اثرات تنش خشکی بر ویژگی‌های رشدی ارقام و ژنوتیپ‌های مختلف بادام در محیط درون شیشه

اصغر صفرزاده[۱]، علی ایمانی*[۲] و محمد علی ابراهیمی[۱]

دانشجوی کار شناسی ارشد دانشگاه پیام نور تهران
سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی دانشیار پژوهشکده میوه های معتدله و سرد سیری مؤسسه تحقیقات باغبانی، ،تهران،ایران
دانشیار دانشگاه پیام نور تهران
مسئول: *نویسنده Imani_a45kazem@yahoo.com

چکیده

در این تحقیق اثرات نش خشکی بر ویژگی‌های ارقام و ژنوتیپ‌های مختلف بادام در محیط درون شیشه مورد بررسی قرار گرفت. ریزنمونه‌هایی از ۵ رقم و ژنوتیپ شامل سفید، سهند، k-12-4، G (6-8) و G (35-8) تحت ۴ سطح مختلف 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 می‌شود به عنوان سطوح مختلف تنش خشکی به مدت ۴ هفته قرار داده شدند. در پایان دوره تنش شاخص های مورفولوژیک شامل ارتفاع ریزنمونه، قطر ریزنمونه، تعداد شاخه‌های جانبی، تعداد برگهای نکروز شده یا ریزش کرده و تعداد برگ اندازه گیری شد. نتایج آزمایشات نشان داد تنش خشکی باعث افزایش تعداد برگ‌های ریزش کرده و تعداد شاخه‌های جانبی ایجاد شده گردید. بر اساس نتایج به دست آمده می‌توان نتیجه گرفت که ارقام سفید و سهند به نسبت سایر ین مقاومت بیشتری به خشکی نشان دادند در حالی که ژنوتیپ های(6-8) G و (35-8) G از مقاومت کمتری برخودار بودند. همچنین ژنوتیپ k-12-4 به نسبت سایر ارقام و ژنوتیپ‌ها در مورد مقاومت به خشکی کارایی متوسطی از خود نشان داد.

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

مقدمه

تنش خشکی یک عامل بزرگ زیستی است که به شدت توزیع، رشد و عملکرد گیاه را محدود می‌کند. پاسخ گیاهی به تنش های بی رویه پدیده‌های پیچیده‌ای است که ویژگی‌های فردی را برای گونه‌های مختلف نشان می‌دهد. برآورد شده است که بخش بزرگی از زمین‌های زراعی در جهان تحت تاثیر خشکسالی قرار گرفته و شرایط آب و هوایی بدتر می‌شود و نیاز به استفاده از محصولات قابل تحمل است. توسعه و معرفی انواع محصولات تحمل پذیر و درک بهتر مکانیسم های مربوط به پاسخ استرس گیاهان ضروری است (Rodziewicz *et al.*, 2014). شناسایی ژرم پلاسم های گیاهی متحمل به شرایط کم آبی از اهمیت زیادی برخوردار بوده و یکی ازاهداف تحقیقات علمی برای بسیاری ازمحصولات گیاهی است. پیش غربالی[۱] دربرنامه‌های اصلاحی درختان میوه به دلیل داشتن دوره نونهالی طولانی بسیار اهمیت داشته و شناسایی نشانگرهای مرفولوژیکی که باصفات ارزشمند اصلاحی درارتباط باشند، به پیشرفت برنامه‌های اصلاح گران کمک شایانی می‌کند. از طرفی کشت بافت یک ابزار است که اغلب در مطالعات مکانیسم‌های تحمل استرس، به ویژه نمک و خشکسالی استفاده می‌شود، زیرا مزایای به حداقل رساندن تغییرات محیطی و امکان کنترل

[1]. pre-selection

IrHC2019

دقیق محیط فیزیکی، وضعیت تغذیه و همگنی را ارائه می‌دهد. برنامه استرس که پارامترهای دشوار برای تنظیم در یک سیستم تجربی سنتی است و علاوه بر این، کشت بافت نیاز به حفظ فضای فیزیکی نسبتا کم برای نگهداری دارد (Tsago *et al*,. 2013). در این رابطه پلی اتیلن گلیکولPEG با وزن مولکولی بالا ترکیبات به طور گسترده‌ای مورد استفاده قرار گرفته است، زیرا از لحاظ شیمیایی بی اثر است، به سلول آسیب وارد نمی‌کند و سمی بودن را نشان نمی-دهد، بنابراین شبیه ترین اثرات خشکسالی نشان می‌دهد (Rai *et al.*, 2011). این تحقیق برآن است تا با استفاده ازتکنیک کشت بافت پنج رقم از ارقام مهم تجاری بادام را براساس خصوصیات مهم مرفولوژیکی مرتبط با تحمل خشکی بررسی نماید و مناسب ترین رقم را از این لحاظ مشخص نماید تادر برنامه های اصلاحی آینده مورد استفاده قرار گیرد.

مواد و روش‌ها

مراحل اجرای این آزمایش دراردیبهشت ماه۹۶ آغازگردیدو پیش ازنمونه‌برداری، محیط‌کشت موردنیاز در آزمایشگاه تهیه شد، برای تهیه ریزنمونه مناسب، شاخه‌های جوان و ترد رشد کرده در سال جاری از ۵ رقم و ژنوتیپ شامل سفید، سهند، k-12-4، G(6-8) و G(35-8) ۱۰ساله موجود در کلکسیون ایستگاه تحقیقاتی پژوهشکده میوه‌های معتدله و سردسیری کرج وابسته به موسسه تحقیقات باغبانی کشوردر اوایل بهار تهیه شد. آزمایش‌ها در آزمایشگاه کشت‌بافت در پژوهشکده میوه‌های معتدله وسردسیری کرج وابسته به موسسه تحقیقات باغبانی انجام‌گرفت. در این مطالعه بعد از ضدعفونی ریزنمونه‌ها مراحل استقرار، پرآوری و اعمال تنش تحت شرایط کشت درون شیشه‌ای مورد بررسی قرارگرفت. این تحقیق به صورت یک آزمایش فاکتوریل شامل دو فاکتور در قالب طرح کاملاً تصادفی و در سه تکرار انجام شد. فاکتور اول ارقام و ژنوتیپ‌های بادام در ۵ سطح و فاکتور دوم تنش خشکی در ۴ سطح بوده که بر اساس پتانسیل اسمزی محلول غذایی (Ψ_S) بر حسب مگاپاسکال تعیین شد. هر واحد آزمایشی شامل ۲ دانهال بوده تیمارها ۴ 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 بوده، شامل بود. مقادیر مورد نیاز PEG برای برقراری پتانسیل-های اسمزی مورد نظر بر اساس دستورالعمل میشل و کافمن[2](۱۹۷۳) به کمک رابطه ذیل تعیین گردید:

$$\Psi_S = -(1.18 \times 10^{-2})\, C - (1.18 \times 10^{-4})\, C^2 + (2.67 \times 10^{-4})\, CT + (8.39 \times 10^{-7})\, C^2T$$

در رابطه فوق، Ψ_S، C و T به ترتیب پتانسیل اسمزی (بر حسب بار)، غلظت PEG-6000 (گرم در لیتر آب) و درجه حرارت محیط (درجه سانتی‌گراد) می‌باشند.

ریزنمونه ها به تعداد ۳ تکرار برای هر تیمار و به ازای هر ۱۰ رقم در محیط حاوی PEG کشت شد و به مدت ۴ هفته در این محیط باقی مانده تا تاثیر محیط تنش زا به طور کامل روی آنها نمایان شد و در این زمان بررسی های مورد نظر روی خصوصیات مورفولوژیکی آنها آغاز شد.

نتایج و بحث

جدول ۱ میانگین تاثیر تنش خشکی ناشی از پلی اتیلن کلیکول بر خصوصیات مورفولوژی در ارقام وژنو.تیپ های بادام در جدول ۱ ارائه شده است.

2. Michel and Kaufmann

IrHC2019

جدول «۱» میانگین تاثیر تنش خشکی ناشی از پلی اتیلن کلیکول بر خصوصیات مورفولوژی در ارقام و ژنو.تیپ‌های بادام

قطر نمونه (میلی متر) Explants diameter (mm)	ارتفاع نمونه (میلی متر) Explants height (mm)	مجموع تعداد برک Number of leaves	تعداد انشعاب Number of explants shoots	برگ ریزش شده یانکروزه Leaves of Defilation	وزن تر ۴برگ(گرم) Fresh Weight of 4_leaves (gr)	وزن خشک ۴برگ (گرم) Dry Weight of 4 leaves (gr)	Genotype ژنوتیپ PEG(%) پلی اتیلن گلیکول
2.297k	24.103g	6cde	2.483f	5.133a	0.292def	0.116h	Sefid×6
2.653hi	33.98e	7.333abcde	2.99d	2.45ghi	0.337cde	0.087l	Sefid×4
3.153c	40.007bc	7.667abcd	2.24g	2.703fg	0.343cde	0.104jk	Sefid×2
3.46a	44.17a	9.5a	1.49k	1.84k	0.534ab	0.217b	Sefid×0
2.27k	19.35ij	5.667cde	2.64e	3.62d	0.455bc	0.195d	Sahand×6
2.687h	25.303g	6.667bcde	3.273b	3.62d	0.458bc	0.159f	Sahand×4
3.037de	35.42de	8abc	1.997h	2.683fg	0.528ab	0.189d	Sahand×2
3.28b	38.5bcd	9.167ab	1.32l	2.01jk	0.554ab	0.163f	Sahand×0
1.963l	20.19hij	5.833cde	2.587e	5.28a	0.253def	0.141g	K124×6
2.633i	24.193g	6cde	3.547a	3.1e	0.284def	0.099k	K12-4×4
3e	36.13de	7.333abcde	1.61j	2.7fg	0.348cde	0.148g	K12-4×2
3.2c	41.2ab	9ab	1.89i	2jk	0.364cd	0.175e	K12-4×0
1.86m	17.773j	5.333de	2.41f	4.467b	0.168f	0.078m	G(35-8) ×6
2.38j	22.017ghi	6.667bcde	2.95d	2.98ef	0.248def	0.098k	G(35-8) ×4
2.777g	30.023f	7.037abcde	1.45k	2.403ghi	0.25def	0.089l	G(35-8) ×2
2.987e	36.42cde	7.5abcde	1n	2.293hij	0.252def	0.118h	G(35-8) ×0
1.947l	18.1j	5e	2.42f	3.997c	0.223ef	0.108ij	G(6-8) ×6
2.32k	23.577gh	5.667cde	3.11c	2.45ghi	0.269def	0.115hi	G(6-8) ×4
2.847f	33.93e	7.217abcde	1.58j	2.54gh	0.521ab	0.203c	G(6-8) ×2
3.083d	36.5cde	9ab	1.16m	2.12ijk	0.616a	0.363a	G(6-8) ×0

ستون‌ها با حروف مشترک دارای تفاوت معنی دار نمی‌باشند

همانطوریکه در جدول بالا مشخص است با افزایش شدت تنش اسمزی تعداد برگ های توسعه یافته در ریز نمونه هابه صورت معنی داری کاهش یافت. کمترین تعدادبرگ توسعه یافته در محیط حاوی ۶ درصد پلی اتیلن گلیکول و در ژنوتیپ(6-8) G مشاهده گردید درحالی که ارقام سهند و سفید و ژنوتیپ k-12-4 کمترتحت تاثیرتنش قرارگرفتند و در سطوح مختلف تنش اسمزی بیشتر از سایر ارقام برگ‌های خود را حفظ نمودند. همچنین در بین ارقام مختلف از نظر میزان کاهش قطر ریزنمونه تفاوت معنی‌داری وجود داشت. بیشترین میزان قطر ریزنمونه در تیمار شاهد رقم سفید (۳.۴۶) و سهند (۳.۲۸) و تیمار ۲ سفید (۳.۱۵) دیده می‌شود و کمترین میزان آن در تیمار ۶ در ژنوتیپ-های G (35-8) با (۱.۸۶) و G (6-8) با (۱.۹۴) مشاهده شد. اندازه گیری ارتفاع ریزنمونه‌ها نیز نشان داد با افزایش شدت تنش اسمزی به طوری معنی‌داری از رشد طولی ریزنمونه‌ها جلوگیری می‌شود. کمترین میزان ارتفاع ریزنمونه-هادرتمامی ارقام درتیمار ۶٪ پلی اتیلن گلیکول مشاهده شد. همچنین درمورد ارتفاع ریزنمونه نیز کمترین میزان ارتفاع در تیمار ۶ درصد ژنوتیپ G (35-8)، (۷۷.۱۷) و پس از آن G (6-8) با (۱۸.۱) مشاهده گردید درحالی که ارقام سفید و سهند به طرز معنی‌داری کمتر از سایرین تحت تاثیر تنش قرارگرفتند. همچنین نتایجحاصل از اثر تنش اسمزی بر تعداد شاخه‌های جانبی ایجاد شده نشان دادکه این افزایش شاخه‌های جانبی در مورد تیمارهای ۶٪ صادق نبوده است درتیمار ۶٪ تعدادشاخه‌های جانبی ایجادشده نسبت به تیمار ۴٪ کمتربوده است. نتایج جدول ۱ از اندازه گیری وزن تر ۴ برگ ریزنمونه‌ها نیزنشان داد با افزایش شدت تنش اسمزی به طوری معنی‌داری ازوزن تر ریزنمونه‌ها جلوگیری می-شود. کمترین میزان وزن تر ریزنمونه‌ها در تمامی ارقام در تیمار ۶٪ پلی اتیلن گلیکول مشاهده شد. همچنین در مورد

IrHC2019

وزن تر ریز نمونه نیز کمترین میزان وزن تر در تیمار ۶ درصد ژنوتیپ G (35-8) با (۰.۱۶۸) و پس از آن G(6-8) با ۰.۲۲۳ مشاهده گردید. درحالی که ارقام سفید و سهند به طرزمعنی داری کمتر از سایرین تحت تاثیرتنش قرارگرفتند. از طرفی با افزایش شدت تنش اسمزی به طوری معنی‌داری ازوزن خشک ریزنمونه‌ها جلوگیری شد. کمترین میزان وزن خشک ریزنمونه‌ها در تمامی ارقام در تیمار ۶٪ پلی اتیلن گلیکول مشاهده شد. همچنین در مورد وزن خشک ریزنمونه نیز کمترین میزان وزن خشک در تیمار ۶ درصد ژنوتیپ G(35-8)، (۰.۰۷۸) و پس از آن تیمار های ۴ و ۲ ژنوتیپ G(35-8) و تیمار ۶ و ژنوتیپG(6-8) مشاهده گردید و درحالی که تیمار شاهد ژنوتیپ G (6-8) و سفید به ترتیب (۰/۳۶۴) و (۰/۲۱۷) به طرزمعنی داری کمترازسایرین تحت تاثیرتنش قرارگرفتند. 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. امروزه این پدیده که تنش خشکی باکاهش پتانسیل آماس سلول های گیاهی باعث کاهش رشد گیاهان می شد، به صورت گسترده ای موردپذیرش است. باید توجه داشت که امروزه مشخص شده است که PEG بدون این که جذب شود و مسمومیت ایجادنماید، تنها پتانسیل اسمزی محیط را کاهش داده و شرایط تنش آبی رادر محیط درون شیشه ای ایجادمی‌نماید. درسیب (Trujillo-Moya *et al*., 2014) نیز نشان داده شده است که کاهش رشد در شرایط تنش خشکی درون شیشه ای ناشی ازPEG نیز ناشی از کاهش محتوای آب است. تحت تنش اسمزی، ریزش شدید برگ و نکروزه شدن آنهابه ویژه در ارقام حساس بادام باشدت بیشتری پیشرفت و از طرف دیگرتشکیل برگ‌های جدید محدود شدکه همین موضوع دلیل کاهش شدیدوزن خشک ریزنمونه در شرایط تنش اسمزی بود. درشرایط درون شیشهای به علت اینکه گیاهان حالت هتروتروف داشته و فتوسنتز ناچیزی انجام می دهند، بنابراین کاهش رشد آنها ناشی ازگرسنگی کربوهیدرات‌ها نیست. یافته‌های این پژوهش به روشنی نشان می‌دهد که در شرایط تنش خشکی درون شیشه ای، محدود شدن دسترسی به آب، عامل اصلی کاهش رشد ارقام بادام در شرایط تنش اسمزی است.

نتیجه گیری کلی

در پژوهش حاضر بر اساس داده‌های به دست آمده از آزمایشات، در بین ارقام و ژنوتیپ‌های مورد بررسی از نظر مقاومت به خشکی به ترتیب مقاوم تر به حساس تر می‌توان سفید، سهند، k-12-4، GN(6-8) و G (35-8) رتبه بندی کرد. از طرفی بر اساس نتایج این پژوهش می‌توان اظهار داشت ژنوتیپ‌های مثل G (6-8) و G (35-8) از قدرت تحمل کمتری در مقابل تنش ناشی از خشکی نسبت به سایرین تحت تیمار بر خوردار بودند در حالی که ارقام سفید و سهند بیشتر از سایرین قدرت تحمل آثار ناشی از تنش خشکی وارد شده به آنها را داشتند.

منابع

Karimi S., Yadollahi, A., Moghadam, R. N., Imani, A. and Arzani, K. 2012. In vitro Screening of Almond (*Prunus* dulcis (Mill.)) Genotypes for Drought Tolerance. Journal of Biological and Environmental Sciences.6 (18): 263-270.

Michel, B.E. and Kaufmann, M.R. 1973. The osmotic potential of polyethylene glycol 6000. Plant Physiology, 51:914-916.

Rai, M.K., Kalia, R.K., Singh, R., Gangola, M. and Dhawan, A.K. 2011. Developing stress tolerant plants through in vitro selection an overview of the recent progress. Environmental, Expemental and Botany, 71: 89–98.

Rodziewicz, P., Swarcewicz, B., Chmielewska, K., Wojakowska, A. and Stobiecki, M.2014.Influence of abiotic stresses on plant proteome and metabolome changes. Acta Physiologiae Plantarum 36:1–19.

Trujillo-Moya, C., Peiro, R. and Gisbert, C. 2014. Leaf morphology and shoot regeneration of in vitro cultured explants fromspecies of the Solanumperuvianums.l. Complex. Turkish Journal of Botany, 38: 465-476.

IrHC2019

Tsago, Y., Andargie, M. and Takele, A. 2013. In vitro screening for drought tolerance in different sorghum (*Sorghum bicolor* (L.) Moench) varieties. Journal of stress physiology and biochemistry, 9(3): 72-83.

Effects of drought stress on growth characteristics of different varieties and genotypes of almond in in vitro environment

Asghar Safarzadeh Ghavidelan[1], Ali Imani[2*], Mohammad Ali Ebrahimi[3]

1, 3 Payame Noor University
Temperate Fruit Research Center, Horticultural Research Institute, Agricultural Research, Education and Extension Organization (AREEO), Karaj, Iran
Corresponding Author: Imani_a45kazem@yahoo.com

Abstract

In this research, effects of drought stress on almond explants in vitro were investigated. explants of almond cultivars and genotypes including Sefid, Sahand, K-1-4, G (6-8) and G (35-8) under four different levels of polyethylene glycol containing 0, 2, 4 and 6%, which are 0, -14, -0, -0.36 and -0.66-water potential load were placed as different levels of drought stress for 4 weeks. At the end of the stress period, morphological indices including explants height, explants diameter, number of lateral branches, number of necrotized leaves, and leaf number were measured. The results showed that drought stress increased the number of fallen leaves, number of lateral branches. Based on the results, it can be concluded that Sefid and Sahand cultivars showed more resistance to other genotypes, while G (6-8) and G (35-8) genotypes were less resistant. Also, K-12-4 genotype showed moderate performance compared to others.

Keywords: almond, drought stress, tissue culture, polyethylene glycol

IrHC2019