اثرات تنش خشکی بر خصوصیات روابط آبی سلول بادام در شرایط درون شیشه‌ای

اصغر صفرزاده قویدلان[۱] ، علی ایمانی[۲] ، حامد ترکمن[۳*]، مریم عباسی[٤]

[۱]دانشجوی کارشناسی ارشد دانشگاه پیام نور تهران

[۲]دانشیار پژوهشکده میوه‌های معتدله و سرد سیری مؤسسه تحقیقات باغبانی، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی ،تهران،ایران

[۳] دانشجوی دکتری تخصصی دانشگاه نازلو، ارومیه، آذربایجان غربی، ایران

[۴] کارشناس ارشد موسسه آموزش عالی مهرگان محلات، محلات، مرکزی، ایران

نویسنده مسئول : *torkman1990@gmail.com*

چکیده

در این پژوهش اثرات تنش خشکی بر خصوصیات روابط آبی سلول نمونه‌های بادام کشت‌شده در شرایط درون شیشه‌ای موردبررسی قرار گرفت. در این آزمایش از ۵ رقم تجاری سهند، سفید، 4-12-k، G(35-8) و G(6-8) در ۴ سطح مختلف پلی‌اتیلن گلیکول شامل ۰، ۲، ۴ و ۶ درصد که به ترتیب معادل ۰، ۰/۱۴، ۰/۳۶- و ۰/۶۶- بار پتانسیل آب می‌شود به‌عنوان سطوح مختلف تنش خشکی به مدت ۴ هفته قرار داده شدند. در پایان دوره تنش خصوصیات روابط آبی سلول از قبیل درصد اتلاف آب نسبی، درصد آب حفظ‌شده برگ، درصد محتوای نسبی، شاخص پایداری غشاء و نشت یونی اندازه‌گیری شد. این پژوهش نشان می‌دهد که بین ارقام مختلف بادام ازنظر توانایی اتلاف آب نسبی در شرایط تنش خشکی تفاوت‌های ژنتیکی وجود دارد. در تمام ارقام با افزایش شدت تنش میزان نشت یون‌ها از سلول به‌طور معنی‌داری افزایش یافت. ازنظر محتوای نسبی آب برگ بین تیمارها اختلاف معنی‌داری وجود داشت و با افزایش شدت تنش اسمزی به‌طور معنی‌داری محتوای آب نسبی برگ ریز نمونه‌ها کاهش یافت. نتایج حاصل نشان می‌دهد که با افزایش شدت تنش خشکی، آب حفظ‌شده برگ ریزنمونه ها به‌طور معنی‌داری کاهش می‌یابد درصورتی‌که با افزایش شدت تنش خشکی، اتلاف آب نسبی ریزنمونه ها به‌طور معنی‌داری کاهش می‌یابد.

کلمات کلیدی: بادام، کشت بافت، پلی‌اتیلن گلیکول، روابط آبی سلول

مقدمه

تقاضای جهانی برای آب به‌شدت افزایش‌یافته است. با توجه به گزارش‌ها خروج کل سالانه آب از بخش‌های کشاورزی، شهرها و صنایع کمتر از 580 کیلومتر مکعب در سال ۱۹۰۰ بوده که به بیش از 3900 کیلومتر مکعب افزایش یافت است که تقریباً ۷۰ درصد از آن کشاورزی است. بیشترین میزان کاهش کل آب شیرین در جهان از طریق آبیاری بخش‌های کشاورزی مصرف‌شده است که برای کسب درآمد در تولید مواد غذایی ضروری است. آبیاری به‌این‌ترتیب، باعث کاهش خطرخشکسالی، افزایش درآمد روستایی و تنوع محصول افزایش می‌دهد (FAO.2018). تغییرات اقلیمی موجب افزایش دما، بارندگی در فصل‌های مختلف، کاهش مقدار آب‌های زیرزمینی و در بسیاری از مناطق بارش کمتر مشاهده‌شده است (Pray *et al.*, 2011). ژرم پلاسم های بومی وحشی ذخیره ژنتیکی ارزشمندی برای خصوصیات فیزیولوژیکی مهمی چون تحمل به خشکی هستند که می‌توانند مورد شناسایی قرارگرفته و در برنامه‌های اصلاحی استفاده شوند (Sorkheh *et al.*, 2012). کشت بافت ابزاری است که اغلب در مطالعات مکانیسم‌های تحمل تنش، ازجمله تنش‌های شوری و خشکی استفاده می‌شود که با به حداقل رساندن تغییرات محیطی و امکان کنترل دقیق محیط فیزیکی ازنظر وضعیت تغذیه و همگنی می‌توان خطاهای آزمایش را به حداقل برساند. پیش‌ازاین برنامه‌های تنش که به‌صورت سنتی انجام می‌گرفت تنظیم این پارامترها بسیار دشوار بود. علاوه بر این، کشت بافت نیاز به فضای فیزیکی نسبتاً کم برای نگهداری دارد (Tsago *et al*. 2013). این تحقیق بر آن است تا با استفاده از تکنیک کشت بافت پنج رقم از ارقام مهم تجاری بادام‌های ایرانی و خارجی را بر اساس خصوصیات مهم بیوشیمایی مرتبط باتحمل خشکی بررسی نماید و مناسب‌ترین رقم را از این نظر معرفی نماید تا از آنها در توسعه باغات بادام کشور و برنامه‌های اصلاحی آینده استفاده لازم به عمل آید.

مواد و روش‌ها

مراحل اجرای این آزمایش در اردیبهشت‌ماه ۹۶ آغاز گردید و پیش از نمونه‌برداری، محیط کشت موردنیاز در آزمایشگاه تهیه شد، برای تهیه ریز نمونه مناسب، شاخه‌های جوان و ترد رشد کرده سال جاری از ۵ رقم و ژنوتیپ شامل سفید، سهند، k-12-4، G(6-8) و G(35-8) درختان ۱۰ ساله موجود در کلکسیون ایستگاه تحقیقاتی پژوهشکده میوه‌های معتدله و سردسیری کرج وابسته به موسسه تحقیقات باغبانی کشور تهیه شد. آزمایش‌ها در آزمایشگاه کشت بافت در پژوهشکده میوه‌های معتدله و سردسیری کرج وابسته به موسسه تحقیقات باغبانی انجام گرفت. در این مطالعه بعد از ضدعفونی ریز نمونه‌ها مراحل استقرار، پرآوری و اعمال تنش تحت شرایط کشت درون شیشه‌ای موردبررسی قرارگرفته. این تحقیق به‌صورت یک آزمایش فاکتوریل شامل دو فاکتور در قالب طرح کاملاً تصادفی و در سه تکرار انجام شد. فاکتور اول ارقام و ژنوتیپ های بادام در ۵ سطح و فاکتور دوم تنش خشکی در ۴ سطح بوده که بر اساس پتانسیل اسمزی محلول غذایی (Ψ_S) برحسب مگاپاسکال تعیین شد. هر واحد آزمایشی شامل ۲ دانهال بود. تیمارها شامل ۴ سطح مختلف ماده اسموتیک پلی‌اتیلن گلیکول با جرم مولکولی ۶۰۰۰ با غلظت ۰، ۲، ۴ و ۶ درصد که به ترتیب معادل ۰، ۰/۱۴، ۰/۳۶ و ۰/۶۶ بار پتانسیل آب بود. مقادیر موردنیاز PEG برای برقراری پتانسیل‌های اسمزی موردنظر بر اساس دستورالعمل(Michel and Kaufmann 1973) به کمک رابطه ذیل تعیین گردید:

$$\Psi_S = -(1.18 \times 10^{-2})\, C - (1.18 \times 10^{-4})\, C^2 + (2.67 \times 10^{-4})\, CT + (8.39 \times 10^{-7})\, C^2T$$

در رابطه فوق، Ψ_S، C و T به ترتیب پتانسیل اسمزی (برحسب بار)، غلظت PEG-6000 (گرم در لیتر آب) و درجه حرارت محیط (درجه سانتی‌گراد) می‌باشند. ریزنمونه ها در 3 تکرار برای هر تیمار و به ازای هر ۵ رقم در محیط حاوی PEG کشت شد و به مدت ۴ هفته در این محیط باقی‌مانده تا تاثیر محیط تنش‌زا به‌طور کامل روی آنها نمایان شد و در این زمان بررسی‌های موردنظر روی خصوصیات روابط آبی سلول‌های آنها آغاز شد.

نتایج و بحث

نتایج تجزیه واریانس ویژگی‌های **روابط آبی سلول در ریزنمونه ها**

با توجه به جدول ۱ ملاحظه می‌شود که اثر رقم بر روی شاخص‌های ویژگی‌های روابط آبی سلول در ریزنمونه ها از قبیل نشت یونی، شاخص پایداری غشاء، محتوای نسبی آب، آب حفظشده برگ و اتلاف آب نسبی ریزنمونه در سطح ۱ درصد معنی‌دار بوده است. به‌عبارت‌دیگر اختلاف معنی‌داری بین ارقام مشاهده نمی‌شود. همچنین اثرات تیمار نیز بر روی شاخص‌های ویژگی‌های روابط آبی سلول رشدی در سطح ۱ درصد معنی‌دار بوده است. اثر متقابل رقم و تیمار بر روی شاخص‌های ویژگی‌های روابط آبی سلول در ریزنمونه ها از قبیل نشت یونی، شاخص پایداری غشاء، محتوای نسبی آب، آب حفظشده برگ و اتلاف آب نسبی ریزنمونه با توجه به جدول ۱ در سطح ۱ درصد معنی‌دار بوده است. استرس باعث تغییرات متعددی در گیاهان تحت پوشش شامل برگ‌های نسبی آب (RWC)، نشت الکترولیتی برگ (EL)، رنگ‌دانه‌های فتوسنتزی، کاروتنوئیدها و غیره می‌شود که باعث کاهش کارایی فتوسنتز و عملکرد می‌شود (Lonbani and Arzani, 2011) و پاسخ گیاه به استرس آب بسیار پیچیده است و ممکن است تحت تاثیر تغییرات در برخی عوامل ازجمله درجه و زمان مواجهه با تنش خشکی، مرحله بلوغ گیاه، شرایط محیطی قبلی و تعاملات آنها باشد و درک پاسخ گیاه به محیط خارجی از اهمیت زیادی برخوردار است و همچنین یکی از بخش‌های اساسی تولید محصولات مقاوم در برابر استرس است(Farahani *et al*., 2011). بر اساس نتایج مومن پور وهمکاران(۱۳۹۳) بر روی اثر رقم, تنش خشکی و اثر متقابل رقم وتنش خشکی بر میزان نشت یونی درسطح ۱٪ معنی‌دار بوده و با اعمال تنش میزان نشت یونی افزایش یافت و میزان نشت یونی در رقم k66بیشترین ورقم مارکونا و D99کمترین نشت یونی نشان داد. همچنین اثر رقم, تنش خشکی بر میزان محتوای نسبی درسطح ۱٪ معنی‌دار بوده ولی اثر متقابل رقم وتنش خشکی معنی‌دار نبوده و بر میزان محتوای نسبی تحت تنش اسمزی ۶- با نسبت به گیاهان شاهد به‌طور معنی‌داری کاهش‌یافته است. بنابرنتایج آنها رقم K66 بیشترین ورقم مارکونا کمترین محتوای نسبی داشته‌اند.

جدول ۱ - نتایج تجزیه واریانس داده‌های حاصل از اندازه‌گیری ویژگی‌های روابط آبی سلول در ریزنمونه ها

منبع تغییرات	درجه آزادی	نشت یونی(٪)	شاخص پایداری غشاء(٪)	محتوای نسبی(٪)	آب حفظ‌شده برگ (٪)	اتلاف آب نسبی (٪)
ژنوتیپ	4	111.74**	149.78**	86.295**	10271**	39.18**
پلی‌اتیلن گلیکول (%)	3	968.34**	332.24**	541.306**	147786**	1296.92**
تکرار	2	1.57ns	0.73ns	0.026ns	236ns	0.34ns
ژنوتیپ *پلی اتیان گلیکول	12	22.74**	55.85**	5.808**	1484**	22.02**
خطا	38	0.52	8.59	0.395	374	0.44
کل	59					

n.s: غیر معنی‌دار *: معنی‌دار در سطح ۵٪**: معنی‌دار در سطح ۱٪

نتایج میانگین تنش خشکی ناشی از پلی‌اتیلن گلیکول بر خصوصیات روابط آبی سلول در ارقام بادام

بررسی نشان می‌دهد با توجه به جدول ۲ بیشترین میزان شاخص پایداری غشاء مربوط به تیمارهای شاهد رقم G(6-8)و سفید پلی‌اتیلن ۲ درصد به ترتیب (۷۵,۵۹۶) و(۷۵,۴۰۲) می‌باشد وکمترین میزان مربوط به پلی‌اتیلن گلیکول ۶ درصد به رقم‌های G(6-8)، (۵۶,۳۳۲) و G(35-8)، (۵۷,۹۷۱) می‌باشد که با مشاهدات (Karimi *et al.*, 2012) تطابق دارد. همچنین بین ارقام موردبررسی ازنظر شدت نشت یون‌ها در تیمارهای مختلف تفاوت معنی‌داری وجود داشته است. به‌این‌ترتیب که ارقام سهند و سفید در سطوح ۶ درصد به ترتیب (۶۷,۰۷۹) و(۶۶,۵۳۸) در سطوح بالای تنش به میزان زیادتری نشت یونی داشته‌اند درحالی‌که ارقام(8-35)G ، (۳۹,۶۲۱) و G(6-8، (۴۱,۸۱۴) در شاهد داشته‌اند. همچنین مشاهده شد که رقمK12-4 نسبت به سایر ارقام ازنظر نشت یونی عملکرد متوسطی داشته است. ازنظر توانایی حفظ محتوای نسبی (RWC) تفاوت‌های معنی‌داری وجود دارد. کمترین مقدار RWC در رقم سفید و سهند به ترتیب (۵۵,۱۹۲) و(۵۶,۹۹۲) در تیمار ۶ درصد پلی‌اتیلن گلیکول ثبت شد درحالی‌که بیشترین میزانRWC در سطوح تنش شاهد در که ارقام G(35-8)، (۷۵,۶۱۰) و G(6-8)، (۷۴,۶۱۱) ثبت شد. این مسئله نشان می‌دهد که بین ارقام مختلف بادام ازنظر توانایی حفظ آب سلول در شرایط تنش خشکی تفاوت‌های ژنتیکی وجود دارد که می‌تواند در میزان مقاومت ارقام به تنش خشکی تاثیر مستقیم داشته باشد. همچنین نتایج نشان داد که بین ارقام مختلف موردبررسی نیز ازنظر توانایی حفظ آب حفظ‌شده برگ تفاوت‌های معنی‌داری وجود دارد. کمترین مقدار آب حفظ‌شده برگ در رقم G(6-8) و K12-4 به ترتیب (۳۴۹,۷۰۸) و(۳۶۶,۴۲۶) در تیمار ۶ درصد پلی‌اتیلن گلیکول ثبت شد درحالی‌که بیشترین میزان آب حفظ‌شده برگ در سطوح تنش شاهد و ۲ درصد در رقم G(35-8)، (۶۱۳,۱۱۵) و (۶۱۰,۷۵۵) ثبت شد. همچنین کمترین مقدار اتلاف آب نسبی برگ در ارقام G(35-8)، (۵۶,۰۷۸) و G(6-8)، (۵۶,۷۷۴) در تیمار ۶ درصد پلی‌اتیلن گلیکول ثبت شد درحالی‌که بیشترین میزان اتلاف آب نسبی برگ در سطوح تنش شاهد که ارقام G(35-8)، (۸۲,۰۴۳) و G(6-8)، (۷۹,۵۵۱) ثبت شد. این مسئله نشان می‌دهد که بین ارقام مختلف بادام ازنظر توانایی اتلاف آب نسبی در شرایط تنش خشکی تفاوت‌های ژنتیکی وجود دارد که می‌تواند در میزان مقاومت ارقام به تنش خشکی تاثیر مستقیم داشته باشد. غشاء سلولی از اصلی‌ترین قسمت‌های است که در طول تنش‌های گوناگون تحت تأثیر قرار می‌گیرد. شاخص آسیب به غشاء سلولی یک شاخص فیزیولوژیکی است که به‌طور گسترده‌ای برای بررسی مقاومت به خشکی و دما مورداستفاده قرار می‌گیرد. تنش خشکی باعث افزایش نشت مواد از سلول‌های برگ نیز می‌شود. میزان آسیب به غشاء برای اندازه‌گیری مقاومت گیاه نسبت به تنش‌های سرما و گرما و خشکی و شوری مورداستفاده قرار می‌گیرد. در این پژوهش مشاهده شد که در تمام ارقام با افزایش شدت تنش میزان نشت یون‌ها از سلول به‌طور معنی‌داری افزایش داشته است. نتایج حاصل از اندازه‌گیری محتوای آب نسبی برگ‌ریز نمونه‌ها در سطوح مختلف نشان داد که ازنظر محتوای نسبی آب برگ بین تیمارها اختلاف معنی‌داری وجود دارد و با افزایش شدت تنش اسمزی به‌طور معنی‌داری محتوای آب نسبی برگ‌ریز نمونه‌ها کاهش می‌یابد. نتایج حاصل از اندازه‌گیری آب حفظ‌شده برگ ریز نمونه‌ها در سطوح مختلف نشان داد که ازنظر آب حفظ‌شده برگ بین

تیمارها اختلاف معنی‌داری وجود دارد و با افزایش شدت تنش اسمزی به‌طور معنی‌داری آب حفظشده برگ ریزنمونه ها کاهش می یابد. نتایج ازنظر اتلاف آب نسبی برگ بین تیمارها اختلاف معنی‌داری نشان داد و با افزایش شدت تنش اسمزی به‌طور معنی‌داری اتلاف آب نسبی ریزنمونه ها کاهش می یابد

جدول ۲ میانگین تاثیر تنش خشکی ناشی از پلی‌اتیلن گلیکول بر خصوصیات روابط آبی سلول در ارقام بادام

ژنوتیپ*پلی‌اتیلن گلیکول	اتلاف آب نسبی (٪)	آب حفظشده برگ (٪)	محتوای نسبی(٪)	شاخص پایداری غشاء(٪)	نشت یونی(٪)
Sefid6	58.41i	353.977h	55.192n	71.112ab	66.538a
Sefid4	63.474h	399.867fgh	59.208m	72.551ab	59.741bc
Sefid2	67.85g	472.222de	64.134ij	75.402a	53.135ef
Sefid0	74.403e	553.85abc	68.912efg	71.548ab	47.751h
Sahand6	56.85ij	374.311	56.988n	60.723cde	67.079a
Sahand4	67.062g	449.235h	63.537jk	73.796ab	59.053c
Sahand2	71.621f	520.283cd	68.925efg	73.95ab	52.262fg
Sahand0	75.622de	579.164abc	71.47cd	68.564abc	46.801h
K12-46	57.282ij	366.426h	60.394lm	59.428de	61.618b
K12-44	62.27h	458.864ef	62.175kl	69.523abc	55.723d
K12-42	77.357cd	530.518bcd	65.795hi	72.678ab	51.929fg
K12-40	77.726bc	592.348a	72.993bc	71.586ab	44.347i
G(35-8)6	56.078j	395.222gh	60.673lm	56.332e	58.902c
G(35-8)4	66.239g	483.306de	67.625gh	65.42bcde	52.079fg
G(35-8)2	78.948bc	610.755a	70.617de	58.387de	47.046h
G(35-8)0	82.043a	613.115a	75.61a	72.44ab	39.621j
G(6-8)6	56.774ij	349.708h	59.202m	57.971de	60.879bc
G(6-8)4	67.325g	446.245efg	68.233fg	64.915bcde	55.171de
G(6-8)2	74.461e	587.944ab	69.826def	66.526abcd	50.6g
G(6-8)0	79.551b	609.637a	74.611ab	75.596a	41.814j

منابع

مومن پورع, ایمانی ع,محمدی ح,محمدیان س.(۱۳۹۳). اثرتنش خشکی ناشی ازپلی‌اتیلن گلایکول بر خصوصیات مورفولوژیک، فیزیولوژیک و بیوشیمیایی ارقام انتخابی بادام. مجله دانش نوین کشاورزی پایدار،جلد ۱۰ شماره ۲،ص ۵۳-۶۳.

FAO. 2018. WORLD FOOD AND AGRICULTURE – STATISTICAL POCKETBOOK 2018. Rome. 254 pp. Licence: CC BY-NC-SA 3.0 IGO.

Farahani, S. M., Chaichi, M. R., Mazaheri,D. and Afshari, R. T. 2011. Barley GrainMineral Analysis as Affected by DifferentFertilizing Systems and by Drought Stress.*J. Agr. Sci. Tech*., 13: 315–326.

Karimi S,Yadollahi A, Moghadam R N, Imani A, Arzani K. (2012). In vitro Screening of Almond (Prunus dulcis (Mill.)) Genotypes for Drought Tolerance. J. BIOL. ENVIRON. SCI, 2012, 6(18), 263-270.

Lonbani, M. and Arzani, A. 2011. MorphoPhysiological Traits Associated with Lopez, F.B., Setter, T.L. and McDavid, C.R. (1988). Photosynthesis and water exchange of pigeon pea leaves in response to water deficit and recovery. *Crop Science*, 28:141-145.

Michel, B.E. and Kaufmann, M.R. (1973). The osmotic potential of polyethylene glycol 6000. *Plant Physiology*, 51:914-916.

Tsago Y, Andargie M, Takele A (2013) In vitro screening for droughttolerance in different sorghum (Sorghum bicolor (L.) Moench) varieties. J Stress Physiol Biochem 9:72–83

Sorkheh, K., Shiran, B., Khodambshi, M., Rouhi, V. and Ercisli, S. (2012). *In vitro* assay of native Iranian almond species (*Prunus* L. spp.) for drought tolerance. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, 105(3):395-404.

Pray C, Nagarajan L, Li L, Huang J, Hu R, Selvaraj KN, Napasintuwong O, and Babu RC (2011). Potential impact of biotechnology on adaption of agriculture to climate change: the case of drought tolerant rice breeding in Asia. Sustainability 3: 1723-1741.

Effects of drought stress on the characteristics of almond cell aqueous relationships in the in vitro environment

Asghar Safarzadeh Ghavidlan [1], Ali Imani [2], Hamed Torkaman [3] *, Maryam Abbasi [4]
[1] M.Sc. student of Payame Noor University of Tehran
[2] Associate Professor of Mild and Cold Fruit Research Institute, Horticultural Research Institute, Agricultural Research, Education and Extension Organization, Tehran, Iran
[3] PhD students of Nazloo University, Urmia, West Azerbaijan, Iran
[4] Master of Higher Education Institute, Mehregan Mahallat, Mahallat, Markazi, Iran
Corresponding Author: torkman1990@gmail.com

Abstract

In this study, the effects of drought stress on the cell water characteristics of almond samples cultured in vitro were investigated. In this experiment, 5 commercial cultivars of Sahand, Sefid, k-12-4, (35-8) G and (6-8) G in 4 different levels of polyethylene glycol including 0, 2, 4 and 6%, respectively, which are equivalent 0, -0.14, -0.36 and -0.66 water potential loads were placed as different levels of drought stress for 4 weeks. At the end of the stress period, the characteristics of cell water relations such as relative water loss percentage, leaf water retention percentage, relative content percentage, membrane stability index and ion leakage were measured. This study shows that there are genetic differences between different almond cultivars in terms of relative water loss ability under drought stress conditions. In all cultivars, the amount of ion leakage from the cell increased significantly with increasing stress intensity. There was a significant difference between the treatments in terms of relative leaf water content and with increasing the intensity of osmotic stress, the relative leaf water content of the explants decreased significantly. The results show that with increasing drought stress intensity, the retained water of explant leaves decreases significantly, while with increasing drought stress intensity, the relative water loss of explants decreases significantly.

Keywords: Almond, Tissue culture, Polyethylene glycol, Cell water relations