# اثر سولفات منگنز بر شاخص‌های فیزیولوژیکی دو رقم انگور تحت تنش کم‌آبی در شرایط درون شیشه‌ای

**پرستو قربانی*[۱]، سعید عشقی[۱]، احمد ارشادی[۳]، اختر شکافنده نوبندگانی[۱]، فاطمه رزاقی[۳]**
[۱] بخش باغبانی، دانشگاه شیراز، شیراز
[۲] گروه علوم باغبانی، دانشگاه بوعلی سینا، همدان
بخش آبیاری، دانشگاه شیراز، شیراز
*نویسنده مسئول: ghorbani.parastou@gmail.com

**چکیده**

در این پژوهش اثر سولفات منگنز بر صفات بیوشیمیایی، فیزیولوژیکی و آنزیم سوپراکسیددسموتاز در دو رقم انگور تامسون سیدلس و رطبی تحت تنش کم‌آبی در شرایط درون شیشه‌ای مورد بررسی قرار گرفت. تیمار سولفات منگنز در ۳ سطح به‌صورت MS بدون منگنز (۰ میلی‌گرم در لیتر)، MS با منگنز در حد استاندارد (۱۶/۹ میلی‌گرم در لیتر) و MS با دو برابر منگنز نسبت به حد استاندارد (۳۳/۸ میلی‌گرم در لیتر) و تیمار تنش کم‌آبی در ۴ سطح به‌وسیله‌ی مقادیر ۰، ۳، ۹ و ۱۲ درصد وزنی به حجمی پلی اتیلن گلایکول ۶۰۰۰ (PEG) در دو رقم انگور تامسون سیدلس (نیمه حساس به خشکی) و رطبی (مقاوم به خشکی) انجام شد. از مریستم‌های نوک شاخه به‌عنوان ریزنمونه‌های گیاهی استفاده گردید. فراسنجه‌های فیزیولوژیکی شامل مقدار کربوهیدرات‌های محلول، پرولین، پروتئین‌های محلول و فعالیت آنزیم سوپراکسیددسموتاز برگ تحت تاثیر تنش کم‌آبی قرار گرفت اما تیمار سولفات منگنز در تمام غلظت‌ها به‌ویژه در سطح ۱۶/۹ میلی‌گرم در لیتر افزایش قابل توجهی در این فراسنجه‌ها نشان داد. بیشترین مقدار کربوهیدرات‌های محلول، پرولین، پروتئین‌های محلول و فعالیت آنزیم سوپراکسیددسموتاز برگ در تیمار ۳۳/۸ میلی‌گرم در لیتر سولفات منگنز در سطح تنش ۳ و ۹ درصد وزنی به حجمی PEG در رقم رطبی دیده شد. نتایج این پژوهش پیشنهاد می‌کند که سولفات منگنز در شرایط تنش خشکی با افزایش اسمولیت‌های محلول از جمله کربوهیدرات‌های محلول، پروتئین‌های محلول و آنزیم آنتی‌اکسیدانی سوپراکسیددسموتاز موجب تحریک فراسنجه‌های رشدی انگور می‌شود و احتمالاً سولفات منگنز می‌تواند یکی از راه‌کارهای مناسب برای کاهش آسیب تنش خشکی در انگور به‌ویژه در رقم تامسون سیدلس است.

***کلمات کلیدی:*** آنزیم SOD، پروتئین، پرولین، کربوهیدرات محلول

## مقدمه

خشکی پدیده‌ای بحرانی و اجتناب ناپذیر است که همه ساله در بخش‌هایی از مناطق مختلف دنیا در زمان‌های مختلف با دامنه و شدت متفاوت به تولید محصول آسیب می‌رساند (Anjum *et al.*, 2011). منگنز به‌عنوان یک عنصر کم‌مصرف ضروری برای گیاهان، در بسیاری از فرآیندهای فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی دخیل است. در شرایط تنش خشکی به‌ویژه در مناطق دارای خاک آهکی با pH بالا، کاهش می‌یابد به طوری که بیشتر گیاهان در این مناطق با مشکل کمبود این عنصر مواجه هستند (Pradubsu and Davenport, 2011; Batukae *et al.*, 2014). این عنصر به‌عنوان کوفاکتور بسیاری از دیگر آنزیم‌ها مانند سوپراکسید دسموتاز عمل کرده و گیاه را در برابر رادیکال‌های آزاد محافظت می‌کند (Marschner, 1995) و موجب افزایش سازگاری گیاهان در برابر شرایط نامساعد محیطی و کاهش خسارت ناشی از تنش سرما، دمای بالا، فلزات سنگین، شوری و تنش کم‌آبی می‌شود (Sebastian Marschner, 1995



IrHC2019

and Prasad, 2015;). در این پژوهش اثر سولفات منگنز در شرایط درون شیشه‌ای بر دو رقم انگور تامسون سیدلس و رطبی تحت تنش کم‌آبی با هدف تخفیف اثر منفی تنش بر فراسنجه‌های رشد و بیوشیمیایی، مطالعه شده است.

## مواد و روش‌ها

این پژوهش در سال ۱۳۹۴-۱۳۹۳ روی دو رقم انگور تامسون سیدلس (Thompson Seedless) و رطبی در شرایط درون شیشه‌ای انجام گرفت. ریزنمونه‌های مورد استفاده در این پژوهش شامل مریستم‌های انتهای شاخساره‌ها بود. ریزنمونه‌های هر دو رقم بعد از ضدعفونی در محیط کشت نیمه جامد MS (۵۰ درصد میزان استاندارد آگاردر فرمول موراشینگ استوک) در شیشه‌های ۲۵۰ سی سی حاوی مقادیر مختلف منگنز کشت داده شدند. تیمارهای سولفات منگنز به‌صورت MS بدون منگنز (۰ mg/l)، MS با منگنز در حد استاندارد (۱۶/۹ mg/l) و MS با دو برابر منگنز نسبت به حد استاندارد (۳۳/۸ mg/l) استفاده شد. تیمارهای تنش کم‌آبی به‌وسیله‌ی مقادیر مختلف پلی اتیلن گلایکول ۶۰۰۰ (PEG) صفر (بدون تنش کم‌آبی :PEG0)، ۳ (تنش متوسط کم‌آبی :PEG1 )، ۹ (تنش شدید کم‌آبی : PEG2) و ۱۲ (تنش خیلی شدید کم‌آبی :PEG3 ) درصد وزنی به حجمی در محیط کشت MS اعمال شد. ۲۰ روز بعد از اعمال تنش کم‌آبی همراه با تیمار منگنز، اولین نمونه‌برداری جهت سنجش آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی، کربوهیدرات محلول، پروتئین، پرولین و محتوای کلروفیل برگ انجام شد. آزمایش به‌صورت فاکتوریل در قالب طرح کاملا تصادفی با ۸ تکرار و ۵ شیشه کشت در هر تکرار در چهار سطح خشکی و در دو رقم تامسون سیدلس و رطبی انجام شد.

میزان کلروفیل بر اساس روش Hicox and Israelstam (1979) و کربوهیدرات‌های محلول بر اساس روش Yemm and Willis (1954) و اندازه‌گیری پروتئین محلول کل بر اساس روش Bradford (1976) و اندازه‌گیری میزان پرولین با استفاده از معرف نین‌هیدرین و مطابق روش Bates *et al.* (1973) انجام شد. به منظور تعیین فعالیت سوپراکسیددیسموتاز (SOD) و پروتئین محلول کل از نمونه‌های برگی هر تیمار (یک گرم وزن تر) با بافر فسفات پتاسیم ۵۰ میلی‌مولار (pH =۷) عصاره‌گیری انجام شد. فعالیت SOD با پایش مهار کاهش فتوشیمیایی نیترو بلو تترازولیم (NBT) با استفاده از روش Dhindsa and Matowe (1981) مورد سنجش قرار گرفت.

داده‌های به‌دست آمده با استفاده از نرم افزار آماری SAS واکاوی شد و مقایسه میانگین صفات مورد ارزیابی با استفاده از آزمون دانکن در سطح ٪۵ انجام گرفت.

## نتایج و بحث

در رقم رطبی استفاده از سولفات منگنز در غلظت ۱۶/۹ میلی‌گرم در لیتر نسبت به عدم استفاده از سولفات منگنز در سطح PEG0 و PEG1، ۱/۷ و ۱/۶ برابر و در رقم تامسون سیدلس ۱/۸ و ۱/۷ برابر موجب افزایش پروتئین برگ‌ها شد (جدول ۲). در هر دو رقم تیمار ۳۳/۸ میلی‌گرم در لیتر سولفات منگنز با اختلاف معنی‌داری نسبت به دیگر تیمارها میزان پرولین برگ‌ها را افزایش داد اما بین تیمار عدم استفاده و ۱۶/۹ میلی‌گرم در لیتر سولفات منگنز، به‌غیر از سطح تنش PEG2 در رقم رطبی تفاوت معنی‌داری مشاهده نشد (جدول ۲). محتوی کلروفیل کل برگ‌ها به‌طور معنی‌داری در رقم رطبی بالاتر از رقم تامسون سیدلس بود. در رقم رطبی، تیمار سولفات منگنز میزان کلروفیل کل برگ‌ها را به استثنای سطح تنش کم‌آبی شدید (PEG2)، تحت تاثیر قرار نداد اما در رقم تامسون سیدلس در هر دو غلظت بدون اختلاف معنی‌دار میزان کلروفیل کل برگ‌ها نسبت به تیمار بدون سولفات منگنز افزایش نشان داد.

افزایش سنتز پروتئین در گیاه *Brassica Juncea* که توسط سولفات منگنز در شرایط تنش کم‌آبی تیمار شده بود، گزارش شده است (Gul et al., 2017). منگنز با مشارکت در سیستم‌های ترکیبی نظیر سیستم آنزیمی آرژیناز و فسفوترافسفوراز و دخالت در واکنش‌های انتقال الکترون در گیاه در تولید کلروفیل نقش عمده‌ای ایفا می‌کند (Malakoti *et al.*, 2008). Wang *et al.*(2010) از مطالعه بر روی چمن تحت تنش خشکی و سولفات منگنز نتایج مشابهی در مورد افزایش محتوای کلروفیل کل به دست آوردند. میزان کربوهیدرات‌های محلول برگ‌ها به‌طور



IrHC2019

معنی‌داری با افزایش سطوح تنش کم‌آبی افزایش نشان داد (جدول ۲). میزان کربوهیدرات‌های محلول برگ‌ها تحت تاثیر تیمار کم‌آبی و سولفات منگنز به‌طور معنی‌داری افزایش نشان داد که نتایج مشابهی در مطالعات قبلی در مورد گیاه *Brassica Juncea* (Gul *et al.*, 2017) و گلرنگ (Movahhedy-Dehnavy *et al.*, 2009) گزارش شده است. در بین غلظت‌های سولفات منگنز در هر دو رقم، تیمار ۳۳/۸ میلی‌گرم در لیتر سولفات منگنز فعالیت بالاتری از آنزیم SOD را در تمام سطوح تنش خشکی نشان داد. نقش عنصر منگنز در فعال شدن بسیاری از آنزیم‌های آنتی اکسیدانی در سیستم‌های گیاهی به اثبات رسیده است، این عنصر با کاهش اکسیداسیون، دکربوکسیله شدن و واکنش‌های هیدرولیتیک در گیاه، نقش مهمی در سم‌زدایی رادیکال‌های فعال اکسیژن(ROS) (Reactive Oxygen Species) دارد (Marschner, 1995; Amarowicz *et al.*, 2004).

جدول «۱» مقدار کربوهیدرات، کلروفیل، پروتین و پرولین و آنزیم SOD در دو رقم تحت تیمار تنش کم آبی و سولفات پتاسیم در شرایط درون شیشه ای

| | | SOD (U min-1 g-1 FW) | Proline (µg g–1 FW) | Protein (µg g–1 DW) | Chlorophyll (mg g-1FW) | Carbohydrate (mg g–1 DW) |
|---|---|---|---|---|---|---|
| Rotabi | $MnSO_4$ 0 $mgl^{-1}$×$PEG_0$ | ۱۱/۳۷$^{l}$ | ۵/۰۸$^{klm}$ | ۲/۷۲$^{def}$ | ۱/۳۹$^{abc}$ | ۲/۰۸ |
| | $MnSO_4$ 0 $mgl^{-1}$×$PEG_1$ | ۱۹/۸۲$^{j}$ | ۵/۴۸$^{ijk}$ | ۲/۷۷$^{def}$ | ۱/۱۹$^{bcdef}$ | ۲/۴$^{ij}$ |
| | $MnSO_4$ 0 mgl-1×$PEG_2$ | ۲۵$^{i}$ | ۶/۵۵$^{ij}$ | ۲/۵۹$^{defg}$ | ۰/۸$^{gh}$ | ۳/۹۷$^{g}$ |
| | $MnSO_4$ 0 $mgl^{-1}$×$PEG_3$ | ۳۷/۸۲ $^{e}$ | ۶/۸۵$^{hi}$ | ۲/۶$^{defg}$ | ۰/۴۱$^{i}$ | ۳/۶۳$^{gh}$ |
| | $MnSO_4$ 16.9 $mgl^{-1}$×$PEG_0$ | ۱۹/۷۳$^{j}$ | ۴/۹$^{klm}$ | ۴/۶$^{a}$ | ۱/۶۱$^{a}$ | ۴/۶۳ |
| | $MnSO_4$ 16.9 $mgl^{-1}$×$PEG_1$ | ۲۹/۰۹$^{h}$ | ۵/۸۲$^{ijk}$ | ۴/۳۲$^{ab}$ | ۱/۵۳$^{ab}$ | ۶/۵۵$^{cd}$ |
| | $MnSO_4$ 16.9 $mgl^{-1}$×$PEG_2$ | ۳۴/۱۸$^{f}$ | ۷/۷۸$^{gh}$ | ۳/۵۳$^{bcd}$ | ۱/۵ $^{ab}$ | ۷/۵۲$^{a}$ |
| | $MnSO_4$ 16.9 $mgl^{-1}$×$PEG_3$ | ۵۰/۰۹ $^{c}$ | ۶/۸۲$^{hi}$ | ۲/۹$^{def}$ | ۰/۵$^{hi}$ | ۷/۳۲$^{ab}$ |
| | $MnSO_4$ 33.8 $mgl^{-1}$×$PEG_0$ | ۲۰/۸۲$^{j}$ | ۹/۷۵$^{de}$ | ۳/۶۲$^{bcd}$ | ۱/۵۴$^{ab}$ | ۲/۶۳$^{i}$ |
| | $MnSO_4$ 33.8 $mgl^{-1}$×$PEG_1$ | ۳۱/۶۴$^{g}$ | ۱۰/۶۷$^{bcd}$ | ۳/۲۸۸$^{cde}$ | ۱/۳۷$^{abcd}$ | ۳/۶۳$^{gh}$ |
| | $MnSO_4$ 33.8 $mgl^{-1}$×$PEG_2$ | ۴۸/۱۸$^{c}$ | ۱۱/۵$^{b}$ | ۳/۱۷$^{de}$ | ۱/۳۵$^{abcd}$ | ۵/۷۲$^{e}$ |
| | $MnSO_4$ 33.8 $mgl^{-1}$×$PEG_3$ | ۶۵/۳۶$^{a}$ | ۱۲/۷۸۸$^{a}$ | ۳$^{def}$ | ۰/۴۹$^{hi}$ | ۵/۴۳$^{e}$ |
| Thompson seedless | $MnSO_4$ 0 $mgl^{-1}$×$PEG_0$ | ۱۰/۱۸$^{l}$ | ۴$^{mn}$ | ۲/۲۸۸$^{efg}$ | ۰/۸۹$^{fg}$ | ۳/۷۷$^{gh}$ |
| | $MnSO_4$ 0 $mgl^{-1}$×$PEG_1$ | ۱۱/۴۶$^{l}$ | ۴/۴۳$^{lm}$ | ۲/۰۷$^{gf}$ | ۰/۵۵$^{hi}$ | ۲/۴$^{ij}$ |
| | $MnSO_4$ 0 mgl-1×$PEG_2$ | ۱۷$^{k}$ | ۵/۶۳$^{jk}$ | ۲/۰۶$^{gf}$ | ۰/۴۱$^{i}$ | ۳/۳$^{h}$ |
| | $MnSO_4$ 0 $mgl^{-1}$×$PEG_3$ | ۲۵/۰۹$^{i}$ | ۵/۸۲$^{ijk}$ | ۱/۶۱$^{g}$ | ۰/۲۹$^{i}$ | ۲/۷$^{i}$ |
| | $MnSO_4$ 16.9 $mgl^{-1}$×$PEG_0$ | ۲۰/۵۵$^{j}$ | ۳/۲۵$^{n}$ | ۴/۱۶$^{abc}$ | ۱/۳۱$^{abcde}$ | ۲/۰۷$^{jk}$ |
| | $MnSO_4$ 16.9 $mgl^{-1}$×$PEG_1$ | ۲۵/۹۱$^{i}$ | ۴/۴۷$^{lm}$ | ۳/۵۱۱$^{bcd}$ | ۱/۱۱$^{cdefg}$ | ۵/۴ |
| | $MnSO_4$ 16.9 $mgl^{-1}$×$PEG_2$ | ۳۰/۸۲$^{gh}$ | ۶/۳۵$^{ij}$ | ۲/۷$^{def}$ | ۰/۹۶$^{fg}$ | ۶/۹۵$^{bc}$ |
| | $MnSO_4$ 16.9 $mgl^{-1}$×$PEG_3$ | ۳۷/۰۹۹$^{e}$ | ۵/۸۵$^{ijk}$ | ۲/۰۸$^{fg}$ | ۱$^{efg}$ | ۶/۳۸$^{d}$ |
| | $MnSO_4$ 33.8 $mgl^{-1}$×$PEG_0$ | ۴۵/۲۵$^{i}$ | ۸/۳۵$^{fg}$ | ۲/۹۲$^{def}$ | ۱/۰۴$^{defg}$ | ۱/۸۳$^{k}$ |
| | $MnSO_4$ 33.8 $mgl^{-1}$×$PEG_1$ | ۳۱/۴۶$^{g}$ | ۹/۱۲$^{ef}$ | ۲/۵۸۸$^{defg}$ | ۰/۹۸$^{efg}$ | ۲/۷۵$^{i}$ |
| | $MnSO_4$ 33.8 $mgl^{-1}$×$PEG_2$ | ۴۱/۲۷$^{d}$ | ۱۰/۰۲$^{cde}$ | ۲/۵۸۸$^{defg}$ | ۰/۹۱$^{fg}$ | ۴/۵$^{f}$ |
| | $MnSO_4$ 33.8 $mgl^{-1}$×$PEG_3$ | ۵۶/۰۹$^{b}$ | ۱۰/۸۷$^{bc}$ | ۲/۴۵$^{efg}$ | ۰/۳۷$^{i}$ | ۴/۵۵$^{f}$ |

حروف مشابه در هر ستون نشان دهنده عدم اختلاف معنی دار در سطح احتمال ۰/۰۵ است.

## منابع

Amarowicz, R., Pegg, R. B., Rahimi-Moghaddam, P., Barl, B. and Weil, J. A. 2004. Free-radical scavenging capacity and antioxidant activity of selected plant species from the Canadian prairies. Food Chemistry, 4: 551–562.

Anjum, S. A., Xie, X., Wang, L. C., Saleem, M. F., Man, C. and Lei, W. 2011. Morphological, physiological, and biochemical responses of plants to drought stress. African Journal of Agricultural. Research, 6: 2026-2032.

Batukaev, A. A., Magomadov, A. S. and Malyh, G. P. 2014. Influence of manganese fertilizer on efficiency of grapes on sandy soils of the Chechen Republic. In BIO Web of Conferences (Vol. 3, p. 01007). EDP Sciences.

IrHC2019

Gul, H., Seema, A., Shabeena, H., Aziz, L., Rahim, Z., Sahar, S. and Pervez1, N. 2017. Exogenous application of zinc and manganese for improve chemical constituents in Brassica Juncea under drought stress. Journal Application Environmental Biology Science, 7: 81-90.

Malakouti, M. J., Keshavarz, P. and Karimian. 2008. A comprehensive approach towards identification of nutrients deficiencies and optimal fertilization for sustainable agriculture. Tarbiat Modares University Press, Tehhran. 755 pages.

Marschner, H. 1995. Mineral Nutrition of Higher Plants. Academic Press, London.

Movahedy-Dehnavy, M., Modarressanavy, S. A. M. and Mokhtassi-Bidgoli, A. 2009. Foliar application of zinc and manganese improves seed yield and quality of Safflower (*Carthamus tinctorius* L.) grown under water deficit stress. Industrial Crops and Products, 30: 82-99.

Pradubsuk, S., and Davenport, J. R. 2011. Seasonal distribution of micronutrients in mature 'Concord'grape: boron, iron, manganese, copper, and zinc. Journal of the American Society for Horticultural Science, 136(1): 69-77.

Sebastian, A. and Prasad, M. N. V. 2015. Iron-and manganese-assisted cadmium tolerance in Oryza sativa L.: lowering of rhizotoxicity next to functional photosynthesis. Planta, 241: 1519–1528.

Wang, Y. T., Wang, K., and Shao, X. Q. 2010. Manganese delays the senescence induced by drought in perennial ryegrass (*Lolium perenne* L.). African Journal of Agricultural Research, 5(22): 3035-3040.

# Effect of MnSO4 on physiological indices of two cultivars of grapevine (*Vitis vinifera* cv. L) under in vitro water stress condition

Parastou Ghorbani[1]*, Saied Eshghi[1], Ahmad Ershadi[2], Akhtar Shekafandeh[1], F. Razaghi[3]

[1*] Dept. of Horticultural Science, School of Agriculture Shiraz University, Shiraz
[2] Department of Horticultural Sciences, School of Agriculture Bu-Ali University, Hamedan
[3]Department of water engineering, School of Agriculture Shiraz University, Shiraz
[*]*Corresponding Author: ghorbani.parastou@gmail.com*

**Abstract**

The current study investigates the effects of manganese sulfate on the biochemical and physiological traits and superoxide dismutase enzyme activity in Thompson seedless and Rotabi grape cultivars under invitro at drought stress. The manganese sulfate treatment was carried out across 3 levels, including MS without manganese (0 mg/L), MS with a standard manganese concentration (16.9 mg/L) and MS with twice the standard manganese concentration (33.8 mg/L), and the drought stress treatment was performed across 4 levels using 0%, 3%, 9%, and 12% (w/v) solutions of polyethylene glycol (PEG) 6000 in two grape varieties, namely seedless Thompson (semi-sensitive to drought) and Rotabi (drought-resistant). The meristems of the tip of the shoots were used as explants. Manganese sulfate treatment caused a significant increase in all these parameters at all concentrations, especially at 16.9 mg/L. The highest amounts of soluble carbohydrates, Proline, and soluble proteins, as well as the highest superoxide dismutase enzyme activity, were observed in manganese sulfate treatment at the 33.8-mg/L concentration under drought stress with 3% and 9% (w/v) PEG solutions in the Rotabi cultivar. The results produced in this research suggest that under drought stress, manganese sulfate can stimulate the level of soluble osmolytes such as soluble carbohydrates, soluble proteins, and the antioxidant enzyme superoxide dismutase. Overall, it can be concluded that manganese sulfate treatment is possibly a suitable approach for reducing the damages caused by drought stress in grapevines, especially in the seedless Thompson cultivar.

***Keyword:*** Carbohydrate, Chlorophyll, Proline, Protein, SOD.

IrHC2019

IrHC2019