اثر تنش خشکی بر برخی ویژگی‌های فیزیولوژیک و تحمل به یخ‌زدگی در دو رقم تاک

افسانه باباجمالی[۱]، مهدیه غلامی[۲*]، بهرام بانی‌نسب[۲]

[۱ و ۲] دانشجوی کارشناسی ارشد و دانشیار گروه علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه صنعتی اصفهان

نویسنده مسئول: Mah.gholami@iut.ac.ir

چکیده

دمای پایین یکی از تنش‌های مهم محیطی است که منجر به آسیب‌های فیزیولوژیکی به یاخته در گیاهان حساس به یخبندان زمستانه و بهاره و ازبین‌رفتن محصولاتی مانند انگور می‌شود. در این تحقیق امکان افزایش تحمل تنش سرمایی در نهال‌های تاک به‌وسیله‌ی تنش خشکی ارزیابی شد. آزمایش در دانشکده کشاورزی دانشگاه صنعتی اصفهان به‌صورت اسپلیت پلات در قالب طرح کامل تصادفی در چهار تکرار در شرایط گلخانه اجرا گردید. فاکتورهای آزمایش شامل سه سطح تیمار خشکی (شاهد، قطع کامل آبیاری و آبیاری مجدد پس از قطع آبیاری) و دو سطح رقم (عسکری و یاقوتی) بودند. اعمال تنش دمای پایین، پس از اعمال تنش‌های خشکی و با قرار دادن نمونه‌ها در دماهای ۵،۰ ،۵- ،۱۰- ،۱۵- ،۲۰- ،۲۵- درجه سلسیوس انجام شد. نتایج نشان داد قطع آبیاری باعث افزایش معنی‌داری در مقدار مالون دی آلدئید، همچنین سبب کاهش در میزان محتوای نسبی آب، کلروفیل فلورسنس، کلروفیل کل و کاروتنوئید شد. به نظر می‌رسد رقم عسکری با حفظ بیشتر آب درون‌سلولی و تخریب کمتر غشای سلولی و افزایش فلورسنس کلروفیل، مقدار کلروفیل و کاروتنوئید نسبت به رقم یاقوتی به خشکی مقاوم‌تر باشد. همچنین مشاهده شد تیمار تنش خشکی، به‌طور مؤثری سرعت افزایش نشت یونی در هر سه بافت برگ، ساقه و ریشه را کاهش داد، به‌طوری‌که بافت ریشه گیاهان شاهد بدون تنش خشکی، دارای بالاترین میزان نشت یونی و کمترین مقاومت سرمایی و بافت ساقه گیاهان با تنش خشکی دارای کمترین میزان نشت یونی و بالاترین مقاومت سرمایی بودند.

واژگان کلیدی: کاروتنوئید، کلروفیل فلورسانس، مالون دی آلدئید، مقاومت سرمایی، نشت یونی

مقدمه

دمای پایین یکی از تنش‌های مهم محیطی است که رشد و عملکرد گیاهان در بسیاری مناطق دنیا را محدود می‌کند. ویژگی عمومی و مشترک طیف وسیعی از گونه‌های گیاهی این است که وقتی در معرض دمای پایین قرار می‌گیرند، دچار سرمازدگی می‌شوند. خسارات ناشی از تنش سرمایی ممکن است پس از ۴۸ الی ۷۲ ساعت قابل‌مشاهده باشند. ازجمله خسارات فیزیولوژیک این تنش کاهش محتوای آب نسبی، کاهش پتانسیل و در ادامه آماس برگ است (Joshi *et al*., 2007). تنش سرما به‌صورت مستقیم با ایجاد اختلال در واکنش‌های سوخت و سازی (متابولیکی) و به‌صورت غیرمستقیم با جلوگیری از جذب آب توسط گیاه و تنش اکسایشی (اکسیداتیو) قابلیت گیاهان را تغییر می‌دهد و اثر زیان‌باری بر رشد و نمو گیاهان دارد. در کشاورزی نوین برخی راهکارهای مقابله با آثار سوء تنش بر گیاهان شامل انتخاب رقم‌های متحمل، شناسایی و انتقال ژن‌های مقاومت به گیاهان به‌وسیله روش‌های مهندسی ژنتیک، استفاده از مواد شیمیایی و هورمون‌ها و تغییر عملیات تولید محصول می‌باشد. تغییر شرایط محیطی و تکنیک‌های کاشت در خزانه می‌تواند درجاتی از مقاومت به تنش‌های محیطی در گیاه را به وجود آورد (Ghanbari and Sayari(۱۳۹۶ تنش خشکی یا کمبود آب یکی از راه‌های مقاومت گیاه به تنش سرما است. کمبود آب بر جنبه‌های مورفولوژیکی و فیزیولوژیکی وابسته به مقاومت گیاهان به تنش‌های محیطی تأثیر می‌گذارد. تنظیم اسمزی، تغییر در میزان هورمون‌ها و هدایت روزنه‌ای، کاهش رشد قسمت هوایی، افزایش رشد ریشه‌ها ازجمله این اثرها می‌باشند که ممکن است سبب مقاومت گیاهان به تنش‌های بعدی شود. با مدیریت مصرف آب نیز می‌توان شرایط را به‌گونه‌ای فراهم نمود که گیاه تحت آن شرایط به پتانسیل بالقوه خود نزدیک‌تر شود و حداکثر عملکرد کیفی و کمی را تولید کند. به دلیل مکانیسم‌های فیزیولوژیکی و مولکولی و مکانیسم‌های درگیر در تعامل بین ژنوتیپ و محیط، واکنش‌های تاک‌ها به میزان آب موجود در خاک متفاوت می‌باشد (Hochberg *et al*., 2015). مطالعات مختلفی حاکی از آن است که آبیاری با افزایش محتوای آب نسبی خطر احتمالی یخزدگی سلول را افزایش می‌دهد و در مقابل تنش ملایم رطوبتی به‌خصوص در اواخر دوره‌ی رشد به بهبود مقاومت به سرما کمک می‌نماید

(Kozlowski and Pallardy, 2002). باتوجه‌به مطالب یادشده در این آزمایش تأثیر تیمار تنش خشکی ایجادشده بر تحمل به تنش یخزدگی در نهال‌های انگور و برخی پاسخ‌های فیزیولوژیک آن بررسی‌شده است.

مواد و روش

این آزمایش در گلخانه پژوهشی دانشکده کشاورزی دانشگاه صنعتی اصفهان، به‌صورت کرت‌های خردشده، در قالب طرح کاملاً تصادفی با چهار تکرار بر روی دو رقم انگور (عسکری و یاقوتی) و تیمار خشکی در سه سطح (شاهد، خشکی – آبیاری مجدد و خشکی مداوم) و تیمار سرما در هفت سطح دمایی (۵،۰، ۵–، ۱۰–، ۱۵–، ۲۰–، ۲۵– درجه سلسیوس) انجام شد. در این پژوهش، نهال‌های یک‌ساله انگور ارقام عسگری و یاقوتی تهیه گردید و در گلدان‌های پلاستیکی (قطر ۲۲) حاوی بستر ماسه و خاک (به نسبت ۲:۱) کشت و در شرایط گلخانه با دمای ۴±۲۵ و رطوبت نسبی ۵±۶۵ درصد نگهداری شدند. پس از استقرار کامل نهال‌ها، اعمال تیمار خشکی به‌صورت قطع کامل آبیاری بر روی دوسوم از نهال‌ها اعمال گردید. دوهفته پس از قطع کامل آبیاری، بر روی نیمی از گیاهان تحت تنش، آبیاری مجدد صورت گرفت. گیاهان شاهد در حالت ظرفیت زراعی نگهداری و دو روز یک‌بار آبیاری شدند. سه هفته پس از قطع کامل آبیاری، نمونه‌برداری جهت ارزیابی میزان مالون دی آلدئید، کلروفیل فلورسانس (Fv/Fm)، کلروفیل برگ (Arnon, 1949)، کاروتنوئید برگ (Arnon, 1949)، محتوای نسبی آب (Cherki *et al*., 2002) و پروتئین (Bradford, 1976) انجام شد. سپس به‌منظور ارزیابی مقاومت سرمایی توسط اندازه‌گیری نشت یونی (Lutts *et al*., 1996)، تنش دمای پایین، پس از اعمال تنش‌های خشکی و با قرار دادن نمونه‌ها به مدت یک ساعت در دماهای ۵،۰، ۵–، ۱۰–، ۱۵–، ۲۰–، ۲۵– درجه سلسیوس انجام شد و از سه بافت برگ، ساقه و ریشه برای آنالیز نمونه‌برداری شد. تجزیه واریانس داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار آماری SAS و مقایسه میانگین داده‌ها با استفاده از آزمون LSD در سطح احتمال ۵ درصد انجام گرفت.

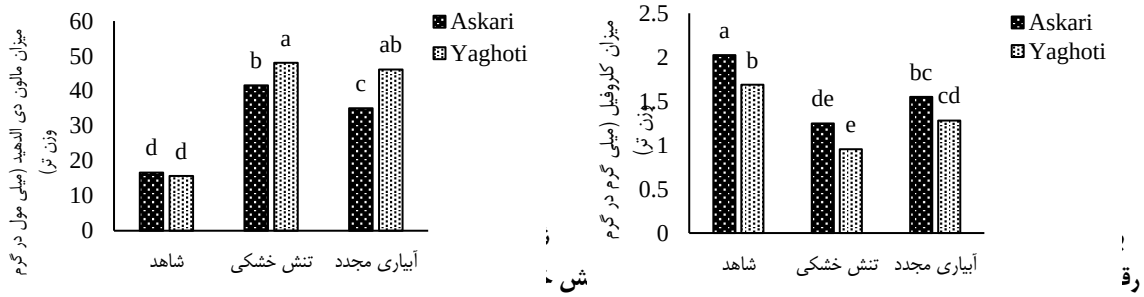
نتایج و بحث

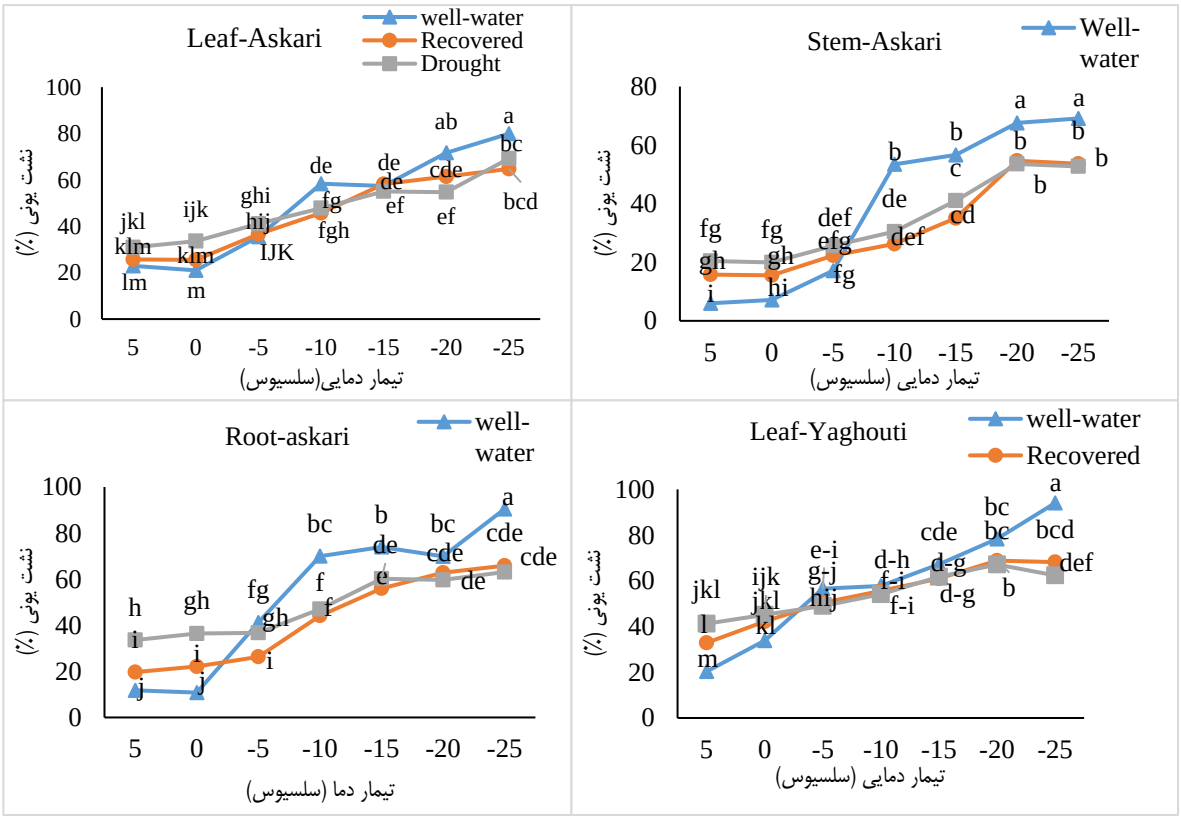
نتایج تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد که اثر تنش خشکی و رقم بر شاخص کلروفیل فلورسانس، میزان کاروتنوئید و محتوای نسبی آب در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار بود. تنش خشکی تأثیر معنی‌داری بر میزان پروتئین نشان داد ($P<0.01$) (جدول ۱). همچنین برهم‌کنش معنی‌داری ازلحاظ میزان مالون دی آلدئید در سطح احتمال یک درصد و کلروفیل کل بین رقم و تنش خشکی در سطح پنج درصد مشاهده شد (شکل ۱). نتایج تجزیه واریانس داده‌ها نشان داد که اثر تنش خشکی، تنش سرما و برهم‌کنش بین خشکی و سرما بر میزان نشت یونی بافت برگ، ساقه و ریشه در هر دو رقم (عسکری و یاقوتی) در سطح احتمال یک درصد معنی‌دار بود (شکل ۲). قطع کامل آبیاری سبب کاهش ۱۱/۱۱، ۴۸/۶۵ و ۶۸/۴۴ درصدی به ترتیب در میزان شاخص فلورسانس کلروفیل، کاروتنوئید و محتوای آب نسبی نسبت به شاهد گردید درحالی‌که آبیاری مجدد موجب افزایش معنی‌داری در میزان آنها نسبت به سطح خشکی شد. میزان هر سه شاخص در رقم عسکری نسبت به رقم یاقوتی بیشتر بود (جدول ۱). کاهش Fv/Fm عمدتاً به‌خاطر وقوع آشفتگی در کلروپلاست است و کاهش مقدار کلروفیل نیز این موضوع را تأیید می‌کند. در تحقیقی ارقامی که دارای بیشترین میزان کلروفیل و کاروتنوئید بودند، مقاومت بیشتری به تنش خشکی داشتند. در شرایط تنش کم‌آبی فاکتورهای لازم برای سنتز کلروفیل کاهش و تخریب آن افزایش می‌یابد؛ به‌عبارت‌دیگر در شرایط تنش کم‌آبی، گیاه با بسته نگه‌داشتن روزنه‌ها در طی روز، سعی در حفظ محتوای نسبی آب خود دارد، در این زمان انتقال الکترون در فتوسیستمII مختل شده و الکترون اضافی ناشی از فتولیز آب، باعث تولید اکسیژن فعال و خسارت به غشای سلولی از طریق پراکسیداسیون چربی‌ها، پروتئین‌ها و کاهش محتوای کلروفیل گیاه می‌گردد. همچنین تنش خشکی موجب ازبین‌رفتن مرکزهای واکنش فتوسنتزی می‌شود. ازآنجاکه کاروتنوئیدها عمدتاً در ارتباط با مراکز فتوسنتزی یافت می‌شوند، ازدست‌رفتن کاروتنوئیدها طی تنش خشکی انتظار می‌رود (Zhao *et al*., 2018). قطع کامل آبیاری سبب افزایش معنی‌داری میزان مالون دی آلدئید نسبت به شاهد گردید که بیشترین میزان در گیاهان رقم یاقوتی تحت تنش خشکی مشاهده شد (شکل ۱). افزایش محتوای مالون دی آلدئید در شرایط تنش خشکی و بالارفتن آن در رقم‌های حساس نشان‌دهنده‌ی تولید مقادیر زیادی از گونه‌های فعال اکسیژن در آن رقم‌ها است که با نتایج این تحقیق همخوانی دارد (Dimova *et al*., 2012). نتایج این پژوهش نشان داد که میزان پروتئین در برگ انگور تحت تأثیر تنش خشکی کاهش‌یافته است. برخی پژوهشگران نتایج مشابهی ارائه نمودند که در گیاهان مناطق خشک سنتز پروتئین در واکنش به کمی آب کاهش‌یافته (۴۰٪) و بیان ژن ها تحت تنش خشکی قرار گرفته است. سازش به تنش

خشکی در واقع نتیجه‌ای از تغییر بیان ژن می‌باشد، بنابراین ممکن است پروتئین‌های جدیدی سنتز شوند یا از فرم غیرفعال به فعال درآیند (Sierra-Almeida *et al*., 2016). ازآنجایی‌که در این پژوهش مقاومت به یخزدگی بر اساس نشت یونی محاسبه شده است، در رقم عسکری بیشترین میزان نشت یونی در سه بافت برگ، ساقه و ریشه به ترتیب ۷۹/۹۳، ۶۹/۱۰ و ۹۰/۴۵ درصد در گیاهان با آبیاری کامل در دمای ۲۵- درجه سلسیوس و کمترین میزان در دو بافت برگ و ریشه به ترتیب ۲۱/۰۴ و ۱۰/۷۹ درصد در گیاهان با آبیاری کامل در دمای صفر درجه سلسیوس و در بافت ساقه ۵/۹۹ درصد در دمای ۵ درجه سلسیوس مشاهده شد که با دمای صفر درجه سلسیوس اختلاف معنی‌داری نشان نداد. همچنین در رقم یاقوتی بیشترین میزان نشت یونی در سه بافت برگ، ساقه و ریشه به ترتیب ۹۴/۰۱، ۷۶/۱۴ و ۹۰/۴۵ درصد در گیاهان با آبیاری کامل در دمای ۲۵- درجه سلسیوس و کمترین میزان در هر سه بافت برگ، ساقه و ریشه به ترتیب ۲۰/۳۱، ۸/۳۶ و ۱۲/۸۶ درصد در گیاهان با آبیاری کامل در دمای ۵ درجه سلسیوس مشاهده شد. نتایج همچنین نشان داد که کاهش دما از صفر درجه به ۱۰- درجه سلسیوس سبب افزایش میزان نشت یونی در هر دو رقم و هر سه بافت گیاهان تنش دیده و تنش ندیده شد ولی سرعت افزایش میزان نشت یونی در هر دو رقم و هر سه بافت برگ، ساقه و ریشه گیاهان تنش ندیده به‌مراتب بالاتر بود که این میزان در رقم یاقوتی بیشتر از رقم عسکری بود. تأثیر تنش سرما بر میزان نشت الکترولیت‌ها بسته به میزان تحمل یخزدگی ارقام و بافت‌های مختلف گیاهی متفاوت است؛ لذا به نظر می‌رسد شیب منحنی درصد نشت الکترولیت‌ها در مقابل دمای یخزدگی در رقم متحمل (عسکری) کمتر از رقم حساس (یاقوتی) بوده است. در مطالعه حاضر مشاهده شد تیمار تنش خشکی، به‌طور مؤثری سرعت افزایش نشت یونی در هر سه بافت را کاهش داد، به‌طوری‌که بافت ریشه گیاهان شاهد بدون تیمار تنش خشکی، دارای بالاترین میزان نشت یونی و کمترین مقاومت سرمایی و بافت ساقه گیاهان با تیمار تنش خشکی دارای کمترین میزان نشت یونی و بالاترین مقاومت سرمایی بودند (شکل ۲). سازگاری به سرما مستلزم تغییر در جنبه‌های فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی سلول‌ها از قبیل کاهش محتوای آب بافت‌ها و افزایش محتوای پروتئین‌های محلول است که هم‌زمان با کاهش تدریجی دما در گیاهان ایجاد می‌شود. به نظر می‌رسد تیمار تنش خشکی با بهبود وضعیت گیاه توسط مکانیسم‌های فیزیولوژیکی موجب سازگاری گیاه انگور به دمای پایین شده است (Sierra-Almeida *et al*., 2016). به‌عنوان‌مثال نشان‌داده‌شده است پیش تیمار خشکی با استفاده از پلی‌اتیلن گلایکول به‌طور معنی‌داری سبب کاهش میزان مالون دی آلدئید و حفظ ساختار غشا در نشاهای خیار تحت تنش سرما شد که با یافته‌های این تحقیق همخوانی دارد. به نظر می‌رسد حفظ ساختار غشا و جلوگیری از افزایش نشت یونی در قلمه‌های انگور تحت تنش سرما در نتیجه سازوکارهای ایجادشده در شرایط تنش خشکی باشد (Dong *et al*., 2013).

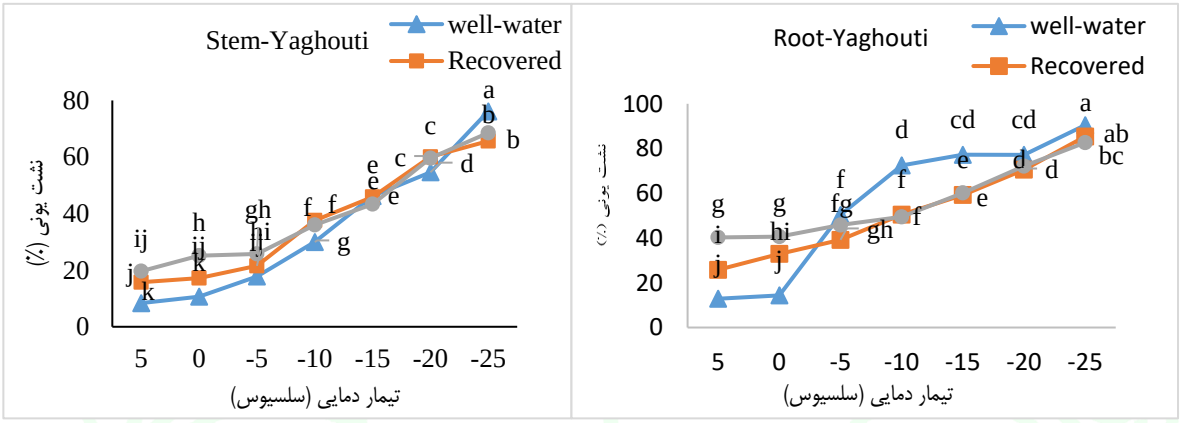
جدول ۱- مقایسه میانگین اثر ساده رقم و تنش خشکی بر میزان برخی شاخص‌های فیزیولوژیک

تیمار	کلروفیل فلورسانس	کاروتنوئید mg/g	محتوای نسبی آب (٪)	پروتئین mg/g
عسکری	a۰/۷۹	a۰/۳۹	a۶۳/۶۳	a۰/۰۶
یاقوتی	b۰/۷۵	b۰/۲۴	b۵۴/۴۱	a۰/۰۶
شاهد	a۰/۸۱	a۰/۳۷	a۸۱/۲۷	a۰/۰۷
خشکی	c۰/۷۲	c۰/۱۹	c۴۴/۹۶	b۰/۰۵
آبیاری مجدد	b۰/۷۸	b۰/۳۱	b۵۳/۸۴	b۰/۰۵





در سطح احتمال ۵ درصد اختلاف LSDمالون دی آلدئید و کلروفیل در نهال انگور. ستون‌های دارای حروف مشترک بر اساس آزمون معنی‌داری ندارند



شکل ۲- مقایسه میانگین برهم‌کنش تنش خشکی و زمان پس از شروع تنش بر میزان نشت یونی در هر سه بافت برگ، ساقه و ریشه در دو رقم عسکری و یاقوتی انگور. حروف مشترک بر اساس آزمون LSD در سطح احتمال ۵ درصد اختلاف معنی‌داری ندارند.

منابع

قنبری، ف. و سیاری، م. ۱۳۹۶. بهبود تحمل به سرمای نشاهای گوجه‌فرنگی با پیش تیمار تنش خشکی. مجله علوم باغبانی ایران. ۴۸: ۶۷۹-۶۶۹.

Arnon, D. I. 1949. Copper enzymes in isolated chloroplasts. Polyphenoloxidase in Beta vulgaris. Plant Physiol, 24: 1-5.

Bradford, M. M. 1976. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. Anal. Biochem, 72: 248-254.

Cherki, G.H., A. Foursy and K. Fares. 2002. Effects of salt stress on growth inorganic ions and proline accumulation in relation to osmotic adjustment in five suger beet cultivars. Enviorn. Exp. Bot. 47:39-50.

Dimova, D., Krasteva, L., Panayotov, N., Svetleva, D., Dimitrova, M. and Georgieva, T. 2012. Evaluation of the yield and the yield stability of perspective lines of barley. Агрознање, 13: 55-60.

Dong, X., Bi, H., Wu, G. and Ai, X. 2013. Drought-induced chilling tolerance in cucumber involves membrane stabilisation improved by antioxidant system.Int. J. Plant Prod, 1:67-80.

Hochberg, U., Degu, A., Cramer, G. R., Rachmilevitch, S. and Fait, A. 2015. Cultivar specific metabolic changes in grapevines berry skins in relation to deficit irrigation and hydraulic behavior. Plant Physiol. Biochem. 88: 42-52.

Joshi, S., Chandra, S. and Palni, L. 2007. Differences in photosynthetic characteristics and accumulation of osmoprotectants in saplings of evergreen plants grown inside and outside a glasshouse during the winter season. Photosynthetica 45: 594-601.

Kozlowski, T. and Pallardy, S. 2002. Acclimation and adaptive responses of woody plants to environmental stresses. Bot. Rev. 68: 270-334.

Lutts, S., Kinet, J. and Bouharmont, J. 1996. NaCl-induced senescence in leaves of rice (*Oryza sativa* L.) cultivars differing in salinity resistance. Annu. Bot. 78: 389-398.

Sierra-Almeida, A., Reyes-Bahamonde, C. and Cavieres, L. A. 2016. Drought increases the freezing resistance of high-elevation plants of the Central Chilean Andes. Oecologia. 181: 1011-1023.

Zhao, J. h., Li, H. X., Zhang, C. Z., Wei, A., Yue, Y., Wang, Y.J. and Cao, Y. L. 2018. Physiological response of four wolfberry (*Lycium* Linn.) species under drought stress. J. Int. Agri. 17: 603-612.

Effect of drought stress on some physiological characteristics and freezing tolerance in two grapevine cultivars

Afsaneh babajamali[1], Mahdieh gholami[*2], Bahram baninasab[2]
[1,2.] M. Sc. Student and associate professor, Department of Horticultural Science, Faculty of Agriculture, Isfahan University of Technology
[*]*Mah.gholami@iut.ac.ir*

Abstract

Low temperature is critical environmental stress that leads to numerous physiological disturbances in the cells of freezing-sensitive plants on winter and spring, resulting in freezing injuries and death of plants such as grapevine. In this study, the possibility of freezing stress tolerance enhancement of grapevine seedlings by imposing drought stress was investigated in the greenhouse of the agricultural faculty of Isfahan University of Technology, Iran. The experiment was set up as a split plot in a completely randomized design with two factors, including grapevine cultivars at two levels (Askari and Yaghouti) and drought stress (control or well-watered, drought stress by withholding irrigation, and re-irrigation (recovery) of drought-stressed plants). Low-temperature stress was applied after applying drought stresses and placing the samples at temperatures of 5,0, -5, -10, -15, -20, -25 degrees Celsius. The results showed that withholding irrigation increased malondialdehyde (MDA) and reduced the relative water content (RWC), chlorophyll fluorescence (Fv/Fm), total chlorophyll, and carotenoid. The cultivar Askari through better control of lipid peroxidation and leaf water content increased Fv/Fm, increased chlorophyll, carotenoid appear to be more drought-resistant than the Yaghouti cultivar. It was also observed that drought stress treatment effectively reduced the rate of electrolyte leakage in all three-leaf, stem, and root tissues so that the root tissue of control plants without drought stress had the highest electrolyte leakage and the lowest freezing tolerance and plants stem tissue with drought stress had the lowest electrolyte leakage and the highest freezing tolerance.

Keywords: Carotenoid, Chlorophyll fluorescence, Electrolyte leakage, Freezing tolerance, Malondialdehyde