



همینکس کمره علوم باغبانی دوازد

12th Iranian Horticultural Science Congress
September 05-08 2021
۱۴ لغایت ۱۷ شهریورماه ۱۴۰۰



اثرات تنش خشکی روی ویژگی های بیوشیمیایی بادام در شرایط درون شیشه ای)

حامد ترکمن^{۱*}، علی ایمانی^۲، مریم عباسی^۳، اصغر صفرزاده قویدلان^۴

^۱ دانشجوی دکتری تخصصی دانشگاه نازلو، ارومیه، آذربایجان غربی، ایران ^۲دانشیار پژوهشکده میوه های معتدله و سرد سیری مؤسسه تحقیقات باغبانی، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، تهران، ایران ^۳ کارشناس ارشد موسسه آموزش عالی مهرگان محلات، محلات، مرکزی، ایران ^۴ دانشجوی کار شناسی ارشد دانشگاه پیام نور تهران
نوسنده مسئول : حامد ترکمن torkman1990@gmail.com



چکیده

در این تحقیق اثرات مختلف بر ویژگی های بیوشیمیایی بر اثر تنش خشکی روی نمونه های بادام که در شرایط درون شیشه ای کشت شده اند مورد بررسی قرار گرفت. ریزنمونه هایی از ۵ رقم تجاری سفید، سهند، k-12-4، G(6-8) و G(35-8) تحت ۴ سطح مختلف پلی اتیلن گلیکول شامل ۰، ۲، ۴ و ۶ درصد که به ترتیب معادل ۰، ۱۴/۰-، ۳۶/۰- و ۶۶/۰- بار پتانسیل آب می شود به عنوان سطوح مختلف تنش خشکی به مدت ۴ هفته قرار داده شدند. در پایان دوره تنش ویژگی های بیوشیمیایی از جمله پرولین، کربوهیدرات، کلروفیل a، کلروفیل b، کلروفیل کل و کارتنوئید اندازه گیری شد. نتایج آزمایشات نشان داد تنش خشکی در ارقام حساس باعث افزایش بیشتر میزان پرولین می شود که بیشترین میزان پرولین در تیمارهای ۶ درصد پلی اتیلن گلیکول در رقم سفید (۱۶۵.۱۸۶) بود و مقدار کلروفیل ها در برگ ارقام متحمل در حد بالاتری حفظ گردیده است. غلظت کربوهیدرات محلول گیاهان شاهد کمتر از گیاهان تحت تنش بود.

کلمات کلیدی: بادام ، کشت بافت، پلی اتیلن گلیکول، تنش خشکی، بیوشیمیایی

مقدمه

کشور ایران از مهمترین تولید کنندگان بادام در جهان است واز نظر سطح زیر کشت با ۴۱۲۶۱ هکتار پس از کشور های اسپانیا وامریکا در رتبه سوم واز تولید با ۸۷۰۰۰ تن پس از امریکا ، استرالیا ، اسپانیا، سوریه وایتالیا در رتبه پنجم جهان قرار دارد (Anonymous, 2016). شناسایی ژرم پلاسمهای گیاهی متحمل به شرایط کم آبی ازاهمیت زیادی برخوردار بوده ویکی ازاهداف تحقیقات علمی برای بسیاری از محصولات گیاهی است.ژرم پلاسم های بومی ووحشی ذخیره ژنتیکی ارزشمندی برای خصوصیات فیزیولوژیکی مهمی چون تحمل به خشکی هستند که می توانند مورد شناسایی قرار گرفته و در برنامه های اصلاحی استفاده شوند (Sorkheh et al., 2012). روش های سنتی به نژادی برای انتخاب گیاهان متحمل به خشکی، فرآیندی وقتگیر ویپیچیده است. با توجه به تناسبی که بین واکنش سلول ، اندام وکل گیاه نسبت به تنش ها وجود دارد از روش کشت درون شیشه ای برای دست یابی به گیاهان متحمل به خشکی استفاده می شود. از طریق روش های درون شیشه ای می توان تعداد گیاه بیشتری را در زمان کوتاه تر و فضای محدودتر بررسی کرد. با توجه به ثابت بودن محیط کشت مورد استفاده ، شرایط محیطی کنترل شده و اعمال یکنواخت تنش در همه گیاهچه ها می توان اثر سایر عوامل محیطی به جز عامل مورد مطالعه را به طور کامل حذف نمود (اکبرپور وایمانی،۱۳۹۴).با توجه به این که ایران یکی از خاستگاه های اصلی و دارای یکی از غنی ترین ژرم پلاسم های بادام بوده و از لحاظ سطح زیر کشت و تولید این محصول از رتبه بالایی در جهان برخوردار است ، این تحقیق بر آن است تا با استفاده از تکنیک کشت بافت پنج رقم از ارقام مهم تجاری بادام های ایرانی وخارجی را براساس خصوصیات مهم بیوشیمیایی مرتبط با تحمل خشکی بررسی نماید و مناسب ترین رقم را از این نظر معرفی نماید تا از آنها در توسعه باغات بادام کشور و برنامه های اصلاحی آینده استفاده لازم به عمل آید.

مواد و روش ها

این آزمایش در اردیبهشت ماه ۹۶ آغاز گردید. برای تهیه ریز نمونه مناسب، شاخه های 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 تحقیقاتی میوه های معتدله کرج تهیه شد. آزمایش ها در آزمایشگاه کشت بافت در پژوهشکده کرج انجام گرفت. در این مطالعه بعد از ضدعفونی ریزنمونه ها مراحل استقرار، پرآوری و اعمال تنش تحت شرایط کشت درون شیشه ای مورد بررسی قرارگرفت. این تحقیق به صورت یک آزمایش فاکتوریل شامل دو فاکتور در قالب طرح کاملاً تصادفی و در سه تکرار انجام شد. فاکتور اول ارقام بادام و فاکتور دوم تنش خشکی در ۴ سطح بوده. تیمارها شامل ۴ سطح مختلف ماده اسموتیک پلی اتیلن گلیکول با جرم مولکولی ۶۰۰۰ با غلظت ۰، ۲، ۴ و ۶ درصد بود. مقادیر مورد نیاز PEG برای برقراری پتانسیل های اسمزی مورد نظر 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 (بر حسب بار)، غلظت PEG-6000 (گرم در لیتر آب) و درجه حرارت محیط (درجه سانتی گراد) می باشند. 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 باقی مانده تا تأثیر محیط تنش زا به طور کامل روی آنها نمایان شد و در این زمان بررسی های مورد نظر روی خصوصیات روابط آبی سلولهای آنها آغاز شد.

نتایج و بحث

با توجه به جدول ۱ ملاحظه می شود که اثر رقم بر روی شاخص های ویژگی های بیوشیمیایی در ریزنمونه ها از قبیل پرولین، کربوهیدرات ، کلروفیل a، کلروفیل b، کارتنوئید و کلروفیل کل ریزنمونه در سطح ۱ درصد معنی دار بوده است. به عبارت دیگر اختلاف معنی داری بین ارقام مشاهده نمی شود. همچنین اثرات تیمار نیز بر روی شاخص های ویژگی های بیوشیمیایی رشدی در سطح ۱ درصد معنی دار بوده است. اثر متقابل رقم و تیمار بر روی شاخص های ویژگی های بیوشیمیایی در ریزنمونه ها از قبیل پرولین، کربوهیدرات، کلروفیل a، کلروفیل b، کارتنوئید و کلروفیل کل ریزنمونه در سطح ۱ درصد معنی دار بوده است (جدول ۱). پرولین تحت شرایط تنش اثرات بیولوژیکی متعددی را نشان میدهد که در اعمال حفاظتی و تعدیل اسمزی می یابند. علاوه بر نقش تنظیم اسمزی، پرولین به عنوان یک محافظ در برابر تنش عمل میکند. از طرف دیگر مشخص می شود در چنین شرایطی تجمع مقادیر بالای پرولین حاکی از شدت تنش است که گیاه تجربه نموده و دچار آسیب شده است (Taylor, 1996). نتایج حاصل از اندازه گیری میزان قندهای محلول برگ در جدول ۱ نشان داد غلظت کربوهیدرات محلول برگ به طور معنی داری تحت تأثیر ژنوتیپ و تیمارهای تنش خشکی قرار گرفته است. در پایان دوره تنش، ارقام مختلف بادام تفاوت معنی داری با یکدیگر نشان دادند (جدول ۱). درپاسخ های اسمزی گیاهان، تجمع کربوهیدرات ازعواملی است که قادر است از اختلالات در غشای سلولی جلوگیری کند. در بیشتر موارد خشکی بر سوخت و ساز قندهای محلول اثر می گذارد و مقدار آنرا افزایش می دهد (Anjum et al., 2011). رنگدانه های فتوسنتز به طور قابل توجهی تحت استرس اسمزی کاهش یافت و کمترین محتوای کلروفیل در برگ های B-124، Sepid ، Mamaei و Ferragnès در تیمار ۷٪ PEG یافت شد.

نسبت کلروفیل به کارتنوئیدها در کاهش استرس اسمزی به طور معنی داری کاهش نشان داد و ارقام B-124، Sepid ، Mamaei و Ferragnès کمترین نسبت کلروفیل به نسبت کارتنوئیدها را در تیمار ۷٪ PEG داشتند (Karimi et al., 2013).

جدول ۱ نتایج تجزیه واریانس داده های حاصل از اندازه گیری ویژگی های بیوشیمیایی ریزنمونه ها

مسح نصیرات	درجه ارادی	پرولین	کارتنوئید	کلروفیل	کلروفیل	کلروفیل کل	کربوهیدرات
رنوب	4	1045.07**	0.0756**	0.1031**	0.0437**	0.1609**	0.0007**
پلی اتیلن کلکول	3	3978.62**	0.0263**	4.2937**	0.2814**	6.5818**	0.0133**
تکرار	2	2.74ns	0.0002ns	0.0031**	0.0015**	0.0091**	0.0002**
رنوب * پلی اتیلن کلکول	12	11.17**	0.0014**	0.2299**	0.0519**	0.3752**	0.0015**
خطا	38						
کل	59						

نتایج حاصل از اندازه گیری میزان پرولین آزاد موجود در برگ ریز نمونه ها نشان داد که از نظر میزان پرولین تفاوت معنی داری بین تیمارهای تنش اسمزی مختلف وجود دارد. همچنین تفاوت میزان پرولین در ارقام مختلف نیز معنی دار بوده است. در پژوهش حاضر مقادیر بیشتری پرولین از برگ ارقام حساس به دست آمد. بیشترین میزان پرولین در تیمارهای ۶ درصد پلی اتیلن گلیکول در رقم سفید (۱۶۵.۱۸۶) با بیشترین میزان و پس از آن در رقم سهند (۱۶۱.۰۲۳) بدست آمد درحالی که در تیمارهای شاهد پلی اتیلن گلیکول در رقم های G(6-8)، G(۱۰۳.۵۷) و G(35-8)، (۱۰۵.۷۹) کمترین تجمع پرولین صورت گرفته است. این مطلب نشان می دهد در تنش های خشکی بلند مدت و در شرایطی که رطوبت محیطی بالا است، احتمالاً غلظت پرولین در برگ ارقام بادام نمی تواند به تحمل به خشکی آنها کمک نماید. از طرف دیگر در چنین شرایطی تجمع مقادیر بالای پرولین حاکی از شدت تنش است که گیاه تجربه نموده و دچار آسیب شده است . نتایج (Karimi et al 2012) و (اکبرپور و ایمانی ۱۳۹۴) نشان داد بیشترین میزان پرولین در تیمارهای ۶ درصد پلی اتیلن گلیکول در رقم شاهرو ۱۲ با بیشترین میزان و پس از آن در رقم شاهرو ۲۱ بدست آمد در حالی که با افزایش شدت تنش اسمزی در ارقام مقاوم سوپرنا و تونو سرعت تجمع پرولین کمتر از سایر ارقام بوده است و با افزایش تنش میزان تجمع پرولین زیاد تر می شود مطابقت دارد. در پژوهش حاضر مقدار کلروفیل ها در برگ ارقام متحمل در حد بالاتری حفظ گردیده است. کلروفیل a در تیمار PEG6(%) و G(35-8) و K12-4 به ترتیب (۱.۰۱۷) و (۱.۳۷) کمترین و در کلروفیل b در تیمار PEG6(%) و K12-4 و G(35-8) به ترتیب (۰.۰۲۴) و (۰.۰۴۱) کمترین و در کلروفیل کل پلی اتیلن ۶ درصد رقم G(35-8) ، (۰.۴۳) کمترین و در کارتنوئید در تیمار PEG6(%) و K12-4 و سفید به ترتیب (۰.۰۱۶) و (۰.۰۱۸) کمترین میزان کاهش کلروفیل را داشته اند در حالی که در کلروفیل a در تیمار PEG0(%) و K12-4 و سهند به رقم سهند و K12-4 به ترتیب (۲.۹۲۴) و (۲.۸۳۷) بیشترین و در کلروفیل b در تیمار PEG0(%) و K12-4 و سهند به ترتیب (۰.۶۸۰) و (۰.۶۴۹) بیشترین و در کلروفیل کل شاهد رقم سهند و K12-4 به ترتیب (۳.۵۷۳) و (۳.۵۱۸) بیشترین و در کارتنوئید در تیمار PEG0(%) و G(6-8) و G(35-8) به ترتیب (۰.۱۲۵) و (۰.۱۱۸) بیشترین میزان کلروفیل را داشته است. در پژوهش (اکبرپور و ایمانی ۱۳۹۴) مقدار کلروفیل ها در برگ ارقام متحمل در حد بالاتری حفظ گردیده است، رقم سوپرنا و پس از آن رقم تونو کمترین میزان کاهش کلروفیل را داشته اند در حالی که ارقام حساس شاهرو ۱۲ و پس از آن شاهرو ۲۱ بیشتر از سایر ارقام دچار کاهش میزان رنگدانه کلروفیل شده اند. همچنین رقم سهند از این نظر عملکرد متوسطی داشته است. کاهش مقدار کلروفیل میتواند به دلیل افزایش فعالیت کلروфіلاز و یا کاهش فعالیت سنتاز باشد (Guerfel et al 2009). اظهار داشتند که کاهش می که در میزان کلروفیل برگ گیاهان تحت تنش خشکی مشاهده میشود یک علامت مشخصه تنش اکسیداتیواست. همچنین (Smirnoff 1993) نشان داد که کاهش محتوای رنگیزه ها، چه در اثر کاهش سرعت سنتز و چه در نتیجه تجزیه سریع تر آنها یکی از علائم آشکار تنش اکسیداتیو القاء شده توسط تنش خشکی می باشد. نتایج حاصل از اندازه گیری میزان قندهای محلول برگ در جدول (۲) نشان داد غلظت کربوهیدرات محلول برگ به طور معنی داری تحت تأثیر ژنوتیپ (رقم) و تیمارهای تنش خشکی قرار گرفته است. در پایان دوره تنش، ارقام مختلف بادام تفاوت معنی داری با یکدیگر نشان دادند. حداکثر غلظت کربوهیدرات مربوط به رقم سفید بود. حداقل غلظت کربوهیدراتهای محلول مربوط به رقم G(6-8) در تیمار شاهد بود که با سایر تیمارهای شاهد ارقام دیگر تفاوت آماری نشان داد. در همه ارقام مورد بررسی ، غلظت کربوهیدرات محلول گیاهان شاهد کمتر از گیاهان تحت تنش بود ولی سهند غلظت سطوح ۲ درصد بیشتر از شاهد بوده و با افزایش سطح تنش ، کربوهیدرات محلول برگ نیز افزایش یافت. در همه ارقام مورد بررسی، روند افزایشی در غلظت کربوهیدرات های محلول برگ تحت تأثیر تنش خشکی مشاهده می شود. در دو رقم K12-4 و سهند، با افزایش شدت تنش، غلظت کربوهیدرات محلول به طور مرتب افزایش یافت و در تیمار ۶ درصد پلی اتیلن گلیکول به بالاترین حد خود رسید. درحالی که در ارقام سفید بیشترین غلظت کربوهیدرات محلول مربوط به تیمار ۴ درصد بود و با افزایش بیشتر شدت تنش، از غلظت کربوهیدرات محلول برگ کاسته شد. و همچنین نتایج (اکبرپور وایمانی ۱۳۹۴) نشان می دهند، در همه ارقام مورد بررسی، روند افزایشی در غلظت کربوهیدراتهای محلول برگ تحت تأثیر تنش خشکی مشاهده میشود.

منابع

۱. اکبر پور، احسان و ایمانی، علی، ۱۳۹۴، بررسی برخی خصوصیات فیزیولوژیک ۵ رقم بادام تحت تنش خشکی در شرایط درون شیشه، نهمین کنگره علوم باغبانی ایران، اهواز،، https://civilica.com/doc/724883
2. Anonymous 2016. FAO STAT on the World Wide Web :http:// www .Fao. stat. org / stat / almond
3. 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.
4. Michel, B.E. and Kaufmann, M.R. (1973). The osmotic potential of polyethylene glycol 6000. *Plant Physiology*, 51:914-916.
5. Taylor CB 1996. Proline and water deficit: Ups, Ins, and Outs. *Plant Cell* 8: 1221-1224.
6. Anjum SA, Xie XY, Wang LC, Saleem MF, Man C and Lei W (2011) Morphological, physiological and biochemical of plants todrought stress. *African Journal of Agriculture Research* . 6: 2026-2032
7. Karimi s, A. Yadollahi , K. Arzani ., 2013., Responses of Almond Genotypes to Osmotic Stress Induced In Vitro., *Journal of Nuts* ., 4(4):1-7, 2013
8. 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.
9. Guerfel, M., Baccouri, O., Boujnah, D., Chaibi, W. and Zarrouk, M. (2009). Impacts of water stress on gas exchange, water relations, chlorophyll content and leaf structure in the two main Tunisian olive (*Olea europaea* L.) cultivars. *Scientia Horticulturae*, 119:257-263.
10. Smirnoff, N. (1993). The role of active oxygen in the response of plants to water deficit and desiccation. *New Phytologist*, 125:27-58.