پاسخ های فیزیولوژیکی دانهال خرما (*Phoenix dactylifera*) ، رقم زامردان به تنش های شوری و خشکی

حسین پاسالاری[۱] و ساسان محسن زاده[۲]*

۱- دانشجوی کارشناسی ارشد بخش زیست شناسی دانشگاه شیراز

*۲- **نویسنده مسؤول:** دانشیار بخش زیست شناسی دانشگاه شیراز (Mohsenzadeh@susc.ac.ir)

تاریخ دریافت: ۸۸/۴/۱۳ تاریخ پذیرش: ۸۹/۳/۴

چکیده

شناسایی پاسخ های فیزیولوژیکی به تنش های شوری و خشکی موجب تولید بهتر و بیش تر گیاهان می گـردد. در این پژوهش برخی از پاسخ های فیزیولوژیکی دانهال خرما رقم زامردان نسبت به این تنش ها مورد مطالعه قرار گرفت. تنش شوری در سه سطح شامل ۷۰، ۱٤۰ و ۲۸۰ میلی مولار کلرید سدیم همراه با آبیاری و تنش خشکی در سه سطح و به صورت عدم آبیاری اعمال شدند. مقادیر آب نسبی، اسید آمینه پرولین، قند های محلول و پروتئین کل برگ انـدازه گیری شدند. طرح آماری بلوک های کاملا تصادفی با ۳ تکرار استفاده شد. کاهش مقدار آب نسبی برگ دانهال خرما در تنش خشکی نزدیک به دو برابر کاهش در تنش شوری بود. پرولین برگ در تنش شوری حداکثر ۲٤ درصد و در تـنش خشکی حداکثر ۱٤ درصد در مقایسه با شاهد افزایش داشت. قند های محلول به ترتیـب در تـنش شـوری و خـشکی حداکثر ۱/٦ و ۱/۲ برابر نسبت به شاهد افزایش یافت. پروتئین کل برگ در تنش شوری بـیش تـر از تـنش خـشکی افزایش داشت. بر اساس نتایج رقم زامردان خرما گیاهی متحمل به تنش شوری در سطوح ۷۰ و ۱٤۰ میلی مولار و تـا حدودی سطح ۲۸۰ میلی مولار کلرید سدیم است، اما به تنش خشکی تنها در سطح ملایم متحمل اسـت و بـه تـنش متوسط خشکی و به خصوص خشکی شدید حساس می باشد.

کلید واژه ها: تنش، شوری، خشکی، گیاهچه خرما، رقم زامردان

مقدمه

گیاهان در طول زندگی خود با طیـف وسـیعی از تنش های محیطی روبرو هستند که از جملـه آنهـا تنش های غیر زیستی اسمزی همچـون خـشکی و شوری است که اثرات نـامطلوبی بـر رشـد و نمـو و تولید گیاهان دارند و بـه شـدت میـزان محـصولات کشاورزی را محـدود مـی کننـد. گیاهـان از طریـق مسیر های فیزیولوژیکی، بیوشیمیایی و مولکولی بـه تنش ها پاسخ می دهند. شناسایی این مکانیسم هـا می تواند گام مهمی برای مقابله با آثار مخرب تنش های مـذکور باشـد (۲۲). آب از جملـه مهـم تـرین نیازهـای گیاهـان اسـت کـه کمبـود و یـا کیفیـت نامطلوب آن همواره استقرار، رشد و عملکرد آنهـا را با محدودیت مواجه مـی سـازد. بـا در نظـر گـرفتن میزان بارندگی کم، بالا بودن مقدار تبخیـر و تعـرق گیاهان و محدودیت منابع آبی، مسأله خشکی جـزء مهم ترین مشکلات کشاورزی و منابع طبیعی کشور ما محسوب می گردد (۲).

زیستگاه های شـور مقـدار زیـادی نمـک هـای محلول دارند که از منابع خاک و آب شور ایجاد می شود. شوری خاک یک مشکل بزرگ کـشاورزی در مقیاس جهانی محسوب می شود. افزایش نمـک در خاک باعث ایجـاد مـشکلات فراوانـی بـرای مـردم

جهان بخصوص در نـواحی خـشک و نیمـه خـشک مانند کشور ما شده است. تبخیر آب خاک باعث بالا آمدن نمک قسمت های پایین تر خـاک مـی شـود. بررسی شده است که از ۳۴۳ میلیون هکتار از خـاک های شـور در دنیـا، آسـیا دارای بیـشترین مـساحت اراضی شور می باشد (۳). شوری بـه دلیـل افـزایش فشار اسمزی خاک علاوه بر کاهش جذب آب توسط گیاه، بر روی سلول های آن نیز اثرات سـمی ایجـاد می کند (۶).

پاسخ های فیزیولوژیکی گیاه در برابر تنش های اسمزی شامل تغییراتی در فیزیولوژی جذب و انتقال آب از جملـه افـزایش مقـدار اسـمولیت هـا ماننـد اسیدهای آمینه، پروتئین و کربوهیدرات ها می باشد کـه در تنظـیم اسـمزی موثرنـد (۱۲). پاسـخ هـای مولکولی نیز شـامل انتقـال پیـام تـنش بـه DNA وتغییر بیان ژن ها برای تولید برخی پـروتئین هـای عملکردی از جمله آنزیم ها می باشد (۱۷).

خرمـــا (*Phoenix dactylifera*) از لحـــاظ اقتصادی و کشاورزی به عنوان یکی از گیاهان بسیار مهم مناطق گرم و خـشک تلقـی مـی شـود. خرمـا علاوه بر نقش تغذیه ای و درآمدی که برای اسـتان های جنوبی کشور دارد، بـه عنـوان یـک محـصول عمده صادرات غیر نفتی کشور محسوب مـی شـود. ایران از نظر سطح کشت و تولید خرما در رتبـه دوم جهانی قـرار دارد (۱). خرمـا در ایـران دارای واریتـه های بسیاری اسـت و دارای خرماهـای مرغـوب بـا شهرت جهانی است. این مطالعه به منظـور بررسـی پاسخ های فیزیولوژیکی رقم زامردان که یـک رقـم مرغوب خرمای استان هرمزگان می باشد، نسبت به تـنش هـای خـشکی و شـوری کـه از مـشکلات کشاورزی در این استان است، انجام گرفت.

مواد و روش ها

بذر خرمای رقم زامردان، از نخلستان های استان هرمزگان شهرستان بستک تهیه شد. این گیاهان از طریق گرده افشانی ارقـام نـر زامـردان بـارور شـده بودند. بذور در یکی از نخلستان ها پس از جوانه زنی در گلدان های جداگانه به دانهال های هفـت ماهـه تبـدیل گردیدنـد. دانهـال هـا سـپس بـه گلخانـه تحقیقاتی دانشگاه شیراز منتقل و درون همان گلدان ها به مدت دو هفته در شرایط جدید استقرار یافتنـد. تنش شوری در سـه سـطح مختلـف غلظـت نمـک شامل ۷۰، ۱۴۰ و ۲۸۰ میلـی مـولار کلریـد سـدیم آزمایشگاهی اعمال شد. در تنش شوری نمونـه هـا یک روز در میان با غلظت های مختلف شـوری بـه مدت یک هفته آبیاری شدند و پس از ظهور علایـم تنش، برگ دانهال ها جمـع آوری و در دمـای ۲۰- درجه سانتی گراد تا زمان انـدازه گیـری مـورد نظـر نگهداری شدند. بر اساس آزمایش های آغـازین بـر روی دانهـال خرمـا، تیمـار خـشکی در سـه سـطح مختلف تنش خـشکی کـم، متوسـط و شـدید و بـه صورت عدم آبیـاری اعمـال شـد. در تـنش ملایـم خشکی، نمونه ها به مدت ۱۰ روز هر دو روز یک بار به مقدار ۱۰۰ میلی لیتر در ساعت ۱۰ صبح آبیـاری شدند. بعد از این ۱۰ روز یک دوره خشکی ۴ روزه را متحمل شدند و در نهایت جمـع آوری گردیدنـد. در تنش متوسط خشکی دانهال ها به مـدت ۹ روز هـر سه روز یک بار آبیاری شدند. بعد از این ۹ روز یـک دوره خشکی ۵ روزه را متحمـل و در نهایـت جمـع آوری شدند. تنش شدید خشکی به این صورت بـود که نمونه ها به مدت ۸ روز هر ۴ روز یک بار آبیاری می شدند. بعد از مـدت ۸ روز یـک دوره خـشکی ۶ روزه را متحمل و در نهایت برگ دانهـال هـا جمـع آوری و در دمای ۲۰- درجه سانتی گـراد تـا زمـان انجام آزمایش های مورد نظر نگهداری شدند. تنش های خشکی به نحوی برنامه ریـزی شـدند کـه بـا تفاوت روز آبیاری و همچنین با تنش شدیدتری قبل از برداشت همراه باشـند. آزمـایش تـنش شـوری و تنش خشکی جدا از یکدیگر صورت گرفت. در کنـار نمونه های تحت تنش خشکی و یا شـوری، نمونـه

های شاهد در شرایط معمولی و بدون تنش به صورت یک روز در میان با آب معمولی آبیاری می شدند.

صفات مورد اندازه گیری شامل محتوی آب نسبی گیاه یا RWC[1] و اسید آمینه پرولین آزاد، قندهای محلول و پروتئین کل برگ در هردو نوع تنش و نمونه های شاهد بود. برای محتوی آب نسبی گیاه ابتدا وزن تازه برگ دوم گیاهچه خرما در ۳ تکرار اندازه گیری و به قطعات یک سانتی متری خرد شد. سپس این قطعات در آب مقطر و در تاریکی مطلق به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۴ درجه سانتی گراد برای تعیین وزن اشباع قرار داده شدند. سپس با قرار دادن نمونه ها در آوِن به مدت ۲۴ ساعت در دمای۷۰ درجه سانتی گراد وزن خشک آن ها اندازه گیری گردید. آنگاه از طریق فرمول زیر درصد RWC محاسبه شد:

$$\% RWC = \frac{\text{وزن تازه} - \text{وزن خشک}}{\text{وزن اشباع} - \text{وزن خشک}} \times ۱۰۰$$

اندازه گیری اسید آمینه پرولین آزاد از روش بیتس و همکاران[2] (۵) انجام شد. قندهای محلول مطابق روش نلسون استخراج و اندازه گیری گردیدند (۱۹). پروتئین از برگ تیمار و شاهد استخراج شده و پروتئین کل توسط روش برادفورد[3] (۸) اندازه گیری گردید. سه گلدان به عنوان تکرارهای شاهد و یا تنش خشکی و شوری در طرح آماری بلوک های کامل تصادفی استفاده شد. تجزیه آماری با نرم افزار SPSS و از طریق ANOVA در سطح ۰/۰۵ انجام شد.

نتایج و بحث

گیاهان از طریق حفظ آب موجود، جذب آب بیش تر و تحمل به کم آبی به تنش های اسمزی چون شوری و خشکی پاسخ می دهند (. نتایج نشان داد که تمامی صفات اندازه گیری شده دانهال خرما در سطح ۰/۰۵ معنی دار شدند (جدول ۱) که نشان از پاسخ گیاه به شرایط تنش برای بقاء و ادامه رشد است. مقدار آب نسبی برگ در تنش شوری حداکثر ۲۴ درصد و در تنش خشکی حداکثر ۴۴ درصد نسبت به شاهد کاهش یافته است؛ اما در تنش شوری متوسط و شدید به نظر می رسد که دانهال ها توانائی خود را برای جذب آب حفظ نموده و در تنش شوری ۱۴۰ و ۲۸۰ میلی مولار کلرید سدیم، هر چند کاهش معنی داری در سطح ۰/۰۵ دارند؛ اما تنها حدود ۱۲ درصد کاهش آب نسبی برگ داشته اند (شکل ۱). برخی گیاهان از طریق افزایش فشار اسمزی سیتوپلاسم سلول های ریشه از طریق انباشته نمودن یون های معدنی مانند پتاسیم و یا حتی سدیم (۹) و یا مواد آلی مانند اسید آمینه پرولین (۱۸) و قندهای محلول می توانند بر افزایش فشار اسمزی محلول خاک ناشی از شوری غلبه نموده و جذب آب نمایند. به علاوه تحقیقات نشان داده است که بیان ژن کانال آب یا آکواپورین در گیاه متحمل به تنش کم آبی در شرایط تنش شدید بیش تر از تنش ملایم است (۱۴) بالاتر بودن آب نسبی برگ دانهال ها در تنش شدید شوری نسبت به تنش ملایم را می توان به موارد فوق نسبت داد. آب نسبی برگ گیاهچه ها در تنش خشکی به طور قابل ملاحظه ای کم تر از تنش شوری است و بین تنش شدید و تنش ملایم اختلاف معنی داری در سطح ۰/۰۵ مشاهده نشد (شکل ۲).

مقدار پرولین در تنش شوری سطوح ۷۰، ۱۴۰ و ۲۸۰ میلی مولار کلرید سدیم نسبت به شاهد به ترتیب ۱۷، ۲۴ و ۲۴ درصد افزایش داشته است (شکل ۳). این افزایش در تنش خشکی سطوح ۱، ۲ و ۳ نسبت به شاهد به ترتیب ۱۳، ۱۴ و ۱۴ درصد بود (شکل ۴). افزایش پرولین از مکانیسم های دفاعی گیاه در هنگام مواجهه با تنش های اسمزی

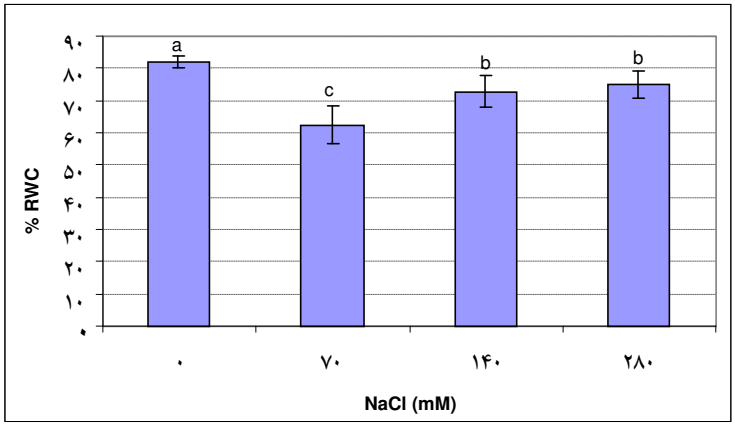
1- Relative water content
2- Bates *et al.*
3- Bradford

از قبیل خشکی، و شوری است و گیاهانی که مقاومت بیش تری به تنش های اسمزی دارند، افزایش پرولین بیش تری خواهند داشت. پرولین علاوه بر تنظیم اسمزی (۲۱) به عنوان ذخیره کربن و نیتروژن در تنش ها ایفای نقش می نماید (۷) .

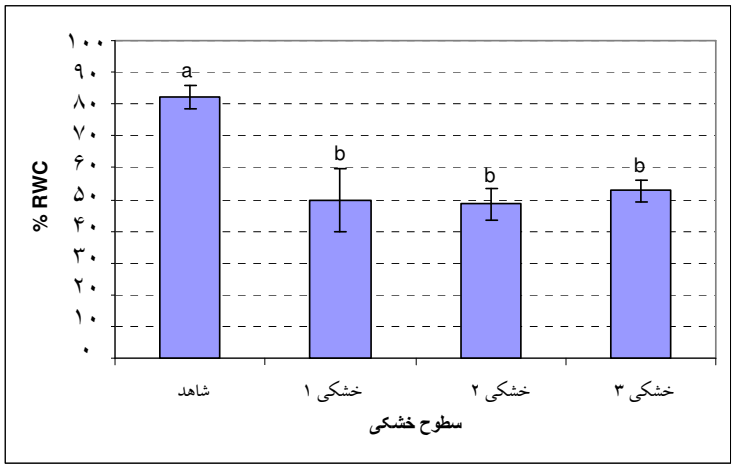
جدول ۱- تجزیه واریانس اثر تنش شوری و خشکی بر برخی از پارامترهای فیزیولوژیکی دانهال خرما

	میانگین مربعات	
	تنش شوری	تنش خشکی
مقدارآب نسبی	۳۳۶/۲۶*	۸۲۴/۲۵*
پرولین	۵۴/۱۴*	۳۸۶/۱۷*
قندهای محلول	۸۷۱/۱۶*	۲۱۹۹/۸۷*
پروتئین کل	۶۷/۱۳*	۳۸/۴۱*

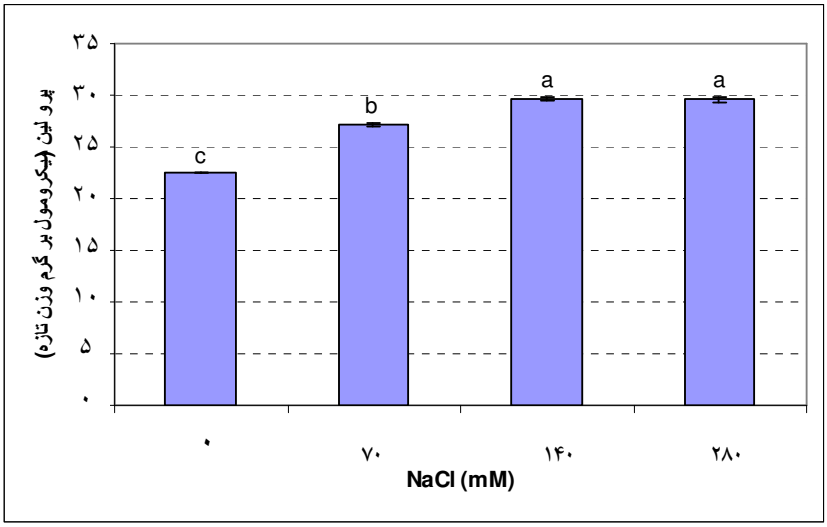
* در سطح ۰/۰۵ معنی دار است.



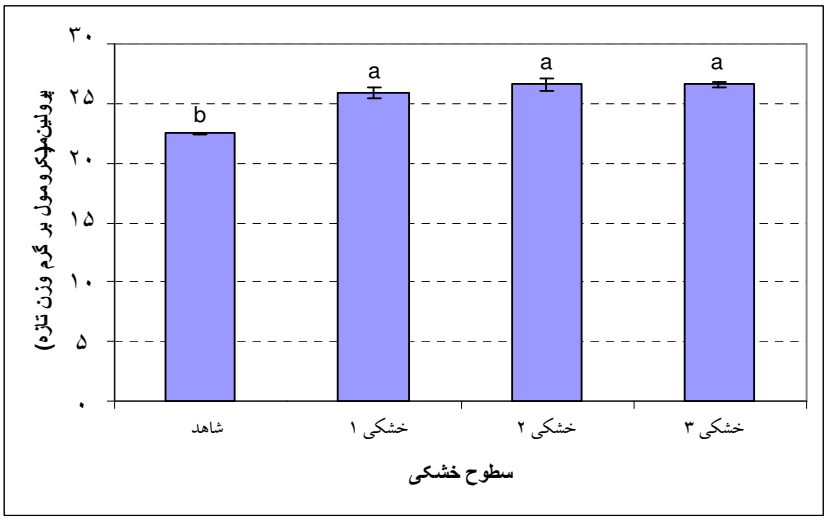
شکل ۱- اثر سطوح مختلف تنش شوری بر مقدار آب نسبی برگ دانهال خرما



شکل ۲- اثر سطوح مختلف تنش خشکی بر مقدار آب نسبی برگ دانهال خرما



شکل ۳- اثر سطوح مختلف تنش شوری بر مقدار پرولین آزاد برگ دانهال خرما

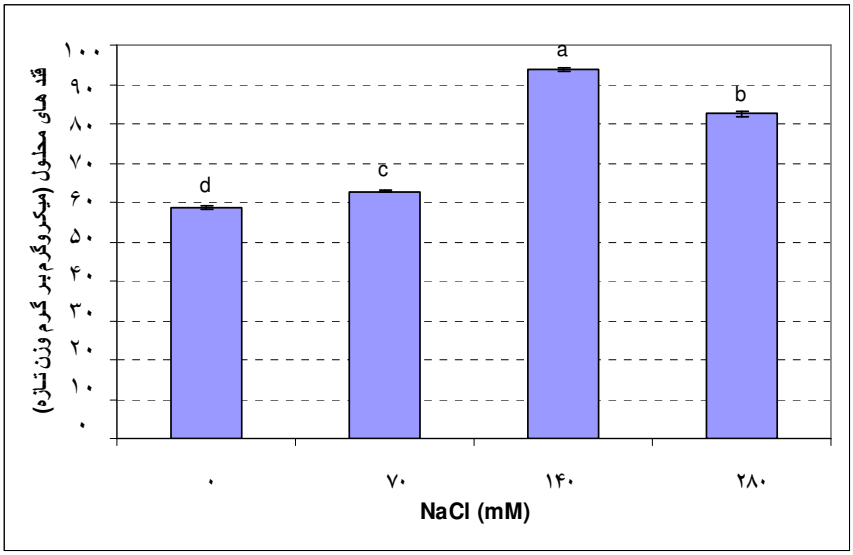


شکل ٤- اثر سطوح مختلف تنش خشکی بر مقدار پرولین آزاد برگ دانهال خرما

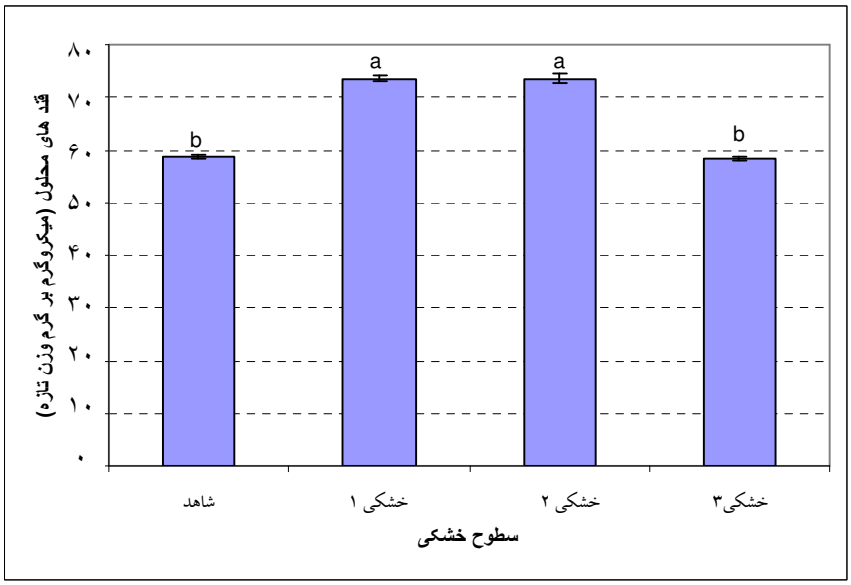
افزایش مقدار پرولین آزاد به دلیل افزایش بیوسنتز اسید آمینه پرولین از طریق افزایش بیان ژن آنزیم سازنده آن (۱۳ و ۱۶) و کاهش مصرف اسید آمینه پرولین می باشد (۱۰ و ۲۰).

مقدار قند های محلول به ترتیب در تنش شوری و خشکی حداکثر ۱/۶ و ۱/۲ برابر نسبت به شرایط شاهد افزایش یافت (شکل ۵ و ۶). قند ها مانند ساکارز و یا فروکتان که پلیمر فروکتوز است به عنوان اسمولیت در تنظیم اسمزی و جذب آب نقش دارند (۷)؛ علاوه بر این قند های محلول می توانند در استحکام بخشیدن به غشاهای سلولی و حفظ آماس سلول نیز عمل کنند (۲۴). مقدار پروتئین کل برگ نمونه های تنش دیده، در هر دو شرایط تنش با افزایش تنش نسبت به شاهد افزایش پیدا کرد، اما

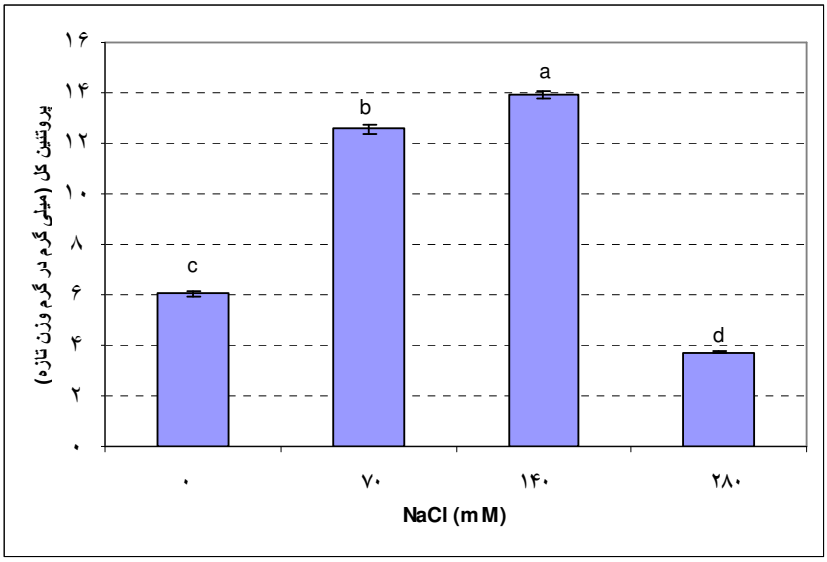
این افزایش در تنش شوری نسبت به خشکی بیشتر بود. به طوری که در تنش شوری سطح ۱۴۰ میلی مولار مقدار پروتئین کل برگ ۲/۳ برابر شده است ولی در تنش خشکی حداکثر ۱/۶ برابر افزایش داشته است (شکل ۷ و ۸).



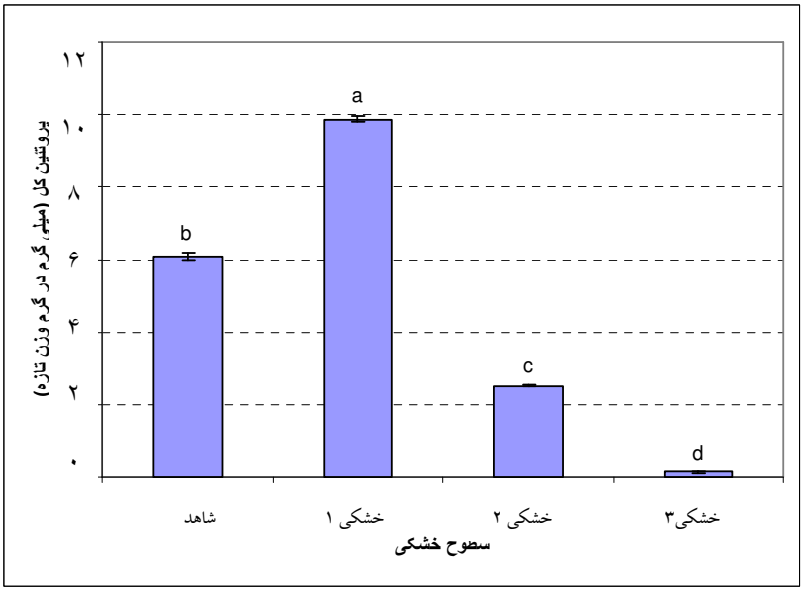
شکل ۵- تغییرات مقدار قند های محلول برگ دانهال خرما در واکنش به سطوح مختلف تنش شوری



شکل ٦- تغییرات مقدار قند های محلول برگ دانهال خرما در واکنش به سطوح مختلف تنش خشکی



شکل ۷- تغییرات مقدار پروتئین کل برگ دانهال خرما در واکنش به سطوح مختلف تنش شوری



شکل ۸- تغییرات مقدار پروتئین کل برگ دانهال خرما در واکنش به سطوح مختلف تنش خشکی

افزایش مقدار پروتئین برگ در تنش ضعیف و یا متوسط می تواند به دلیل افزایش بیوسنتز پروتئین و به کارگیری تمام پتانسیل ژنی گیاه به منظور سازگاری و برنامه ریزی مجدد به شرایط جدید به خصوص حفظ فتوسنتز باشد (۱۵ و ۱۸). تجمع مواد محلول در گونه های مختلف گیاهان متحمل به تنش های اسمزی به دلیل افزایش پروتئین هایی مانند LEA[1] (مخفف پروتئین های فراوان در مراحل پایانی رویان زائی) و یا پروتئین های دی

1- Late embryogenesis abundant

هیدرین که در حفاظت اسمزی موثرند و یا آنزیم های سوپر اکسید دسموتاز و یا کاتالاز که نقش عملی آنها جمع آوری و زدودن سمیت رادیکال های آزاد اکسیژن می باشد و یا آکواپورین ها که کانال های پروتئینی برای جذب آب می باشند (۷)؛ اما وقتی تنش ادامه می یابد و شدید می شود کاهش چشمگیری در مقدار پروتئین به دلیل کاهش بیوسنتز پروتئین و یا تجزیه آن مشاهده می گردد؛ به آن دلیل که دیگر گیاه قادر به تحمل تنش نمی باشد. این موضوع در مورد مقدار قند های محلول برگ درتنش شدبد نیز مشاهده گردید. به طور کلی رقم زامردان خرما گیاهی متحمل به تنش شوری در سطح ملایم، متوسط و تا حدودی سطح شدید است؛ اما به تنش خشکی تنها در سطح ملایم متحمل است و به تنش متوسط خشکی و به خصوص خشکی شدید حساس می باشد. این نتایج با گزارش های پژوهشی خرما در تنش شوری و خشکی در کشت سلولی (۴ و ۲۳) و در کشت گلدانی (۱۱) مطابقت داشت؛ لذا آبیاری با آب کمی شور ولی به طور منظم برای این رقم خرما توصیه می گردد.

منابع

۱. تمهیدی، ف. ۱۳۸۵. تحلیلی بر صادرات خرمای ایران. http://dimit.blogfa.com/post-34.aspx

۲. عبدمیشانی، س. و شبستری، ج. ۱۳۶۶. ارزیابی ارقام گندم برای مقاومت به خشکی. مجله علوم کشاورزی ایران. جلد ۱۹، صص ۳۷-۴۳.

۳. لارچر، و. ۱۳۷۶. اکو فیزیولوژی گیاهی. ترجمه و تدوین ع. کوچکی، ا. سلطانی و م. عزیزی. انتشارات جهاد دانشگاهی، مشهد، ۲۷۱ ص

4. Alkhayri, J.M. 2001. Growth, proline accumulation, and ion content in sodium chloride- stressed callus of date palm. *In Vitro* Cellular & Developmental Biology-Plant, 38: 79-82.

5. Bates, L.S., Waldren, R.P., and Teare, I.D. 1973. Rapid determination of free proline for water stress studies. Plant and soil, 39: 205-207.

6. Bauer, D., Biehler, K., Fock, H., Carrayol, E., Hirel, B., Migge, A. and Becker, T. 1997. A role for cytosolic glutamine synthetase in the remobilization of leaf nitrogen during water stress in tomato. Physiologia Plantarum, 99: 241-248.

7. Bohnert, H.J., and Jensen, R.G. 1996. Strategies for engineering water-stress tolerance in plants. Trends in Biotechnology, 14: 89-97.

8. Bradford, M.M. 1976. A rapid and sensitive method for quantitative of microgram quantitative of protein utilizing the principle of protein dye binding. Analytical Biochemistry, 272: 248-254.

9. Cherian, S., and Reddy, M.P. 2003. Evaluation of NaCl tolerance in the callus cultures of *Suaeda nudiflora* Moq. Biologia Plantarum, 46: 193-198.

10. Delauney, A., and Verma, D. 1993. Proline biosynthesis and osmoregulation in plants. The Plant Journal, 4: 215-223.

11. Djibril, S. Mohamed, O.K. Diaga, D. Diégane, D. Abaye, B. F. Maurice S., and Alain B. 2005. Growth and development of date palm (*Phoenix dactylifera* L.) seedlings under drought and salinity stresses. African Journal of Biotechnology, 4 (9): 968-972.

12. Hasegrawa, P.M. Bressan, R.A. Zhu, J.K., and Bohnert, I.U. 2000. Plant cellular and molecular responses to high salinity. Annual Review of Plant Physiology, 51: 463-499.

13. Hong, Z., Lakkineni, K., Zhang, Z., and Verma, D.S. 2000. Removal of feedback inhibition of 1-pyrroline-5-Carboxylate synthetase results in increased proline accumulation and protection of plant from osmotic stress. Plant Physiology, 122: 1129-1136.

14. Jeroni, G., Alicia, P., Mar, A. M., Magdalena, T., Hipolito, M., and Jaume, F. 2007. Aquaporin expression in response to different water stress intensities and recovery in richter-110 (*Vitis* sp.) relationship with ecophysiological status. Planta, 226: 671-681.

15. Kawasaki, S., Bohnert, C., Deyholos, M., Wang, H., Wang, S., Brazille, S., Kawai, K., Galbraith, D., and Bohnert, H. 2001. Gene expression profiles during the initial phase of salt stress in rice. Plant Cell, 13: 889-905.

16. Kishor, P.K., Hong, Z., Miao, G.H., Hu, C.A., and Verma, D.S. 1995. Overexpression of Δ^1– pyrroline –5– carboxylate synthetase increases proline production and confers osmotolerance in transgenic plants. Plant Physiology, 108: 1387-1394.

17. Knight, H., and Knight, M.R. 2001. Abiotic stress signalling pathways: specificity and cross-talk. Trends in Plant Science, 6: 262–267.

18. Mohsenzadeh, S., Malboobi, M.A., Razavi, K., and Farrahi-aschtiani, S. 2006. Physiological and molecular responses of *Aeluropus lagopoides* (poaceae) to water deficit. Environmental and Experimental Botany, 56 (3): 314-322.

19. Nelson, N. 1944. A photometric adaption of the somogi method for the determination of glucose. Journal of Biological Chemistry, 153: 375-380.

20. Raymond M.J., and Smirnoff N. 2002. Proline metabolism and transport in maize seedlings at low water potential. Annals of Botany, 89: 813-23.

21. Roberts, S.K. 1998. Regulation of K^+ channel in maize root by water stress and abscisic acid. Plant Physiology, 116: 145-153.

22. Sakuma, Y., Liu, Q., Dubouzet, J.G., Abe, H., Shinozaki, K., and Yamaguchi-Shinozaki, K. 2002. DNA-Binding Specificity of the ERF/AP_2 Domain of

Arabidopsis DREBs, Transcription Factors Involved in Dehydration- and Cold-Inducible. Gene Expression Biochemical and Biophysical Research Communications, 290: 998–1009.

23. Sghaier, B. Kriaa, W. Bahloul, M. Jesus, V. Novo, J., and Drira, N. 2009. Effect of ABA, arginine and sucrose on protein content of date palm somatic embryos. Scientia Horticulturae, 120: 379-385.

24. Zeavaart, J.A.D. 1971. Abscisic acid content of spinach in relation to photoperiod and water stress. Plant Physiology, 48: 86-90.