بررسی افزایش تحمل پونسیروس به تنش خشکی با استفاده از زیست محرک آمینول فورته

رقیه راهب(١)، بهروز گلعین(٢)، بابک باباخانی(١)

١- دانشجوی کارشناسی ارشد رشته زیست شناسی و هیأت علمی دانشگاه آزاد تنکابن، ٢- هیأت علمی مؤسسه تحقیقات مرکبات کشور

تأثیر مثبت زیست محرک ها و از آن جمله آمینول فورته به عنوان ترکیبات حاوی اسیدهای آمینه و الیگوپپتیدهای فعال زیستی با قابلیت جذب بالا از راه برگ و ریشه در فرآیندهای مختلف رشد و نموی گیاهان و مقاومت در برابر تنش ها و شرایط نامناسب محیطی از جمله سرما و گرمای شدید، خشکی و شوری گزارش شده است. در این پژوهش به منظور کاهش تنش خشکی در پونسیروس به عنوان پایه، از زیست محرک آمینول فورته استفاده شد. این آزمایش بصورت فاکتوریل در قالب طرح آماری کاملاً تصادفی با ترکیبی از ٤ سطح آمینول فورته (صفر (شاهد)، ٠/٢٪ ، ٠/٣٥٪ ، ٠/٥٪) و سه سطح مختلف تنش کم آبی (فاصله ٣، ٦ و ٩ روز) در ٣ تکرار (هر تکرار ٣ نهال) در روی پایه پونسیروس، انجام شد. بعد از سه مرحله محلولپاشی نهال ها و انجام تنشهای کم آبی، علائم ظاهری آنها (درصد کلروز و نکروز شدن برگها) از لحاظ مقاومت به تنش خشکی مورد بررسی قرار گرفت و صفاتی همچون میزان پرولین، پروتئین و مالوندآلدئید، برگ با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر اندازه گیری شد. سپس داده ها پس از تجزیه آماری با نرم افزار MSTAT-C مورد مقایسه قرار گرفتند. براساس خصوصیات ظاهری، نهال های تیمار شده با غلظت بالای آمینول فورته (٠/٥٪)، علائم کمتری از خشکی نشان دادند. علائم در بعضی از آنها فقط در حد لوله ای شدن برگ بود اما در نهال های شاهد اکثر برگ ها کاملاً کلروز شده و بعضی نیز ریزش داشتند. همچنین طبق نتایج بدست آمده از تجزیه برگ، میزان پراکسیداسیون لیپید (مالون دی آلدئید) تحت تنش کم آبی در تیمار با غلظت های بالای آمینول فورته، کاهش معنی داری نسبت به شاهد داشته است که بیانگر کاهش میزان خسارت اکسیداتیو در این گروه می باشد. مقدار پرولین در سطح ٠/٣٥٪ پرولین و پروتئین در تیمار ٠/٥٪ آمینول فورته تحت شرایط تنش کم آبی افزایش معنی داری نسبت به شاهد از خود نشان دادند که این بیانگر افزایش تحمل نهالها به خشکی در غلظت بالای آمینول فورته نسبت به شاهد بود.

واژگان کلیدی : پروتئین، پرولین، تنش خشکی، مالون دآلدئید، مرکبات.

مقدمه :

خشکی یکی از تنش های محیطی است که روی اکثر مراحل رشد گیاه، ساختار اندام و فعالیت آنها آثار مخرب و زیان‌آوری وارد می سازد (ایران نژاد و شهبازیان، ١٣٨٤). از جمله روش های قابل استفاده برای مقابله با خشکی در مرکبات استفاده از زیست محرک هاست که در این تحقیق از زیست محرکی به نام آمینول فورته استفاده شد. زیست محرک آمینول‌فورته مایعی است حاوی ١٩ اسید آمینه‌ی آزاد و الیگوپپتیدهای فعال زیستی با قابلیت جذب سریع برگی، فعال کننده و تنظیم کننده-ی متابولیسم گیاهی است که برای تمام محصولات زراعی، گل خانه‌ای و باغی، به ویژه به هنگام بروز استرس های ناشی از کشت متمرکز، شرایط نامناسب جوی مانند سرما و گرمای شدید، خشکی، تگرگ، طوفان و عوامل شیمیایی نظیر سم‌پاشی از آن استفاده می گردد (بی نام، ١٣٨٦).

مواد و روش تحقیق :

این آزمایش بصورت فاکتوریل در قالب طرح آماری کاملاً تصادفی با ترکیبی از ٤ سطح آمینول فورته (صفر (شاهد)، ٠/٢٪ ، ٠/٣٥٪ ، ٠/٥٪) و سه سطح مختلف تنش کم آبی (فاصله ٣، ٦ و ٩ روز) در ٣ تکرار (هر تکرار ٣ نهال) در روی پایه پونسیروس، انجام شد. بعد از سه مرحله محلولپاشی نهال ها و انجام تنشهای کم آبی، علائم ظاهری آنها (درصد کلروز و نکروز شدن برگها) از لحاظ مقاومت به تنش خشکی مورد بررسی قرار گرفت. بعد از تهیه نمونه برگی و پودر کردن برگ ها

با ازت مایع، صفاتی همچون میزان پرولین (با استفاده از روش بیتس (۱۹۷۳))، پروتئین (با استفاده از روش لوری (۱۹۵۱)) و مالون دآلدئید (با استفاده از روش های هیت و پکر (١٩٦٨) و میر (۱۹۹۲)) اندازه گیری شدند. سپس داده ها پس از تجزیه آماری با نرم افزار MSTAT-C مورد مقایسه قرار گرفتند.

یافته ها و بحث :

علائم ظاهری : از لحاظ ظاهری نهال هایی که با غلظت ۰/۵٪ آمینول فورته تیمار شده بودند، علائم کمتری از خشکی را نشان دادند. علائم در بعضی از آنها فقط در حد لوله ای شدن برگ بود. اما در نهال های شاهد با غلظت صفر آمینول فورته اکثر برگ ها کاملاً کلروز شده و بعضی نیز ریزش داشتند.

پرولین : نتایج حاصل از جدول تجزیه واریانس نشان می دهد که میزان پرولین در شرایط تنش خشکی با تیمار آمینول‌فورته در رقم پونسیروس در سطح ۱٪ افزایش معنی داری داشته است.

همان طور که از جدول مقایسه میانگین مشخص است بیشترین مقدار پرولین مربوط به پایه ای بود که با غلظت ۰/۳۵٪ آمینول فورته محلولپاشی شده بودند. بیشترین مقدار مربوط به تیمارهایی بود که ٦ تا ۹ روز تحت تنش کم آبی قرار گرفته بودند و کمترین مقدار مربوط به نهال های شاهدی بود که هیچ گونه محلول پاشی روی آنها صورت نگرفته بود.

بر اساس تحقیقات صورت گرفته تجمع پرولین رابطه مثبت و مستقیم با افزایش مقاومت به کم آبی در تنش های کم‌آبی ایجاد شده در گیاهان دارد (Heuer, 1994) که ما نیز به همین نتیجه دست یافتیم. جدول ۲ افزایش معنی دار مقدار پرولین در گیاهان تحت تنش کم آبی را در پایه پونسیروس نشان می دهد. به نظر می رسد کاربرد آمینول فورته که خود مجموعه ای از ۱۹ اسید آمینه مختلف است، در این تحقیق باعث افزایش سازگاری اسمزی در طی تنش شده باشد.

پروتئین : براساس داده های جدول نتایج تجزیه واریانس (جدول ۱) میزان پروتئین در شرایط تنش خشکی در تیمار آمینول فورته در پایه پونسیروس معنی دار نشده است. همانطور که می دانیم تنش خشکی سبب کاهش پروتئین کل در بخش هوایی و زیرزمینی گیاه می شود. تخریب پروتئین ها و انباشت برخی از اسیدهای آمینه در جهت حفظ تنظیم اسمزی تحت شرایط خشکی در گیاهان زراعی و باغی گزارش شده است (Izzo et al., 1990). همانطور که از جدول مقایسه میانگین مشخص است (جدول ۲)، بیشترین مقدار پروتئین در تیمار ۰/۵٪ آمینول فورته تحت ۳ روز تنش خشکی مشاهده می شود. هرچه به روزهای خشکی افزوده می شود میزان پروتئین کاسته می شود ولی این مقدار در مقایسه با نهال های شاهد کاهش کمتری داشته است. در آزمایش انجام شده غلظت های بالای آمینول فورته سبب شده نهال موردنظر ما مقاومت بیشتری نسبت به تنش کم آبی از خود نشان دهد چرا که سبب افزایش سطح پروتئین و اسیدهای آمینه گشته و سلول کمتر مجبور به تخریب پروتئین های خود جهت حفظ تنظیم اسمزی گشته است.

پراکسیداسیون لیپید : نتایج حاصل از تجزیه واریانس نشان می دهد (جدول ۱) که میزان مالون دآلدئید در شرایط تنش خشکی در تیمار آمینول‌فورته در پایه پونسیروس معنی دار نشده است. همانطور که جدول مقایسه میانگین نشان می‌دهد، بیشترین مقدار در پایه پونسیروس مربوط به غلظت ۰/۲٪ آمینول فورته بوده است.

میزان مالون دآلدئید شاخصی از پراکسیداسیون لیپیدها در نظر گرفته شده است. در این آزمایش مقدار مالون دآلدئید بیشتری دارند. همانطور که در جدول مقایسه میانگین اثر متقابل اثر دوره های آبیاری و آمینول فورته مشخص است (جدول ۲)، گیاهانی که بیشتر خشکی دیده اند (٦ و ۹ روز) نسبت به آنهایی که ۳ روز در خشکی بودند، دارای مالون دآلدئید بیشتری هستند که بیشترین مقدار در تیمار ۰/۲٪ و تحت ۹ روز تنش خشکی مشاهده می شود که این نشان می دهد خسارت اکسیداتیو به مقدار کمتری در گیاهان تیمار شده با آمینول فورته رخ داده است.

همانطور که می‌دانیم کمبود آب تنش اکسیداتیو ایجاد می‌کند که این تنش باعث اختلال در اعمال فیزیولوژیکی سلول می‌شود. تنش ثانویه مذکور بدلیل تولید رادیکال‌های آزاد اکسیژنی است‌که در محیط سلول ایجاد می‌گردد (Moon et al.,2004). رادیکال های آزاد در درون سلول باعث آسیب رساندن به لیپیدها و اسیدهای چرب غشایی شده و رادیکال های لیپید و پراکسی و هیدروپراکسی تولید می کند. رادیکال های جدید تولید شده می توانند واکنش های اکسیداسیون لیپیدها را تسریع کنند. مالون دآلدئید به عنوان شاخص مناسبی برای پراکسیداسیون لیپید غشاء محسوب می شود. برای خنثی کردن اثر سمی گونه های اکسیژن فعال یک سیستم آنتی اکسیدان خیلی مؤثر مورد نیاز است که در سلول های گیاهی دو سیستم غیرآنزیمی و آنزیمی این نقش را بر عهده دارند که بسیاری از گیاهان وقتی در محیط خشک قرار می گیرند آسیب های جدی به آنها وارد شده و بر مقدار مالون دآلدئید آنها افزوده می شود (Ashraf, 1994). ایجاد تنش اکسیداتیو در سلول ها می تواند در حضور آمینول فورته تعدیل شود. در نتیجه مقاومت سلول به این تنش بیشتر می شود. در آزمایش حاضر مشاهده شد که مقدار پراکسیداسیون لیپید القاء شده بوسیله تنش کم آبی در نهال های مرکبات تیمار شده با آمینول فورته نسبت به گیاه شاهد بطور معنی داری کاهش یافته است. کاهش تجمع مالون دآلدئید در تیمار آمینول فورته توأم با تنش کم آبی احتمالاً نشان دهنده کاهش پراکسیداسیون لیپید و سالم ماندن بیشتر غشاء تحت کم آبی می باشد.

جدول ١- تجزیه واریانس صفات مختلف پونسیروس

منبع تغییرات	درجه آزادی	پرولین	پروتئین	مالون دآلدئید
تکرار	٢	١٣/٦٩١ ns	٠/٣١٦ ns	٠/٠٠١ ns
A فاکتور	٣	١٢٦٥٩/٣٣٥ **	٠/١٦٣ ns	٠/٠٠٢ ns
B فاکتور	٢	٣١٧٤/٩٠٧ *	٠/٣١٣ ns	٠/٠٠٤ *
AB	٦	٢٣٣٤/٣٤٤ *	٠/٢٦٧ ns	٠/٠٠١ **
خطا	٢٢	٦٦٨/٨٨٤	٠/٢٤٣	٠/٠٠١
CV		٪٣٩/٤٢	٪٦٦/٧١	٪٢٠/٤٣

ns ، * ، ** به ترتیب غیرمعنی دار و معنی دار در سطوح احتمال ٥ و ١ درصد

جدول ۲- مقایسه میانگین اثر متقابل غلظت آمینول فورته در دوره های مختلف آبیاری

تیمار	پرولین	پروتئین	مالون دآلدئید
۱	۲۸/۳۷d	۰/٦۳۳۳ab	۰/۰۳٦۳۳ab
۲	۱۹/۰۲d	۰/۳۳۳۳b	۰/۰٤۰٦۷ab
۳	۹/۹۵۲d	۱/۱۲۷ab	۰/۰٦۰۰۰ab
٤	۵۹/۵۵bcd	۰/۷٦۳۳ab	۰/۰۱۰۳۳ab
۵	۳۱/۲٤d	۰/٦۹۳۳ab	۰/۰۳٦٦۷ab
٦	٦۲/۹۷bcd	۰/٤٤۳۳ab	۰/۰۹۵۰۰a
۷	٤٤/۷۷cd	۰/۹۷۰۰ab	۰/۰۱۳٦۷ab
۸	۱۱٦/٦ab	۰/٦۳۰۰ab	۰/۰۱۷۰۰ab
۹	۱۳۰/۱a	۰/٤۷۰۰ab	۰/۰۲۹۰۰ab
۱۰	٦۳/۲۲bcd	۱/۳۲۳a	۰/۰۱۲٦۷ab
۱۱	۹۸/۵۳abc	۰/۸۱۳۳ab	۰/۰۳٤۳۳ab
۱۲	۱۲۲/۹ab	۰/٦۷۳۳ab	۰/۰۳۲۰۰ab

مقایسه میانگین ها با استفاده از آزمون چند دامنه ای دانکن انجام شده است، حروف غیرمشابه در هر ستون بیانگر اختلاف معنی دار می‌باشد.

نتیجه گیری :

با توجه به نتایج بدست آمده از جدول تجزیه واریانس، کاربرد محلول آمینول فورته با اعمال تیمار خشکی در سه مرحله زمانی ۳، ٦ و ۹ روز، اثر مثبت و معنی داری در میزان پرولین، پروتئین و پراکسیداسیون لیپید داشته است. ولی ترویج و اشاعه این زیست محرک به مروجین و کشاورزان نیازمند تحقیق و بررسی بیشتری است.

مراجع :

۱) ایران نژاد، حمید و ن، شهبازیان. ١٣٨٤. مقاومت گیاهان زراعی به تنش های محیطی، انتشارات کارنو.

۲) بی نام. ١٣٨٦. دستورالعمل استفاده از محصولات شیمیایی شرکت ایناگروپارس، انتشارات شرکت ایناگروپارس.

3) Ashraf,M.Y.,A.R.Azmi, A.H.Khan& S.A.Ala.1994.Effect of water stress on total phonols,peroxidase activity and chlorophyll content in wheat. Acta Physiologiae Plantarum.16(3):185-191.

4) Heuer,B.1994.Osmoregulatory role of prolin in water and salt stressed plants .pp.363-481.in:MPessaraki(Ed), Handbook of plant and crop stress. Marcel Dekker pub., New York.

5) Izoo.F.N.,Quartacausecci,M.F,and Izzo,R.1990.water stress induced change in protein and free amino acid in field-grown maize and sunflower. Plant Physiol.Biochem. 28:531-537.

6) Moon, D.G., S.W,Ko., Y.H.Kim and Y.h, Choi. 2004. Effect of water stress on soluble solids and acidity in various sized fruit of Satsuma Mandarin, Proc.Int.Soc.Citriculture, 2004.674-678.

Investigation drought tolerance in sour orange (poncirus trifoliata) by Aminol Forte (a bioactivator)

Roghayeh Raheb [1*] - Behrooz Golein [2] – Babak Babakhani [3]

1,3 : M.Se. Student Department of Biology and Scientific board of Azad University (Tonekabon)

2: Scientific board of Citrus Research Institue

* E-mail : r_raheb56@yahoo.com

Abstract

The positive effects of Bio-stimulators such as AminolForte reported as compounds which containing aminoacids and active oligopeptids with high absorption ability, by leaves and roots in plants, also resistance against abiotic stresses and unsuitable environmental conditions (such as severe hot and cold climates), spraying poison, drought and salinity. In order to decrease the drought stress in sour poncirus rootstock, an experiment was conducted as factorial based on randomized completely design that utilized four different levels of AminolForte (control, 0.2%, 0.35% and 0.5%) and three different irrigation times (3,6 & 9 days intervals) at three replications with three plants in each experimental unit. After three times spraying with AminolForte and doing water stress, leaf samples were harvested and powdered with nitrogen liquid. Prolin, protein and malondialdehyde, contents were analyzed by spectrophotometer. Data was compared with MSTAT-C after statistics analysis. The treated rootstocks by 0.5% AminolForte, showed less symptoms of drought stress than control ones. Results of ANOVA showed that, treatments have significant effects on amount of Prolin, Protein and Malondialdehyde. This indicate that, AminolForte coud increase the plant tolerance to drought.

Keywords : Protein, Prolin, Drought stress, Malondialdehyde, Poncirus.