بررسی اثر پلی‌آمین پوترسین بر شاخص‌های بیوشیمیایی بادام بر روی پایه رویشی GF677 در شرایط تنش خشکی

خداکرم کریمی*[۱]، غلامرضا ربیعی[۲]، سید اصغر موسوی[۳] و سید حبیب‌الله نوربخش[۴]

[۱] دانشجوی کارشناس ارشد گروه علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی دانشگاه شهرکرد، شهرکرد

[۲] استادیار گروه علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شهرکرد، شهرکرد

[۳] استادیار، بخش تحقیقات علوم زراعی- باغی، مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی چهارمحال و بختیاری، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، شهرکرد، ایران

[۴] استادیار بازنشسته مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی چهارمحال و بختیاری،شهرستان سامان، نهالستان پایه‌های رویشی

*نویسنده مسئول: Khodakaram.karimi@yahoo.com

چکیده

به‌منظور بررسی اثر محلول‌پاشی غلظت‌های مختلف پوترسین بر شاخص‌های بیوشیمیایی بادام برروی پایه رویشی GF677 در شرایط تنش خشکی، آزمایشی به‌صورت فاکتوریل در قالب طرح پایه کاملاً تصادفی در ۳ تکرار اجرا شد. پوترسین در غلظت‌های صفر،۱،۲و۳ میلی مولار و تنش خشکی در سه سطح ۱۰۰، ۷۵و ۵۰درصد نیاز آبی بکار برده شد. صفات بیوشیمیایی شامل کلروفیل، کاروتنوئید، پرولین و قندهای محلول اندازه‌گیری شد. نتایج نشان داد که اثر پوترسین در شرایط تنش آبی بر شاخص‌های کلروفیل، پرولین و قندهای محلول معنی‌داری بوده است. بر اساس نتایج، محلول‌پاشی نهال‌ها با غلظت ۳میلی مولار پوترسین با تأثیر بر پارامترهای بیوشیمیایی سبب افزایش تحمل نهال‌های بادام رقم شاهرود۷ به تنش خشکی شد.

واژه‌های کلیدی: **بادام، پایه، تنش خشکی، کلروفیل، پرولین، قندهای محلول.**

مقدمه

خشکی یکی از مهم‌ترین عوامل محدودکننده رشد و عملکرد محصولات کشاورزی در سراسر جهان است. بسیاری از گونه‌های گیاهی دائمی دارای مکانیسم‌هایی برای مقابله با کمبود آب هستند. گیاهان می‌توانند با افزایش جذب یا به حداقل رساندن تلفات آب از تنش خشکی اجتناب نمایند. برخی از گونه‌ها از طریق فرایند تنظیم اسمزی یعنی انباشت مواد محلول مختلف، تنش آبی را تحمل می‌کنند (Gonzalez et al., 2009). کاهش پتانسیل اسمزی در واکنش به تنش رطوبتی مکانیسم شناخته‌ای است که بسیاری از گیاهان از طریق آن با شرایط خشکی سازگاری می‌یابند. در بسیاری از گیاهان، تجمع مواد فعال اسمزی (نظیر قندهای محلول و پرولین) تداوم فرایندهای وابسته به آماس را در شرایط تنش آبی ممکن می‌سازد. تنظیم اسمزی باعث تسهیل جذب آب از خاک‌های خشک و حفظ آماس سلولی ،تبادل گازها و رشد در محیط‌های بسیار خشک می‌شود (Patakas et al.,2002). بادام از محصولاتی است که می‌توان با مدیریت صحیح مصرف آب، انتخاب ارقام و پایه‌ها در اقلیم‌های خشک و نیمه‌خشک با زمستان‌های معتدل و تابستان‌های گرم و خشک کشت و عملکرد مناسبی از آن بدست آورد (Rouhi et al., 2007). در این شرایط، یکی از روش‌های مقابله با مشکل کم‌آبی، استفاده ارقام و پایه‌های متحمل در برابر تنش خشکی می‌باشد. در ایران استفاده از ترکیبات پلی آمین، در جهت افزایش میزان تحمل درختان بادام به‌خصوص پایه‌های بادام به تنش خشکی استفاده نشده است. در صورت شناسایی اساس فیزیولوژیکی مقاومت به خشکی، می‌توان از صفات بیوشیمیایی مختلف به‌عنوان شاخص‌های گزینشی در برنامه‌های اصلاح نباتات استفاده نمود.تنش خشکی یکی از مهم‌ترین تنش‌های غیر زیستی است که از طریق تأثیر بر فرآیندهای فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی، آثار نامطلوبی بر رشد و نمو گیاهان دارد (Hoekstra et al., 2001). علاوه بر تغییرات فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی که در اثر کمبود آب در گیاه ایجاد می‌شود، صدمات اکسایشی نیز از عوامل مهم محدودکننده‌ی رشد گیاهان است. گونه‌های واکنش‌گر اکسیژن (ROS) تحت تنش خشکی در گیاه تجمع می یابند. که به ساختار سلول خسارات جدی وارد می‌کنند (Gill and Tuteja, 2010). پلی‌آمین‌ها ترکیبات آلی نیتروژن داری

هستند که در کلیه یوکاریوت‌ها و پروکاریوت‌ها حضور دارند. پلی‌آمین‌ها به‌عنوان مواد تنظیم‌کننده رشد گیاهی در محدوده وسیعی از فرایندهای رشد و نمو،شامل تقسیم سلولی، رویان‌زایی، گل‌دهی، رسیدن میوه‌ها، تکوین ریشه، تأخیر پیری، پایداری غشاءها، جمع‌آوری رادیکال‌های فعال و تحمل تنش‌های مختلف مشارکت دارند و به نظر می‌رسد اهمیت پلی آمین‌ها در شرایط تنش‌ها می‌تواند به دلیل نقش آن‌ها در تنظیم اسمزی،پایداری غشا و حذف رادیکال‌های اکسیژن فعال از محیط سلول‌ها باشد (Kaur-Sawhney et al., 2003). هدف این تحقیق بررسی اثر پلی آمین پوترسین در شرایط تنش کم‌آبی بر شاخص‌های بیوشیمیایی ارزیابی مقاومت به تنش خشکی در بادام بر روی پایه رویشی GF677 است

مواد و روش‌ها

به‌منظور بررسی اثر پلی آمین(پوترسین) بر شاخص بیوشیمیایی بادام در شرایط تنش خشکی بادام، از نهال‌های یک‌ساله بادام رقم شاهرود ۷ بر روی پایه رویشی GF677 استفاده گردید. این آزمایش به‌صورت فاکتوریل، فاکتور اول شامل تنش خشکی در سه سطح شاهدT1: بدون تنش (۱۰۰ درصد نیاز آبی گیاه)، T2: تنش متوسط (۷۵ درصد نیاز آبی گیاه) و T3: تنش شدید (۵۰ درصد نیاز آبی گیاه) و فاکتور پوترسین در غلظت‌های صفر (شاهد)،۱،۲و۳ میلی مولار در قالب طرح کاملاً تصادفی در سه تکرار به روش کشت گلدانی در دانشگاه شهرکرد انجام گرفت. هر تکرار شامل دو گلدان پلاستیکی ۱۰ لیتری حاوی مخلوط خاک زراعی، ماسه و کود دامی به نسبت (۱:۱:۳) با یک نهال بادام شاهرود۷ بود. کلیه شرایط داشت غیر از آبیاری برای کلیه تیمارها به‌صورت یکسان اعمال گردید.و همزمان با شروع تیمار تنش آبیاری ۳ مرحله و با فاصله ۲۰ روز، محلول‌پاشی پوترسین بر روی نهال‌های پیوندی ذکر شده انجام شد. اندازه‌گیری پارامترها۲۰ روز پس از آخرین محلول‌پاشی انجام گرفت غلظت کلروفیلa، کلروفیلb، کلروفیل کل و کارتنوئید رنگیزه‌ها به روش آرنون (Arnon 1949) و با استفاده از دستگاه اسپکتروفوتومتر در طول‌موج‌های ۶۶۳/۲، ۶۴۶/۸ و ۴۷۰ نانومتر اندازه‌گیری و مقدار کلرو فیل و کارتنوئید محاسبه شد. میزان قندهای محلول گیاه با استفاده از روش فنل‌اسیدسولفوریک (Kochert,. 1978) و میزان جذب به‌وسیله اسپکتروفتومتر در طول‌موج ۴۸۰ نانومتر قرائت و درنهایت میزان قند هر نمونه با استفاده از منحنی استاندارد گلوکز محاسبه گردید. پرولین مطابق روش بیتس و همکاران (Bate et al., 1973) در طول‌موج ۵۲۰ نانومتر با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر اندازه‌گیری شد و درنهایت مقدار پرولین با استفاده از منحنی استاندارد آن و بر اساس میکروگرم در گرم بافت خشک گیاهی محاسبه گردید. تجزیه آماری داده‌ها توسط نرم‌افزار آماری SAS و مقایسات میانگین توسط آزمون دانکن انجام گردید.

نتایج و بحث

نتایج تجزیه واریانس (جدول۱) نشان داد که اثر محلول‌پاشی پوترسین و تنش خشکی بر میزان کلروفیل‌های (کل، a وb)، کارتنوئیدها، پرولین و قند در سطح یک درصد دارای اثر معنی‌دار است. همچنین اثر متقابل نیز بر میزان قند در سطح یک درصد و بر میزان کلروفیل (کل،aوb) در سطح پنج درصد دارای اثر معنی‌دار داشت.

جدول۱- نتایج تجزیه واریانس تأثیر تیمارهای پوترسین و تنش خشکی بر صفات بیوشیمیایی بادام شاهرود۷

منابع تغییرات	درجه آزادی	کلروفیل a	کلروفیل b	کلروفیل کل	کاروتنوئید	پرولین	قندهای محلول
پوترسین	۳	۴/۶۲۷۸*	۰/۶۳۱۶**	۶/۴۵۳۳**	۰/۱۲۸۸**	۳۹۹/۵۰۹۲**	۲۲۶/۲۸۶۷**
آبیاری	۲	۷/۸۴۴۶**	۰/۷۵۱۲**	۱۲/۶۷۰۱**	۰/۶۲۵۴**	۱۰۱۹۷/۰۲۷۷**	۱۰۱۹۳/۱۴۶۴**
آبیاری*پوترسین	۶	۰/۹۴۶۲*	۰/۰۸۸۴*	۱/۰۰۳۰ns	۰/۰۲۶۹ns	۱۰۸/۱۷۵۹*	۱۵۷/۳۴۳۲**
خطای آزمایش	۲۴	۰/۳۶۵۹	۰/۳۴۹۶	۰/۹۰۰۷	۰/۰۱۹۵	۴۲/۸۰۵۶	۴۱/۵۱۲۹
ضریب تغییرات		۹/۴۰۶۱	۸/۶۰۴۳	۱۰/۷۶۶۴	۲۴/۸۸۵۳	۱۵/۰۳۰۸	۱۳/۷۳۸۱

**و*به ترتیب معنی‌دار در سطح احتمال یک و پنج درصد، ns :غیر معنی‌دار

نتایج پژوهش حاضر نشان داد که میزان کلروفیل‌های (کل،aوb) با افزایش تنش خشکی کاهش معنی‌داری یافت درحالی‌که پوترسین۳ میلی مولار سبب افزایش میزان این صفات شد (جدول۲). همچنین پوترسین صفر میلی مولار سبب افزایش میزان کارتنوئیدها در دو سطح تنش متوسط و شدید شد (جدول۲). از طرفی میزان قندهای احیای برگ تحت تأثیر سطوح مختلف تنش خشکی قرار گرفت و با افزایش سطوح تنش و افزایش غلظت پوترسین میزان آن کاهش یافت، به‌طوری‌که ۱ میلی مولار پوترسین در تنش شدید بیشترین میزان قندهای احیا را داشت نتایج حاصل از مقایسهٔ میانگین‌ها نشان داد که میزان پرولین تحت تأثیر سطوح مختلف تنش خشکی افزایش یافت، درحالی‌که محلول‌پاشی پوترسین با غلظت ۳ میلی مولار در تنش متوسط و تنش شدید سبب کاهش میزان پرولین نسبت به پوترسین صفر و یک میلی مولار شد. نتایج نشان داد که اثر تیمارهای مختلف تنش خشکی و محلول‌پاشی پوترسین با غلظت‌های متفاوت بر میزان پرولین معنی‌دار است. پوترسین۳ میلی مولار در هر سه سطح تنش خشکی سبب کاهش معنی‌دار میزان پرولین شد.

جدول۲- جدول اثر متقابل آبیاری و پوترسین بر صفات بیوشیمیایی

آبیاری (درصد نیاز آبی)	پوتریسین (میلی مولار)	کلروفیل a	کلروفیل b	کلروفیل کل	کاروتنوئید	پرولین	قندهای محلول
۱۰۰	۰	۶/۷۴۶۷^{bc}	۲/۱۷۶۷^{bc}	۸/۹۵۰۰^{bcd}	۰/۵۲۶۷^{bc}	۲۳/۶۶۷^{de}	۲۶/۴۹۰^{d}
	۱	۷/۳۰۰۰^{ab}	۲/۵۱۳۳^{ab}	۹/۹۱۳۳^{ab}	۰/۳۷۶۷^{c}	۲۰/۰۰۰^{de}	۲۴/۴۷۳^{d}
	۲	۶/۴۸۳۳^{bcd}	۲/۱۷۰۰^{bc}	۸/۷۱۳۳^{bcd}	۰/۴۳۶۷^{c}	۲۰/۰۰۰^{de}	۲۷/۸۷۰^{d}
	۳	۸/۰۹۳۳^{a}	۲/۶۹۰۰^{a}	۱۰/۹۱۰۰^{a}	۰/۲۹۰۰^{c}	۱۴/۶۶۷^{e}	۲۶/۸۲۳^{d}
۷۵	۰	۵/۰۴۳۳^{e}	۱/۶۵۰۰^{d}	۷/۷۴۶۷^{cde}	۰/۷۵۶۷^{ab}	۵۲/۳۳۳^{c}	۴۹/۸۹۰^{c}
	۱	۶/۹۶۰۰^{b}	۲/۳۶۶۷^{ab}	۹/۳۶۶۷^{abc}	۰/۳۴۰۰^{c}	۳۰/۶۶۷^{d}	۳۱/۱۳۰^{d}
	۲	۷/۳۰۶۷^{ab}	۲/۴۳۰۰^{ab}	۹/۸۴۶۷^{ab}	۰/۳۰۰۰^{c}	۲۷/۰۰۰^{de}	۲۹/۵۶۰^{d}
	۳	۷/۰۰۶۷^{ab}	۲/۴۹۰۰^{ab}	۹/۷۰۳۳^{ab}	۰/۴۱۳۳^{c}	۲۶/۰۰۰^{de}	۲۵/۴۹۳^{d}
۵۰	۰	۴/۶۰۳۳^{e}	۱/۶۳۳۳^{d}	۶/۵۷۶۷^{e}	۰/۹۳۰۷^{a}	۸۱/۶۶۷^{a}	۸۲/۸۸۸^{ab}
	۱	۵/۴۸۳۳^{de}	۱/۹۱۳۳^{cd}	۷/۵۰۳۳^{de}	۰/۸۳۰۰^{a}	۸۱/۳۳۳^{a}	۸۹/۹۵۰^{a}
	۲	۵/۶۶۶۷^{cde}	۱/۸۷۳۳^{cd}	۷/۶۹۶۷^{cde}	۰/۸۱۶۷^{a}	۷۴/۶۶۷^{ab}	۷۵/۸۰۰^{b}
	۳	۶/۴۸۳۳^{bcd}	۲/۱۷۳۳^{bc}	۸/۸۵۶۷^{bcd}	۰/۷۱۶۷^{ab}	۶۷/۳۳۳^{b}	۷۲/۴۲۳^{b}

ستون‌های با حداقل یک حرف مشترک فاقد اختلاف معنی‌دار در سطح پنج درصد آزمون دانکن می‌باشند

نتایج تحقیقات قبلی نشان داد تنش خشکی باعث کاهش معنی‌دار در محتوای کلروفیل a وb و کلروفیل کل در گونه‌های بادام شد. کاهش محتوای کلروفیل در برگ گونه‌های *P. haussknechti* و *P. dulcis*کمتر بوده است. ولی کارتنوئیدهای کل تحت تأثیر تنش خشکی قرار نگرفت. در این تحقیق گونه بادام اهلی با پایین‌ترین پتانسیل آب برگ، بیشترین تجمع پرولین، تجمع نسبتاً بالای قندهای محلول و کاهش نسبتاً کمتر رنگیزه‌های برگ در مقایسه با سایر گونه‌ها مقاومت بیشتری به تنش خشکی داشته است(Zokaee khosro shahi et al., 2014) .. بر اساس گزارش کریمی و همکاران (Karimi et al., 2013) نیز کاروتنوئیدها و آنتوسیانین‌ها احتمالاً در حمایت از بادام در مقابل تنش اسمزی نقش داشته باشند. طبق اظهارات سوفا و همکاران (Sofo et al., 2005) پرولین پایدارترین اسیدآمینه بوده و در ایجاد و حفظ فشار اسمزی درون گیاه نقش به سزایی دارد، به همین دلیل، بیش از سایر اسیدهای آمینه در شرایط نامساعد تجمع آن بیشتر بوده و نقش ذخیره کربن و ازت را بازی می‌کند. هنگامی‌که پتانسیل آب برگ در اثر تنش به زیر حد آستانه لازم برای رشد رسیده باشد باعث بسته شدن روزنه‌ها و متوقف شدن رشد می‌گردد و تجمع پرولین در گیاه شروع می‌شود. چون کلروفیل و پرولین هردو از پیش ماده مشترکی بهنام گلوتامات سنتز می‌شوند، بنابراین می‌توان گفت که افزایش سنتز پرولین در شرایط تنش خشکی منجر به کاهش سنتز کلروفیل گردد. دلیل تجمع پرولین در شرایط تنش خشکی افزایش سنتز پرولین در اثر کاهش اکسیداسیون گلوتامات و نیز کاهش مصرف آن برای سنتز پروتئین‌ها به خاطر توقف رشد گیاه می‌دانند (Lotfi et al. 2010; Larher et al., 2009).

نتیجه‌گیری

نتایج مربوط به پارامترهای بیوشیمیایی نهال‌های پیوندی بادام نشان داد که این پارامترها تحت تأثیر سطوح مختلف تنش خشکی و غلظت‌های مختلف پوترسین واقع شدند. در این آزمایش محلول‌پاشی پوترسین (به‌ویژه غلظت۳ میلی مولار) با تأثیر بر پارامترهای بیوشیمیایی و از طریق بهبود و افزایش کلروفیل‌های (کل،aوb) سبب افزایش مقاومت نهال‌های پیوندی بادام شاهرود ۷ به تنش خشکی شد.

منابع

Arnon, D.I. 1949. copper enzymes in isolated chloroplasts, polyphenoxidase in beta vulgaris. plant physiology 24: 1-15.

Bates, L.S., Waldren, R.P., and Teare, L.D. 1973. Rapid determination of free proline for water stress studies. Plant and Soil, 39: 205-208

Gill, S.S., and Tuteja, N. 2010. Reactive oxygen species and antioxidant machinery in abiotic stress tolerant in crop plants. Plant Physiology and Biochemistry, 48:909-930.

Gonzalez, J.A., Gallardo, M., Hilal, M., Rosa, M. and Prado F.E. 2009. Physiological responses of quinoa (*Chenopodium quinoa* Willd.) to drought and waterlogging stresses: dry matter partitioning. Botanical Studies, 50:35-42.

Hoekstra, F., Golovina, E., and Buitink, J. 2001. Mechanisms of plant desiccation tolerance, Trends in Plant Science 8(9):431-438.

Karimi, S.; Yadollahi, A.; Arzani K. 2013. Responses of Almond Genotypes to Osmotic Stress Induced In Vitro. Journal of Nuts, 4(4):1-7.

Kaur-Sawhney, R., Tiburcio, A. F., and Galston, A.W. 2003. Polyamines in plants: An overview. Journal of Cell and Molecular Biology, 2: 1-12.

Kochert, AG .1978. Carbohydrate determination by the phenol–sulfuric acid method. In: Hellebust JA, Craigie JS (eds), Handbook of Phycological Methods: Physiological and Biochemical Methods. Cambridge University Press, Cambridge. 95–97 p.

Larher F.R. Monnier C. Gaudriot Y. and Lemesle P. 2002. The suppression of the osmoinducedproline syndrome in higher plants. 13th Congress of the Federation of the European Societies of Plant Physiology, Hersonissos (Greece). Poster no.348.

Lotfi, N.,vadati,K., Kholdebarin, B. and,Amiri, R .2010. Soluble sugars and proline accumulation play a role as effective indices for drought tolerance screening in persian walnut (Juglans regia L.)during germination. Fruits,97-112.

Patakas A. Nikolaou N. Zioziou E. Radoglou K. and Niotsakis B. 2002. The role of organic solute and ion accumulation in osmotic adjustment in drought-stressed grapevines. Plant Science 163:361-367.

Rouhi, V., R.Samson , R.Lemeur and Van Damme P. 2007. Photosynthetic gas exchange characteristics in three different almond species during drought stress and subsequent recovery. Environmental and Experimental Botany 59:117-129.

Sofo, A.,Dichio, B., Xiloyannis, C. and Masia, A. 2005. Antioxidant defences in olive trees during drought stress: changes in activity of some antioxidant enzymes. Functional Plant Biology. 32: 45-53.

Zokaee khosro shahi;M.R., Esnaashari, M., Ershadi,A. and Imani, A.2014. Physiological Responses of Five Almond Species to PEG-Induced Drought Stress. Lamt Production Technology 5(2): 73-88.

Study of Effect of Putricine on Biochemical Indices Inshahrood 7 Cultivar Almond Grafted on GF677 Clonal Rootstock under Drought Stress Conditions

Khodakaram Karimi[1*], Gholamreza Rabie[2], Asghar Mousavi[3] and Habibollah Noorbakhsh[4]
[1*] M.Sc. Student, Dept. of Horticulture, Faculty of Agriculture, Shahrekord University, Shahrekord, Iran
[2]Assistant Prof., Dept. of Horticulture, Faculty of Agriculture, Shahrekord University, Shahrekord, Iran
[3]Assistant Prof., Horticulture Crops Research Department, ChaharmahalvaBakhtiari Agricultural and Natural Resources Research and Education Center. Agricultural Research, Education and Extension organization (AREEO), Shahrekord, Iran.
[4]Retired Assistant Prof., ChaharmahalvaBakhtiari Agricultural and Natural Resources Research and Education Center, Saman, Nursery of clonal rootstocks
[*]*Corresponding Author:* Khodakaram.karimi@yahoo.com

Abstract

To investigate the effect of foliar application of different concentration of putrescine on biochemical indices of almond grafted on the clonal rootstock GF 677 under drought stress conditions, an experiment was conducted in CRD design with three replications. Putrescine with three concentrations of 0, 1, 2 or 3 mM, and three levels of drought stress as 100, 75 or 50% ETc were applied. Biochemical characteristics such as chlorophyll (a, b and total), carotenoid, proline, and soluble sugars content were measured. Results showed that chlorophyll, carotenoid and soluble sugars content were significantly affected by putrescine under drought stress conditions. According to the results, the application of 3 mM of putrescine by affecting biochemical characteristics had increased almond plants drought tolerance.
***Key words*: Almond, rootstock, drought stress, chlorophyll, proline, soluble sugars**