

بررسی پاسخ سه پایه سیب به تنش خشکی در شرایط درون شیشه‌ای

سعید جلالی صمغ آبادی^{۱*} و رسول جلیلی‌مرندی^۲

*۱- نویسنده مسوول: دانش آموخته کارشناسی ارشد، گروه علوم باغبانی دانشگاه ارومیه (saeid_jalali@yahoo.com)

۲- دانشیار گروه علوم باغبانی دانشگاه ارومیه

تاریخ پذیرش: ۹۴/۱/۲۶

تاریخ دریافت: ۹۲/۱۰/۲۴

چکیده

کمبود آب از جمله عوامل محیطی است که تولید محصول را محدود می‌کند. بنابراین ارزیابی ارقام مقاوم به خشکی امری ضروری به نظر می‌رسد. گزارش شده است که توانایی مقاومت به خشکی پایه، می‌تواند به پیوندک منتقل شود. در این تحقیق پاسخ سه پایه سیب به نام‌های گمی آلماسی، MM106 و MM111 به تنش خشکی در شرایط درون شیشه‌ای مورد بررسی قرار گرفت. این آزمایش به صورت فاکتوریل در قالب طرح پایه کاملاً تصادفی با چهار تکرار اجرا گردید. تنش خشکی در غلظت‌های صفر، ۱، ۲ و ۴ درصد پلی‌اتیلن‌گلیکول (PEG-6000) در محیط کشت پایه موراشیک و اسکوگ به مدت ۶ هفته اعمال شد. نتایج نشان داد تنش خشکی ایجاد شده به وسیله پلی‌اتیلن‌گلیکول، باعث کاهش عوامل رشدی (طول شاخساره و ریشه، وزن تر شاخساره و ریشه)، شاخص کلروفیل و افزایش دیگر عوامل بیوشیمیایی (محتوای پرولین، قندهای محلول، پروتئین و میزان آنزیم‌های کاتالاز و گایاکول پراکسیداز) شد اما تاثیری روی قطر ساقه نداشت. کمترین میزان طول شاخساره و ریشه، وزن تر شاخساره و ریشه و شاخص کلروفیل در پایه MM106 در تیمار ۴ درصد پلی‌اتیلن‌گلیکول مشاهده شد و بیشترین میزان پرولین، قندهای محلول و آنزیم کاتالاز در پایه سیب گمی در تیمار ۴ درصد پلی‌اتیلن‌گلیکول بدست آمد. بر طبق نتایج می‌توان پایه گمی آلماسی را در ردیف پایه‌های مقاوم به خشکی دانست.

کلید واژه‌ها: پایه‌های سیب، پرولین، آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی، پروتئین، گمی آلماسی

مقدمه

امکان پذیر است. اما از آنجایی که عملکرد، برآیند صفات فیزیولوژیکی گیاه می‌باشد، می‌توان از این صفات به عنوان یک ابزار، جهت انتخاب گیاهان مقاوم استفاده کرد (وینتر و همکاران^۴، ۱۹۸۸). بعلاوه، لندزبرگ و جونز^۵ (۱۹۸۱) بیان کردند که مقاومت به خشکی پایه‌ها می‌تواند به پیوندک منتقل شود. ارزیابی درون شیشه‌ای مقاومت به خشکی، برای بسیاری از گیاهان چوبی با موفقیت انجام شده است (چای و همکاران^۶، ۲۰۰۵؛ مَلاسیوتیس و همکاران^۷، ۲۰۰۶).

تقریباً یک سوم خشکی‌های جهان از نظر تامین آب ناکافی برای کشاورزی رنج می‌برند (ماساکی و همکاران^۱، ۲۰۰۸). کمبود آب یکی از عمده‌ترین تنش‌های غیر زنده است که گیاهان در طول رشد و توسعه خود در معرض آن قرار می‌گیرند (آمزاوا و همکاران^۲، ۲۰۰۶). بنابراین تنش خشکی یکی از تنش‌های محیطی شایع می‌باشد که رشد و تولید را تحت تاثیر قرار می‌دهد (آرورا و همکاران^۳، ۲۰۰۲). گزینش ارقام مقاوم به خشکی از طریق بررسی عملکرد تحت شرایط تنش

4- Winter *et al.*

5- Landsberg & Jones

6- Chai *et al.*

7- Molassiotis *et al.*

1- Massacci *et al.*

2- Umezawa *et al.*

3- Arora *et al.*

افزایش شدت تنش خشکی و کاهش محتوای آب خاک، افزایش می‌یابد (لو و همکاران^۹، ۲۰۰۹) و گیاه را در برابر کمبود آب و خسارت غشای سلولی در نتیجه تنش خشکی حفاظت می‌کند (کرو و همکاران^{۱۰}، ۱۹۹۹؛ جی و همکاران^{۱۱}، ۲۰۰۹). در شرایط تنش به دلیل کاهش قدرت انتقال قندها در آوندهای آبکش و کم شدن مصرف آنها در اندام‌های مصرف کننده، میزان قندها در سلول برگ‌ها افزایش می‌یابد (جلیلی مرندی، ۱۳۹۰).

بسیاری از پروتئین‌های تنش در آب محلول هستند و بنابراین بوسیله هیدراسیون ساختمان‌های سلولی در مقاومت به پدیده تنش شرکت می‌کنند (وحید و همکاران^{۱۲}، ۲۰۰۷). پروتئین‌های دهیدرین در شرایط تنش خشکی، دمای بالا و شوری در سلول‌های گیاهی که در معرض پسابدگی (از دست رفتن آب سلول) قرار می‌گیرند، تجمع می‌یابند و نقش حفاظتی دارند (جلیلی مرندی، ۱۳۹۰). در مقابل گزارش شده است که سنتز پروتئین یکی از فرآیندهای بیوشیمیایی می‌باشد که در گیاهان تحت تأثیر خشکی قرار می‌گیرد (هسیاو^{۱۳}، ۱۹۷۳) بنابراین بافت‌هایی که در معرض تنش خشکی قرار می‌گیرند معمولاً در سنتز پروتئین کاهش نشان می‌دهند (دهیدیس و کلند^{۱۴}، ۱۹۷۵).

تنش خشکی، تنش اکسیداتیو را بخاطر ممانعت از فعالیت فتوسنتزی، به علت عدم تعادل بین دریافت نور و استفاده از آن القاء می‌کند (نایار و گوپتا^{۱۵}، ۲۰۰۶).

گونه‌های اکسیژن دوباره فعال شده می‌توانند به عنوان پیامبر ثانویه دخیل در مسیر انتقال پیام تنش، عمل کنند (چامونگپول و همکاران^{۱۶}، ۱۹۹۸)، اما زیادی تولید

دمی و هیوگز^۱ (۱۹۹۵) گزارش دادند که پلی-اتیلن گلیکول^۲ ماده مناسبی برای تحمیل تنش خشکی در شرایط درون شیشه‌ای بوسیله کاهش در پتانسیل آب محیط کشت می‌باشد که جذب نمی‌شود و سمیت نیز ایجاد نمی‌کند.

اولین واکنش گیاهان در برابر خشکی کاهش رشد رویشی آنها است. تنش خشکی خصوصیات رویشی درختان از جمله ارتفاع، وزن تر و خشک اندام‌ها، تعداد و سطح برگ را تحت تأثیر قرار می‌دهد (هیگنز و جونز^۳، ۱۹۹۰). همچنین تنش خشکی بسیاری از پاسخ‌های فیزیولوژیکی، بیوشیمیایی و مولکولی را در گیاهان القاء می‌کند به طوری که گیاهان می‌توانند مکانیسم‌های مقاومت را که برای سازگاری به شرایط محدود کننده محیطی ارائه شده را توسعه دهند (آرورا و همکاران، ۲۰۰۲). از جمله این مکانیسم‌ها می‌توان به محتوای پرولین، قندهای محلول، پروتئین، تغییرات میزان کلروفیل و فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدانی اشاره کرد. سال‌ها است که فیزیولوژیست‌ها تجمع پرولین آزاد را در گونه‌های گیاهی متعددی در عکس‌العمل به تنش اسمزی مطالعه می‌کنند (هیر و همکاران^۴، ۱۹۹۹). میزان پرولین آزاد در بسیاری از گیاهان در عکس‌العمل به پتانسیل پایین آب (مثل خشکی و شوری) به مقدار زیاد تجمع می‌یابد (کوزنتسو و شویاگوا^۵، ۱۹۹۹). علاوه بر نقش آن به عنوان اسمولیت برای تنظیم اسمزی، پرولین به ثبات در ساختارهای سلولی (به عنوان مثال غشاها و پروتئین‌ها)، تصفیه رادیکال‌های آزاد و پتانسیل بافری اکسیداسیون سلولی تحت شرایط تنش می‌باشد (اسرینیواس و بالاسوبراماناین^۶، ۱۹۹۵). قندهای محلول نیز از جمله متابولیت‌ها^۷ و اسمولیت‌های سازگار^۸ هستند که همگام با

8- compatible osmolytes

9- Luo *et al.*10- Crowe *et al.*11- Ji *et al.*12- Wahid *et al.*

13- Hsiao

14- Dhindsa & Cleland

15- Nayyar & Gupta

16- Chamnongpol *et al.*

1- Dami & Hughes

2- Polyethylene glycol

3- Higgs & Jones

4- Hare *et al.*

5- Kuznetsov & Shevyakova

6- Srinivas & Balasubramanian

7- Metabolites

شد. ریزنمونه‌های کشت شده، در طول مدت تنش، در دمای $1 \pm 25^\circ\text{C}$ و دوره نوری ۱۶ ساعت روشنایی، ۸ ساعت تاریکی نگهداری شدند. پس از شش هفته ریزنمونه‌ها از محیط کشت جدا شدند و به منظور حذف محیط کشت از آنها، با آب مقطر شستشو شدند و پس از اندازه‌گیری شاخص‌های رشدی و میزان کلروفیل برای استفاده بعدی در دمای 20°C قرار داده شدند. به منظور بررسی اثر تنش خشکی بر خصوصیات رویشی گیاهچه‌های مورد آزمایش، در پایان آزمایش، گیاهچه‌های موجود در شیشه‌ها خارج گردید. پس از اندازه‌گیری ارتفاع گیاهچه و طول ریشه (توسط خط کش)، و قطر ساقه (توسط کولیس)، هر گیاهچه به دو جزء شامل شاخساره و ریشه تقسیم بندی شد. سپس وزن تر شاخساره و ریشه اندازه‌گیری گردید.

به منظور اندازه‌گیری کلروفیل برگ از دستگاه سنجش محتوای کلروفیل استفاده شد (مدل MINOLTA 502, Osaka Japan).

برای اندازه‌گیری صفات بیوشیمیایی مطابق پروتکل - های زیر عمل شد: برای اندازه‌گیری پرولین مطابق روش پاکوئین و لچاسر^۳ (۱۹۷۹)، اندازه‌گیری میزان کربوهیدرات‌های محلول برگ از روش ایریگوئین و امیرج^۴ (۱۹۹۲)، اندازه‌گیری میزان پروتئین کل مطابق با روش برادفورد^۵ (۱۹۷۶)، در مورد سنجش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی برای تهیه عصاره گیاهی از روش کنگ و سال تیویت^۶ (۲۰۰۲) با اندکی تغییرات استفاده شد.

۰/۵ گرم وزن تر بافت از برگهای انتهایی توسط ۳ml بافر شامل (بافر تریس بازی ۰/۰۵ مولار با $\text{pH} 7.5$ ، 3 MgCl_2 میلی مولار، 1 EDTA میلی مولار) ساییده شد. هموزنات‌ها سپس به مدت ۲۰ دقیقه در داخل سانتریفیوژ با نیروی ۵۰۰۰ دور در

آن می‌تواند منجر به تنش اکسیداتیو شود، که بوسیله اکسیده کردن رنگیزه‌های فتوسنتزی، لپیدهای غشایی، پروتئین‌ها و اسیدهای نوکلئیک به گیاهان صدمه می‌زند (یاردانو و همکاران^۱، ۲۰۰۰).

اخیراً افزایش در محتوای آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی و مقاومت به تنش خشکی در ریزنمونه‌های موز و پایه‌های سیب گزارش شده است (چای و همکاران، ۲۰۰۵؛ مَلاسیوتیس و همکاران، ۲۰۰۶).

این پژوهش به منظور بررسی پاسخ‌های سه پایه سیب گمی آلماسی (GA)، MM111 و MM106 نسبت به شرایط خشکی در شرایط درون شیشه‌ای پایه‌ریزی و به مرحله اجرا در آمده است.

مواد و روش‌ها

این آزمایش در آزمایشگاه کشت بافت گروه باغبانی دانشگاه ارومیه به صورت فاکتوریل در قالب طرح پایه کاملاً تصادفی با چهار تکرار و هر تکرار شامل ۴ ریزنمونه انجام گرفت. شاخه‌های ۱-۲ ساله پایه‌های سیب MM106، MM111 و گمی آلماسی (GA) در دی ماه سال ۱۳۹۰ از باغ کلکسیون گروه باغبانی جمع‌آوری شدند و در دمای آزمایشگاه ($25 \pm 2^\circ\text{C}$) برای فعال شدن جوانه‌ها قرار داده شدند. وقتی جوانه‌ها به طول ۱-۲ سانتی‌متر رسیدند از شاخه جدا شده و برای رسیدن به تعداد گیاه مورد نظر در محیط کشت پرآوری (محیط کشت پایه MS تکمیل شده با BA، IBA، GA به ترتیب ۱/۰، ۱ و ۰/۵ میلی گرم بر لیتر، ۳۰ گرم ساکارز) قرار داده شدند. ریزنمونه‌ها پس از رشد کافی (دارای ۲ سانتی‌متر طول) از محیط کشت پرآوری جدا شده و به محیط کشت جامد موراشیک و اسکوگ^۲ تکمیل شده با ۳۰ گرم ساکارز و غلظت‌های مختلف پلی‌اتیلن گلیکول (صفر، ۱، ۲ و ۴ درصد PEG-6000) منتقل شدند. قبل از اتوکلاو، pH محیط روی ۵/۷ تنظیم

3- Paquin & Lechasseur
4- Irigoyen & Emerich
5 - Bradford
6- Kang and Saltiveit

1- Yordanov *et al.*
2- Murashige and Skoog

اختلاف معنی داری مشاهده نشد، اختلاف معنی داری در سطح ۵ درصد وجود دارد. چنانکه در جدول ۳ مشاهده می شود بیشترین و کمترین وزن تر شاخه به ترتیب مربوط به پایه MM111 و MM106 بود.

مقایسه میانگین‌های اثر غلظت‌های مختلف پلی اتیلن گلیکول بر صفات اندازه‌گیری شده (جدول ۴) بیانگر این است که غیر از صفات رشدی که با همگام با افزایش غلظت پلی اتیلن گلیکول از میزان آنها کاسته شد، در بقیه صفات بیوشیمیایی با افزایش غلظت پلی اتیلن گلیکول (افزایش شدت تنش) بر میزان تجمع و فعالیت آنها افزوده شد.

همانطور که در جدول ۴ مشاهده می شود اختلاف معنی داری در محتوای پروتئین و فعالیت آنزیم گلیکول پراکسیداز بین تیمارهای ۱ و ۲ درصد پلی اتیلن گلیکول مشاهده نشد.

بیشترین و کمترین طول ریشه به ترتیب مربوط به تیمار شاهد پایه MM111 و تیمار ۴ درصد پلی اتیلن گلیکول در پایه MM106 بود (نمودار ۱). حداقل میزان وزن تر ریشه در تیمار ۴ درصد پلی اتیلن گلیکول پایه MM106 و حداکثر میزان آن در تیمار شاهد پایه MM111 بود و اختلاف معنی داری بین پایه‌های گمی (GA) و MM111 در تیمار ۴ درصد پلی اتیلن گلیکول مشاهده نشد (نمودار ۲). بین پایه‌های گمی (GA) و MM111 در غلظت ۴ درصد پلی اتیلن گلیکول اختلاف معنی داری در شاخص کلروفیل نبود و کمترین میزان شاخص کلروفیل مربوط به تیمار ۴ درصد پلی اتیلن گلیکول بود (نمودار ۳).

پایه MM106 در غلظت ۲ درصد پلی اتیلن گلیکول از محتوای پروتئین بیشتری نسبت به بقیه تیمارهای اعمال شده در پایه‌های مورد آزمایش برخوردار بود. همچنین بین پایه‌های گمی (GA) و MM111 در غلظت ۴ درصد پلی اتیلن گلیکول اختلاف معنی داری مشاهده نشد (نمودار ۴). بیشترین و

دقیقه قرار گرفتند. محلول رویی حاصله به عنوان عصاره خام برای اندازه‌گیری فعالیت آنزیم‌های گلیکول پراکسیداز و کاتالاز مورد استفاده قرار گردید.

فعالیت آنزیم گلیکول پراکسیداز^۱ با استفاده از روش آپادهایایا و همکاران^۲ (۱۹۸۵) و فعالیت آنزیم کاتالاز^۳ با استفاده از روش آئی^۴ (۱۹۸۴) اندازه‌گیری شد.

برای تجزیه واریانس و مقایسه میانگین‌های صفات اندازه‌گیری شده از نرم افزار SAS استفاده شد. مقایسه میانگین‌ها با استفاده از روش آزمون چند دامنه‌ای دانکن انجام گرفت. همچنین برای رسم نمودار از نرم‌افزار Excel استفاده گردید.

نتایج

نتایج تجزیه واریانس (جدول‌های ۱ و ۲) نشان می‌دهند که اثر رقم به جز در فعالیت کاتالاز و گلیکول پراکسیداز که غیر معنی دار بود، غلظت‌های مختلف پلی اتیلن گلیکول اثر معنی داری (در سطح ۱ درصد) بر کلیه صفات اندازه‌گیری شده داشت. همچنین اثر متقابل رقم و غلظت‌های مختلف پلی اتیلن گلیکول به جز در طول شاخه، وزن تر، محتوای پروتئین و قندهای محلول و فعالیت آنزیم گلیکول پراکسیداز، در کلیه صفات اندازه‌گیری شده در سطح ۱ درصد معنی دار بود. البته باید ذکر کرد اثر رقم، غلظت‌های مختلف پلی اتیلن گلیکول و اثر متقابل آن‌ها روی قطر ساقه معنی دار نشد.

مقایسه میانگین‌های اثر نوع پایه بر صفات اندازه‌گیری شده (جدول ۳) نشان دهنده این است که بین هر سه پایه در تمام صفات اندازه‌گیری شده غیر از طول شاخه که بین دو پایه MM111 و گمی (GA) و محتوای پروتئین که بین دو پایه MM111 و MM106

1- Guaiacol peroxidase
2- Upadhyaya *et al.*
3- Catalase
4- Aebi

جدول ۱- تجزیه واریانس صفات رویشی اندازه گیری شده در رابطه با غلظت های مختلف پلی اتیلن گلیکول در شرایط درون شیشه ای

منابع تغییرات	درجه آزادی	میانگین مربعات			
		طول شاخه	طول ریشه	وزن تر شاخه	وزن تر ریشه
نوع پایه	۲	۰/۸۸۷**	۶/۷۴۵**	۰/۰۶۳**	۱/۸۵۰**
پلی اتیلن گلیکول	۳	۹/۳۲۱**	۹/۷۲۷**	۰/۰۵۹**	۰/۲۱۴۶**
پایه × پلی اتیلن گلیکول	۶	۰/۱۸۶ ^{ns}	۰/۴۴۵**	۰/۰۰۲ ^{ns}	۰/۰۳۸**
خطا	۳۶	۰/۰۹۵	۰/۱۱۹	۰/۰۰۳۵	۰/۰۰۱۴۸
ضریب تغییرات (%)	-	۶/۱۵۶	۸/۱۴۴	۱۳/۹۹	۷/۶۳۵۲
قطر ساقه					۱۱/۳۴

حروف مشابه در هر ستون نشان دهنده عدم وجود اختلاف معنی دار در سطح ۵ درصد است (آزمون دانکن).

جدول ۲- تجزیه واریانس صفات بیوشیمیایی اندازه گیری شده در رابطه با غلظت های مختلف پلی اتیلن گلیکول در شرایط درون شیشه ای

منابع تغییرات	درجه آزادی	میانگین مربعات			
		شاخص کلروفیل	پرولین	قندهای محلول	پروتئین
نوع پایه	۲	۲۶۳/۳۶۸**	۹/۲۹**	۹۸۴/۱۸**	۰/۰۳۱۴**
پلی اتیلن گلیکول	۳	۳۵۱/۳۰۲**	۲۱/۵۰**	۱۰۷۷/۲۵**	۰/۰۹۹۹**
پایه × پلی اتیلن گلیکول	۶	۳۰/۸۹۶**	۱/۳۳ ^{ns}	۴۸/۴۹ ^{ns}	۰/۰۳۵۴**
خطا	۳۶	۴/۹۲۲	۱/۷	۴۷/۷۲	۰/۰۰۳۰
ضریب تغییرات (%)	-	۷/۷۱۸	۱۵/۳۴	۷/۰۶	۱۷/۵۴
گیا کول پراکسیداز					۱۸/۹۶
کاتالاز					۱۶/۵۲
گیا کول پراکسیداز					۰/۰۰۰۰۷۲۶۴ ^{ns}
کاتالاز					۰/۰۰۵۲۱ ^{ns}
گیا کول پراکسیداز					۰/۰۰۰۰۸۵۹۸ ^{ns}
کاتالاز					۰/۰۱۵۹**
گیا کول پراکسیداز					۰/۰۰۰۰۰۴۹
کاتالاز					۰/۰۰۳۷

ns، **، * به ترتیب معنی دار در سطوح ۵٪، ۱٪ و غیر معنی دار.

جدول ۳- مقایسه میانگین های مربوط به اثرات نوع پایه روی صفات اندازه گیری شده پایه های سیب تحت غلظت های مختلف پلی اتیلن گلیکول در شرایط درون شیشه ای

صفات	طول شاخساره (سانتی متر)	وزن تر شاخساره (گرم)	پرولین (میکرو مول بر گرم وزن تر)	قندهای محلول (میلی گرم بر گرم وزن تر)	نوع پایه
MM111	۳/۸۷۵ a	۰/۴۸۷ a	۵/۵۵۶ b	۹۷/۵۲۳ b	
MM106	۳/۶۴۶ b	۰/۳۶۲ c	۵/۸۳۱ b	۹۰/۰۰۲ c	
گمی آلماسی	۴/۰۸۶ a	۰/۴۳۲ b	۶/۹۹۲ a	۱۰۵/۶۸۳ a	

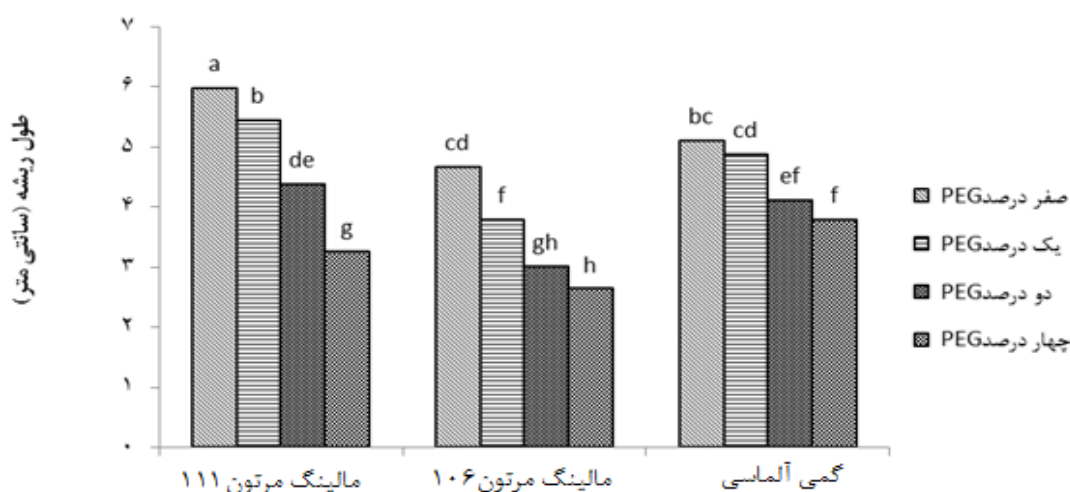
ns، **، * به ترتیب معنی دار در سطوح ۵٪، ۱٪ و غیر معنی دار.

جلالی صنغ آبادی و جلیلی مرندی: بررسی پاسخ سه پایه سیب به تنش خشکی در ...

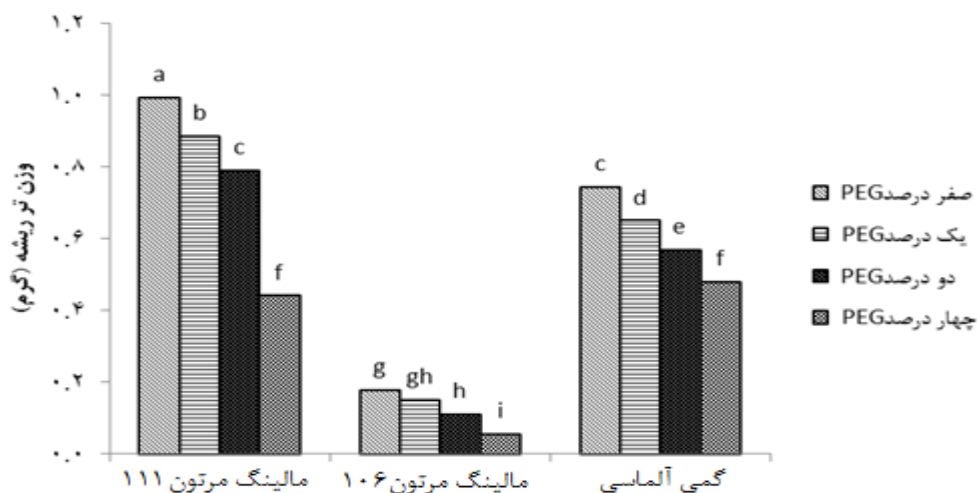
جدول ۴- مقایسه میانگین‌های صفات اندازه گیری شده تحت تاثیر غلظت‌های مختلف پلی اتیلن گلیکول در شرایط درون شیشه ای

صفات	طول شاخساره (سانتی متر)	وزن تر شاخساره (گرم)	پرو لین (میکرو مول بر گرم وزن تر)	قندهای محلول (میلی گرم بر گرم وزن تر)	گایاکول پراکسیداز (میکرو مولار H ₂ O ₂ بر دقیقه بر گرم وزن تر)	تیمار پلی اتیلن گلیکول
شاهد	۵/۰۰۱۷ a	۰/۵۱ a	۴/۶۴۱ c	۸۷/۰۱۸ d	۰/۰۱۸۱۵۴ c	
یک درصد	۴/۰۴۹۲ b	۰/۴۵ b	۵/۷۳۲ b	۹۳/۸۰۸ c	۰/۰۳۶۶۳۷ b	
دو درصد	۳/۴۲۲۱ c	۰/۴ b	۶/۲۷۵ b	۱۰۱/۰۷۴ b	۰/۰۴۲۰۴۷ b	
چهار درصد	۲/۹۶۵۸ d	۰/۳۴۴ c	۷/۸۵۶ a	۱۰۹/۰۴۴ a	۰/۰۵۱۰۶۸ a	

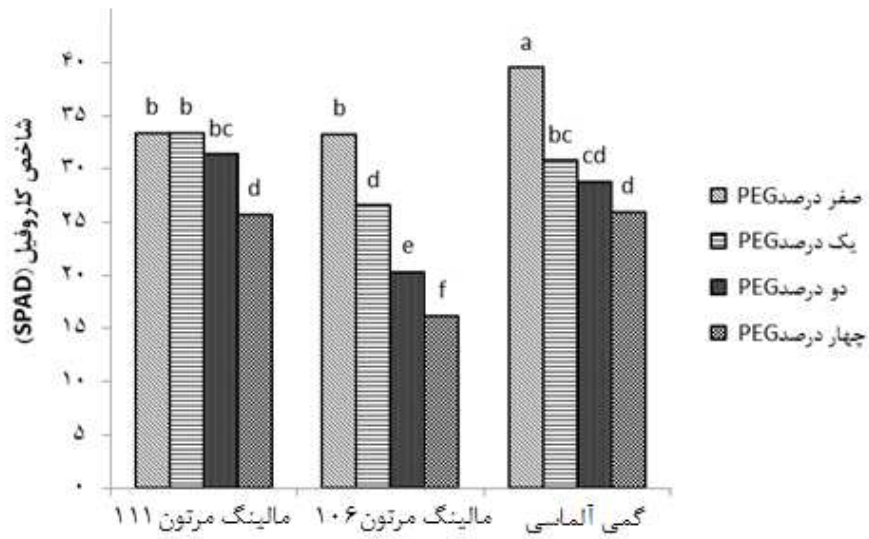
حروف مشابه در هر ستون نشان دهنده عدم وجود اختلاف معنی دار در سطح ۰.۰۵٪ است (آزمون دانکن).



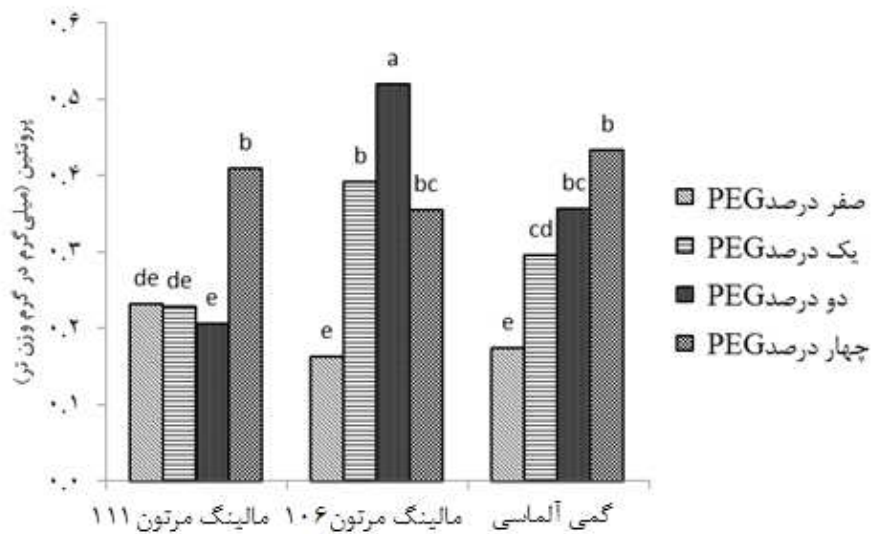
نمودار ۱- مقایسه میانگین‌های اثر متقابل نوع پایه و غلظت‌های مختلف پلی اتیلن گلیکول (PEG) بر طول ریشه حروف غیر مشابه نشان دهنده وجود اختلاف معنی دار در سطح احتمال ۰.۰۵٪ آزمون دانکن است.



نمودار ۲- مقایسه میانگین‌های اثر متقابل نوع پایه و غلظت‌های مختلف پلی اتیلن گلیکول (PEG) بر وزن تر ریشه حروف غیر مشابه نشان دهنده وجود اختلاف معنی دار در سطح احتمال ۰.۰۵٪ آزمون دانکن است



نمودار ۳- مقایسه میانگین‌های اثر متقابل نوع پایه و غلظت‌های مختلف پلی اتیلن گلیکول (PEG) بر شاخص کلروفیل حروف غیر مشابه نشان دهنده وجود اختلاف معنی دار در سطح احتمال ۵٪ آزمون دانکن است.



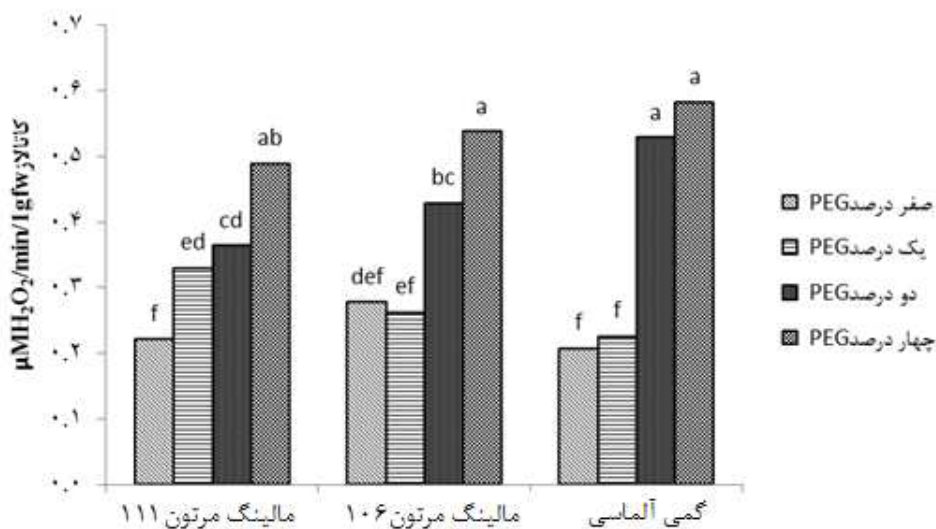
نمودار ۴- مقایسه میانگین‌های اثر متقابل نوع پایه و غلظت‌های مختلف پلی اتیلن گلیکول (PEG) بر محتوای پروتئین حروف غیر مشابه نشان دهنده وجود اختلاف معنی دار در سطح احتمال ۵٪ آزمون دانکن است.

بحث

در این تحقیق، تنش آبی روی کلیه صفات رشدی اندازه گیری شده در هر سه پایه سیب تاثیر داشته است.

کمترین میزان فعالیت آنزیم کاتالاز به ترتیب مربوط به تیمار ۴ درصد و شاهد پایه گمی (GA) بود. همچنین اختلاف معنی داری بین هر سه پایه در تیمار ۴ درصد پلی اتیلن گلیکول مشاهده نشد (نمودار ۵).

جلالی صنغ آبادی و جلیلی مرندی: بررسی پاسخ سه پایه سیب به تنش خشکی در ...



نمودار ۵- مقایسه میانگین‌های اثر متقابل نوع پایه و غلظت‌های مختلف پلی اتیلن گلیکول (PEG) بر محتوای آنزیم کاتالاز حروف غیر مشابه نشان دهنده وجود اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال ۵٪ آزمون دانکن است.

ماده ساخت آن یعنی گلو تامات با کلروفیل، میزان کلروفیل کاهش می‌یابد (جلیلی مرندی، ۱۳۹۰). این امر باعث کاهش میزان کلروفیل در برگ‌ها می‌شود. با توجه به نتایج مشاهده می‌شود که بین پایه گمی (GA) با پایه MM111 اختلاف معنی‌داری وجود نداشت. همچنین بیشترین میزان کلروفیل مربوط به پایه سیب گمی (GA) بود. به دلیل اینکه دوام فتوسنتز و حفظ کلروفیل برگ تحت شرایط تنش، از جمله شاخص‌های فیزیولوژیکی تحمل به تنش است (سی و سه مرده و احمدی، ۱۳۸۳). همچنین کاهش در میزان کلروفیل برگ تحت تنش باعث کاهش کارایی فتوسنتزی در گیاهان می‌گردد و گیاهانی که بتوانند کلروفیل خود را حفظ کنند می‌توانند فتوسنتز بالاتری داشته باشند (سالیسبوری و رز، ۱۹۹۲)، می‌توان گفت که پایه گمی (GA) نیز می‌تواند در شرایط خشکی همانند یک پایه متحمل به خشکی عمل کند.

یکی از پاسخ‌های شاخ‌های گیاه در مواجهه با تنش‌ها از جمله تنش خشکی تجمع پرولین و قندهای محلول در

همگام با افزایش شدت تنش محتوای آب سلول‌ها کاهش می‌یابد. کاهش در محتوای آب، آب در دسترس برای توسعه سلول‌ها را محدود می‌کند (کاتریجی، ۱۹۷۷)، بنابراین کاهش در رشد ریزنمونه‌ها می‌تواند مربوط به کاهش محتوای آب باشد. این نتایج قبلاً در ریزنمونه‌های پایه MM106 سیب مشاهده شده است (ملاسیتوس، ۲۰۰۶). همچنین به نظر می‌رسد کاهش وزن تر در گیاهان تیمار شده با خشکی، به دلیل جلوگیری از توسعه و رشد سلولی ناشی از کاهش فشار تورژانس باشد (بهاث و سرینواسا راو، ۲۰۰۵).

بنظر می‌رسد که کاهش غلظت کلروفیل بواسطه اثر کلروفیل‌لاز، پراکسیداز و ترکیبات فنلی و در نتیجه تجزیه کلروفیل باشد (باتس و همکاران، ۱۹۷۳). همچنین خشکی سبب کاهش سنتز کلروفیل شده و کمپلکس کلروفیل-پروتئین ناپایدار می‌شود. بعلاوه در اثر افزایش یافتن میزان پرولین در گیاه، به دلیل یکسان بودن پیش

- 1- Katerji
- 2- Bhatt & Srinivasa Rao
- 3- Bates *et al.*

خشکی افزایش می‌یابد (سلیر و همکاران^۳، ۱۹۹۸). پروتئین‌های دهیدرین در شرایط تنش خشکی، دمای بالا و شوری در سلول‌های گیاهی که در معرض پسابدگی (از دست رفتن آب سلول) قرار می‌گیرند، تجمع می‌یابند و نقش حفاظتی دارند (جلیلی مرندي، ۱۳۹۰).

محمد خانی و حیدری^۴ (۲۰۰۸) در گیاه ذرت نشان دادند که تنش باعث افزایش در میزان برخی پروتئین‌ها می‌شود. در مقابل برخی تحقیقات که توسط ضرابی و همکاران (۱۳۸۹) روی زیتون و راهداری (۱۳۸۷) روی گیاه چای انجام گرفته است نشان می‌دهد که محتوای پروتئین در اثر خشکی کاهش می‌یابد.

به نظر می‌رسد که دلیل افزایش ابتدایی در پروتئین محلول کل در طول تنش خشکی به علت بیان پروتئین‌های تنش جدید باشد اما کاهش، به علت کاهش شدید در فتوسنتز است (محمد خانی و حیدری، ۲۰۰۸). همچنین تخریب پروتئین ممکن است نتیجه افزایش پروتئاز یا دیگر آنزیم‌های کاتابولیک باشد (دیویس^۵، ۱۹۸۷).

تحت تنش خشکی اکسیژن‌های فعال در گیاهان تجمع می‌یابند. گفته می‌شود که گیاهان دارای یک سیستم پاکسازی توسط آنزیم‌های محافظ داخلی هستند (وانگ^۶، ۲۰۰۲). مشاهده شده است که فعالیت آنزیم‌های کاتالاز و پراکسیداز تحت تنش خشکی در بسیاری از گیاهان تحت تاثیر قرار می‌گیرد (جیانگ و رن^۷، ۲۰۰۴).

کاتالاز و پراکسیداز از آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان عمده می‌باشند. افزایش در فعالیت کاتالاز و پراکسیداز به عنوان یک ویژگی سازگاری کمک کننده برای غلبه یافتن به صدمه متابولیسم بافت‌ها برای کاهش سطح سمی

برگ‌ها می‌باشد (علیزاده و همکاران^۱، ۲۰۱۱). بیان شده است که در ژنوتیپ‌هایی که میزان پرولین آنها تحت تنش افزایش می‌یابد، مقدار نسبی آب برگ کاهش کمتری دارد. بنابراین افزایش پرولین در کاهش اثرات تنش نقش دارد که این اثرات بخاطر نقش پرولین در تنظیم اسمزی یا نقش حفاظتی آن می‌باشد (جوادی و همکاران، ۱۳۸۳). تجمع پرولین در اثر خشکی به افزایش محتوی پیش ماده‌های بیوستنز پرولین شامل اسید گلوتامیک، اورنیتین و آرژنین مربوط می‌باشد (اشرف و فولاد^۲، ۲۰۰۷).

در سلول‌های گیاهی به منظور گریز از پلاسمولیز و برقراری تورژسانس، تحت شرایط تنش خشکی، مولکول‌های درشت‌تر نظیر نشاسته، به ساکارز سپس مولکول‌های کوچکتر مانند گلوکز و فروکتوز شکسته می‌شوند. بعلاوه، کاهش مصرف قند نیز عامل دیگری برای افزایش قند در سلول می‌باشد (حق نیا، ۱۳۶۸).

در پژوهش حاضر افزایش در غلظت قندهای محلول با شدت یافتن تنش مشاهده گردید که بیشترین تجمع مربوط به پایه گمی (GA) بود. یعنی با انباشت ترکیبات اسمزی نظیر قندهای محلول سعی می‌کند پتانسیل اسمزی بافت تحت تنش را کاهش دهد تا با جذب آب، فشار تورژسانس سلول‌ها در حد مطلوب نگهداری شده و ادامه فعالیت‌های فیزیولوژیکی از جمله رشد سلول‌ها ممکن گردد. نتایج حاصل از این تحقیق با یافته‌های دیگر محققان نیز مطابقت دارد (علیزاده و همکاران، ۲۰۱۱؛ جوادی و همکاران، ۱۳۸۳).

با توجه به نتایج مشاهده می‌شود که در پایه‌های گمی (GA) و MM111 محتوای پروتئین در اثر تنش افزایش یافت اما در پایه MM106 پس از افزایش پروتئین تا تیمار ۲ درصد پلی‌اتیلن گلیکول میزان پروتئین کاهش نشان داد. برخی از گزارش‌ها نشان می‌دهد که پروتئین‌های خانواده دهیدرین در گیاهان تحت تنش

3- Cellier *et al.*

4- Mohammadkhani & Heidari

5- Davies

6- Wang

7- Jiang & Ren

1 Alizadeh *et al.*

2- Ashraf & Foolad

جلالی صنغ آبادی و جلیلی مرندی: بررسی پاسخ سه پایه سیب به تنش خشکی در ...

تولید پراکسید هیدروژن^۱ در مدت متابولیسم سلول و حفاظت در برابر تنش اکسیداتیو فرض می‌شود (سودهاکار و همکاران^۲، ۲۰۰۱).

در نتایج این تحقیق مشاهده گردید که با اعمال تنش خشکی میزان فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی در برگ‌های پایه‌های سیب مورد آزمایش افزایش یافت. افزایش فعالیت آنزیم‌های کاتالاز و گایاکول پراکسیداز تحت تنش خشکی موید حذف رادیکال‌های آزاد تولید شده در اثر تنش اکسیداتیو ناشی از خشکی می‌باشد.

نتیجه‌گیری

بر اساس نتایج بدست آمده در این پژوهش می‌توان چنین نتیجه‌گیری کرد که افزایش شدت تنش، صفات مورفولوژیکی و بیوشیمیایی اندازه‌گیری شده در پایه‌های مورد آزمایش را تحت تاثیر قرار می‌دهد. مکانیسم‌های مهم و اصلی برای مقابله با تنش خشکی در پایه‌های مورد آزمایش عبارتند از: تولید ریشه مناسب در شرایط تنش خشکی در نتیجه نگهداری سطح بالای آب در داخل گیاه، حفظ کلروفیل در شرایط تنش و در نتیجه حفظ فتوسنتز، افزایش ترکیبات اسمزی از جمله پرولین، قندهای محلول و پروتئین، افزایش فعالیت سیستم آنتی‌اکسیدانی آنزیمی شامل آنزیم‌های کاتالاز و گایاکول پراکسیداز.

با توجه به نتایج بدست آمده مشاهده می‌شود که پایه‌های گمی‌آلماسی و MM111 با بکار بستن بیشتر مکانیسم‌های فوق‌توانسته‌اند اثرات منفی خشکی را روی خصوصیات مورفولوژیکی خود از قبیل قطر ساقه، وزن تر ریشه، طول شاخساره و طول ریشه در مقایسه با پایه MM106 به حداقل برسانند. بنابراین می‌توان پایه گمی‌آلماسی را نیز همانند پایه MM111 جزو پایه‌های متحمل به خشکی دانست.

1- Hydrogen peroxide
2- Sudhakar *et al.*

منابع

۱. جلیلی مرندی، ر. ۱۳۹۰. فیزیولوژی تنش های محیطی و مکانیسم های مقاومت در گیاهان باغی (درختان میوه، سبزی ها، گیاهان زینتی و گیاهان دارویی). جلد اول. انتشارات جهاد دانشگاهی ارومیه، ۶۶۳ ص.
۲. جوادی، ت.، ارزانی، ک. و ابراهیم زاده، ح. ۱۳۸۳. بررسی میزان کربوهیدرات های محلول و پرولین در نه ژنوتیپ گلابی آسیایی (*Pyrus serotina* Rehd) تحت تنش خشکی. مجله زیست شناسی ایران، ۱۷(۴): ۸۷-۹۷.
۳. حقنیا، غ. ۱۳۶۸. راهنمای تحمل گیاهان به شوری. جهاد دانشگاهی مشهد، ۳۲ ص.
۴. راهداری، پ. ۱۳۸۷. تغییر در روند متابولیسمی در طول تنش های غیر زیستی (شوری، خشکی و حرارت) در گیاه جای (*Camellia sinensis*). مجله علوم زیستی واحد لاهیجان، ۱(۲): ۴۵-۵۴.
۵. سی وسه مرده، ع. و احمدی، ع. ۱۳۸۳. اثر تنش خشکی بر فندهای محلول، کلروفیل و پرولین در ارقام گندم سازگار با شرایط اقلیمی ایران. مجله علوم کشاورزی ایران، ۳(۳): ۷۵۳-۷۶۳.
۶. ضرابی، م.، طلائی، ع.، سلیمانی، ع. و حداد، ر. ۱۳۸۹. نقش فیزیولوژیکی و تغییرات بیوشیمیایی شش رقم زیتون (*Olea europaea* L.) در برابر خشکی. نشریه علوم باغبانی (علوم و صنایع کشاورزی)، ۲۴(۲): ۲۳۴-۲۴۴.
7. Aebi, H. 1984. Catalase *in vitro*. Methods in Enzymology, 105: 121-126.
8. Alizadeh, A., Alizade, V., Nassery, L., and Eivazi, A. 2011. Effect of drought stress on apple dwarf rootstocks. Technical Journal of Engineering and Applied Sciences, 1(3): 86-94.
9. Arora, A., Sairam, R.K., and Srivastava, G.C. 2002. Oxidative stress and antioxidative systems in plants. Current Science, 82: 1227-1238.
10. Ashraf, M., and Foolad, M.R. 2007. Roles of glycine betaine and proline in improving plant abiotic stress resistance. Environmental and Experimental Botany, 59: 206-216.
11. Bates, I.S., Waldern, R.P., and Teare, I.D. 1973. Rapid determination of free proline for water stress studies. Plant and Soil, 39: 205-207.
12. Bhatt, R.M., and Srinivasa Rao, N.K. 2005. Influence of pod load on response of okra to water stress. Indian Journal of Plant Physiology, 10: 54-59.
13. Bradford, M.M. 1976. A dye binding assay for protein. Analytical Biochemistry, 72: 248-254.
14. Cellier, F.G., Conejero, J.C., Breitler, J.C., and Casse, F. 1998. Molecular and physiological responses to water deficit in drought tolerant and drought-sensitive lines of sunflowers. Accumulation of dehydrin transcripts correlates with tolerance. Plant Physiology, 116: 319-328.

15. Chai, T.T., Fadzillah, N.M., Kusnan, M., and Mahmoodi, M. 2005. Water stress induced oxidative damage and antioxidant responses in micropropagated banana plantlets. *Plant Biology*, 49: 153- 156.
16. Chamnongpol, S., Willekens, H., Moeder, W., Langebartels, C., Sandermann, H., Van, M.M., Inze, D., and Van, C.W. 1998. Defense activation and enhanced pathogen tolerance induced by H₂O₂ in transgenic tobacco. *Proceedings of the National Academy of Science of the United States of America*, 95: 5818–5823.
17. Crowe, J.H., Hoekstra, F.A., and Crowe, L.M. 1999. Anhydrobiosis. *Annual Review of Physiology*, 54: 579-599.
18. Dami, I., and Hughes, H. 1995. Leaf anatomy and water loss of *in vitro* PEG-treated 'Valiant' grape. *Plant Cell Tissue Organ Culture*, 4: 179-184.
19. Davies, K.J.A. 1987. Protein damage and degradation by oxygen radicals. I. General aspects. *Journal of Biological Chemistry*, 262: 9895–9901.
20. Dhindsa, R.S., and Cleland, R.E. 1975. Water stress and protein synthesis. I. Differential inhibition of protein synthesis. *Plant Physiology*, 55: 778-781.
21. Hare, P.D., Cress, W.A., and Staden, J.V. 1999. Proline synthesis and degradation: A model system for elucidating stress-related signal transduction. *Journal of Experimental Botany*, 50: 413-434.
22. Higgs, K.H., and Jones, H.G. 1990. Response of apple rootstocks to irrigation in South East England. *Journal of Horticultural Science*, 65: 129-141.
23. Hsiao, T.C. 1973. Plant responses to water stress. *Annual Review of Plant Biology*, 24: 519-57.
24. Irigoyen, J.J., Emerich, D.W., and Sanchez-Diaz, M. 1992. Water stress induced changes in concentrations of proline and total soluble sugars in nodulated alfalfa (*Medicago sativa*) plants. *Plant Physiology*, 84: 55-60.
25. Ji, Z.B., Wang, J.X., Li, J.W., Xue, S., and Zhang, M.L. 2009. Dynamic changes of soluble sugar in seedlings of *Robinia pseudoacacia* under drought stress and rewatering in different seasons. *Acta Botanica Boreali-Occidentalia Sinica*, 29(7): 1358-1363.
26. Jiang, H.F., and Ren, X.P. 2004. The effect on SOD activity and protein content in ground nut leaves by drought stress. *Acta Agromomica Sinica*, 30: 169-174.
27. Kang, H.M., and Saltiveit, M.E. 2002. Chilling tolerance of maize, cucumber and rice seedling(leaves and roots) and differentially affected by salicylic acid. *Physiologia Plantarum*, 115: 577-576.
28. Katerji, N., Hoom, J.W., Hamdy, A., Mastrorilli, M., and Karzel, E.M. 1997. Osmotic adjustment of sugar beets in response to soil salinity and its influence on stomatal conductance, growth and yield. *Agricultural Water Management*, 34: 57-69.

29. Kuznetsov, V.V., and Shevyakova, N.I. 1999. Proline under stress: Biological role, metabolism, and regulation. *Russian Journal of Plant Physiology*, 46: 274-286.
30. Landsberg, J.J., and Jones, H.G. 1981. Apple orchards. In *Water Deficits and Plant Growth*, Vol. 6. Ed. T.T. Kozlowski. Academic Press, London, pp 419-469.
- Luo, Z.B., Li, K., Jiang, X., and Polle, A. 2009. Ectomycorrhizal fungus (*Paxillus involutus*) and hydrogels affect performance of *Populus euphratica* exposed to drought stress. *Annals of Forest Science*, 66(1): 1-10.
31. Massacci, A., Nabiev, S.M., Pietrosanti, L., Nematov, S.K., Chernikova, T.N., Thor K., and Leipner, J. 2008. Response of the photosynthetic apparatus of cotton (*Gossypium hirsutum*) to the onset of drought stress under field conditions studied by gasexchange analysis and chlorophyll fluorescence imaging. *Plant Physiology and Biochemistry*, 46: 189-195.
32. Mohammad khani, N., and Heidari, R. 2008. Effects of drought stress on soluble proteins in two maize varieties. *Turkish Journal of Biology*, 32: 23-30.
33. Molassiotis, A.N., Sotiropoulos, T., Tanou, G., Kofidis, G., Diamantidis, G., and Therios, I. 2006. Antioxidant and anatomical responses in shoot culture of the apple rootstock MM 106 treated with NaCl, KCl, mannitol or sorbitol. *Biologia Plantarum*, 50(3): 331-338.
34. Nayyar, H., and Gupta, D. 2006. Differential sensitivity of C3 and C4 plants to water deficit stress: association with oxidative stress and antioxidants. *Environmental and Experimental Botany*, 58: 106-113.
35. Paquin, R., and Lechasseur, P. 1979. Observations sur une methode de dosage de la proline libre dans les extraits de plantes. *Canadian Journal of Botany*, 57: 1851-1854.
36. Salisbury, F.B., and Ross, G.W. 1992. *Plant Physiology*. 4th ed. Wadsworth Pub.Co, Belmont, California, U.S.A.
37. Srinivas, V., and Balasubramanian, D. 1995. Proline is a protein-compatible hydrotrope. *Langmuir*, 11: 2830-2833.
38. Sudhakar, C., Lakshmi, A., and Giridara kumar, S. 2001. Changes in the antioxidant enzyme efficiency in two high yielding genotypes of mulberry (*Morus alba* L.) under NaCl salinity. *Plant Science*, 161: 613-619.
39. Umezawa, T., Fujita, M., Fujita, Y., Yamaguchi-Shinozaki, K., and Shinozaki, K. 2006. Engineering drought tolerance in plants: discovering and tailoring genes to unlock the future. *Current Opinion in Biotechnology*, 17: 113-122.
40. Updhyaya, A., Sankhla, D., Davis, T.D., Sankhla, N., and Smidh, B.N. 1985. Effect of paclobutrazol on the activities of some enzymes of activated oxygen metabolism and lipid peroxidation in senescing soybean leaves. *Journal of Plant Physiology*, 121: 453-461.
41. Wahid, A., Gelani, S., Ashraf, M., and Foolad, M.R. 2007 Heat tolerance in plants: an overview. *Environmental and Experimental Botany*, 61: 199-223.

42. Wang, J., Li, D.Q., and Gu, L.S. 2002. The response to water stress of the antioxidant system in maize seedling roots with different drought resistance. *Acta Botanica Boreali-Occidentalia Sinica*, 22: 285-290.
43. Winter, S.R., Musick, J.T., and Porter, K.B. 1988. Evaluation of screening techniques for breeding drought resistant winter wheat. *Crop Science*, 28: 512-516.
44. Yordanov, I., Velikova, V., and Tsonev, T. 2000. Plant responses to drought, acclimation, and stress tolerance. *Photosynthetica*, 38: 171-186.