تنش‌های محیطی و مقاومت مرکبات بر پایه صفات بیوشیمیایی

رضا فتوحی قزوینی
استاد گروه علوم باغبانی دانشگاه گیلان.

چکیده

مرکبات یکی از پر مصرف‌ترین میوه‌ها بعد از سیب است که در بیشتر ماههای سال جزو سبد روزانه خانوارها می‌باشد. تنش‌های زیستی و محیطی از بدو ورود مرکبات به ایران سبب آسیب‌های بزرگی به باغ‌های مرکبات بوده است. آسیب از تنش‌ها در نتیجه تولید رادیکال‌های فعال اکسیژن است. به منظور پیشگیری یا کاهش اثر تنش‌ها برخی ترکیبات بیوشیمیایی گونه‌ها و ارقام مختلف مرکبات، اثر پایه و پیوندک و اثر تیمارهای شیمیایی از قبیل سالسلیک اسید اسکوربیک اسید، پلی‌آمین، کلسیم و گلایسین بتائین بر رقم لیموآب مورد بررسی قرار گرفت. نتایج بررسی‌ها نشان داد تحمل تنش‌ها به میزان پروتئین‌ها، آنتی‌اکسیدان‌ها و مواد شیمیایی سازگار داخلی و یا به کاربرد خارجی ترکیبات آنتی‌اکسیدان و سازگار بستگی دارد. به‌علاوه کاهش پراکسیده شدن لیپید سیستم‌های غشایی ، حفظ سطح کلروفیل و قندهای محلول موجب تحمل به تنش‌های آبی، شوری، سرما و یخبندان گردید. بنابراین برای تولید اقتصادی مرکبات در بیشتر نقاط ایران می‌توان پیش‌بینی‌های مناسبی ارائه کرد. آینده برخی رویکردهای پژوهشی با بهره‌گیری از فناوری‌های نوین می‌تواند نوید بخش تحول، افزایش بهره‌وری و گسترش کیفی مرکبات باشد.

واژه‌های کلیدی: مرکبات، تنش، رادیکال‌های اکسیژن

مقدمه

مرکبات یکی از مهمترین میوه‌هایی است که علاوه بر مصرف خوراکی در صنایع متعددی از ترکیبات مختلف آن استفاده می‌شود. از اوائل قرن 1300 که آغاز ورود مرکبات به ایران است، ارقام مختلف مرکبات در معرض تنش‌های زیستی و محیطی قرار داشته‌است. تنش‌های غیر زیستی چندین برابر نسبت به بیماریها و آفات طی این سال‌ها به تولید مرکبات خسارت وارد کرده‌است (فتوحی قزوینی و فتاحی مقدم، 1389).

تغییرات و صدمات ظاهری ناشی از تنش‌ها، به واکنش‌های فیزیولوژیکی و مولکولی درون سلول‌ها مربوط می‌باشد. تنش‌ها رادیکال های فعال اکسیژن (AOS) را در سلول‌های گیاهان افزایش می‌دهند و به سیستم های غشا و دیگر فرآیندهای سلولی آسیب می زنند. سیستم های آنتی اکسیدانی به صورت آنزیمی و غیرآنزیمی، نقش مهمی در ایجاد تعادل و جلوگیری از آسیب اکسیداسیونی ایفا می کنند. گونه‌های اکسیژن واکنش‌پذیر همیشه در واکنش به تنش‌های غیر زنده مشکل‌ساز نیستند (Alexieva et al, 2003). گاهی این رادیکال‌ها نقش حیاتی در مکانیزم دفاعی گیاه به عنوان مولکول‌های سیگنالی دارند. به عنوان نمونه پراکسید هیدروژن قابلیت حرکت سریع در سیتوپلاسم را دارد. به دلیل اینکه در فضای سیتوپلاسم مقادیر زیادی آنتی‌اکسیدان وجود دارد بنابراین در خارج از غشای پلاسمایی با مقادیر کمتر، آنتی‌اکسیدان تجمع می‌یابد. این تجمع باعث افزایش دفاع سلولی در برابر یک تنش جزئی و در نتیجه ترکیبات سلول را در برابر سایرتنش‌های خارجی محافظت می‌نماید (Pastori and Foyer, 2002).

تنش‌ها از مسیرهای دیگر بر فعالیت فرایندهای فتوسنتز، تنفس، سوخت وساز نیتروژن، سنتز پروتئین و چندین فرآیند دیگر تاثیر دارند. برخی مکانیسم‌های ویژه شامل فعال شدن عوامل پیغامرسانی، تغییر بیان ژنی، تجمع مواد حل شونده سازگار، سنتز پروتئین‌های تنش، تغییر اسیدهای چرب، افزایش متابولیسم آنتی اکسیدانی، تسهیل انتقال از طریق غشا، تجمع پلی آمین‌ها و تنظیم تعادل هورمونی در میزان تحمل تنش‌های غیر زنده دخالت دارد واکنش به تنش‌های آبی و شوری، فتوسیستم 1 و 2 را تحت تاثیر قرار می‌دهد. این دو پیگمان

در مرحله انتقال انرژی، فتوسنتز، تولید ATP و تولید NADPH دخالت دارند. همچنین بسته شدن روزنه ها و کاهش آب، میزان بکار گیری الکترون در چرخه احیای کربن کاهش می یابد. کاهش در برخی فعالیت های بیوشیمیایی به خوبی با کاهش در هدایت روزنه ای در ارتباط است. با ادامه تنش و تنفس نوری، پدیده گرسنگی در گیاه ظاهر می‌شود. به‌علاوه در این تنش‌ها تنش اکسیداسیونی هم رخ می دهد (فتوحی قزوینی، و همکاران، 1390).

سرما و یخبندان از تنش‌هایی است که درختان میوه با آن مواجه هستند. ولی باغ‌های مرکبات در اغلب سال‌ها فقط با تنش یخبندان روبرو می شوند. مهمترین آثار تنش سرما آسیب به غشاء شناخته شده است که در پی آن نشت یونی، اختلال در فتوسنتز و کاهش انرژی رخ می‌دهد. آسیب یخبندان به دلیل تشکیل بلور های یخ در فضای بین سلولی و داخل سلول (بر حسب شدت و مدت تنش) است که ممکن است غشاء و اندامک ها دچار پارگی شوند. تنش‌های دمای پائین نیز در سطح سلولی در تولید رادیکال‌های اکسیژن دخالت دارند (فتوحی قزوینی، و همکاران، 1390). با توجه به شرایط اقلیمی متفاوت در مناطق مختلف ایران، تنش‌ها از مهمترین عوامل خسارت‌زا به مرکبات شناخته شده‌است. برآیند تنش‌ها بر اساس پژوهش‌های صورت گرفته افزایش رادیکال‌های فعال اکسژن است. به منظور کاستن آسیب تنش‌ها و ارائه راهکارهای عملی به باغداران مرکبات، طی پژوهش‌هایی وضعیت بیوشیمیایی ارقام، گونه‌ها بررسی شد. همچنین تاثیر مصرف برخی ترکیبات شیمیایی بر تغییرات صفات فیزیولوژیکی رقم حساس به تنش‌ها، مورد مطالعه قرار گرفت.

مواد و روش‌ها

در قالب طرح‌های مستقل پژوهش‌هایی صورت گرفت. میزان آنتی‌اکسیدان‌ها و فنل‌ها از قبیل آسکوربات پراکسیداز، کاتالاز، سوپراکسیددیسموتاز، پراکسیداز، کاتالاز....و نیز میزان کلروفیل، پروتئین، پرولین و چندین صفت فیزیولوژیکی مثل نشت یونی و میزان رطوبت نسبی در برخی گونه‌ها و ارقام مرکبات در شرایط اقلیمی مختلف مورد بررسی قرار گرفت. سپس تاثیری که پایه و پیوندک‌ها در برابر تنش دارند بر مبنای اندازه‌گیری تعدادی از صفات بیوشیمیایی مطالعه شد. با انتخاب رقم حساس به تنش، تاثیر خارجی برخی ترکیبات آنتی‌اکسیدان مانند آسکوربیک اسید، سالسیلیک اسید که در گیاهان زراعی یا برخی گیاهان علفی در ایجاد مقاومت به تنش مؤثر بود مورد ارزیابی قرار گرفت. به جهت نقش شگرفی که برخی ترکیبات درون‌زا بر مقاومت به تنش دارند کاربرد ترکیباتی مثل گلایسین بتائین، اسپرمین و اسپرمیدین و کلسیم جداگانه روی رقم حساس مرکبات آزمایش شد. در همه این آزمایش‌ها با فرض تولید رادیکال‌های فعال اکسیژن ناشی از تنش همواره شاخص‌های فیزیولوژیکی لیپیدپراکسیداسیون، سطوح‌آنتی‌اکسیدان‌ها، ظرفیت آنتی-اکسیدانی، فلورسانس کلروفیل، فنل‌ها، پروتئین، کربوهیدرات‌ها، نشت یونی و صفات ظاهری اندازه‌گیری شد. داده‌ها جداگانه تجزیه و تحلیل و در قالب گزارش‌ها ارائه گردید.

نتایج و بحث

از آزمایش‌های متعدد و مستقلی که صورت گرفته‌است فقط به برخی نتایج اشاره می‌شود. به منظور نشان دادن تفاوت گونه‌ها و ارقام مرکبات، اثر تغییرات فصول سال برگونه‌های نارنج، لیموشیرین و نارنگی انشو با اندازه‌گیری برخی صفات بررسی شد که به دو مورد اشاره می‌شود. ظرفیت آنتی اکسیدانی و آنزیم پراکسیداز این سه گونه متفاوت بود. بیشترین و کمترین ظرفیت آنتی اکسیدانی و آنزیم پراکسیداز به ترتیب در لیمو شیرین و نارنگی انشو دیده شد (نظری، 1390). در مطالعه‌ای دیگر صفات ظرفیت آنتی‌اکسیدانی و پراکسیداز در برگ گیاهان پرتقال محلی داراب، نارنگی کینو، پرشین لایم، لیمو آب و پرتقال والنسیا ارزیابی شد. داده‌ها تایید کرد که میزان این صفات در ژنوتیپ‌های مختلف متفاوت است. در حالیکه ظرفیت آنتی اکسیدانی نارنگی کینو در بالاترین سطح است ولی میزان پراکسیداز فقط در پرشین لایم و مکزیکن لایم در بالاترین سطح و در بقیه در پائین ترین سطح قرار داشت (عرب‌زاده، 1390). در آزمایشی دیگر که نارنگی پیج، پرتقال تامسون و نارنگی انشو روی سه پایه نارنج، سیترنج و پونسیروس پیوند شده بود میزان آنزیم

های آنتی اکسیدانی و ظرفیت آنتی اکسیدانی پس از رویارویی با تنش سرما و یخبندان متفاوت بود. با اندازه گیری آنزیم کاتالاز در رقم پیج روی این سه پایه بیشترین میزان کاتالاز روی پایه پونسیروس و سپس سیترنج و نارنج مشاهده شد. میزان پراکسیداسیون لیپد غشاء و نیز نشت یونی روی پایه پونسیروس کمترین میزان بود. واکنش متفاوت گونه‌ها و ارقام به شرایط متفاوت محیطی از قبیل یخبندان، pH خاک و آب آبیاری، درجه شوری و خشکی و غیره می‌تواند به میزان و نوع آنتی‌اکسیدان‌ها در آن گیاه مربوط باشد. زیرا در برابر هر نوع تنشی اولین حرکت سلول‌های گیاه تولید رادیکال‌های فعال اکسیژن است. همچنین نقش پایه و تاثیری که بر مقاومت گیاه برای تحمل تنش خاصی دارد ممکن است به آنتی اکسیدان‌ها و برخی ترکیبات سازگار محلول آن پایه مربوط باشد. آنتی‌اکسیدان‌ها موادی هستند که توان ایجاد تاخیر و یا کند نمودن سرعت اکسیداسیون مواد قابل اکسید شدن را دارند. این ترکیبات در حالت غیرآنزیمی مهار کننده رادیکال‌های آزاد و در نوع آنزیمی بازدارنده‌ی واکنش‌های پراکسیداز (تولیدکننده رادیکال‌های آزاد) هستند. بنابراین بر مبنای شاخص میزان و نوع آنتی‌آکسیدان‌ها، شاید بتوان میزان مقاومت گونه‌ها و ارقام را پیش‌بینی کرد (تاجور و همکاران، 2011).

اثر پلی‌آمین و کلسیم هر یک جدا گانه و یا توأم بر نهال لیمو آب در مواجه با تنش دماهای زیر صفر مطالعه شدکه در افزایش سطح پرولین، سوپراکسید دیسموتاز و پروتئین بصورت معنی‌داری مؤثر بود. به‌علاوه کلسیم و پرولین در رویارویی گیاه با یخبندان از افزایش لیپیدپراکسیداسیون جلوگیری نمود. بعبارت دیگر با بروز تنش یخبندان در صورتیکه مرکبات با پلی‌آمین یا کلسیم کلراید و یا ترکیب این دو ماده قبلا تیمار شده باشد بدلیل افزایش در پروتئین‌ها، آنتی‌اکسیدان‌ها و پرولین ممکن است گیاه تنش یخبندان را بخوبی تحمل نماید. پلی آمین‌ها مولکول‌های DNA را از تجزیه آنزیمی و نیز تخریب در اثر رادیکال‌های آزاد اکسیژن محافظت می کنند. میزان پلی آمین‌ها در گیاهان به طور چشمگیری در زمان رویارویی با تنش‌های زنده و غیرزنده افزایش می‌یابد . این ترکیبات نقش کلیدی در سازگاری گیاهان به شرایط تنش دارند. کلسیم به عنوان یک پیام رسان عمومی سیگنال‌های خارج موجب تنظیم عملکرد سلولها در پاسخ به تحریکات می‌شود. بسیاری از فرایندهای فیزیولوژیکی با تغییر در میزان کلسیم سیتوپلاسمی همراه است (نجف زاده، 1390).

تیمار آسکوربیک اسید بر لیمو آب در شرایط تنش شوری شدید از کاهش معنی دار پروتئین کل و برخی آنتی آکسیدان‌ها مانند آسکوربیک پراکسیداز جلوگیری کرد. همچنین آسکوربیک اسید توانست از شدت نشت یونی در شرایط حاد شوری بکاهد. به‌علاوه در غلظت‌های بالای نمک کلرورسدیم در خاک، محلولپاشی بخش هوایی نهال‌های لیموآب با آسکوربیک اسید، از کاهش شدید کلروفیل‌های a و b ممانعت کرد. داده‌های این آزمایش نشان داد تیمار با برخی آنتی‌اکسیدان‌ها موجب مهار رادیکال‌های اکسیژن شده و درنتیجه از تخریب غشاء سلول و اندامک‌های درون سلول جلوگیری می‌نماید. استفاده از آسکوربیک اسید در گیاهان یکساله بطور مشابه بر قدرت دفاعی گیاه در مقابل تنش شوری افزود. تاثیر آنتی‌اکسیدان‌های آنزیمی بیشتر در دفاع‌های بین سلولی است و مکانیزم دفاعی اصلی در مقابل اکسیدان‌های برون سلولی به عهده انواع غیرآنزیمی می‌باشد (شهیدی و فتوحی، 1389).

سالسیلیک‌اسید در غلظت‌های بالاتر تا 2 میلی مولار سبب افزایش قندهای محلول، پرولین، و کارایی فتوشیمیایی شد. اثرات متقابل سالسیلیک اسید و دماهای زیر صفر بر کلروفیل، قندهای محلول، نشت یونی، کارایی فتوشیمیایی (FV/FM) در سطح یک در صد معنی دار گردید. کارایی سیستم دفاعی گیاه در برابر تنش‌ها از طریق میزان فعالیت متابولیت‌های ثانویه مشخص می‌شود (باغبانها و همکاران، 1386). ترکیبات فنلی متابولیت‌های ثانویه هستند که نقش مهمی در سیستم دفاعی و فیزیولوژی گیاه دارند. . فنل‌ها به روش‌های مختلفی با عوامل زنده و غیر زنده مقابله می‌کنند. در عوامل پاتوژنی ممکن است با اتصال به پروتئین‌ها بطور مستقیم و یا کلات کردن کوفاکتورها/سوبسترەها از آنزیم‌های هیدرولیزکننده یا سایر پروتئین‌های پاتوژن‌ها ممانعت کنند. آنزیم فنیل‌آلانین‌آمونیالیاز (پال) اولین آنزیم کلیدی مسیر فنیل پروپانوئید است. این مسیر در واقع خط تولید متابولیت‌های ثانویه است که توسط گیاهان آلی هدایت شده و

اساسا در مکانیزم‌های دفاعی نقش دارند. عملکرد آنها به عنوان مولکول‌های سیگنالی است که بارزترین نمونه آن اسید سالیسیلیک است. از طرفی غالب آنها آنتی‌اکسیدان‌های قوی بوده و ممکن است در سازگاری به تنش اکسیداتیو فعال باشند (Pesarakly, 2002).

محلولپاشی گلایسین بتائین در غلظت‌های 2/5، 5، 7/5 و 10 میلی مول روی اندام هوایی نهال‌های لیموآب و سپس قرار دادن نهال‌ها در معرض دماهای زیر صفر و خشکی در قالب آزمایش‌های جداگانه نشان داد برخی صفات فیزیولوژیکی تفاوت معنی داری با شاهد ندارند. در حالیکه با افزایش تنش برنهال‌های لیموآب (دمای پائین تا 6- درجه سانتی‌گراد و خشکی تا 25 درصد FC) ، غلظت‌های 5 میلی مول و بالاتر گلایسین بتائین توانست نسبت به شاهد از کاهش برخی صفات دیگر مثل پروتئین کل و آنزیم پراکسیداز ممانعت نماید (احمدیان، 1390). گیاهان تراژن با تولید فراوان گلایسین بتائین، مقاومت بیشتری در برابر تنشهای شوری، سرما، خشکی یا دمای بالا نشان داده‌اند (Ashraf and foolad, 2007).

نتیجه گیری

برای تحمل به تنش در گونه‌ها و ارقام مرکبات ضمن جلوگیری از افزایش رادیکال‌های اکسیژن و نیز تنظیم اسمزی، غشاءهای سلول و فعالیت اندامک‌ها حفظ می‌شود. بررسی‌های بیوشیمیایی گونه‌ها، ارقام و اکوتیپ‌های موجود مرکبات، امکان معرفی پایه‌ها و ارقام جدید مقاوم‌تر را فراهم می‌نماید. به‌علاوه این مطالعات زمینه برنامه‌های به‌نژادی هدف‌دار را تقویت می‌نماید. از طرف دیگر، استفاده از ترکیبات آنتی‌اکسیدان و یا محلول‌های سازگار قبل از وقوع تنش، ممکن است مرکبات را حداقل برای دوره‌ای معین و محدود در برابر تنش محافظت نماید.

منابع

احمدیان، ش. 1390. اثرگلایسین بتائین بر مقاومت گیاهچه های لیموآب شیراز (*Citrus aurantifolia*) نسبت به تنش‌های دمای پایین و خشکی. پایان نامه کارشناسی ارشد، دانشکده علوم کشاورزی، دانشگاه گیلان.

باغبانها، م.ر.، فتوحی قزوینی، ر.، حاتم زاده، ع. و حیدری، م. 1386. اثر اسید سالیسیلیک بر مقاومت به تنش یخ زدگی در دانهال های لیمو آب شیراز. مجله علوم و فنون باغبانی ایران. جلد 8، شماره 3: 198-188.

شهیدی، هادی. و ر. فتوحی قزوینی. 1389. اثر اسیدآسکوربیک در کاهش تنش اکسیداتیو ناشی از تنش شوری در دانهال‌های لیموآب شیراز. مجله علوم وفنون باغبانی ایران. جلد 11، شماره 2

عرب زاده، ع. 1390. مطالعه تغییرات فصلی بر فعالیت آنتی اکسیدان‌ها در برگ برخی از ارقام مرکبات در استان فارس. پایان نامه کارشناسی ارشد، دانشکده علوم کشاورزی، دانشگاه گیلان.

فتوحی قزوینی، ر. و ج. فتاحی مقدم 1389. پرورش مرکبات درایران. دانشگاه گیلان. ص. 305

فتوحی قزوینی، ر.، م. حیدری و ا. هاشم پور. 1390. فیزیولوژی و بیولوژی مولکولی تحمل تنش در گیاهان. انتشارات جهاد دانشگاهی مشهد. ص. 360

نجف زاده، م. 1389. بررسی کاربرد پلی آمین و کلسیم بر مقاومت به دمای پائین در گیاهچه‌های لیمو آب. پایان نامه کارشناسی ارشد. دانشکده علوم کشاورزی، دانشگاه گیلان.

نظری، م. 1390.، بررسی تغییرات فصلی بر روی فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی در برگ‌های برخی از ژنوتیپ‌های مرکبات شمال ایران. پایان نامه کارشناسی ارشد. دانشکده علوم کشاورزی، دانشگاه گیلان.

Alexieva, V., S. Ivanov, I.Sergiev and E. Karanov. 2003. Interaction between stresses. Bulg.J.Plant Physiol. Sepecial Issue, 1-17.

Ashraf, M. and M.R. Foolad. 2007. Roles of glycine betaine and proline in improving plant abiotic stress resistance. Environmental and Experimental Botany 59: 206–216.

Pessarakli, M. 2002. Handbook of plant and crop physiology. P 973. Marcel Dekker. New York. USA.
Tajvar, Y., R. Fotouhi Ghazvini, Y. Hamidoghli, and R. Hassan Sajedi. 2011. Antioxidant Changes of Thomson Navel Orange (Citrus sinensis) on Three Rootstocks under Low Temperature Stress. Hort. Environ. Biotechnol. 52(6):576-58

Environmental Stress and Citrus Resistance Based on Biochemical Traits

R. Fotouhi Ghazvini
Professor of Horticultural Department, University of Guilan, Rasht, Iran

Abstract
Citrus fruits are used as the most popular fruit after apple by families throughout the years. By coming *Citrus* cultivars to Iran, biotic and abiotic stresses have large been injured to citrus orchards. Stress damages accompany by production of poisonous activated oxygen species. In order to control or decreasing stress strains internal biochemical of different species and cultivars, effects of scion and rootstocks and application of some compatible compounds were studied on Mexican lime as sensitive *Citrus* cultivar. The results showed stress tolerance depends on the protein amounts, antioxidants and compatible solutes or exogenous chemical compounds. In addition, resistance to water, salinity and low temperature stress correlated with lower lipid peroxidation of membrane systems and protection of chlorophyll and soluble sugars. Therefore, in order to produce economic citrus plants in different areas of Iran it can be suggested some suitable ideas. Research future using modern technologies can develop citrus orchards and increase the quality of fruits.
Keywords: Citrus, Stress, Activated oxygen species