت رشدی دیگر به آب وابسته نیست، می توان عدم محدود شدن تشکیل شاخه های

جانبی در شرایط تنش اسمزی را توجیه نمود(Berg, *et al.*, 2006). در جمع بندی نهایی و بر اساس نتایج این بررسی مشخص شد 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.



نمودار ۳- اثر تنش اسمزی بر تعداد شاخه های جانبی

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.

۲. موسوی، فرهاد. (۱۳۷۱). آبیاری باغ‌های میوه خزاندار. انتشارات اردکان، اصفهان، ۱۳۰ص

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. Ibrahim, M., N. Zeid and A. El-Semary. 2001. Response of two differentially drought. Tolerant varieties of maize to drought stress. Pakistan J Biologic Sci. 4: 779-784.
5. Kulkarni, M. and Deshpande, U. (2007). In vitro screening of tomato genotypes for drought resistance using polyethylene glycol. *African Journal of Biotechnology*, 6:691-696.
6. 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.

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

E Akbarpour[1] and A.Imani[2*]

1- Ph.d Student, Department of Horticultural Science, Hormozgan University 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 morphological factors of 5 almond explants of five commercial Iranian-native and imported cultivars of almond (Supernova, Tuono, Sahand, Shahroud 12 and Shahroud 21) were studied. Explants 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, morphological factors including: explants diameter, number of lateral branches and number of necroses or fallen leaves were measured. The results showed that drought stress increased the number of leaves falling and the number of side branches, and reduced explants diameter. 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