اثر تنش خشکی ناشی از پلی‌اتیلن‌گلایکول بر خصوصیات مورفولوژیک، فیزیولوژیک و بیوشیمیایی ارقام انتخابی بادام

مجله دانش نوین کشاورزی پایدار

جلد ۱۰ شماره ۲

صفحات ۶۳- ۵۳

حسین محمدی
دانشجوی کارشناسی ارشد
گروه علوم باغبانی
دانشکده کشاورزی
دانشگاه آزاد اسلامی
واحد علوم و تحقیقات تهران
تهران، ایران
نشانی الکترونیک ✉:
hossein_mohammadi8143@yahoo.com

علی ایمانی
دانشیار موسسه نهال و بذر کرج
تهران، ایران
نشانی الکترونیک ✉:
imani_a45@yahoo.com

علی مومن‌پور*
دانشجوی دکتری
گروه علوم باغبانی، دانشگاه گیلان
رشت، ایران
نشانی الکترونیک ✉:
alimomenpour2005@gmail.com
(مسؤل مکاتبات)

سمیه محمدیان
دانشجوی کارشناسی ارشد
گروه علوم باغبانی
دانشگاه آزاد اسلامی
واحد کرج
کرج، ایران
نشانی الکترونیک ✉:
s.mohammadian@yahoo.com

چکیده این تحقیق در ایستگاه تحقیقات باغبانی موسسه اصلاح و تهیه نهال و بذر کرج در قالب طرح پایه کاملاً تصادفی به صورت فاکتوریل انجام شد. فاکتورهای آزمایش شامل بذور ارقام مختلف بادام (سوپرنووا، پرلیس، D-99، مارکونا، ربیع و k-۱۶) و تنش اسمزی ناشی از پلی‌اتیلن-گلایکول در پنج سطح ۰، ۲-، ۴-، ۶- و ۸- بار بود. با اعمال تنش خشکی روی گیاهان ارتفاع گیاه، تعداد برگ، کلروفیل a، b و کلروفیل کل، میزان گلوکز و فروکتوز، محتوای رطوبت نسبی برگ، کاهش و میزان پرولین و نشت یونی افزایش یافت ولی میزان این کاهش و یا افزایش در بین ارقام بررسی شده با یکدیگر اختلاف معنی‌داری نشان دادند. همچنین، رقم پرلس و K66 بیشترین حساسیت را نسبت به تنش خشکی از خود نشان دادند و تعداد برگ و ارتفاع گیاه در تنش اسمزی ۲- بار نیز به طور معنی‌داری نسبت به شاهد کاهش نشان داد. بیشترین مقاومت به تنش خشکی در ارقام D99 و مارکونا مشاهده شد و تنش اسمزی تا ۶- بار را تحمل نمودند و تنها در تنش اسمزی ۸- بار تعداد برگ و ارتفاع آن به طور معنی‌داری نسبت به گیاهان شاهد کاهش یافت. نتایج حاصل از بررسی صفات فیزیولوژیک و بیوشیمیایی با نتایج حاصل از اندازه‌گیری صفات رویشی همخوانی داشت. ارقام مارکونا و D99 که بیشترین میزان تولید پرولین و کمترین میزان نشت یونی را دارا بودند، به عنوان مقاوم‌ترین ارقام نسبت به تنش خشکی تشخیص داده شده و رقم K66 به عنوان حساس‌ترین رقم به تنش خشکی معرفی شد.

شناسه مقاله:

نوع مقاله: **پژوهشی**

تاریخ پژوهش: **۹۱-۱۳۹۰**

تاریخ دریافت: **۹۳/۰۲/۰۸**

تاریخ پذیرش: **۹۳/۰۳/۲۸**

واژه‌های کلیدی:

- **تنش خشکی**
- **تنش آبی**
- **گلوکز و فروکتوز**
- **رطوبت نسبی**
- **پرولین**
- **نشت یونی**

مقدمه براساس گزارش *فائو (۲۰۱۱)*، ۹۰٪ از کشور ایران در نواحی خشک و نیمه‌خشک قرار دارد. تنش‌خشکی از عوامل مهمی در کاهش عملکرد گیاهان به شمار می‌رود و حدود یک‌سوم اراضی قابل کشت در جهان از کمبود آب کافی کشاورزی رنج می‌برند.خشکی با تأثیر بر متابولیسم و ویژگی‌های رشدی گیاه در کاهش رشد و تولید گیاه حایز اهمیت است. تنش خشکی سرعت و درصد جوانه زنی را کاهش و استقرار گیاهچه را به تأخیر می‌اندازد. آب یکی از عوامل اصلی فعال کننده جوانه‌زنی است و قابلیت دسترسی بذر به آب، با کاهش پتانسیل اسمزی و ماتریک کاهش می‌یابد.[۲۱] تنش، عاملی خارجی است که اثرات سوء بر گیاه به جای می‌گذارد. علاوه بر شدت تنش و طول دوره آن، مرحله رشدی که گیاه در آن دچار تنش می‌شود نیز بر رشد و عملکرد گیاه حایز اهمیت می‌باشد.[۱۶]

اسموپرایمینگ[1] یکی از روش‌های پیش‌تیمار به شمار می‌رود که طی آن بذور در یک محیط اسمزی هوادهی شده با پتانسیل کم رطوبتی خیسانده می‌شوند. نمک‌ها و مانیتول[2] به طور گسترده‌ای به عنوان یک محیط اسمزی به کار گرفته شده‌اند اما این مواد توسط بذر جذب شده و اثرات سمی بر بذر به جای می‌گذارند.[۳] ماده پلی‌اتیلن‌گلایکول[3] به عنوان یک ترکیب درشت مولکول، نمی‌تواند وارد بذر شده و عوارض معمول نمک‌ها را موجب گردد که از آن به عنوان عامل ایجاد محیط اسمزی استفاده می‌شود.[۱۹] از آن جایی که ایجاد و حفظ یک پتانسیل آب خالص در محیط خاک، کاری مشکل است برای برقراری شرایط تنش خشکی استفاده از پلی‌اتیلن‌گلایکول برای ایجاد شرایطی شبیه به محیط طبیعی، کاربرد زیادی دارد که به طور وسیعی در شرایط آزمایشگاهی به کار می‌رود.[۱۲] این ماده به دلیل داشتن وزن مولکولی بالا نمی‌تواند از دیواره سلولی عبور کند و به همین دلیل از آن برای تنظیم پتانسیل آب در آزمایش‌های جوانه‌زنی استفاده می‌شود.[۸]

در گیاهان حساس به خشکی، افزایش منفی پتانسیل اسمزی محلول خاک موجب انهدام غشای سیتوپلاسمی و منجر به خروج مواد درون یاخته‌ای در یاخته‌های گیاه می‌شود. در واقع، در زمان بروز تنش به دلیل کاهش آب درون‌یاخته‌ای و فشار آماس، میزان محتوای آب نسبی برگ کاهش می‌یابد.[۱۱] همچنین، گیاهان تحت تنش‌های محیطی با ذخیرهٔ مواد تنظیم کنندهٔ فشار اسمزی از قبیل قندهای الکلی، کربوهیدرات‌ها، قندهای مرکب و دیگر ترکیبات فعال نظیر پرولین[4]، گلایسین[5]، بتایین[6]، گلوتامات[7]، پلیول[8]، اکتین[9] و یون‌های معدنی مانند پتاسیم با این تنش‌ها مقابله می‌کنند.[۵] اسید آمینه پرولین یک آمین چهارگانه و گلایسین و بتایین نوعی قند الکلی سوربیتول می‌باشند که در ایجاد و حفظ فشار اسمزی درون گیاه نقش به‌سزایی دارند. به طور معمول، میزان پرولین آزاد در گیاهانی که در حد مطلوب آبیاری می‌شوند، بسیار کم و در حدود ۰/۶ – ۰/۲ میلی‌گرم در گرم ماده خشک می‌باشد. مقدار این ماده پس از کاهش آب بافت‌ها تا ۵۰ – ۴۰ میلی‌گرم در هر گرم ماده خشک افزایش می یابد. در برخی از گیاهان در مراحل اولیه تنش کم آبی، چندین اسیدآمینه افزایش می‌یابد که با ادامه کم‌آبی فقط اسیدآمینه پرولین بیشتر تجمع و ذخیره می‌شود.[۱۴] این مواد حل شونده با وزن مولکولی کم که به صورت منفرد یا همراه با یکدیگر به منظور کمک به تنظیم و تعادل اسمزی در شرایط کاهش ظرفیت آب یاخته ناشی از تنش کم آبی، سرما و غیره ذخیره می‌شوند و به عنوان اسمولیت[10] عمل می‌کنند، با عنوان محلول‌های سازگار نامیده می‌شوند.[۲] اگر چه پرولین در همه اندام‌های گیاه کامل در طی تنش

[1] osmopriming
[2] mannitol
[3] polyethylene glycol
[4] proline
[5] glycine
[6] betaein
[7] glutamet
[8] pilole
[9] actine
[10] osmolyte

خشکی تجمع می‌یابد. ولی سریع‌ترین انباشت را در برگ‌ها دارد.[۱۱] کربوهیدرات-ها نیز تحت شرایط تنش در گیاه افزایش می‌یابند و نقش اصلی آن‌ها در تنظیم اسمزی، حفاظت اسمزی، ذخیره کربن و جمع‌آوری بنیان‌های آزاد است. در شرایطی مانند تنش‌خشکی افزایش مقدار آبسیزیک اسید[1] و قندها روی رشد اثر بازدارنده دارند.[۱۸] همچنین، شدت فتوسنتز با کمبود آب کاهش می‌یابد. دوام نورآمایی و حفظ کلروفیل برگ تحت شرایط تنش از جمله شاخص‌های فیزیولوژیکی مقاومت به تنش است. تنش‌خشکی باعث تولید انواع اکسیژن فعال همراه با کاهش و تجزیه کلروفیل می‌شود. در طی تنش، کلروفیل‌ها در کلروپلاست تجزیه و ساختارهای تیلاکوییید[2] ناپدید می‌گردند.[۱۵]

بادام یکی از درختان میوه مناطق معتدله بومی فلات ایران است که طبق آمار سال ۱۳۹۰، ایران با سطح زیر کشت بیش از ۱۷۰ هزار هکتار و تولید ۱۵۸ هزار تن و عملکرد آن ۹۲۰۰ کیلوگرم بر هکتار، سومین کشور تولید کنندهٔ بادام در دنیا محسوب می‌شود.[۹] و از جمله درختانی است که به خوبی با این شرایط سازگار شده و برای بقا در شرایط تنش کم آبی سازگاری‌های فیزیولوژیک و مورفولوژیک از خود نشان می‌دهد ولی درجه سازگاری به خشکی در بین ارقام مختلف متفاوت است.[۱۰] *گرمانا (۱۹۹۷)* آزمایشی روی عکس‌العمل برخی ارقام و ژنوتیپ‌های بادام به تنش کم آبی انجام و گزارش داد که در تنش کم آبی، شاخص‌هایی مانند پتانسیل آب برگ، سرعت تبخیر و تعرق، ضریب هدایت روزنه‌ای، سطح، وزن برگ و وزن مخصوص برگ، طول شاخه و نیز تعداد و تراکم برگ کاهش می‌یابد ولی عکس‌العمل ارقام متفاوت است. تفاوت دو رقم بادام لوران[3] و ماسباورا[4] را از نظر مقاومت به خشکی بررسی و گزارش کردند که رقم ماسباورا دارای تطابق اسمزی، پتانسیل آب بیشتر، سرعت تبخیر و تعرق کمتر، سرعت فتوسنتز بالاتر، کارایی مصرف آب بالاتر و مقاومت هیدرولیکی ریشه پایین‌تری در مقایسه با رقم لوران بود.[۱۰] *دی‌هرالد (۲۰۰۰)* تحمل به خشکی را در هشت رقم تجاری بادام در شرایط گلدانی بررسی و گزارش کرد که ارقام از نظر کاهش پتانسیل آب برگ، محتوی آب گیاه، کارایی مصرف آب، سرعت فتوسنتز و رشد رویشی تفاوت نشان دادند.[۶] *روحی (۲۰۰۷)* سه سطح تنش خشکی که پتانسیل آب آن‌ها به ترتیب شدت تنش ۰/۶-، ۱/۲- و ۱/۸- مگاپاسکال بود روی سه گونه بادام استفاده و مشاهده کردند که گونه *Prunus scoparia* در اثر تنش خشکی تمام برگ‌های خود را از دست داد ولی در گونه *Prunus lycoides* تعدادی از برگ‌ها سالم بودند و بقیه پژمرده شدند. اندازه برگ نیز در هر سه رقم به طور معنی‌داری تحت تأثیر تنش خشکی کاهش یافت.[۲۲] اعمال تنش خشکی روی نهال‌های دو رقم بادام به نام‌های رامیلت[5] و گاریگوس[6] نیز معلوم شد، در اثر تنش خشکی در رقم گاریگوس مقدار زیادی تنظیم‌کننده‌های اسمزی در برگ‌ها تجمع پیدا کرد که در حفظ تورژسانس برگ‌ها در این شرایط نقش مهمی دارد.[۲۴]

هدف از این آزمایش مشخص نمودن اثر تنش خشکی با استفاده از پلی‌اتیلن‌گلایکول در شرایط آزمایشگاهی بر خصوصیات مورفولوژیک، فیزیولوژیک و بیوشیمیایی شش رقم بادام و معرفی مقاوم‌ترین رقم نسبت به تنش خشکی بود.

مواد و روش‌ها این تحقیق در طی سال‌های ۱۳۹۰ و ۱۳۹۱ در ایستگاه تحقیقات باغبانی مؤسسه اصلاح و تهیه نهال و بذر کرج به صورت فاکتوریل در قالب طرح پایهٔ کاملاً تصادفی به صورت آزمایشگاهی انجام شد. فاکتورهای آزمایش شامل شش رقم متداول

[1] abscisic acid
[2] tilacoides
[3] Loran
[4] Masbavera

[5] Ramilet
[6] Garikos

منتخب از بادام سوپرنوو[1]، پرلیس[2]، D-99، مارکونا[3]، ربیع و k–۱۶) و تنش اسمزی حاصل از پلی‌اتیلن‌گلایکول در پنج سطح (۰، ۲–، ۴–، ۶– و ۸– بار) بود. به منظور انجام این تحقیق، ابتدا بذور با محلول ۲٪ قارچ‌کش تترامتیل‌تیورام دی‌سولفید[4] به مدت ۲ دقیقه ضدعفونی شدند. بذور به مدت ۴۸–۲۴ ساعت در معرض آب جاری قرار داده شدند و سپس در پرلیت مرطوب (در حد ظرفیت زراعی) به مدت هشت هفته در دمای ۷ درجه سلسیوس قرار داده شدند و بعد از جوانه زدن بذرها، به گلدان‌های حاوی مخلوط پرلیت و پیت (۱:۲) انتقال داده شدند. محلول پلی‌اتیلن گلایکول (با وزن مولکولی ۶۰۰۰)، در پنج سطح خشکی شامل صفر، ۲–، ۴–، ۶– و ۸– بار با معادله زیر محاسبه گردید:[۱۵]

$$\Psi = -C(1.18\times10^{-2}) - (1.18\times10^{-4})\,C^2 + (2.67\times10^{-4})\,CT + (8.39\times10^{-7})\,C^2T$$

که در آن، Ψ پتانسیل اسمزی بار، C غلظت (گرم در لیتر) و T درجه حرارت (سلسیوس) بود. سپس بذور با محلول پلی‌اتیلن‌گلیکول تیمار و طی دو ماه بعد از اعمال تیمار، ارتفاع و تعداد برگ گیاه یادداشت و کلروفیل کل، کلروفیل a، کلروفیل b، پرولین، نشت یونی، گلوکز، فروکتوز و محتوای رطوبت نسبی در گیاهان شاهد و گیاهانی که با پلی‌اتیلن‌گلیکول ۶– بار تیمار شده بودند، اندازه‌گیری شد.

به منظور اندازه گیری کلروفیل a، b و کل، ۰/۲ گرم از بافت تازه از برگ‌های جوان کاملاً توسعه یافته توزین و در هاون چینی توسط استون ۸۰٪ عصاره‌گیری شد. سپس محلول فوقانی حاصل با سرعت۶۰۰۰ دور در دقیقه به مدت ۱۰ دقیقه سانتریفیوژ (EBA21, Hettich Germany)، و از آن برای اندازه‌گیری کلروفیل a، b و کل استفاده و سپس میزان جذب با استفاده از اسپکتروفتومتر (Canada ,BT600 Plus) در طول موج های ۶۶۳ و ۶۴۵ نانومتر خوانده شد و مقدارشان از طریق روابط زیر محاسبه گردید.[۱]

Chlorophyll a = (19.3 × A663 - 0.86 × A645) V/100W
Chlorophyll b = (19.3 × A645 - 3.6 × A663) V/100W
Chl. a +b (mg/L)= (7.15 × A663) – (18.71 × A647)

به منظور اندازه‌گیری میزان نسبی آب برگ[5]، از هر گیاه، چهار برگ کامل از قسمت قسمت بالایی شاخه اصلی انتخاب شد. پس از اندازه‌گیری وزن تر[6]، به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۴ درجه سلسیوس در آب مقطر در شرایط تاریکی قرار داده شدند تا آماس نمایند. بعد از خارج کردن برگ‌ها از آب مقطر و حذف رطوبت اضافی، وزن آماسیده[7] آنها اندازه-گیری شد. نمونه‌ها به مدت ۲۴ ساعت در دمای ۱۰۵ درجه سلسیوس قرار داده شدند تا وزن خشک[8] آنها اندازه‌گیری شود. در نهایت، میزان نسبی آب برگ از طریق رابطه زیر محاسبه شد:[۲۵]

$$RWC = \frac{FW - DW}{TW - DW} \times 100$$

اندازه‌گیری قندهای محلول به روش *ایریگوین و همکاران (۱۹۹۲)*[۱۳] انجام شد و سپس میزان جذب توسط اسپکتروفتومتر در طول موج ۶۲۵ نانومتر قرائت شد.[۱۳]

به منظور اندازه‌گیری میزان پرولین، ۰/۲ گرم از برگ‌های کاملاً گسترش یافته و جوان گیاه انتخاب و با استفاده از اسید سولفوسالیسیلیک[9] ۳٪ عصاره همگنی به دست آمد. آن گاه به روش کلریمتریک با استفاده از اسید نایین هیدرین و مطابق روش *بیتس (۱۹۷۳)*[۳] اندازه‌گیری و میزان پرولین برگ‌ها توسط دستگاه اسپکتروفتومتر در طول موج ۵۲۰ نانومتر قرائت و از طریق فرمول زیر محاسبه گردید:

$$\mu moles \frac{Proline}{g} of\ fresh\ weight\ material = \frac{\left[\frac{\mu g \frac{Proline}{ml} \times ml\ Toluene}{115.5 \mu \frac{g}{\mu mole}}\right]}{(g\ sample/5)}$$

[1] super nova
[2] perlees
[3] marcona
[4] tetramethylthiuram disulfide
[5] relative water content (RWC)
[6] fresh weight (FW)
[7] turgid weight (TW)
[8] dry weight
[9] sulphosalicylic acid

به منظور اندازه‌گیری میزان نشت یونی، یک گرم از برگ های تازه به طور دقیق با آب مقطر شسته شدند و درون ارلن‌های حاوی ۱۰ میلی لیتر آب دوبار تقطیر و در دمای اتاق (۲۵ درجه سلسیوس) روی شیکر قرار داده شدند و پس از ۲۴ ساعت هدایت الکتریکی آب داخل ارلن به وسیله دستگاه هدایت‌سنج اندازه‌گیری شد (Li[1]).

ظرف‌های حاوی نمونه به مدت یک ساعت درون اتوکلاو در دمای ۱۲۰ درجه سلسیوس قرار گرفتند. مجدداً هدایت الکتریکی نمونه‌ها اندازه‌گیری شد (Lt[2]). در نهایت درصد نشت یونی طبق فرمول (LI/Lt)×۱۰۰ محاسبه شد. [۱۷] در نهایت داده‌های به دست آمده با استفاده از نرم‌افزار SAS ver. 17 و در قالب طرح کاملاً تصادفی تجزیه و مقایسه میانگین داده‌ها با استفاده از آزمون چنددامنه‌ای دانکن انجام شد. [۲۳]

نتایج و بحث

اثر رقم، تنش خشکی و اثر متقابل رقم و تنش خشکی بر تعداد برگ و ارتفاع گیاه در سطح ۱٪ معنی دار بود (جدول ۱). در تمامی ارقام مورد بررسی، با اعمال تنش اسمزی و افزایش آن، تعداد برگ و ارتفاع تمامی ارقام به طور معنی‌داری نسبت به گیاهان شاهد کاهش یافت ولی میزان کاهش در ارتفاع و تعداد برگ در بین ارقام مختلف با یکدیگر اختلاف معنی‌داری نشان داد (جدول ۲). رقم پرلس و K66 بیشترین حساسیت را نسبت به تنش خشکی از خود نشان دادند به طوری که تعداد برگ و ارتفاع این گیاهان در تنش اسمزی ۲- بار نیز به طور معنی داری نسبت به گیاهان شاهد کاهش نشان داد. بیشترین مقاومت به تنش خشکی را رقم‌های D99، مارکونا دارا بودند به طوری که تنش اسمزی تا ۶- بار را توانستند تحمل نمایند و تنها در تنش اسمزی ۸- بار تعداد برگ و ارتفاع آن به طور معنی‌داری نسبت به گیاهان شاهد کاهش یافت و بعد از این ارقام، رقم‌های ربیع و سوپرنوا مقاومت بیشتری نسبت به تنش خشکی نشان دادند به طوری که توانستند تنش اسمزی تا ۴- بار تحمل نمایند. خشکی از تنش های بسیار مهم در کاهش رشد و تولید گیاه می باشد، به طوری که بسیاری از جنبه‌های متابولیسم و رشدی گیاه را تحت تأثیر قرار می دهد، زیرا این تنش سرعت و درصد جوانه‌زنی را کاهش داده و در نهایت استقرار گیاهچه را به تأخیر می‌اندازد.[۲۱] بادام سازگاری‌های فیزیولوژیکی و مرفولوژیکی برای بقاء در شرایط تنش کم آبی از خود نشان می دهد ولی درجه سازگاری به خشکی در بین ارقام مختلف متفاوت است. [۱۰] *جرمنا (۱۹۹۷)* آزمایشی را روی عکس‌العمل تعدادی ارقام و

جدول ۱- تجزیه واریانس ارتفاع گیاه و تعداد برگ های ارقام بادام تحت تاثیر تنش خشکی

Table 1. Analysis of variance for height plant and number of leaves of almond cultivars affected drought stress

Dependent variable	mean Square		
	degree of freedom	leaves number	plant height
Cultivar	5	773.56 **	299.02**
Drought stress	4	971.66 **	858.38**
Cultivar× Drought stress	20	69.01**	36.29 **
Error	60	15.59	7.22
C.V. (%)	-	19.18	14.45

**: معنی‌دار در سطح احتمال ۱٪ **: Significant at the 1% probability levels

[1] initial leakage
[2] total leakage

جدول ۲- اثر متقابل رقم و تنش خشکی بر میزان ارتفاع و تعداد برگ

Table 2. Interaction of cultivar and drought stress on height plant and number of leaves

cultivar	drought stress	height plant (cm)	no. of leaves	cultivar	drought stress	height plant (cm)	no. of leaves
Super Nova	0	28.00 bcd	32.33 cde	Rabie	0	24.33 cdef	25.33 ef
Super Nova	-2	24.00 def	26.00 ef	Rabie	-2	20.00 efgh	22.67 fg
Super Nova	-4	22.67 def	23.33 fg	Rabie	-4	19.00 fghi	20.00 fgh
Super Nova	-6	20.00 efgh	21.33 fgh	Rabie	-6	13.00 jkl	15.67 hijk
Super Nova	-8	7.67 lm	11.67 ijkl	Rabie	-8	11.00 kl	13.00 ijkl
Perless	0	30.00 b	35.33 bc	Marcona	0	29.00 bc	42.67 a
Perless	-2	23.00 def	26.00 def	Marcona	-2	25.33 cde	39.67 ab
Perless	-4	12.00 jkl	9.33 jklm	Marcona	-4	24.00 cdef	33.00 cd
Perless	-6	7.00 lm	5.67 lm	Marcona	-6	23.00 def	30.00 cde
Perless	-8	2.33 n	2.00 m	Marcona	-8	20.67 efgh	22.00 fg
K66	0	35.00 a	25.00 ef	D99	0	22.00 efg	26.33 def
K66	-2	23.00 def	21.00 fgh	D99	-2	20.00 efgh	22.00 efg
K66	-4	19.33 fghi	19.67 fgh	D99	-4	17.33 ghij	20.33 fgh
K66	-6	16.00 hijk	17.33 ghi	D99	-6	15.00 ijkl	15.33 hijk
K66	-8	14.00 ijk	16.33 ghij	D99	-8	9.00 lmn	11.00 lm

میانگین‌هایی در هر ستون دارای حروف مشابه هستند بر اساس آزمون دانکن در سطح احتمال ۵ و ۱٪ اختلاف معنی‌داری با هم ندارند.

Means in each column and for each factor, followed by similar letter(s) are not significantly different at the 1% probability level- using Duncan's Multiple Range Test.

ژنوتیپ‌های بادام به تنش کم آبی انجام و گزارش کرد در اثر تنش کم آبی پارامترهایی از جمله پتانسیل آب برگ، وزن برگ، وزن مخصوص برگ، طول شاخه، تعداد و تراکم برگ کاهش می‌یابد ولی عکس‌العمل ارقام متفاوت است و بعضی از ارقام مقاومت بیشتری را به تنش کم آبی نشان می‌دهند.[۱۰] همچنین، اثر تنش خشکی و رقم بر میزان کلروفیل a، کلروفیل b و کلروفیل کل در سطح ۱٪ معنی‌دار شد ولی اثر متقابل تنش خشکی و رقم روی این صفات معنی‌دار نشد (جدول ۳). میزان کلروفیل a، b و کل در گیاهانی که تحت تنش اسمزی ۶- بار بودند، به طور معنی‌داری کمتر از گیاهان شاهد بود. میزان کلروفیل a، b و کل در گیاهانی که تحت تنش اسمزی ۶- بار بودند به ترتیب ۳/۱۶، ۲/۷۲ و ۵/۹۷ میلی-گرم در گرم وزن تازه برگ بود در حالی که میزان کلروفیل a، کلرفیل b و کلروفیل کل در گیاهان شاهد به ترتیب ۳/۴۴، ۳/۰۱ و ۶/۶۰ میلی گرم در گرم وزن تازه بود (جدول ۴). همچنین بیشترین میزان کلروفیل a، b و کل در رقـــم سوپرنوا و کمترین میزان آنها در رقم مارکونا مشاهده شد (جدول ۵). فتوسنتز یکی از فرآیند های مهم فیزیولوژیکی گیاه است که شدت آن در کمبود آب کاهش می‌یابد.[۲۰] دوام نورآمایی و حفظ کلروفیل برگ تحت شرایط تنش از جمله شاخص‌های فیزیولوژیکی مقاومت به تنش است. تنش‌خشکی باعث تولید انواع اکسیژن فعال همراه با کاهش و تجزیه کلروفیل می‌شود. در طی تنش، کلروفیل‌ها در کلروپلاست تجزیه و ساختارهای تیلاکوییید ناپدید می‌گردند.[۱۱] بادام سازگارهای فیزیولوژیک و مرفولوژیک برای بقا را در شرایط تنش کم آبی از خود نشان می دهد ولی درجه سازگاری به خشکی در بین ارقام مختلف متفاوت است.[۱۰] *دی هرالد (۲۰۰۰)*، تحمل به خشکی را در هشت رقم تجاری بادام در شرایط گلدانی بررسی و گزارش کرد که ارقام از نظر کاهش پتانسیل آب برگ، محتوی آب گیاه، کارایی مصرف آب، سرعت فتوسنتز و رشد رویشی تفاوت نشان دادند.[۷]

جدول ۳- تجزیه واریانس اثر رقم و تنش خشکی بر میزان کلروفیل a، b و کل، گلوکز، فروکتوز، محتوی رطوبت نسبی، پرولین و نشت یونی

Table 3. Analysis of variance for a and b chlorophyll and total chlorophyll, glucose, fructose, RWC, prolin and leakage ion almond cultivars affected drought stress

Dependent variable	df	Mean Square							
		Chlorophyll a	Chlorophyll b	Total chlorophyll	ion Leakage	proline	RWC	fructose	glucose
Cultivar	5	3.42**	3.70 **	13.08**	1366**	1.03 **	70.46**	239.35**	625.02 **
Drought stress	1	0.69 **	0.751 *	3.54**	9009**	2.18**	3.12 *	155.76**	625.21 **
Cultivar× Drought stress	5	0.007 ns	0.016 ns	0.081 ns	642.2**	0.41**	0.19 ns	25.68 ns	122.26 ns
Error	24	0.097	0.11	0.29	51.91	0.055	2.48	16.67	66.05
C.V. %	-	9.46	11.57	8.61	16.01	7.25	2.02	28.44	25.23

** و* و ns: به ترتیب معنی دار در سطح احتمال ۱ و ۵٪ و فاقد اختلاف معنی دار

* and **: Significant at the 5% and 1% probability levels, respectively. ns: Non-significant

جدول ۴- اثر رقم بر میزان کلروفیل a، b و کل، گلوکز، فروکتوز و محتوی رطوبت نسبی

Table 4. Effect of cultivar on a and b chlorophyll and total chlorophyll, glucose, fructose and RWC.

Cultivar	chlorophyll a (mg/g)	chlorophyll b (mg/g)	total chlorophyll (mg/g)	RWC (%)	fructose (mg/g)	glucose (mg/g)
Marcona	2.41d	1.95 d	4.52 d	73.97 d	11.78 c	23.61 b
Rabie	3.75 b	3.28 b	7.13 b	80.53 b	9.78 c	41.94 a
Super Nova	4.37 a	3.90 a	8.37 a	79.68 b	25.88 a	18.88 b
Perless	2.56 d	2.16 d	4.92 d	75.95 c	9.68 c	22.71 b
D99	3.07 c	2.62 c	5.77 c	75.91 c	17.42 b	37.10 a
K66	3.66 b	3.28 b	7.05 b	82.98 a	11.57 c	17.00 b

میانگین‌هایی در هر ستون که دارای حروف مشابه هستند بر اساس آزمون دانکن در سطح احتمال ۵ و ۱٪ اختلاف معنی‌داری با یکدیگر ندارند.

Means in each column followed by similar letter(s) are not significantly different at the 1% probability level- using Duncan's

اثر تنش خشکی و رقم بر محتوی رطوبت نسبی برگ در سطح ۱٪ معنی‌دار شد ولی اثر متقابل تنش خشکی و رقم روی این صفت معنی‌دار نشد (جدول ۳). نتایج مقایسه میانگین داده‌ها نشان داد که محتوی رطوبت نسبی برگ در گیاهانی که تحت تنش اسمزی ۶- بار بودند، به طور معنی‌داری کمتر از گیاهان شاهد بود. محتوی رطوبت نسبی برگ در گیاهانی که تحت تنش اسمزی ۶- بار بودند، ۷۵/۷۶٪ بود در حالی که محتوی رطوبت نسبی برگ‌های گیاهان شاهد ۷۹/۴۷٪ بود (جدول ۴). همچنین نتایج نشان داد که محتوی رطوبت نسبی برگ در بین ارقام بررسی شده با یکدیگر اختلاف معنی‌داری داشتند. طبق نتایج به دست آمده به ترتیب رقم‌های K66 و مارکونا با ۸۲/۹۸٪ و ۷۳/۹۷٪ بیشترین و کمترین محتوی رطوبت نسبی را دارا بودند (جدول ۵). یکی از مهمترین مسایلی که در خاک‌های خشک وجود دارد مشکل افزایش منفی پتانسیل اسمزی محلول خاک است که منجر به کاهش جذب آب و بدین ترتیب باعث توقف رشد می شود. منفی شدن پتانسیل اسمزی محلول خاک روی پتانسیل اسمزی برگ و محتوای رطوبت نسبی و پتانسیل آب برگ و پتانسیل آماس برگ تأثیر می‌گذارد. در گیاهان حساس به خشکی این امر موجب انهدام غشای

جدول ۵- اثر رقم بر میزان کلروفیل a، b و کل، گلوکز، فروکتوز و محتوی رطوبت نسبی

Table 5. Effect of drought stress on a and b chlorophyll and total chlorophyll, glucose, fructose and RWC

Drought stress	chlorophyll a (Mg/g)	chlorophyll b (Mg/g)	total chlorophyll (Mg/g)	RWC (%)	fructose (Mg/g)	(Mg/g) glucose
0	3.44 a	3.02 a	6.60 a	79.47 a	16.43 a	31.17 a
-6	3.16 b	2.72 b	5.97 b	75.76 b	12.27 b	22.57 b

میانگین هایی در هر ستون که دارای حروف مشابه هستند بر اساس آزمون دانکن در سطح احتمال ۵٪ و ۱٪ اختلاف معنی داری با یکدیگر ندارند.

Means in each column followed by similar letter(s) are not significantly different at the 1% probability level- using Duncan's test.

سیتوپلاسمی در یاخته‌های گیاه شده که منجر به خروج مواد درون یاخته‌ای شده و این خود یک مشخصه جهت انتخاب گیاهان مقاوم به شوری و خشکی می‌باشد. در واقع در زمان بروز تنش به دلیل کاهش آب درون یاخته و فشار آماس، میزان محتوای آب نسبی برگ کاهش می‌یابد.[۱۱] اثر تنش خشکی و رقم بر میزان گلوکز و فروکتوز در سطح ۱٪ معنی‌دار شد ولی اثر متقابل تنش خشکی و رقم بر میزان گلوکز و فروکتوز معنی‌دار نشد (جدول ۳). محتوی گلوکز و فروکتوز در گیاهانی که تحت تنش اسمزی ۶- بار بودند، به طور معنی‌داری کمتر از گیاهان شاهد بود. محتوی گلوکز و فروکتوز در گیاهانی که تحت تنش اسمزی ۶- بار بودند، به ترتیب ۲۲/۵۷ و ۱۲/۲۷ میلی‌گرم در گرم بود در حالی که محتوی گلوکز و فروکتوز گیاهان شاهد به ترتیب ۳۱/۱۷ و ۱۶/۴۳ میلی‌گرم در گرم بود (جدول ۴). این نتایج حاکی از آن است که در شرایط تنش خشکی میزان فعالیت‌های گیاه و میزان سوخت و ساز گیاه کاهش یافته و میزان تولید منابع غذایی همچون گلوکز و فروکتوز که برای انجام فعالیت‌های بیوشیمیایی گیاه مورد نیاز است، کاهش می‌یابد که می‌تواند یکی از دلایل کاهش شاخص‌های رشدی گیاه در شرایط تنش خشکی باشد. همچنین نتایج نشان داد که محتوای گلوکز و فروکتوز در بین ارقام بررسی شده در شرایط تنش اسمزی با یکدیگر اختلاف معنی‌داری داشتند. طبق نتایج به دست آمده بیشترین میزان گلوکز در رقم‌های ربیع و D99 و بیشترین میزان فروکتوز در رقم سوپرنوا مشاهده شد. (جدول ۵). اثر تنش خشکی، رقم و اثر متقابل تنش خشکی و رقم بر میزان پرولین و نشت یونی در سطح ۱٪ معنی‌دار شد (جدول ۳). با اعمال تنش خشکی بر ارقام بررسی شده میزان نشت یونی افزایش یافت ولی میزان افزایش بین ارقام مختلف با یکدیگر اختلاف معنی‌داری را نشان داد. بیشترین میزان نشت یونی در رقم K66 و کمترین میزان آن در رقم مارکونا و D99 مشاهده شد (جدول ۶). با اعمال تنش خشکی روی گیاهان میزان تولید پرولین نسبت به گیاهان شاهد افزایش یافت، به طوری که میزان افزایش پرولین در برخی ارقام معنی‌دار و در برخی دیگر به صورت ناچیزی بود. بیشترین میزان پرولین در شرایط تنش خشکی در رقم‌های مارکونا و D99 و کمترین میزان آن در رقم K66 مشاهده شد (جدول ۶). گیاهان در تنش‌های محیطی، از قبیل خشکی، شوری، گرما و غیره با ذخیره مواد تنظیم کنندهٔ اسمزی از قبیل قندهای الکلی، کربوهیدرات‌ها، قندهای مرکب و دیگر ترکیبات فعال نظیر پرولین، گلایسین بتایین، گلوتامات و اکتین[1] و یون‌های معدنی مانند پتاسیم با این تنش‌ها مقابله می‌کنند.[۵] اسید آمینه پرولین یک آمین چهارگانه می‌باشد که در ایجاد و حفظ فشار اسمزی درون

[1] ektin

جدول ۶-اثر متقابل تنش خشکی و رقم بر میزان پرولین و نشت یونی

Table 6. Interactive effect of cultivar and drought stress on prolin and ion leakage.

Cultivar	drought stress (bar)	Prolin (mg/g)	ion leakage (%)
Marcona	0	30.03 d	31.57 def
Marcona	-6	4.08 a	37.13 de
Rabie	0	3.14 cd	37.57 de
Rabie	-6	3.60 bc	74.47 b
Super Nova	0	3.22 cd	22.17 f
Super Nova	-6	3.57 bc	53.17 c
Perless	0	3.29 cd	25.80 ef
Perless	-6	3.82 ab	53.73 c
D99	0	2.86 de	21.40 f
D99	-6	4.01 a	42.13 cd
K66	0	2.46 e	36.60 de
K66	-6	2.50 e	84.30 a

میانگین هایی هر ستون که دارای حروف مشابه هستند بر اساس آزمون دانکن در سطح احتمال ۵٪ و ۱٪ اختلاف معنی داری با یکدیگر ندارند.

Means in each column followed by similar letter(s) are not significantly different at the 1% probability level- using Duncan's test.

گیاه نقش به‌سزایی دارد. به طور معمول، میزان پرولین آزاد در گیاهانی که در حد مطلوب آبیاری می‌شوند بسیار کم و در حدود ۰/۶-۰/۲ میلی‌گرم در گرم ماده خشک می‌باشد. مقدار این ماده پس از کاهش آب بافت‌ها تا ۵۰ - ۴۰ میلی‌گرم در هر گرم ماده خشک افزایش می‌یابد. در برخی گیاهان، در مراحل اولیه تنش کم آبی چندین اسیدآمینه افزایش می‌یابد که با ادامه کم‌آبی فقط اسیدآمینه پرولین بیشتر تجمع و ذخیره می‌شود.[۱۴] **با** اعمال تنش خشکی روی نهال‌های دو رقم بادام به نام‌های رامیلت و گاریگوس معلوم شد که در اثر تنش خشکی در رقم گاریگوس مقدار زیادی تنظیم‌کننده‌های اسمزی در برگ‌ها تجمع پیدا کرد که در حفظ آماسیدگی برگ‌ها در این شرایط نقش مهمی دارد.[۲۴]

نتیجه گیری کلی اثر تنش خشکی بر ارقام بررسی شده نشان داد که با اعمال تنش خشکی بر گیاهان میزان ارتفاع گیاه، تعداد برگ، کلروفیل a، کلروفیل b و کلروفیل کل، میزان گلوکز و فروکتوز، محتوی رطوبت نسبی کاهش و میزان پرولین و نشت یونی افزایش یافتند ولی میزان کاهش و یا افزایش این صفات در بین ارقام بررسی شده با یکدیگر اختلاف معنی‌داری را نشان دادند. رقم پرلس و K66 بیشترین حساسیت را نسبت به تنش خشکی از خود نشان دادند به طوری که تعداد برگ و ارتفاع این گیاهان در تنش اسمزی ۲- بار نیز به طور معنی‌داری نسبت به گیاهان شاهد کاهش نشان داد. بیشترین مقاومت به تنش خشکی را رقم‌های D99، مارکونا دارا بودند به طوری که تنش اسمزی تا ۶- بار را توانستند تحمل نمایند و تنها در تنش اسمزی ۸- بار تعداد برگ و ارتفاع آن به طور معنی‌داری نسبت به گیاهان شاهد کاهش یافت و بعد از این ارقام، رقم‌های ربیع و سوپرنوا مقاومت بیشتری نسبت به تنش خشکی نشان دادند و توانستند تنش اسمزی تا ۴- بار تحمل نمایند. رقم‌های مارکونا و D99 که بیشترین میزان تولید پرولین و کمترین میزان نشت یونی را دارا بودند به عنوان مقاوم‌ترین ارقام نسبت به تنش خشکی تشخیص داده شدند و رقم K66 به عنوان حساسترین رقم به تنش خشکی معرفی شد.

References

1. Arnon DI (1949). Copper enzymes in isolated chloroplast poly phenol oxidase in Beta vulgarism. Plant Physiology. 24: 1- 15.
2. Ashraf M, Foolad M. R (2007). Roles of glycine betaine and proline in improving plant abiotic stress resistance. Environmental and Experimental Botany. 59: 206-216.
3. Bates L.S, Walderen R.D, Taere I.D (1973). Rapid determination of free proline for water stress studies. Plant and Soil Science. 39, 205-207
4. Bradford K.J (1995). Water relation analysis of seed germination rates. Plant Physiology. 94, 840 -849.
5. Chen S, Li S, Wang A, Huttermann A, Altman A (2001). Salt, nutrient uptake and transport, and ABA of Populus eupharatica; a hybrid in response to increasing soil NaCl. Trees-Structure and Function. 15, 186 194.
6. De Herralde F (2000). Integral study of the eco physiological responses to water stress. Characterization of almond varieties. Nucis-Newslette.r 9, 20-21.
7. De Herralde F, Save R, Biel C, Batlle I, Vargas, FJ (1999). Differences in drought tolerance in two almond cultivars:''Lauranne and Masbovera''.XI Grempa. Seminar on Pistachios and Almonds. Turkey, 1-4 Sep., 56: 149.
8. Emmerich WE, Hardegree S.P (1990). Polyethylene glycol solution contact effect on seed germination. Agronomy Journal. 82, 1103–1107.
9. FAO. 2011. Food and Agricultural commodities production. http: faostat fao org site 33/default aspx
10. Germana C. 1997. Experiences on the response of almond plants (*A. communis* L.) to water stress. Acta Horticulturae. 449: 497-503.
11. Heiydari Sharif Abad H (2001). Plant and salinity. Research institute of forests and rangelands. 71 page.
12. Ibrahim M, Zeid N, El-Semary A (2001). Response of two differentially drought. Tolerant varieties of maize to drought stress. Pakistan Journal of Biologic Science. 4, 779-784.
13. Irigoyen JJ, Emerich DW, Sanchez-Diaz M (1992). Alfalfa leaf senescence include by drought stress: photosynthesis, hydrogen peroxide metabolism, lipid peroxidation and ethylene evolution. Physiologia Plantarum. 84: 67-72.
14. Karamanos AJ (1995). The involvement of praline and some metabolites in water stress and their importance as drought resistance indicators. Plant Physiology. 21(2-3): 98-110.
15. Kaufman MR, Eckard AN (1971). Evaluation of stress control by polyethylene. Glycols by analysis of gulation. Plant Physiology. 47,453- 456.
16. Levitt J (1980). Responses of plants to environmental stresses: water, radiation, salt and other stresses. Vol. II. Academic Press, New York.
17. Lutts S, Kinet JM, Bouharmont J (1995). Changes in plant response to NaCl during development of rice (*Oryza sativa* L.) varieties differing in salinity resistance. Journal Experimental of Botany. 46, 1843–1852.
18. Mahajan Sh, Tuteja, N (2005). Cold, salinity and drought stresses: An overview. Archives of Biochemistry and Biophysics. 444, 139-158.
19. Michel B. E, Kaufman M. R (1973). The osmotic potential of polyethylene glycol 6000. Plant Physiology. 51: 914 – 916.
20. Parida AK, Das, AB (2005). Salt tolerance and salinity effects on plants: A review. Ecotoxicology and Environmental Safety 60, 324-349.
21. Prisco J.T, Baptista C.R, Pinheiro E.J.L (1992). Hydration, Dehydration Seed. Pretreatment and its effects on seed germination under water stress. Plant Physiology 70, 114 – 126.
22. Rouhi V (2007). Seed Germination of Prunus scoparia (Spach) C.K. Schneider and Drought Stress Evaluation Based on Ecophysiological Parameters and Growth Characteristics for Three Contrasting Almond Species (*P. dulcis* (Miller) D. Webb, P. lycioides (Spach) C.K. Schneider and *P. scoparia* (Spach) C.K. Schneider.Ph.D. Diss. University of Antwerp, Faculty of Science, Department of Applied Biological Sciences.
23. SAS (2000). STAT User's Guide. SAS Institute, Cary, NC, USA.
24. Torrecillas A, Alarcon JJ, Domingo R, Planes J, Sanches MJ (1996). Strategies for drought resistance in leaves of two almond cultivars. Plant Science. 118: 135-143.
25. Yamasaki S, Dillenburg L. C (1999). Measurements of leaf relative water content in Araucaria angustifolia. Revista Brasilian Fisiologia Vegetal. 11: 69-75.

Effect of drought stress by polyethylene glycol on morphological, physiological and biochemical characteristics on selected cultivars almond

Modern Science of Sustainable Agriculture
Vol. 10, No. 2, (53-63)

Hosein Mohammadi*
Master student
Islamic Azad University
Tehran, Iran
Email ✉:
hossein_mohammadi8143@yahoo.com
(Corresponding author)

Ali Imani
Associate professor
Seed and Plant Institute
Karaj, Iran
Email ✉:
imani_a45@yahoo.com

Ali Momenpour*
PhD student
University of Guilan
Guilan
Rasht, Iran
Email ✉:
alimomrnpour2005@gmail.com

Somayeh Mohammadian
Master student
Islamic Azad University
Karaj, Iran
Email ✉:
s.mohammadian@yahoo.com

Received: 28 March, 2014 **Accepted:** 20 May, 2014

ABSTRACT This study during the year of 2011 and 2012 in horticultural research station and seed and plant improvement Institute, Karaj as factorial on the base completely randomized design was done. Factors include almond seedlings tested in 6 levels (supernova, Perlis, D 124, Marcona, Rabie, and k1-16) and osmotic stress of polyethylene glycol in 5 levels (0, 2-, 4-, -6 and 8-bar). The results showed that with drought stress on plants, plant height, number of leaves, the amount of chlorophyll a, chlorophyll b and total chlorophyll, the amount of glucose and fructose content, relative humidity content decreased and the amount of proline and the rate of ion leakage increased, but increase or reduce these traits in the cultivars with each other had significant differences. The results of investigation growth traits showed that Peerless and k66 cultivars had the most sensitivity to the drought so that the number of these plants leaves and their height under osmotic stress -2 bar are reduced in comparative with plant control significantly. The most resistance to drought was shown in D-124 and Marcona cultivars so that osmotic stress could endure up to -6 bars and only in osmotic stress -8 bars, the number of leaves and their height was significantly reduced compared with control plants. The results from physiological and biochemical characteristics were very similar with the results of the measurements on morphological traits. D-124 and Marcona cultivars had the highest level of production proline and the lowest ion leakage. They were diagnosed as the most resistance to drought stress, while cultivar k16 had the most sensitive to drought stress.

Keywords:
- drought stress
- glucose and fructose
- relative water humidity
- proline
- ion leakage