

اثر تنش کم آبی بر برخی خصوصیات فیزیولوژیکی و میزان اسمولیت‌های قند و پرولین در طالبی سمسوری ورامین

نجمه زینلی^{۱*}، کمال الدین حق بین^۲ و مجتبی دلشاد^۳

^۱گروه باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شهید باهنر کرمان، ^۲هیئت علمی پژوهشگاه مهندسی ژنتیک و زیست فناوری تهران، ^۳گروه علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی، پردیس کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه تهران
(تاریخ دریافت: ۹۳/۰۹/۱۳، تاریخ پذیرش نهایی: ۱۳۹۴/۰۶/۲۲)

چکیده:

به منظور بررسی اثر تنش کم آبی بر برخی خصوصیات فیزیولوژیکی شامل پتانسیل‌های آب، اسمز، تورژسانس برگ، اسمولیت‌های قند، پرولین و فعالیت آنزیم اینورتاز در طالبی ایرانی سمسوری، آزمایشی در قالب طرح بلوک کامل تصادفی با سه تکرار انجام شد. تیمارهای آزمایش شامل سه سطح آبیاری (شروع آبیاری در پتانسیل‌های ماتریک ۵۰- (شاهد)، ۶۵- (تنش سطح میانه) و ۷۵- کیلوپاسکال (تنش شدید)) در رقم طالبی سمسوری ورامین بودند. بر طبق نتایج حاصل از این تحقیق، کاهش شدید پتانسیل اسمزی حتی کمتر از میزان انتظار (حدود ۲۳- بار) در شدیدترین سطح تنش کم آبی (شروع آبیاری در پتانسیل ماتریک ۷۵- کیلوپاسکال) رخ داد. نتایج نشان داد که سطوح تنش کم آبی بکار رفته در این آزمایش باعث تغییراتی در میزان قندها و فعالیت آنزیم اینورتاز گردید. تنش کم آبی میزان فعالیت آنزیم اینورتاز را در سی و پنجمین روز پس از شروع تنش تا حد ۲/۰۱ کاهش داد، در حالیکه میزان فعالیت این آنزیم در آبیاری شاهد در همین مرحله حدود ۴/۱۴ اندازه گیری شد. شدیدترین سطح تنش کم آبی (شروع آبیاری در پتانسیل ماتریک ۷۵- کیلوپاسکال) موجب افزایش میزان قندهای ساکارز (۰/۳۲ میلی گرم بر گرم وزن تازه) و گلوکز میوه (۰/۰۸ میلی گرم بر گرم وزن تازه)، پرولین برگها (۰/۳۵ میکرومول بر گرم وزن تازه) در سی و پنجمین روز پس از شروع تنش در مقایسه با شاهد در همین مرحله شد. همچنین تنظیم اسمزی در این گیاه در نتیجه تجمع ساکارز، گلوکز و پرولین تحت تنش کم آبی و باتوجه به این که پتانسیل اسمزی حتی نسبت به مقدار مورد انتظار کاهش بیشتری داشته، اتفاق افتاده است.

کلمات کلیدی: اسمولیت‌ها، تنظیم اسمزی، سمسوری، فعالیت اینورتاز، تنش کم آبی.

مقدمه:

در ایران می باشد. کیفیت میوه ملونهایی چون طالبی سمسوری حاصل فرایندهای فیزیولوژیکی، نموی و بیوشیمیایی می باشد که تغییراتی در رنگ، بافت، طعم و عطر میوه ایجاد می کنند. این کیفیت بستگی به محتوای قند بالا (۱۲-۱۰٪) و تشکیل مواد معطر در انواع آروماتیک مثل طالبی دارد (ایوب و همکاران، ۲۰۰۸). عمدتا رسیدن و کیفیت میوه ملونها به وسیله مقدار قند در آنها ارزیابی می شود. تجمع قندها نه تنها در طول

سبزیهای خانواده کدویان حدود ۱۴ درصد سطح زیر کشت کل سبزیها را در ایران به خود اختصاص داده اند که از این میزان قسمت عمده ای به پرورش طالبی و خربزه اختصاص دارد و از اهمیت تجاری زیادی برخوردار هستند (پیوست، ۱۳۸۸). طالبی ((سمسوری)) (*Cucumis melo Group*) (*cantaloupensis* cv. *samsoury*) یکی از ارقام تجاری معروف

نمو میوه و نیز در بازارپسندی آن تأثیر بسیار می‌گذارد، بلکه با تجمع در سلولهای گیاهی میزان اسمولیت‌های موثر در وقوع تنظیمات اسمزی و مقاومت به تنشها را افزایش می‌دهند. فاکتور شیرینی میوه طالبی توسط سه قند محلول ساکارز، گلوکز و فروکتوز در گوشت میوه تعیین می‌گردد که عموماً انعکاسی از نحوه عمل، تولید و توزیع این قندهای محلول است. در اکثر خربزه ای‌ها بیش از ۹۷ درصد مواد جامد محلول را قندهای محلول تشکیل می‌دهند و در میوه‌های رسیده، ساکارز قند غالب بوده و حدود ۵۰ درصد قندها را شامل می‌شود. در آزمایش Pharr و همکاران (۱۹۹۴) آنزیمهایی که در متابولیسم قندهای ساکارز و هگزوز نقش دارند شامل اینورتاز، ساکارز سیتاز و ساکارز فسفات سیتاز می‌باشند. تلاشهایی برای تفسیر تغییرات متابولیسمی که منجر به تجمع ساکارز می‌شوند با تکیه بر آنزیمهای متابولیزه‌کننده ساکارز در طی رشد و نمو طالبی در تحقیق Guoyao و همکاران (۲۰۰۶) انجام شده است.

در آزمایش بررسی تغییرات فیزیولوژیکی در جریان رسیدن میوه در خربزه، لستر و همکاران (۲۰۰۱) به این نتیجه رسیدند که آنزیمهای ساکارز فسفات سنتاز و اسید اینورتاز، آنزیم‌های کلیدی تجمع قند در خربزه رقم ((پرلیتا)) هستند. فاکتورهای موثر بر کیفیت طالبی مرهون فعالیت موثر چنین آنزیمهایی است و آنزیمها نقش کلیدی در وضعیت قندهای ذکر شده و کیفیت میوه طالبی ایفا می‌کنند. در خربزه، همزمانی افزایش ساکارز با کاهش فعالیت اینورتاز و افزایش فعالیت ساکارز سیتاز و ساکارز فسفات سیتاز توسط هوبارد و همکاران (۱۹۸۹) گزارش شده است. از سویی دیگر، قندها و بخصوص ساکارز از جمله اسمولیت‌های مهم در گیاهان محسوب میشوند و با اثراتی که بر فعالیتهای فیزیولوژیکی گیاه می‌گذارند می‌توانند گاهی تنظیم اسمزی را در گیاهان تحت شرایط تنشهای محیطی موجب شوند.

تنش‌های غیر زنده اثرات معنی‌داری بر کیفیت و وضعیت تغذیه ای میوه‌ها و سبزیها دارند. از بین تنشهای محیطی و غیر زنده، تنش کم آبی یکی از مهمترین عوامل کاهش عملکرد

گیاهان در اکثر نقاط جهان است. تنش رطوبتی می‌تواند بسیاری از جنبه‌های متابولیسم، رشد و فیزیولوژی گیاه را تحت تأثیر قرار دهد. گزارش‌های زیادی مبنی بر تأثیر کمبود آب از چند نوبت تا تنش‌های شدید در رابطه با مختل شدن فرآیندهای فیزیولوژیکی گیاهان، Singh و Patal (۱۹۹۶) تغییر در متابولیسم کربوهیدرات‌ها و نیتروژن، تغییر در ساختمان پروتئین‌ها و فعالیت آنزیم‌ها، تجمع پرولین و کاهش تشدید کننده‌های رشد را گزارش کردند. کاهش در سرعت آسمیلاسیون دی‌اکسیدکربن تحت تأثیر تنش خشکی میتواند توزیع، تجمع و تحرک قندها را تحت تأثیر قرار دهد. در عین حال، ملونها می‌توانند دوره‌های کوتاه مدت تنش خشکی را تحمل کنند. گاهی اوقات حتی عملیات داشت افراطی گیاه و شرایط بهینه آب و هوایی که موجب عملکرد بالا می‌شوند باعث کاهش کیفیت طعم محصولات میگردد. برای مثال کاربرد بیش از حد آب و نیتروژن بالا باعث کاهش کیفیت می‌شود. بنابراین در مواردی اثرات مثبت تنش کم آبی برنامه ریزی شده بر فاکتورهای شیرینی و ترکیبات معطر میوه مشاهده شده است. گزارشاتی مبنی بر اعمال یک دوره تنش خشکی در اواخر رشد طالبی و گوجه‌فرنگی مخصوص فرآوری، همراه با بهبود خواص کیفی مانند افزایش مواد جامد محلول آنها وجود دارد، مشروط بر اینکه تنش کنترل شده باشد (Lester and Dunlap, 1985). باید توجه داشت که تنش خشکی طولانی مدت وارد بر گیاه، به طور قابل ملاحظه‌ای رشد گیاه و عملکرد آن را تحت تأثیر قرار می‌دهد. برای مثال تحقیقات Fabeiro و همکاران (۲۰۰۲) نشان میدهد که وقوع تنش خشکی طولانی مدت در مراحل تشکیل گل و میوه طالبی و هندوانه رشد کمی و کیفی این محصولات را کاهش می‌دهد.

هدف از انجام این آزمایش در راستای این ضرورت بوده که تحقیقات بیشتری برای اثبات این نکته که خصوصیات کمی، کیفی و فیزیولوژیکی می‌توانند تحت تنش تعدیل شده، بهبود یابند، نیاز است. این موضوع که اعمال تنشهای کنترل شده چگونه میتواند بر کیفیت و کمیت قندها و وقوع تنظیم اسمزی تأثیر بگذارد، بدون اینکه کاهش عملکرد معنی‌داری

بلافاصله پس از خارج کردن از حمام به مدت چند دقیقه درحمام یخ قرار داده شدند. بعد از این مرحله به هر لوله آزمایش ۴ میلی لیتر تولوئن اضافه و ۱۵ ثانیه به هم زده شده تا کاملاً یکنواخت شوند. سپس لوله ها برای مدتی در محیط آزمایشگاه قرار داده شدند تا دو فاز در آنها تشکیل شود. با قرائت جذب فاز رویی در طول موج ۵۲۰ نانومتر، غلظت پرولین با توجه به منحنی استاندارد تعیین گردید. برای تهیه محلول ناین هیدرین، ۲۵ گرم نین هیدرین در مخلوط اسید استیک (۳۰ میلی لیتر) و اسید فسفریک ۶ مولار (۲۰ میلی لیتر) حل شد. مواد شیمیائی اسید سولفوسالیسیلیک ۳ درصد و نین هیدرین، از شرکت سیگما خریداری شدند.

قندهای گلوکز، فروکتوز و ساکارز میوه: برای اندازه گیری قندها، نمونه های با حجم مساوی از گوشت میوه با استوانه مخصوص نمونه برداری جدا و با دستگاه انجماد خشک (Bio Block Scientific, Christ Los- Im ALPHA 2-4) در طی ۴ روز خشک شدند. ۳۰ میلی گرم از این نمونه پودر شده توزین و به لوله های ۲ میلی لیتری منتقل و سپس یک میلی لیتر آب مقطر به آنها افزوده شد. لوله های حاوی نمونه به مدت یک ساعت درون یخ قرار گرفتند و هر ۱۰ دقیقه یکبار تکان داده شدند تا محلول سوسپانسیون یکنواخت حاصل شود. پس از آن نمونه ها به مدت ۱۵ دقیقه با ۱۴۰۰۰ دور در دمای ۵ درجه سانتیگراد در سانتریفیوژ Beckman Coulter مدل Allegra 6R ساخت کشور آلمان قرار گرفتند. فاز رویی جدا و به لوله های جدید منتقل شد و به منظور حذف پروتئینهای مزاحم، به مدت ۵ دقیقه در ۱۰۰ درجه سانتیگراد قرار گرفتند و سپس به مدت ۳۰ دقیقه درون یخ قرار داده شدند. سپس تحت شرایط قبل سانتریفیوژ شدند. نمونه‌های محلول توسط فیلترهای میلی پور ۰/۴ میکرومتری صاف شدند و غلظت قندهای گلوکز، فروکتوز و ساکارز با روش معرفی شده توسط Tcherkez *et al*, 2003 و به کمک HPLC و با ستون قند(Pak1) 6.5 mm diameter (and 300 mm length, Waters, U.S.A) بر اساس میلی گرم بر میلی لیتر اندازه گیری شدند و داده های حاصل از دستگاه با تقسیم بر وزن خشک نمونه ها و بصورت میلی گرم بر میلی گرم وزن خشک بیان گردید.

رخ دهد، تاکنون کمتر مورد توجه و مطالعه قرار گرفته است. در راستای اثبات اثر تنشهای تعدیل یافته در بهبود کیفیت و ارزش غذایی محصولات و با تکیه بر این فرض که تنش کم آبی کنترل شده، ممکن است باعث افزایش میزان اسمولیت‌های مفید و مقاومت به تنش کم آبی در گیاه طالبی شود، بدون اینکه کاهش عملکرد معنی داری در آن رخ دهد، مراحل عملی آن به اجرا گذاشته شد.

مواد و روش‌ها:

آزمایش در مزرعه ایستگاه تحقیقات باغبانی پردیس کشاورزی و منابع طبیعی دانشگاه تهران واقع در محمدرشهر کرج انجام شد. خصوصیات خاک مزرعه محل انجام آزمایش در جدول ۱ آمده است.

تیمارهای آزمایش شامل سه سطح آبیاری: ۵۰- کیلوپاسکال (شاهد) و دو سطح تنش خشکی ۶۵- و ۷۵- کیلوپاسکال و در سه مرحله مختلف رسیدن شامل میوه های نارس با پوست سبز (۳۲ روز پس از شکوفایی گل)، میوه رسیده و بدون نرم شدن گوشت (۴۵ روز پس از شکوفایی گل) و میوه کاملاً رسیده همراه با نرم شدن گوشت (۶۰ روز پس از شکوفایی گل) طالبی سمسوری ورامین بودند. این مراحل مطابق با ۷، ۲۰ و ۳۵ روز پس از شروع تنش خشکی بر این گیاه بود. اعمال تنش خشکی در فاصله ظهور اولین میوه ها تا زمان برداشت میوه ها و با استفاده از تانسومتر صورت گرفت. آزمایش در قالب طرح بلوک های کامل تصادفی و در سه تکرار بود.

شاخص پرولین: اندازه گیری پرولین در برگهای کاملاً توسعه یافته نمونه هایی که تحت تیمارهای مختلف بودند به روش Bates و همکاران(۱۹۸۱) صورت گرفت. براساس این روش نیم گرم برگ از هر نمونه را در ۱۰ میلی لیتر محلول آبی اسید سولفوسالیسیلیک ۳ درصد قرار داده و مخلوط حاصل در هاون چینی به کمک نیتروژن مایع کاملاً مخلوط و توسط کاغذ صافی کاملاً صاف شد. سپس ۲ میلی لیتر از این محلول را با ۲ میلی لیتر معرف نین هیدرین مخلوط نموده و ۲ میلی لیتر اسید استیک به هر لوله اضافه شد. سپس نمونه ها به مدت یک ساعت در بن ماری ۱۰۰ درجه سانتیگراد قرار گرفتند و

جدول ۱- خصوصیات خاک محل انجام آزمایش

بافت خاک	pH	هدایت الکتریکی (EC) (ds/m)	ازت کل (%)	فسفر قابل (mg/kg)	جذب پتاسیم قابل جذب (mg/kg)
لوم رسی	۸/۱	۱/۸۹	۰/۰۷	۱۳/۲۷	۷۱۰

اندازه گیری فعالیت آنزیم اینورتاز در نمونه های گوشت

میوه: مقدار ۵ گرم از گوشت میوه منجمد شده در هاون سرد قرار گرفته بر روی یخ و با استفاده از بافر استخراج آسیاب و مخلوط شد (برای تهیه بافر استخراج ۴۰ میلی لیتر بافر فسفات سدیم ۵۰ میلی مولار با $\text{pH} \sim 7/5$ را با ۱۰ میلی لیتر محلول Na- EDTA یک میلی مولار، ۵۰ میکرولیتر محلول ۱۰۰ (w/v) Triton X-۰/۵٪ و ۲/۵ میکرولیتر دی تیوتریتول ۲/۵ میلی مولار مخلوط کردیم). لوله های فالكون حاوی مخلوط نمونه به مدت ۱۰ دقیقه در ۱۰۰۰۰ دور سانتریفیوژ شد. فاز رویی جدا و به فالكونهای جدید انتقال داده شد. به میزان دو برابر حجم عصاره درون فالكون، اتانول سرد به آرامی و بصورت قطره قطره اضافه شده تا آنزیم اینورتاز رسوب نماید. بمنظور رسوب بهتر پروتئین، لوله های فالكون به مدت ۱۰ دقیقه در ۱۰۰۰۰ دور سانتریفیوژ شدند. فاز رویی دور ریخته شد و رسوب حاصل در ۲ میلی لیتر بافر استات سدیم با $\text{pH} \sim 4/8$ حل شد. این محلول عصاره آنزیمی بود. برای سنجش فعالیت اینورتاز به ۵ میلی لیتر محلول ساکارز (۰.۱ مولار) ۱ میلی لیتر از عصاره آنزیمی اضافه شد. مخلوط حاصل به مدت ۱۰ دقیقه در دمای اتاق جهت انجام واکنش آنزیمی قرار گرفته و سپس واکنش با قرار دادن مخلوط واکنش در ۱۰۰ درجه سانتیگراد به مدت ۱۰ دقیقه متوقف گردید. برای سنجش مقدار گلوکز تولید شده، مخلوط سرد شد و ۱ میلی لیتر از محلول دی نیتروسالسیلیک اسید (DNS) به آن اضافه شد و بلافاصله در دمای ۱۰۰ درجه سانتیگراد به مدت ۱۰ دقیقه حرارت داده شد. (برای ساخت محلول دی نیترو سالیسیلیک اسید، ۱۰ گرم پودر دی نیتروسالیسیلیک اسید را با ۰/۵ گرم سولفات سدیم و ۱۰ گرم پودر هیدروکسید سدیم مخلوط و در ۱ لیتر آب حل نمودیم). محصول این واکنش، ترکیبی رنگی بود که جذب آن توسط دستگاه اسپکتروفوتومتر (Jenna, Specord 200) ساخت

آمریکا و در طول موج ۵۴۰ نانومتر قرائت شد. بعنوان صفر دستگاه از محلول ساکارز استفاده شد. اعداد جذب حاصل از اسپکتروفوتومتری نسبت به استاندارد مقایسه شدند و میزان فعالیت اینورتاز بصورت میکرومول بر گرم ماده تازه بر دقیقه بیان شد. پودر دی نیتروسالسیلیک اسید (DNS) از شرکت سیگما خریداری شد.

اندازه گیری پتانسیل آب برگها: برای اندازه گیری پتانسیل آب برگها از محفظه فشار California USA مدل ۶۷۰ استفاده شد. این دستگاه دارای یک کپسول حاوی گاز نیتروژن با فشار زیاد است. جهت اندازه گیری این پارامتر با این دستگاه، دمبرگ برگ را پس از عبور از رینگهای مخصوص و اطمینان از عدم خروج و نشت گاز در محل مناسبی روی اتاقک فشار نصب میکنیم و با قرار دادن قطعه ای از خمیر لاستیک در اطراف محلهای اتصال شیلنگها، از مسدود بودن درز و منافذ احتمالی که باعث هدررفت گاز می شوند، اطمینان حاصل می شود. به محض باز کردن شیر گاز، فشار درون اتاقک افزایش می یابد. با مشاهده خروج اولین قطره شیره از انتهای برگ (که با استفاده از لنزهای مخصوصی صورت می گیرد)، بلافاصله شیر گاز را بسته و سریعاً قرائت و یادداشت از روی دستگاه انجام میگردد. انتهای دمبرگ بایستی کاملاً صاف و مسطح باشد. بدین منظور میتوان انتهای دمبرگ را با تیغ تیز برش داد. در واقع در این روش با دمیدن گاز نیتروژن درون محفظه، فشار آن را تا حدی که آب درون آوندهای چوبی به سطح بریده شده برگردد، افزایش داده و فشار تعادل از نظر کمی مساوی با فشار منفی ای است که قبل از جدا کردن اندام در آوند چوبی وجود داشته اما علامت آن در جهت مخالف در نظر گرفته می شود. لازم به تذکر است که در این روش اندازه گیری، سرعت انجام عملیات از اهمیت خاصی برخوردار است، چرا که با گذشت زمان، احتمال از

دست رفتن رطوبت برگ وجود دارد.

پتانسیل اسمزی برگ‌ها: نمونه برگ هر تیمار درون نیتروژن مایع قرار گرفت و در ۲۰- درجه سانتیگراد فریز شد. برگهای حاصل از انجماد خشک با هاون دستی بمنظور خروج عصاره برگ کاملاً ساییده شدند و فوراً به ویالهای استریل منتقل و در ۱۶۰۰۰ به مدت ۱۵ دقیقه سانتریفیوژ شدند. فاز رویی به ویال جدید انتقال یافت و میزان پتانسیل اسمزی آن با دستگاه میکرواسمومتر کالیبره مدل ۳۳۲۰ ساخت ژاپن اندازه گیری شد.

پتانسیل تورژسانس برگ‌ها: برای تیمارهای آزمایش، پتانسیل تورژسانس از اختلاف پتانسیل‌های آب و اسمزی برگ‌ها به دست آمد.

تجزیه آماری: داده‌های این آزمایش با استفاده از نرم افزار SAS 9.1 و براساس طرح بلوک‌های کامل تصادفی تجزیه و میانگین‌ها با استفاده از آزمون چند دامنه‌ای دانکن طبقه‌بندی شدند.

نتایج و بحث:

شاخص اسید آمینه پرولین: میزان پرولین برگ در بین تیمارهای تنش (سطوح مختلف آبیاری) اختلاف معنی‌داری در سطح احتمال کمتر از ۱٪ داشت (جدول ۲). با افزایش سطوح تنش، مقدار پرولین برگ افزایش یافت بطوریکه بیشترین میزان پرولین موجود در برگ در گیاهان تحت تیمار تنش شدید (شروع آبیاری در پتانسیل ماتریک -۷۵- کیلوپاسکال) در اواخر دوره تنش ۰/۶۷ و در سی و پنجمین روز پس از شروع تنش حدود ۰/۳۵ میکرومول بر گرم وزن تازه برگ به دست آمد (شکل ۱). تغییرات شاخص پرولین بر حسب واحدهای تنش اعمال شده تا حدودی با تاخیر و از روز ۲۰ پس از شروع تنش خود را نشان می‌دهند. از جنبه ای دیگر، روند تغییرات شاخص پرولین در طی روزهای پس از شروع تنش در هر سه تیمار آبیاری در برگهای طالبی دارای نظم خاصی می‌باشد. به عبارتی با افزایش سطوح تنش از آبیاری شاهد (۵۰- کیلوپاسکال) به شدیدترین سطح تنش (۷۵- کیلوپاسکال) در طی روزهای پس از شروع تنش، شیب تغییرات این شاخص

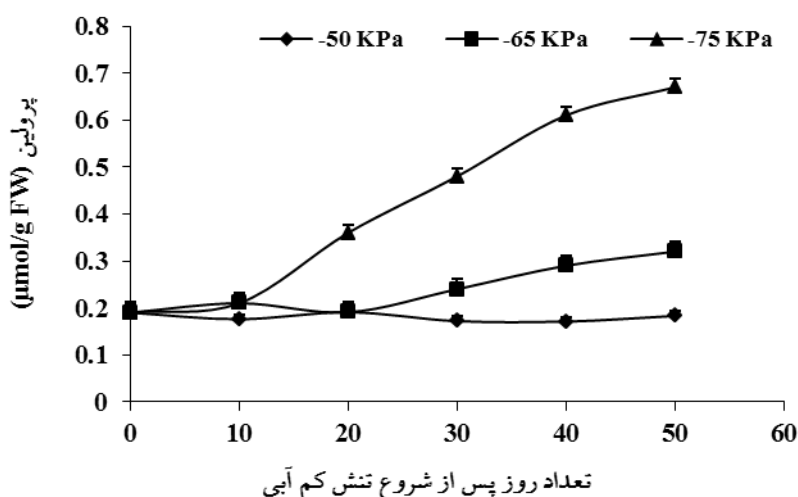
دو برابر شده است. به گزارش Yordanov و همکاران (۲۰۰۳) افزایش پرولین در برگ گیاهان تحت شرایط تنش بدلیل افزایش بیان ژنهای کنترل کننده تولید این اسید آمینه مانند ژن بیان کننده آنزیم ۱- پرولین- ۵- کربوکسیلات سینتتاز می‌باشد. نتایج مشابهی در افزایش میزان پرولین تحت تنش کم آبی در برگ گیاهان گوجه فرنگی و بادمجان در گزارش Reddy و همکاران (۲۰۰۴) منتشر شده است. Tamayo و Bonjoch (۲۰۰۱) اعلام کردند گیاهان در پاسخ به تنشهای خشکی و شوری، ترکیبات آلی خاصی را که آبدوست نیز هستند، سنتز و ذخیره می‌کنند. با افزایش غلظت این مواد در سلول، فشار اسمزی افزایش یافته و گیاه ترغیب می‌گردد تا آب بیشتری را از طریق ریشه جذب نماید. ملکولهای آب جذب شده دور این مواد جمع شده و نه تنها سبب تورژسانس سلولی تحت شرایط تنش میشوند، بلکه به عنوان منابع آب درون سلولی از پروتئینها و غشاء نیز محافظت می‌کنند. به همین دلیل به این مواد محلولهای سازگار، محافظ اسمزی یا اسمولیت های سازگاری گویند. نکته مهم این است که این مواد حتی در غلظت های بالا بازدارنده فعالیت‌های آنزیمی نیستند و اثر سمی برای سلول ندارند و این محافظین اسمزی شناخته شده شامل: آمینواسیدها (پرولین و سیتروولین)، ترکیبات آمونیومی (گلیسن بتائین، ۳- دی متیل سولفونوپروپیونات)، مونوساکاریدها (فروکتوزها)، قندهای الکلی (مانیتول و پینیتول) و دی الیگوساکاریدها (ساکارز، ترهالوز و فروکتان) می‌باشند.

قندهای فروکتوز، گلوکز و ساکارز در میوه: تغییرات میزان قندها تحت تأثیر تنش در سطح احتمال کمتر از ۱٪ (برای ساکارز) و در سطح احتمال کمتر از ۵٪ (برای گلوکز و فروکتوز) معنی دار بود (جدول ۲). بیشترین میزان قندها (گلوکز، فروکتوز و ساکارز) در میوه های تحت تیمار تنش کم آبی با نقطه شروع آبیاری در پتانسیل ماتریک -۷۵- کیلوپاسکال و کمترین در تیمار شاهد (۵۰- کیلوپاسکال) به دست آمد. در تیمار شاهد (شروع آبیاری در پتانسیل ماتریک ۵۰- کیلوپاسکال) غلظت گلوکز و فروکتوز در روزهای اولیه پس از شروع تنش کم آبی، در بالاترین میزان خود بود. از این تاریخ

جدول ۲- نتایج تجزیه واریانس اثر تنش کم آبی (آبیاری) بر میزان گلوکز، فروکتوز، ساکارز میوه و پرولین برگ طالبی سمسوری

منابع تغییرات	درجه آزادی	گلوکز (mg/g FW)	فروکتوز (mg/g FW)	ساکارز (mg/g FW)	پرولین (μmol/g FW)
تکرار	۲	۳/۳۳ ^{ns}	۰/۶۷ ^{ns}	۰/۹۸ ^{ns}	۰/۴۴ ^{ns}
تنش (آبیاری)	۲	۲/۱۳*	۱۹/۲۳*	۵/۹۸**	۱/۲۳**
زمان نمونه برداری	۴	۶/۴۵*	۱/۹۸*	۰/۷۶ ^{ns}	۲۴/۱۱ ^{ns}
تنش × زمان نمونه برداری	۴	۱۱/۵۶*	۱۷/۷*	۲/۵۶**	۳۳/۶۸**
خطا	۸	۱/۴۳	۱/۷۶	۰/۱۱	۳/۴۴
ضریب تغییرات		۷/۵	۱۱/۴۴	۳/۲۰	۴/۷۳

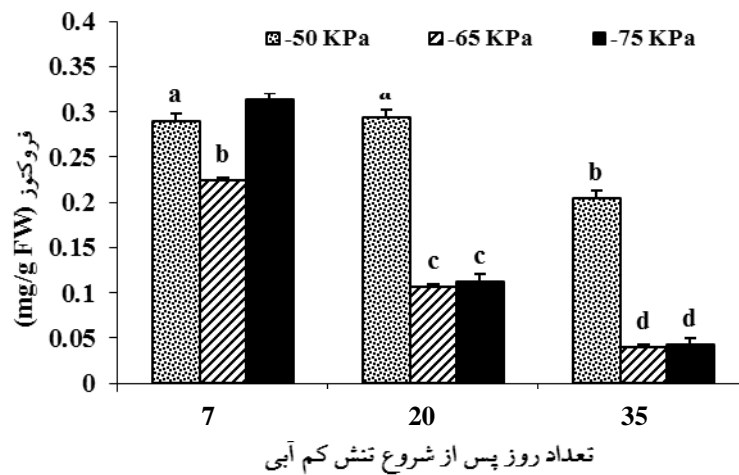
** معنی دار در سطح احتمال ۱ درصد، * معنی دار در سطح احتمال ۵ درصد و ns معنی دار نیست.



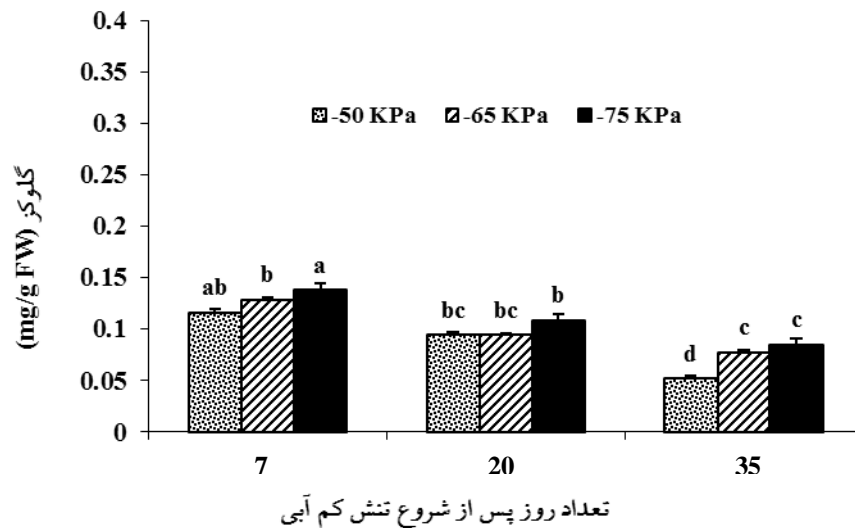
شکل ۱- اثرات تنش کم آبی بر شاخص پرولین برگ طالبی سمسوری. حروف متفاوت نشان دهنده معنی دار بودن تفاوت‌ها در سطح $P \leq 1\%$ بر اساس آزمون دانکن می‌باشد.

تفاوت که غلظت این قند با گذشت تعداد روزهای پس از شروع تنش افزایش یافت و در سی و پنجمین روز به حداکثر میزان خود رسید (شکل ۴). در همین راستا Pharr و همکاران (۱۹۹۴) گزارش نمودند که بیش از ۹۷ درصد مواد جامد محلول درون میوه ملونها را قندهای محلول تشکیل می‌دهند و ساکارز قند غالب در میوه رسیده می‌باشد که تا سهم آن تا حدود ۵۰ درصد کل مواد جامد محلول نیز گزارش شده است. این قند در زمان رسیدن میوه قند غالب است و همبستگی بالایی بین مقدار مواد جامد محلول و میزان ساکارز وجود دارد. با اعمال تنش آبی شدید در مراحل اولیه نمو میوه،

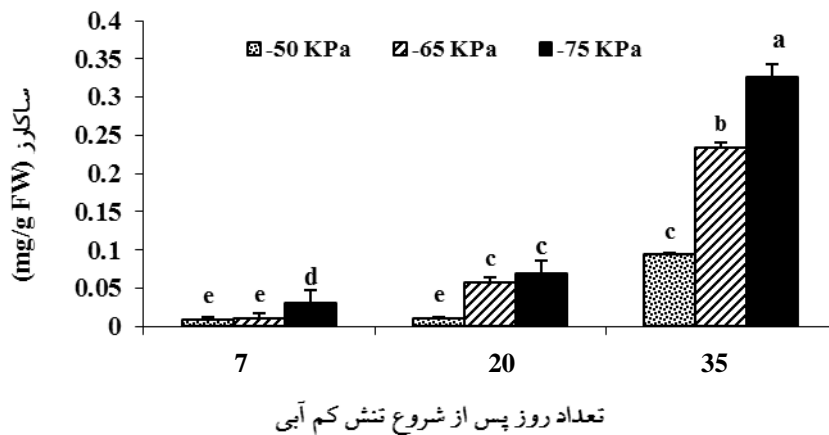
به بعد مقادیر این دو مونوساکارید رو به کاهش گذاشت (شکل‌های ۲ و ۳)، بطوریکه در ۳۵ روز پس از شروع تنش، میزان گلوکز و فروکتوز به کمترین حد خود رسید. بیشترین میزان ساکارز در روز سی و پنجم پس از شروع تنش کم آبی در شدیدترین تیمار تنش آبی (شروع آبیاری در پتانسیل ماتریک -۷۵- کیلوپاسکال) و کمترین در تیمار شاهد (-۵۰- کیلوپاسکال) به دست آمد. در این آزمایش به موازات افزایش سطح تنش آبی از پتانسیل ماتریک -۵۰- کیلوپاسکال به پتانسیل ماتریک -۷۵- کیلوپاسکال میزان ساکارز در هر سه زمان نمونه برداری افزایش یافت با این



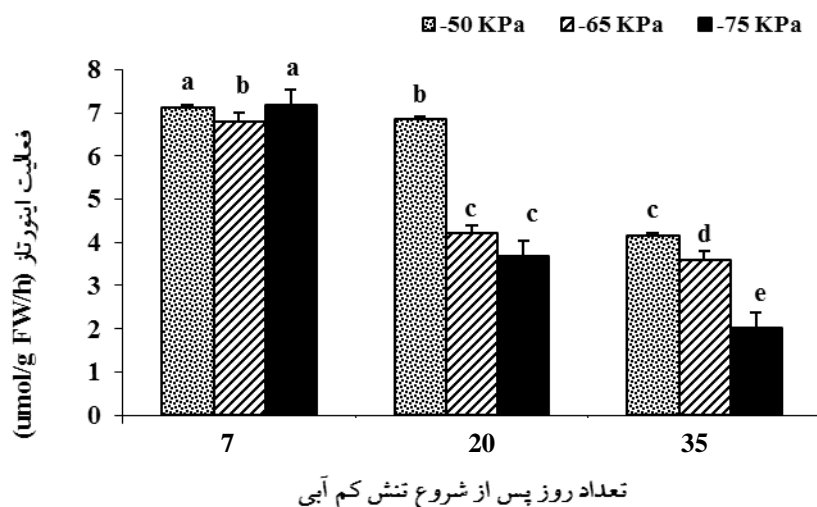
شکل ۲- اثر سطوح مختلف تنش کم آبی بر میزان فروکتوز میوه در طالبی سمسوری. حروف متفاوت نشان دهنده معنی‌دار بودن تفاوت‌ها در سطح $P \leq 1\%$ بر اساس آزمون دانکن می‌باشد.



شکل ۳- اثر سطوح مختلف تنش کم آبی بر میزان گلوکز میوه در طالبی سمسوری. حروف متفاوت نشان دهنده معنی‌دار بودن تفاوت‌ها در سطح $P \leq 1\%$ بر اساس آزمون دانکن می‌باشد.



شکل ۴- اثر سطوح مختلف تنش کم آبی بر میزان ساکارز میوه در طالبی سمسوری. حروف متفاوت نشان دهنده معنی‌دار بودن تفاوت‌ها در سطح $P \leq 1\%$ بر اساس آزمون دانکن می‌باشد.



شکل ۵- اثر سطوح مختلف تنش کم آبی بر میزان فعالیت اینورتاز در طالبی سمسوری. حروف متفاوت نشان دهنده معنی دار بودن تفاوت‌ها در سطح 1% P بر اساس آزمون دانکن می‌باشد.

فعالیت اینورتاز و افزایش فعالیت ساکارز فسفات سنتتاز و ساکارز سنتتاز می‌باشد). نکته قابل توجه این است که در این آزمایش هرچند روند کلی تغییرات گلوکز و فروکتوز در جریان رسیدن میوه رو به کاهش است، اما در شدیدترین سطح تنش این آزمایش یا همان شروع آبیاری در پتانسیل ماتریک -۷۵- کیلو پاسکال در مقایسه با آبیاری شاهد رو به افزایش می‌باشد. در آزمایش Lester و همکاران (۱۹۸۵) مشخص شد که آبیاری اضافی در مرحله نزدیک به برداشت میوه، باعث کاهش مقدار مواد جامد محلول می‌شود. با افزایش ناگهانی در پتانسیل آب گیاه، سلولهای ذخیره کننده قند در میوه نسبت به فضای آپوپلاستی، هیپراسموتیک بوده و آب را جذب می‌کنند و بدین ترتیب سبب افزایش وزن تر میوه و رقیق شدن قندهای ذخیره شده می‌گردد. گاهی اوقات عملیات کشت و شرایط بهینه آب و هوایی که موجب عملکرد بالا می‌شوند باعث کاهش کیفیت محصولات می‌شوند. برای مثال کاربرد بیش از حد آب و نیتروژن بالا باعث کاهش کیفیت می‌شوند (Kader, 2008).

میزان فعالیت آنزیم اینورتاز: فعالیت اینورتاز در میوه‌ها در اثر تنش کم آبی کاهش معنی دار در سطح احتمال کمتر از ۱٪ داشت (جدول ۲) و بالاترین میزان فعالیت این آنزیم در شرایط آبیاری شاهد (۵۰- کیلو پاسکال) مشاهده شد (شکل ۵).

Lang و همکاران (۲۰۰۶) بیان کردند که محدود کردن ظرفیت فتوسنتزی به دلیل بسته شدن روزنه‌ها باعث کاهش قند میوه شود ولی اعمال تنش آبی در مرحله آخر نمو میوه (همزمان با تجمع فعال ساکارز و تا حدودی گلوکز نسبت به شاهد) باعث بهبود مقدار مواد جامد محلول میوه می‌شود. طبق نتایج آزمایش Lingle و Dunlap (۱۹۸۷) در طی مراحل اولیه نمو میوه طالبی، مقدار مواد جامد محلول کم است و بیشتر متشکل از گلوکز و فروکتوز با نسبت مساوی است. در شروع رسیدن، مقدار این مواد رو به افزایش گذاشته و سپس با افزایش ساکارز ادامه می‌یابد که درست در همین زمان غلظت فروکتوز و گلوکز رو به کاهش می‌گذارد و یا در برخی میوه‌ها بندرت میزان آنها ثابت می‌ماند و تغییرات وضعیت قند همراه با نمو میوه، مربوط به تغییرات فعالیت آنزیمهای متابولیزه کننده قندها و بخصوص ساکارز است. در طالبی‌های جوان، ۱۰ تا ۲۰ روز پس از گرده افشانی Ranwala و همکاران (۱۹۹۲) مشخص کردند که گلوکز و فروکتوز تنها قندهای موجود در گوشت میوه هستند و در طول این مرحله، فعالیت اینورتاز طبیعی و اسیدی بالاست و فعالیت ساکارز فسفات سنتتاز کم می‌باشد. همزمان با رسیدن طالبی، افزایش کلی قندها بصورت تجمع ساکارز دیده می‌شود و این افزایش مرتبط با کاهش چشمگیر

جدول ۳- نتایج تجزیه واریانس اثر تنش کم آبی بر فعالیت اینورتاز میوه و پتانسیلهای آب و اسمز و تورژسانس برگ سمسوری

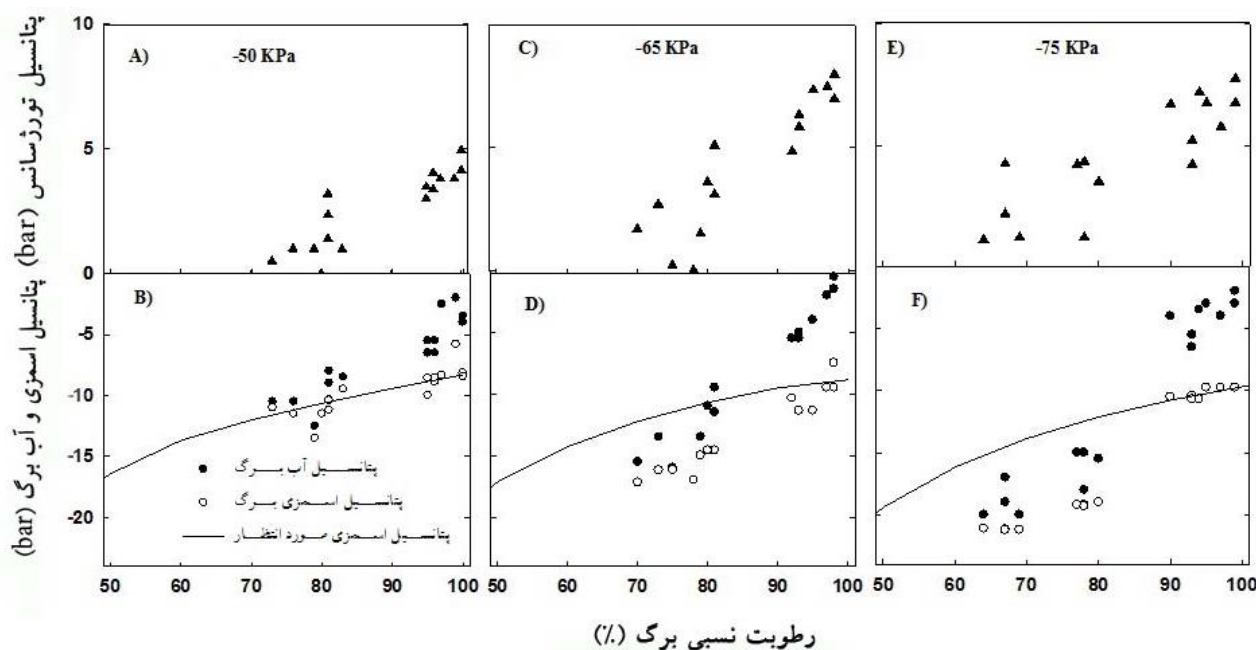
منابع تغییرات	درجه آزادی	فعالیت اینورتاز (μmol/g FW/h)	پتانسیل آب برگ (bar)	پتانسیل اسمزی برگ (bar)	پتانسیل تورژسانس برگ (bar)
تکرار	۲	۰/۳۳ ^{ns}	۰/۹۷ ^{ns}	۰/۸۴ ^{ns}	۰/۳۴ ^{ns}
تنش (آبیاری)	۲	۲/۴۵ ^{**}	۶۱۹/۸۰ ^{**}	۲۳۸/۶۸ ^{**}	۱۷۲/۶۷ ^{**}
زمان نمونه برداری	۴	۰/۰۱ ^{**}	۷۲/۵۶ ^{ns}	۴۳/۳۰ ^{ns}	۲۷۱/۶۶ ^{ns}
تنش × زمان نمونه برداری	۴	۱/۵۰ ^{**}	۸۱/۵۸ ^{**}	۹۷/۷۰ ^{**}	۵۶/۸۱ ^{**}
خطا	۸	۲/۲۳	۲/۳۴	۰/۶۰	۰/۳۴
ضریب تغییرات		۹/۱۱	۱۲/۰۶	۶/۴۵	۳/۷۵

** معنی دار در سطح احتمال ۱ درصد، * معنی دار در سطح احتمال ۵ درصد و ns معنی دار نیست.

پتانسیلهای آب، اسمز و تورژسانس برگهای طالبی سمسوری در سطح احتمال کمتر از ۱ درصد معنی دار بود (جدول ۳). مقادیر پتانسیلهای اسمزی و آب برگ و نیز رطوبت نسبی برگ در شکل ۶ نمایش داده شده است. بیشترین کاهش در میزان پتانسیل آب برگ با گذشت ۳۵ روز پس از شروع اعمال تنش کم آبی بود رخ داد (۲۲ bar-). بطور کلی از جمله اسمولیت‌های موثر در وقوع تنظیم اسمزی، می توان به ساکارز و پرولین اشاره کرد که به نظر می رسد نقش مهمی را در افزایش غلظت اسمزی سلولهای برگ طالبی در شرایط این آزمایش تحت شرایط کم آبی ایفا کرده اند. این تنظیم اسمزی در طالبی در شرایطی رخ داده که پتانسیل اسمزی تا حد ۲۲- بار در شدیدترین سطح تنش یعنی آبیاری در پتانسیل ماتریک ۷۵- کیلوپاسکال و پس از شروع سی و پنج روز از شروع تنش کم آبی نزول یافته است (شکل ۶ سمت راست). کاهش شدید پتانسیل اسمزی (شکل ۶) حتی کمتر از میزان انتظار (خط نشانگر پتانسیل اسمزی که حدود ۲۰ تخمین زده شده است)، در پاسخ به کمبود آب در سطوح تنش به کار رفته در این آزمایش می تواند ناشی از تجمع محلولهای اسمزی در واکوئل و انباشته شدن محلول ها در سلول باشد که منجر به کاهش حجم سلول می شود که با افزایش سطوح تنش کم آبی از آبیاری در پتانسیل ماتریک ۵۰- کیلوپاسکال تا شدیدترین سطح تنش یعنی آبیاری در پتانسیل ماتریک ۷۵- کیلوپاسکال،

بیشترین میزان فعالیت سنجیده شده در آبیاری شاهد (۵۰- کیلوپاسکال) و در شروع دوره اعمال تنش با گذشت هفت روز مشاهده شد. با افزایش دوره اعمال تنش کم آبی و رسیدن به سی و پنجمین روز پس از شروع تنش و در شدیدترین سطح تنش (شروع آبیاری در پتانسیل ماتریک ۷۵- کیلوپاسکال)، کمترین میزان فعالیت اینورتاز اندازه گیری شد. در گیاه ذرت طبق نتیجه آزمایش Zinselmeier و همکاران (۱۹۹۵) فعالیت اینورتاز در زمان گرده افشانی و پرشدن دانه ها تحت اثر تنش خشکی کاهش یافت که این اثر با کاهش سطوح قندهای احیایی و افزایش میزان ساکارز همراه بود. در برگهای ذرت نیز افزایش قابل توجه قندهای هگزوز با افزایش فعالیت اینورتاز تحت اثر تنش خشکی مشاهده شده است. این نتایج بیانگر آن است که اینورتاز در حفظ تورژسانس سلول و انبساط آن نقش دارد، زیرا بافتهای در حال رشد سریعاً به غلظت بالای قندهای هگزوز و غلظت پایین ساکارز نیاز دارند. در گیاه خربزه لستر و همکاران (۲۰۰۱) بیان کردند که آنزیم های اینورتاز و ساکارز فسفات سنتاز، آنزیم های کلیدی تجمع قند در میوه هستند. وجود همبستگی منفی بین فعالیت اینورتاز و تجمع ساکارز در ریشه های هویج نیز توسط Dunlap و Lingle (۱۹۸۱) گزارش شده است.

پتانسیل‌های آب، اسمز و تورژسانس برگ طالبی: طبق جدول تجزیه واریانس اثر تنش کم آبی در طی مراحل مختلف بر



شکل ۶- تغییرات اجزای آبی برگ (پتانسیلهای تورژسانس، اسمزی و آب) بر حسب تغییرات رطوبت نسبی برگ تحت سطوح مختلف تنش کم آبی و وقوع تنظیم اسمزی در طالبی سمسوری

حاکمی از وقوع پدیده تنظیم اسمزی در این گیاه است. بعبارتی دیگر در صورتیکه تغییرات پتانسیل اسمزی روی خط پتانسیل اسمزی مورد انتظار بود، عدد حاصل از اختلاف پتانسیل های آب و اسمز که معادل فشار تورژسانس است منفی می شد و این افت شدید فشار تورژسانس باعث جدا شدن غشای ممبران از دیواره سلولی و در نتیجه پلاسمولیز و حتی مرگ گیاه می شد. این نتایج نشانگر مکانیزم سازگاری به تنش خشکی از طریق تنظیم اسمزی در این گیاه می باشد که به دنبال آن پایداری و تعادل تورژسانس تحت شرایط کمبود آب رخ می دهد. تنظیم اسمزی، محافظت اسمزی و سیستم آنتی اکسیدانی همگی روشهای اساسی پاسخ به تنش خشکی و ایجاد مقاومت نسبت به آن هستند (فاروق و همکاران، ۲۰۰۹).

از بین مکانیسم های مختلف، تنظیم اسمزی ممکن است تحمل گیاه را نسبت به آسیبهای ناشی از تنش خشکی از طریق حفظ پتانسیل آب بافت افزایش دهد تنظیم اسمزی به حفظ تعادل آب سلول از طریق تجمع فعال اسمولیتها کمک کرده و از این طریق حداقل خسارت ممکن ناشی از خشکی به گیاه وارد می شود (مورگان، ۱۹۸۱).

پتانسیل آب برگ کاهش یافته و بعبارتی منفی تر می شود. شیب این کاهش در نرخ پتانسیل آب در برگها به حدی است که مقادیر اندازه گیری شده از پتانسیل آب به حد مقادیر پتانسیل اسمزی برگ می رسد. از آنجا که پتانسیل تورژسانس خود تابعی از تغییرات پتانسیل های آب و اسمز در برگ است و خود حاصل اختلاف این دو پتانسیل است، بدیهی است که روند تغییرات آن مشابه هر دو پتانسیل آب و اسمز در گیاه باشد. بعبارت دیگر، با کاهش اختلاف پتانسیلهای اسمزی و آب برگ، پتانسیل تورژسانس نیز که حاصل این اختلاف است کاهش یافته اما فشار تورژسانس افزایش یافته و بعبارتی مثبت تر شده و حتی در اواخر دوره تنش و در شدیدترین سطح تنش کم آبی تنها به صفر می رسیده و منفی نمی شود. همین فشار تورژسانس باعث حفظ حالت طبیعی غشای ممبران در سلولهای برگ گیاه طالبی تحت تنش کم آبی می گردد. خط رسمشده در شکل ۶ (خط نشانگر پتانسیل اسمزی مورد انتظار) در واقع حاصل از تخمین رفتار پتانسیل اسمزی در برگها براساس رطوبت نسبی آب برگ در اوایل دوره رشد گیاه می باشد. کاهش میزان پتانسیل اسمزی حتی به زیر این خط مبنای

در واقع با سود جستن از اثرات مثبت تنش‌های کنترل شده می‌توان ضمن جلوگیری از کاهش عملکرد معنی دار (چنانکه در همین آزمایش نیز افت عملکرد در سطح دوم آبیاری یا تنش میانه که نقطه شروع آبیاری وقتی پتانسیل ماتریک به ۶۵- کیلوپاسکال می‌رسید، معنی دار نگشت) آنزیم‌های دخیل در فرآیند رسیدن میوه را تحریک و به سمت تولید مواد قندی بیشتر واداشت.

نتیجه‌گیری:

گیاهان دارای توانایی تنظیم اسمزی مانند گیاه طالبی در شرایط این آزمایش را می‌توان گیاهان متحمل به خشکی محسوب کرد. با توجه به نتایج به دست آمده در این آزمایش مشخص می‌شود که سطوح تنش اعمال شده توانسته اند با کاهش فعالیت آنزیم اینورتاز موجب افزایش تولید ساکارز و حتی گلوکز در میوه‌های طالبی سمسوری در مقایسه با شاهد گردد.

منابع:

- metabolism in netted musk-melon fruit during development. *Plant Physiology* 84: 386-389.
- Morgan, J. M. (1977) Changes in diffusive conductance and water potential of wheat plants before and after anthesis. *Australian Journal of Plant Physiology* 4: 75-86.
- Pharr, D. M. (1994) Melons: biochemical and physiological control of sugar accumulation. *Encyclopedia Agriculture Science* 3: 25-37.
- Ranwala, A. P., Suemasu, C., Masuda, H. (1992) The role of b-galactosidases in the modification of cell wall components during muskmelon fruit ripening. *Plant Physiology* 100: 1318-1325.
- Reddy, A. R., Chaitanya, K. V. and Vivekanandan, M. (2004) Drought induced responses of photosynthesis and antioxidant metabolism in higher plants. *Plant Physiology* 161, 1189-1202.
- Singh, J. and Patal, A. (1996) Water status, gaseous exchange, proline accumulation and yield of wheat in response to water stress. *Annual of Biology Ludhiana* 12: 77-81.
- Tamayo, P. R. and Bonjoch, N. P. (2001) Free proline quantification. In: *Handbook of Plant Ecophysiology Techniques* (ed. Reigosa Roger, M. J.) Pp. 365-382. Kluwer Academic Publishers. Printed in the Netherland.
- Turner, C. and M. Myones. (1980) Turgor maintenance by osmotic adjustment. A review and evaluation. In *Addition of Plant to Water and High Temperature Stress*. (eds. Turner, N. C. and Kramer, P. J.) Pp. 87-103. Wiley, NewYork
- Yordanov, V. Velikova, V. and Tsonev, T. (2003) Plant response to drought and stress tolerance. *Bulgarian Journal of Plant Physiology* 187-206.
- Zinselmeier, C., Schussler, J. R., Jone, R. J. and Westgate, M. E. (1995) Low water potential disrupts carbohydrate metabolism ovaries. *Plant Physiology* 107: 385-39
- پیوست، غ.ع. (۱۳۸۸) سبزیکاری. چاپ پنجم. انتشارات دانش پذیر. ۵۷۰ صفحه.
- Aubert, C. and Pitrat, M. (2006) Volatile compounds in the skin and pulp of queen anne's pocket melon *Journal of agricultural and Food Chemistry* 54: 8177-8182.
- Ayub, R., C. Rombaldi., L. Lucchetta., C. Ginies., A. Latche., M. Bouzayen and J. C. Pech. (2008) Mechanism of melon fruit ripening and development of sensory quality. *Cucurbitaceae, INRA, Avignon (France)*, May 21-24.
- Fabeiro, C. and Juan, J. A. (2002) Production of muskmelon (*Cucumis melo* L.) under controlled deficit irrigation in a semi-arid climate. *Agricultural Water Management* 54: 93-105.
- Farooq, M., Wahid, A., Kobayashi, N., Fujita., D. and Basra, S. M. A. (2009) *Plant Drought Stress. Effects, Mechanisms and Management. Sustainable Agriculture* 1: 153-188.
- Hubbard, N. L., Huber, S. C. and Pharr, D. M. (1989) Sucrose phosphate synthase and acid invertase as determinants of sucrose concentration in developing muskmelon fruits. *Plant Physiology* 91: 1527-1534.
- Kader, A. (2008) Perspective flavor quality of fruits and vegetables. *Science of Food and Agriculture* 1363-1368.
- Lang, A. R. G. (2006) Carbohydrates, leaf area and average leaf angle from transmission of direct sunlight. *Australian Journal of Botany*, 34: 349-355. *International Journal of Agriculture and Biology* 1560-8530.
- Lester, G. E. and Dunlap, J. R. (1985) Physiological changes during development and ripening of "Perlita" Musk melon fruits. *Science Horticulture* 26: 323-331.
- Lingle, S.E., and Dunlap, J. R. (1987) Sucrose

Water deficit effects on some physiological characteristics, sugars and proline as osmolytes in *Cucumis melo* Group. *cantaloupe* cv. Samsoury

Najmeh Zeinali¹, Kamaladin Haghbeen², Mojtaba Delshad³

¹Department of Horticultural Science, Faculty of Agriculture, Shahid Bahonar university of Kerman, ² Research Center of Genetic Engineering and Biotechnology of Tehran

³Department of Horticultural Science, Faculty of Agriculture, Agriculture and Natural Resources College Karaj, Tehran University

(Received: 4 December 2014, Accepted: 13 September 2015)

Abstract:

In order to study the effect of water deficit stress on some physiological characteristics including leaf water; osmotic and turgor potentials and osmolytes including sugars, proline and invertase activity of Persian melon (*Cucumis melo* Group. *cantaloupe* cv. samsoury), an experiment was conducted in complete randomized design. Treatments including three irrigation levels (start of irrigation at -50 (control), -65 (moderate stress) and -75 kPa (severe stress) of matric potentials. Severe decrease of osmotic potential even less than predicted value (about -23 bar) was happened in severe water deficit stress (start of irrigation at -75 kPa of matric potential). Results indicate that water deficit levels in this experiment were cause to changes in sugars content and invertase activity. Water deficit stress decreased invertase activity to 2.01 at 35th days after start of stress, while the activity of this enzyme at this stage was measured about 4.14, for control (start of irrigation at -75 kPa of matric potential). Severe level of water deficit (start of irrigation at -75 kPa of matric potential) increased fruit sucrose content (0.32 mg/g FW) and glucose content (0.08 mg/g FW), leaves proline content (0.35 μ mol/ g FW) at 35th days after start of stress. Also, an osmotic regulation was happened in this plant by sucrose and proline aggregation under water deficit stress and according to the leaf osmotic potential has decreased even more than expected value.

Keywords: Osmolytes, Osmotic regulation, Samsoury, Invertase activity, Water deficit stress