بررسی آناتومی اپیدرم برگ پایه‌های دانهالی پسته در سطوح مختلف رطوبتی

مصطفی قاسمی [۱*]، کاظم ارزانی [۱]، عباس یدالهی [۱]، حسین حکم آبادی [۲]
۱- گروه باغبانی دانشگاه تربیت مدرس، تهران. ۲- دانشیار موسسه تحقیقات پسته کشور.
* نویسنده مسئول

چکیده

در این بررسی تراکم روزنه و تعیین ابعاد روزنه(طول و عرض) در چهار پایه دانهالی پسته به ترتیب توسط میکروسکوب نوری و الکترونی(SEM) تعیین گردید. نتایج نشان داد که تیمار آبیاری، نوع پایه و برهمکنش آنها، اثرات معنی داری روی تراکم روزنه و طول روزنه داشتند. اثر آبیاری روی عرض روزنه معنی دار بود در حالیکه پایه و برهمکنش آبیاری و پایه اثرات معنی داری روی این پارامتر نداشتند. بیشترین تراکم و کمترین طول و عرض روزنه در تیمار شدید آبی مشاهده شد. پایه های بنه با میانگین ۵۳۰/۳۰ و قزوینی با میانگین ۴۰۴/۰۴ روزنه در میلیمتر مربع به ترتیب بیشترین و کمترین تراکم روزنه را دارا بودند. بیشترین طول روزنه نیز متعلق به این دو پایه بود. پایه های مورد بررسی تفاوت معنی داری از نظر اندازه عرض روزنه نشان ندادند. تفاوت های آناتومیکی ممکن است به عنوان یک روش غربال اولیه برای انتخاب پایه های متحمل به خشکی باشد.

مقدمه

اغلب گیاهان رشد یافته در اقلیم های مدیترانه ای در معرض تنش های گرما و خشکی هستند، لذا اغلب آنها مکانیسم های مورفولوژیکی، آناتومیکی، فیزیولوژیکی، بیوشیمیایی و متابولیکی به منظور سازگاری و زنده ماندن دارا می باشند (Belhadj *et al*, 2007., Bosabalidis and Kofidis, 2002., Elfadl and Luukkanen, 2006) ویژگی های آناتومیکی از قبیل تراکم بالای روزنه، کاهش اندازه روزنه و روزنه های عمیقا فرورفته می تواند به عنوان مشخصه گیاهان خشکی پسند باشد (Martins and Zieri, 2003., Belhadj *et al*, 2007). ویژگی های روزنه از قبیل فراوانی و ابعاد روزنه به میزان زیادی تحت تاثیر نوع گونه و فاکتورهای محیطی می باشند(Munir *et al*., 2011., XueJun and XinShi, 2000). تنش های محیطی مانند خشکی اغلب روی ویژگی های برگ اثر می گذارند(XueJun and XinShi, 2000). در محیط هایی با غلظت پایین دی اکسیدکربن، گیاهان شاخص روزنه ای بالاتری دارند اما در محیط های غنی از دی اکسید کربن(اغلب در جاده ها) شاخص روزنه ای پایین تر می باشد (Munir *et al*, 2011). Belhadj *et al*(2011) گزارش کردند که در گونه آتلانتیکا تراکم روزنه ای با افزایش ارتفاع محل کاهش یافت. بررسی های میکروسکوپی روزنه امکان بررسی تفاوت های کمی و کیفی در بین گیاهان را فراهم می سازد. EL-Oqlah(1996) گزارش کردند که تفاوت های آناتومیکی می تواند به عنوان ویژگی تاکسونومیکی مهمی برای تمایز بین گونه های بسیار مشابه پسته مورد استفاده قرار گیرد. جنس پسته یک گیاه خشکی زی می باشد(Belhadj, 2007). و ایران یکی از مراکز منشا و تنوع آن می باشد. مطالعات آناتومیکی کمی روی پایه های پسته صورن گرفته است. بنابراین در این بررسی سلولهای اپیدرمی چهار پایه پسته رشد یافته در سه سطح آبیاری ارزیابی شدند.

مواد و روش ها

در این بررسی، ما آناتومی اپیدرم برگ چهار پایه دانهالی پسته را که در شرایط گلخانه رشد یافته بودند بررسی کردیم. پایه های مورد بررسی بادامی زرند، قزوینی، سرخس و بنه بودند. سه پایه اول ، ارقامی از گونه *Pistacia vera* هستند و پایه بنه ازگونه *Pistacia mutica* می باشد. بذور پایه های پسته از موسسه تحقیقات پسته کشور تهیه گردیدند ودر اواخر زمستان در گلدان های ۱۱ لیتری کشت

شدند. دمای متوسط روزانه گلخانه ۲۷-۳۵ درجه سانتیگراد، دمای متوسط شبانه ۱۹-۲۵ درجه سانتیگراد و رطوبت نسبی ۵±۷۳ درصد بود. پس از رشد و مراقبت های لازم از گیاهان، تیمارهای آبیاری روی دانهال های ۴ ماهه اعمال شد. تیمارهای آبیاری شامل سه سطح آبیاری شاهد یا ۱۰۰ درصد ET_c، تنش متوسط یا ۶۵درصد ET_c و تنش شدید یا ۳۰ درصد ET_c بودند. برای اعمال تنش از روش وزن کردن گلدان ها استفاده شد. در ابتدای آزمایش، گلدانها آبیاری شدند و اجازه داده شد آب زهکش آنها خارج و به وزن ثابتی برسند. با وزن کردن گلدانها ، در گیاهان شاهد همواره همه مقدار آب تبخیر و تعرق شده از گیاه و سطح خاک به گلدان ها برگردانده می شد. اما در تیمار تنش متوسط ، ۶۵ درصد و در تیمار شدید، ۳۰ درصد آبی که به گیاهانی شاهد داده می شد به گلدان ها اضافه می گردید. ۶۰ روز پس از اعمال تنش، آناتومی اپیدرم برگ دانهال ها ارزیابی شد. تعیین تراکم روزنه ها در سطح زیرین برگ ها توسط میکروسکوپ نوری انجام گرفت. برای این منظور اپیدرم زیرین برگچه ها توسط لایه نازکی از برق ناخن پوشش داده شد. بعد از چند دقیقه که این لایه به اندازه کافی خشک شد لایه ای از نوار چسب پلاستیکی روی آن چسبانده شد. سپس نوار چسب را به همراه لایه برق ناخن باقی مانده روی برگ را جدا و روی لام های میکروسکوپی قرار داده شد (Banon *et al*, 2004., Al-Saghir and Porter, 2005., Belhadj *et a*l, 2011). نمونه ها توسط میکروسکوپ نوری(مدل Olympus، بزرگنمایی10 x برای عدسی چشمی و 100 xبرای عدسی شیئی) مشاهده شدند و روزنه ها در بخش میانی برگچه ها شمارش شدند. اندازه گیری ابعاد روزنه ها(طول و عرض) و تریکوم ها در بخش زیرین برگ توسط میکروسکوپ الکترونی (SEM) انجام گردید. برای بررسی توسط این میکروسکوپ، یک بخش ۵ میلیمتر مربعی از سطح برگ روی پایه های مخصوص ثابت گردیدند(Belhadj *et al*., 2007) و توسط دستگاه مخصوص با طلا پوشش دار شدند و توسط میکروسکوپ الکترونی بررسی شدند. برای تعیین عرض روزنه ها هر دو سلولهای نگهبان روزنه در نظر گرفته شدند. همه نمونه ها از برگچه های کاملا توسعه یافته در موقعیت مشابه گرفته شدند. در هر برگ، پنج اندازه گیری صورت گرفت. داده ها توسط نرم افزار SPSS آنالیز شدند.

نتایج و بحث

بر اساس نتایج تجزیه واریانس، آبیاری، پایه و برهمکنش آنها اثرات معنی داری روی تراکم و طول روزنه داشتند. اثرات آبیاری روی عرض روزنه معنی دار بود اما پایه و برهمکنش آبیاری و پایه اثرات معنی داری روی این پارامتر نداشتند. اثر آبیاری روی تراکم، طول و عرض روزنه در جدول ۱ نشان داده شده است. بیشترین تعداد روزنه در تیمار شدید آبی بدست آمد. کمترین طول و عرض روزنه نیز متعلق به تیمار تنش شدید آبی بود. نتایج نشان داد در ویژگی های پایه های بررسی شده تنوع وجود داشت(جدول ۲). بالاترین و پایین ترین تراکم روزنه ای در سطح زیرین برگ به ترتیب متعلق به پایه بنه (۵۳۰/۳ در میلیمتر مربع) و قزوینی (۴۰۴/۰۴ در میلیمتر مربع) بود. پایه های بنه و قزوینی بیشترین و بادامی و سرخس کمترین طول روزنه را دارا بودند. تفاوت معنی داری در عرض روزنه ها مشاهده نگردید. برهمکنش آبیاری و پایه اثرات معنی داری روی تراکم روزنه و طول روزنه داشت. در حالیکه این اثر روی عرض روزنه بی معنی بود.

جدول ۱. اثر آبیاری روی تراکم، طول و عرض روزنه چهار پایه پسته

	عرض روزنه (میکرومتر)	طول روزنه (میکرومتر)	تراکم روزنه (تعداد در میلیمتر مربع)
شاهد(آبیاری کامل)	14.91b	24.45b	460.85a
۶۵ درصد آبیاری کامل(تنش متوسط)	16.14a	25.37a	407.19b
۳۰درصد آبیاری کامل(تنش شدید)	14.77b	23.41c	479.79a

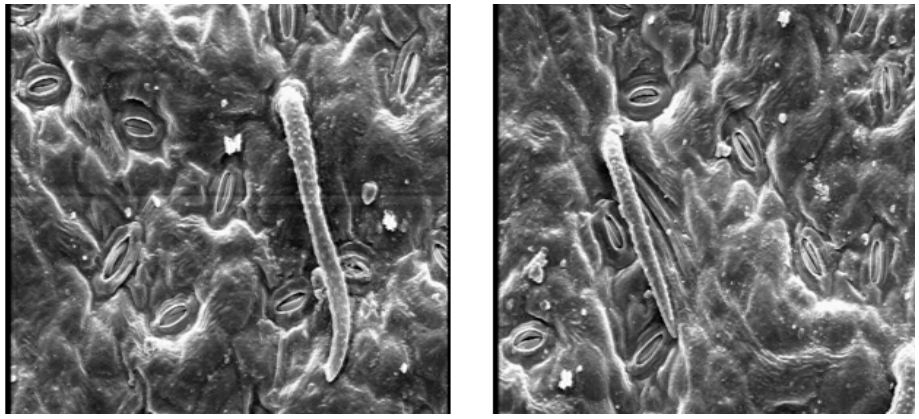
تفاوت های معنی دار در هر ستون با حروف متفاوت نشان داده شده است(P = 0.05, Duncan test)

جدول۲. اثر پایه روی تراکم، طول و عرض روزنه

پایه	عرض روزنه (میکرومتر)	طول روزنه (میکرومتر)	تراکم روزنه (تعداد در میلیمتر مربع)
Pistacia mutica	15.19 a	25.33 a	530.30 a
P. vera 'Badami'	14.85a	23.61 b	450.33 b
P. vera 'Ghazvini	15.55a	25.33a	404.04c
P. vera 'Sarakhs'	15.50a	23.38b	412.45bc

تفاوت های معنی دار در هر ستون با حروف متفاوت نشان داده شده است(P = 0.05, Duncan test)

. در مطالعه حاضر در پایه بنه تریکوم هایی مشاهده شد در حالیکه سایر پایه ها فاقد تریکوم بودند(شکل ۱). وجود تریکوم در این پایه مشخصه ای تمایز کننده می باشد. میانگین طول و عرض تریکوم ها به ترتیب ۸۸/۶۶ و ۱۰ میکرومتر بود



شکل ۱. تریکوم های مشاهده شده در سطح زیرین برگ پایه بنه توسط میکروسکوپ الکترونی

نتایج این بررسی نشان داد که در ویژگی سلولهای اپیدرمی مانند اندازه روزنه، شکل روزنه، سلولهای اپیدرمی و وجود یا عدم وجود تریکوم در بین پایه ها تنوع وجود داشت. تریکوم های مشاهده شده در پایه بنه شاخصی از وجود مکانیسم مقاومت به خشکی در این پایه می باشد. Munir و همکاران (۲۰۱۱) نیز حضور تریکوم های غیر غده ای را در سطح رویی برگ پسته اینتگریما گزارش کردند. در بعضی از گیاهان خشکی دوست روزنه ها اغلب فرورفته می باشد و توسط تریکوم ها پوشیده شده اند تا بدینوسیله از دست دادن آب را کاهش دهند(Stace, 1965., Fahn, 1967). Ozeker and Misirli(۱۹۹۹) گزارش کردند که بین تعداد روزنه و عرض برگ پسته همبستگی منفی وجود داشت که این با نتایج ما مطابقت دارد.Yang و همکاران(۲۰۰۴) همبستگی مثبتی بین تراکم روزنه و کارایی مصرف آب و همبستگی منفی بین نسبت عرض به طول روزنه و کارایی مصرف آب یافتند. در اقلیم های خشک، گیاهان تراکم روزنه ای بالاتر، روزنه های کوچک تری با طول و عرض کمتری دارند تا تعرق را کنترل و آب بیشتری را ذخیره

کنند(Bosabalidis and Kofidis, 2002 and Belhadj *et al*, 2011, Hetherington and Woodward, 2003). Muradoglu and Gundogdu(2011) تراکم روزنه برگ های گردو را ۲۷۳/۲۱ در میلیمتر مربع گزارش کردند.

تنش آبی تراکم روزنه پایه های پسته را افزایش داد و بیشترین تراکم در شدیدترین سطح تنش مشاهده شد. این یافته ها می تواند برای تشخیص و تمایز بین دو گونه یا به منظور بهبود ژنتیکی مقاومت به خشکی مورد استفاده قرار گیرد.

منابع

Al-Saghir, M.G. and D.M. Porter. 2005. Stomatal distribution in pistacia sp.(Anacardiaceae). International Journal of Botany. 1(2):183-187.

Banon, A., J.A. Fernandez, J.A. Franco, A. Torrecillas, J.J. Alarcon, and M.J. Sanchez- Blanco. 2004. Effects of water stress and night temperature preconditioning on water relations and morphological and anatomical changes of *Lotus creticus* plants. Sci. Hort. 101:333-342.

Belhadj, S., A. Derridj, A. Moriana, M.D.C. Gijon, J.P. Mevy, and T. Gauquelin. 2011. Comparative analysis of stomatal characters in eight wild atlas pistachio populations (*Pistacia atlantica* Desf.; Anacardiaceae). International Research Journal of Plant Science. 2(3): 060-069.

Belhadj, S., A. Derridj, T. Aigouy, C. Gers, T. Gauquelin, and J.P. Mevy. 2007. Comparative morphology of leaf epidermis in eight populations of atlas pistachio (*Pistacia atlantica* Desf., *Anacardiaceae*). Microscopy research and technique. 70:837–846.

Bosabalidis, A.M. and G.Kofidis. 2002. Comparative effects of drought stress on leaf anatomy of two olive cultivars. Plant Sci. 163:375–379.

Elfadl, M.A. and O. Luukkanen. 2006. Field studies on the ecological strategies of *Prosopis juliflora* in dry land ecosystem 1. A leaf gas exchange approach. J. Arid Env. 66:1-15.

El-Oqlah, A.A. 1996. Biosystematic research on the genus *Pistacia* in Jordan. In: Padulosi S, Caruso T, Barone E, editors. Taxonomy, distribution, conservation and uses of Pistacia genetic resources (Workshop). Palermo, Italy, June 29–30, 1995. pp. 12–19.

Fahn, A. 1967. Plant anatomy. First edition. Pergamon Press. Exeter. 534 p.

Muradoglu, F. and M. Gundogdu. 2011. Stomata size and frequency in some walnut (*Juglans regia*) cultivars. international journal of agriculture & biology 13:1011–1015.

Hetherington, A.M. and F.I. Woodward. 2003. The role of stomata in sensing and driving environmental change. Nature. 424: 901-908.

Martins, M.B.G. and R. Zieri, 2003. Leaf anatomy of rubber-tree clones. Sci Agric 60:709-713.

Munir, M., M.A. Khan, M. Ahmed, A. ,Bano, S.N. Ahmed, K. Tariq, S. Tabassum, T. Mukhtar, M. Ambreen, and S. Bashir. 2011. Foliar epidermal anatomy of some ethnobotanically important species of wild edible fruits of northern Pakistan. Journal of Medicinal Plants Research. 5(24):5873-5880.

Ozeker, E. and A. Misirli. 1999. A study of stomatal distribution and leaf characteristics in some citrus species and cultivars. *3. Turkish National Horticulture Congress in Ankara, Turkey,* 14-17.

Stace, C.A. 1965. Cuticular studies as an aid to plant taxonomy. Bull. Bri. Mus. (Natural History). Bot. 4:1-78.

XueJun, D., and Z. XinShi. 2000. Special stomatal distribution in *Sabina vulgaris* in relation to its survival in a desert environment. Trees. 14: 369-375.

Yang, T.Z., X.Y. Zhang, and G.X.Wang. 2004. Relationships between stomatal character, photosynthetic character and seed chemical composition in grass pea at different water availabilities. Journal of Agricultural Science. 142:675-681.

Study of foliar epidermal anatomy of pistachio seedling rootstocks under different irrigation levels

M. Ghasemi[*1], K. Arzani[1], A. Yadollahi [1], H. Hokmabadi[2]

[1] Department of Horticultural Science. Tarbiat Modares University (TMU), PO Box 14115-336 Tehran, Iran.

2. Iran's Pistachio Research Iinstitute (IPRI)

*Corresponding author

Abstract

In this study stomata density and dimension (length and width) of four pistachio seedling rootstocks were detemined by light microscope and scanning electron microscope (SEM), respectively. The results showed that irrigation, rootstock and their interaction had significant effects on stomata density and stomata length. Effect of irrigation on stomata width was significant while rootstock and interaction of irrigation and rootstock had no significant effects on stomata width. The highest stomata density and the lowest stomata length and width were obtained in severe water stress. The rootstocks *P. mutica* with mean of 530.30 and *P. vera* 'Ghazvini with mean of 404.04 no/mm^2 had the highest and the lowest stomata density, respectively. These two rootstocks also had the highest stomata length. The studied rootstocks showed no significant difference in case of stomata width. Anatomical differerences may be useful as an initial screening method for selection of drought resistance rootstocks.