

Drought stress effect on abscisic acid accumulation and stomatal conductivity of sugar beet

سعید وزان^۱، ذبیح اله رنجی^۲، محمد حسن هوشدار تهرانی^۳، امیر قلاوند^۴ و محمد صانعی شریعت پناهی^۵

()

)

ABA

ABA

ABA

ABA

ABA

: چغندر قند، تنش خشکی، اسید آبسزیک و هدایت روزنه ای برگ.

گیاهان می باشد. ABA یکی از مواد تنظیم کننده رشد گیاهی است که نقش مهمی در بسیاری از جنبه های رشد و نمو گیاه از جمله رسیدگی، خواب بذر و سازگاری به تنش های محیطی مختلف ایفاء می کند (Seo et al., 2000). یکی از مهم ترین وظایف ABA القاء بسته شدن روزنه ها در مواجهه با کمبود آب است. تحت شرایط کمبود آب، سطح ABA در ریشه ها افزایش می یابد و از ریشه ها به برگ ها جایی که بسته شدن

یکی از عوامل مهمی که در اکثر نقاط جهان تولیدات کشاورزی را مورد تهدید قرار می دهد مسأله خشکی می باشد. از این رو انتخاب و ایجاد واریته های جدید گیاهان زراعی از جمله چغندر قند (*Beta vulgaris* L.) که قادر به رشد در شرایط خشکی نسبی بوده و از عملکرد اقتصادی قابل توجهی برخوردار باشد، از اهداف محققین و دست اندرکاران بهنژادی و بهزراعی

تاریخ پذیرش: ۱۳۸۱/۱۱/۱۴

تاریخ دریافت: ۱۳۸۱/۸/۷

۱- استادیار دانشگاه آزاد اسلامی - واحد کرج ۲- دانشیار پژوهش مؤسسه تحقیقات اصلاح و تهیه بذر چغندر قند ۳- استادیار دانشگاه شهید بهشتی ۴- دانشیار دانشگاه تربیت مدرس ۵- استاد دانشگاه تهران.

روزنه را القاء می کند، انتقال می یابد. در نتیجه با بسته شدن روزنه ها تعرق کم می شود. علاوه بر این

آن ها در شرایط تنش و بدون تنش می باشد.

این تحقیق در سال ۱۳۷۸ در دو منطقه کرج و مشهد به ترتیب در مزرعه دانشکده کشاورزی دانشگاه آزاد اسلامی واحد کرج و در مزرعه طرق مشهد انجام شد.

آزمایش به صورت فاکتوریل در قالب طرح بلوک های کامل تصادفی و در سه تکرار به مرحله اجرا درآمد. فاکتورهای مورد بررسی شامل ژنوتیپ چغندر قند (در ۹ سطح) و تنش در دو سطح (دارای تنش و بدون تنش) بود. تیمار تنش بدین صورت بود که تا استقرار کامل بوته ها هر هفته یک بار آبیاری انجام گرفت و پس از آن مزرعه وارد تنش شد و به مدت ۵۰ روز آبیاری نگردید. در کرت هایی که به تیمار تنش اختصاص یافتند پس از اعمال تنش ۵۰ روزه دوباره آبیاری ها هر هشت روز یک بار صورت گرفت. این نوع تنش به خاطر استفاده از آب اول فصل در کشت های دیگر به ویژه گندم و جو اعمال شد. این در حالی بود که تیمار بدون تنش به طور مرتب آبیاری می شد.

فاکتور بعدی ژنوتیپ های مختلف چغندر قند بود که برای این آزمایش از نه ژنوتیپ که واکنش های متفاوتی نسبت به تنش خشکی داشتند، استفاده شد. هر کرت دارای دو خط به طول شش متر و فاصله ردیف ها ۶۰ سانتیمتر بود که فاصله بوته ها بر روی خط ۲۰ سانتیمتر در نظر گرفته شد. فاصله کرت ها حدود ۱/۵ متر بود. ژنوتیپ های مورد استفاده عبارت بودند از:

۴۳۶ (۶)	۲۲۶ (۱)
۷۱۱۲ (۷)	۷۲۳۳-P۱۲ (۲) مغان
۷۲۳۳-P۳۳ (۸)	۳) مشهد BP
۵۴۷۰ (۹)	۴) کرج BP
	۵) ۴۲۸

جهت اندازه گیری ABA در انتهای دوره تنش از کرت های مختلف نمونه برداری انجام شد. نمونه ها از حدود ۲۰ بوته در هر کرت و از برگ های وسط که کاملاً گسترده بودند، برداشت شد. سپس نمونه ها در

کمبود آب افزایش تولید ABA در برگ ها و توزیع مجدد آن از مزوفیل به اپیدرم و بسته شدن روزنه ها را به دنبال دارد. از طرفی روزنه ها نیز قادر به ساخت ABA مورد نیاز خود هستند. ABA که در اثر کمبود آب، تنش سرما و تراکم های بالای نمک افزایش می یابد، اثرات منفی وارد شده بر گیاه را می کاهد. مطالعات گسترده نشان داده است که کاهش در هدایت روزنه ای برگ، تا حد زیادی به افزایش سطح ABA در آوند چوبی بستگی دارد. بنابراین ABA می تواند به عنوان یک علامت تنش خشکی، هدایت روزنه ای را تنظیم کند (Zhang and Davies, 1989,1991; Davies and Zhang, 1991; Tardieu et al., 1992).

مشخص گردیده است که مقدار ABA در برگ ها (Beardsell and Cohen, 1975; Harrison and Walton, 1977; Zeervart, 1977) و اندام های گل (Morgan, 1980) در گیاهان تحت شرایط تنش خشکی افزایش می یابد که این امر به علت افزایش تولید آن در برگ ها می باشد (Harrison and Walton, 1975, Wright, 1978). در ژنوتیپ های ذرت که مقاومت های متفاوتی به خشکی داشتند، مقدار ABA در برگ های گیاهان مقاوم افزایش بیشتری می یابد (Larque – Saavedra and Wein, 1976).

غلظت های زیاد ABA باعث کاهش رشد برگ در شرایط عادی و آزمایشگاهی می شود (Zhang and Davies, 1990a, 1990b). در بعضی مواقع سرعت گسترش برگ قبل از افزایش غلظت ABA در شیره آوند چوبی یا برگ، کاهش می یابد (Dadd and Davies, 1996). برخی محققین دریافته اند که در برخی گونه ها، شیره آوند چوبی در گیاه تحت تنش خشکی، به اندازه کافی دارای ABA نیست تا بتواند پاسخ های فیزیولوژیکی و نموی گیاه را در خاک برآورده سازد (Aspinall and Paleg, 1981).

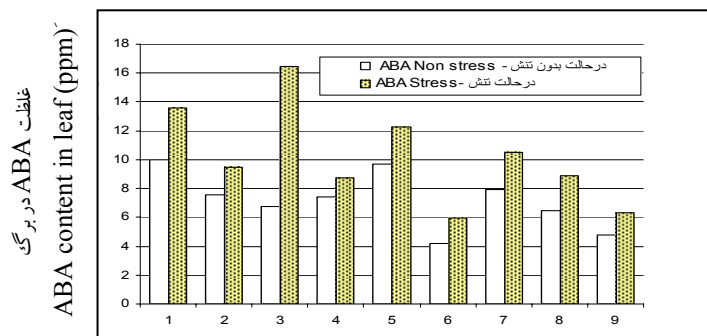
هدف از انجام آزمایش بررسی رابطه بین تجمع ABA و مقاومت به خشکی ژنوتیپ های مختلف چغندر قند با توجه به میزان عملکرد نهایی شکر سفید

دمای ۲۰- درجه سانتیگراد قرار گرفتند و در دما و فشار پایین (دمای ۴۸- درجه سانتیگراد و فشار ۰/۱۳ میلی بار) با استفاده از دستگاه "انجماد خشک"، اقدام شد. از این نمونه‌های خشک شده یک گرم جهت اندازه‌گیری میزان ABA جدا شد و مورد آزمایش قرار گرفت. پس از استخراج محلول حاوی ABA به روش استوارت و وُتبری (Stewart and Voetbery, 1985) غلظت اسید آبسزیک با استفاده از روش HPLC (High Performance Liquid Chromatography) اندازه‌گیری شد. جهت اندازه‌گیری مقاومت روزنه‌ای هر کدام از ژنوتیپ‌ها از دستگاه روزنه‌سنج اتوماتیک استفاده گردید.

محاسبه شدت تنش خشکی SI (Stress Intensity) (Fischer and Maurer, 1978) با استفاده از فرمول $SI = 1 - \frac{WSY_{st}}{WSY_{nonst}}$ انجام شد که WSY_{st} میانگین عملکرد قند قابل استحصال در هکتار در ژنوتیپ‌های مشترک در هر دو سال آزمایش در شرایط تنش اوایل دوره رشد و WSY_{nonst} میانگین عملکرد قند قابل استحصال در هکتار در ژنوتیپ‌های مشترک در دو سال آزمایش در شرایط بدون تنش می‌باشند. مقدار SI بین صفر و یک است. مقادیر بالای آن نشان دهنده شدت تنش است. محاسبه شدت تنش خشکی (SI) با توجه به عملکرد نهایی قند قابل استحصال در نه ژنوتیپ چغندر قند در دو منطقه مورد آزمایش، انجام شد.

ABA در شرایط دارای تنش و بدون تنش در برگ‌های چغندر قند مشاهده شد ولی با افزایش تنش خشکی مقدار آن افزایش یافت. میزان ABA به طور متوسط در ژنوتیپ‌های دارای تنش در کرج ۱۰/۱۸۹ و در ژنوتیپ‌های بدون تنش ۷/۲۰۳ ppm بود. همان طور که در نمودار ۱ مشاهده می‌شود در تمام ارقام در شرایط تنش تجمع ABA در برگ بیشتر از شرایط بدون تنش بوده است ولی این افزایش در ارقام

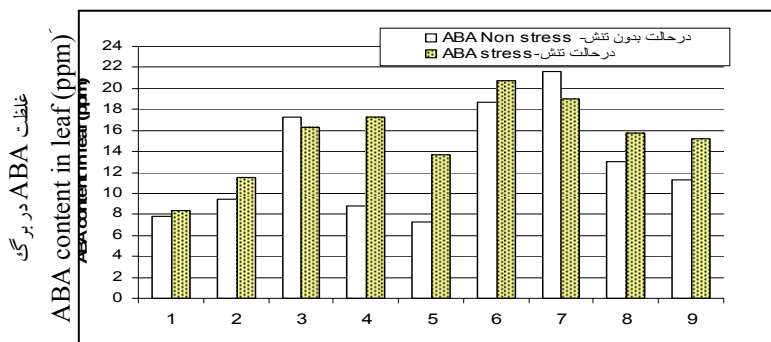
مختلف متفاوت بوده است. تجزیه واریانس داده‌ها اثرات تنش بر مقدار ABA را معنی‌دار نشان داد (۰/۰۱ < P). در مطالعه فیزیولوژیکی تنش خشکی نشان داده شده است که یک هفته پس از تنش خشکی، غلظت ABA در برگ‌های گیاه چغندر قند مورد تیمار افزایش یافت (Keller and Ludlow, 1993). ژنوتیپ‌های گندم و ذرت نیز تا سه برابر اختلاف در تجمع ABA در تحت شرایط تنش خشکی را از خود نشان دادند (Quarrie 1980). میانگین میزان ABA در ژنوتیپ‌های دارای تنش در مشهد ۱۵/۳۷۶ ppm در مقابل ژنوتیپ‌های بدون تنش که ۱۲/۷۶۰ ppm بود و اختلاف آن‌ها باهم معنی‌دار شد (۰/۰۱ < P). اثرات منطقه بر میزان ABA نیز معنی‌دار شد. متوسط تجمع ABA در کرج ۸/۶۹۶ و در مشهد ۱۴/۰۶۸ ppm بود. محاسبه شدت تنش خشکی SI نشان داد که مقادیر SI در مشهد ۰/۲۹۲۲ و در کرج ۰/۱۵۴۹ بود. این محاسبات تأیید کننده بالاتر بودن شدت تنش خشکی در مشهد می‌باشد. که می‌تواند به دلایل آب و هوایی و شرایط متفاوت خاک و غیره بوده باشد که باعث شده است در هر دو تیمار تنش و بدون تنش میزان تجمع ABA در مشهد از کرج بیشتر باشد. مشخص گردیده است که مقدار ABA در برگ‌ها (Beardsell and Cohen, 1975 ; Harrison and Waltan, 1977; Zeevart, 1975 و Morgan, 1980) در گیاهان تحت شرایط تنش خشکی افزایش می‌یابد که این امر به علت افزایش تولید آن در برگ‌ها می‌باشد (Harrison and Walton, 1975, Wright, 1978). با توجه به این که حتی تیمار بدون تنش پس از سپری شدن مدت لازم جهت آبیاری بعدی تحت تنش جزئی قرار گرفته است در نتیجه میزان ABA آن زیاد شده است و حتی در دو ژنوتیپ مشهد BP و ۷۱۱۲ نه تنها تجمع ABA در هر دو تیمار تنش و بدون تنش در حد بالایی است بلکه



ژنوتیپ های مورد بررسی Genotypes

شکل ۱- مقایسه مقدار ABA ژنوتیپ های مختلف در کرج

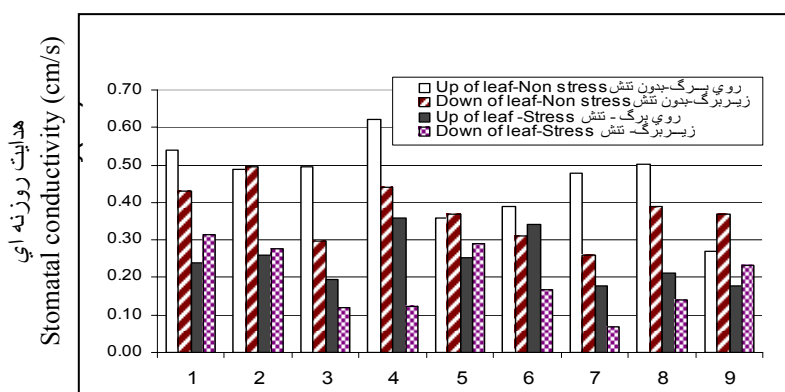
Fig. 1. ABA content in different genotypes at Karaj



ژنوتیپ های مورد بررسی Genotypes

شکل ۲- مقایسه مقدار ABA ژنوتیپ های مختلف در مشهد

Fig. 2. ABA content in different genotypes at Mashhad



ژنوتیپ های مورد بررسی Genotypes

شکل ۳- مقایسه هدایت روزنه ای سطح بالا و زیرین برگ

Fig. 3. Stomatal conductivity at up and down of leaf

جدول ۱- میانگین میزان آبسزیک اسید (ABA) و عملکرد قند قابل استحصال در ژنوتیپ های مورد آزمایش در کرج و مشهد

Table 1. Mean of ABA and white sugar yeild in tested genotypes at Karaj and Mashhad

مشهد Mashhad				کرج Karaj					
		اسید آبسزیک ABA (ppm)		عملکرد قند White suger yeild (t/ha)		اسید آبسزیک ABA (ppm)		عملکرد قند White suger yeild (t/ha)	
شماره	ژنوتیپ	داراي تنش	بدون تنش	داراي تنش	بدون تنش	داراي تنش	بدون تنش	داراي تنش	بدون تنش
No.	Genotype	Stress	Non stress	Stress	Non stress	Stress	Non stress	Stress	Non stress
1	226	8.353 g	7.790 ef	6.482abc	7.007 b	13.570 b	9.970 a	7.180 ab	10.060 bcd
2	7233-12P	11.510 f	9.443 e	6.676abc	8.050 ab	9.013 cd	7.587 b	7.229 ab	10.430 bc
3	مشهد - Bp	16.670 cd	17.490 b	7.691ab	8.510 ab	16.470 a	6.730 b	7.551 a	9.625 bcd
4	کرج - Bp	17.350 c	8.753 ef	8.288a	9.044 a	8.737 d	7.457 b	6.838 ab	10.060 bcd
5	428	13.480 e	7.303 f	4.228d	6.817 b	12.250 b	9.713 a	6.997 ab	7.385 e
6	436	20.900 a	18.720 b	6.212bc	8.057 ab	5.987 e	4.200 c	7.299 ab	10.710 b
7	7112	18.970 b	21.060 a	5.314cd	8.406 ab	10.490 c	7.910 b	6.900 ab	13.490 a
8	7233-33P	15.670 d	12.980 c	6.580abc	9.146 a	8.853 cd	6.457 b	5.372 b	8.174 de
9	5470	15.490 d	11.300d	6.296bc	8.023 ab	6.340 e	4.807 c	7.305 ab	8.540 cde
	S $\bar{X}$	0.5592	0.5592	0.614	0.614	0.5592	0.5592	0.614	0.614

در هر ستون میانگین هایی که دارای حروف غیر مشترک می باشند در سطح احتمال ۵٪ دارای اختلاف معنی دار هستند (آزمون دانکن).

(Means followed by different letters in each column, have significantly different at the 5% level of probability(Duncan's test).

(Zhang and Davies, 1989,1991; Davies and Zhang 1991; Tardieu et al.,1992 and Seo et al., 2000)

همبستگی بین عملکرد قند قابل استحصال و میزان ABA در مشهد نیز معنی دار نشد (جدول ۱). علت همبستگی پایین به خاطر وجود تنش در اوایل دوره رشد و اندازه گیری ABA نیز در این زمان است که بعد از رفع تنش به مدت چندین ماه گیاه بدون تنش باقی ماند که عملکرد نهایی خود را جبران می کند. در این مدت از خسارات ناشی از تنش اوایل دوره رشد کاسته شد و بنابراین همبستگی بین این دو صفت کم گردید. بین هدایت روزنه‌ای و میزان ABA برگ همبستگی منفی حدود $r = -0.75$ وجود داشت. این همبستگی هم در مورد هدایت روزنه‌ای روی برگ و هم زیر برگ برقرار بود، که نشان دهنده وضعیت گیاه تحت شرایط کم آبی می باشد. چون در این شرایط گیاه مجبور به حفظ آب می شود و در نتیجه هدایت روزنه‌ای آن کاهش می یابد (نمودار ۳). همان طور که قبلاً ذکر شد، ABA اعمال فیزیولوژیک گیاه را متعادل می کند. نتایج این تحقیق نشان داد که یکی از مهم ترین وظایف ABA القاء بسته شدن روزنه‌ها است زیرا در شرایط تنش خشکی میزان آن افزایش یافت و باعث بسته شدن روزنه ها و کاهش تعرق شد (Zhang and Davies, 1989, 1991; Davies and Zhang, 1991; Tardieu et al.,1992).

این پژوهش با همکاری موسسه تحقیقات اصلاح و تهیه بذر چغندر قند کرج، بخش تحقیقات چغندر قند خراسان و دانشکده داروسازی شهید بهشتی تهران انجام شد. بدین وسیله از زحمات آقایان دکتر صادقیان، دکتر نورمحمدی، دکتر فتح اله طالقانی، دکتر محمدیان، دکتر شیرانی راد، دکتر زمانی زاده، دکتر حبیبی، مهندس رودی، مهندس ملک مسعود احمدی، مهندس مسعود احمدی، مهندس کمالی نژاد، مهندس عسکری و هم چنین زحمات خانم مهندس

تیمار بدون تنش کمی افزایش در میزان ABA نسبت به تنش نشان داده است که بر خلاف انتظار بوده است (نمودار ۲) و می توان علت آن را در حساسیت این ژنوتیپ ها نسبت به تنش و توانایی ساخت سریع و زیاد ABA دانست که حتی تیمارهای بدون تنش توانسته اند با تنش های جزئی در بین دو آبیاری سطح ABA داخلی خود را افزایش دهند. به همین دلیل این ژنوتیپ ها بیشترین اختلاف را از نظر عملکرد ریشه و قند قابل استحصال در شرایط تنش و بدون تنش نشان دادند. در ژنوتیپ های ذرت نیز که مقاومت های متفاوتی به خشکی داشتند، مقدار ABA در برگ های گیاهان مقاوم افزایش بیشتری می یابد (Larque – Saavedra and Wein, 1976). همان طور که قبلاً ذکر شد عملکرد شکر سفید با عملکرد ریشه در هکتار در دو منطقه آزمایش، همبستگی مثبت داشتند که در سطح آماری ۱٪ معنی دار بود. از آن جایی که عملکرد شکر سفید یا قند قابل استحصال، از اهمیت بیشتری برخوردار است، در بررسی شاخص های مقاومت به خشکی، عملکرد شکر سفید مورد بررسی قرار گرفته است. روند افزایش یا کاهش ABA در ژنوتیپ های مختلف در دو منطقه متفاوت بود و نتایج به دست آمده اثرات منطقه را بر ژنوتیپ ها نشان می دهد (Larque – Saavedra and Wein, 1976).

همبستگی بین میزان ABA برگ با عملکرد قند قابل استحصال کرج $r = -0.317$ بود که از نظر آماری در سطح ۵٪ معنی دار نشد که رابطه منفی بین میزان ABA و عملکرد را نشان می دهد. این امر تا حدودی نشان می دهد که افزایش ABA درونی در گیاه در اثر تنش خشکی باعث کاهش عملکرد شده است. علت آن اثرات فیزیولوژیک ABA روی فرآیندهای فیزیولوژیک گیاه مانند تأثیر روی هدایت روزنه‌ای و تبادل کم تر گازها، رشد و نمو سلول ها و غیره می باشد که در نهایت باعث کاهش عملکرد گیاه می گردد

References

- Aspinall, D. and L. G. Paleg. 1981. Proline accumulation: physiological aspects. In: Paleg L. G. and D. Aspinall (eds.), Physiology and biochemistry of drought resistance in plants. Academic press. Sydney, p 205.
- Beardsell, M. F. and D. Cohen. 1975. Relationships between leaf water status, abscisic acid levels, and stomatal resistance in maize and sorghum. *Plant Physiol.* **56**:207-12.
- Davies, W. J. and J. Zhang. 1991. Root signals and the regulation of growth and development of plants in drying soil. *Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol.* **42**:55-76.
- Dodd, I. C. and W. J. Davies. 1996. The relationship between leaf growth and ABA accumulation in the grass leaf elongation zone. *Plant Cell Environ.* **19**:1047-1056.
- Fischer, R. A. and R. Maurer. 1978. Drought resistance in spring wheat cultivars. I. Grain yield response. *Aust. J. Agric. Res.* **29**:897-912.
- Harrison, M. A. and D. C. Walton. 1975. Absciscic acid metabolism in water stressed bean leaves. *Plant Physiol.* **56**:250-54.
- Keller, F. and M. M. Ludlow. 1993. Carbohydrate metabolism in drought-stressed leaves of pigeonpea (*Cajanus cajan* L.). *J. Exp. Bot.* **44**:1351-1359.
- Larque-Saavedra, A. and R. L. Wein. 1976. Studies on plant growth regulation substances. XLII. Absciscic acid as a genetic character related to drought tolerance. *Ann. Appl. Biol.* **83**:291-97.
- Morgan, J. M. 1980. Possible role of abscisic acid in reducing seed set in water-stressed wheat plants. *Nature*, **285**:655-57.
- Munns, R. and R. W. King. 1988. Absciscic acid is not the only stomatal inhibitor in the transpiration stream of wheat plants. *Plant Physiol.* **88**:703-708.
- Quarrie, S. A. 1980. Genotypic differences in leaf water potential, abscisic acid and proline concentrations in spring wheat during drought stress. *Ann. Bot.* **46**:383-94.
- Quarrie, S. A. and H. G. Jones. 1977. Effects of abscisic acid and water stress on development and morphology of wheat. *J. Exp. Bot.* **25**:192-203.
- Seo, M. ; A. J. M. Peeters ; H. Koiwai ; T. Oritani ; A. M. Poll ; J. A. D. Zeevaart ; M. Koornneef ; Y. Kamiya and T. Koshiba. 2000. The Arabidopsis aldehyde oxidase 3(AA03) gene product catalyzes the final step in abscisic acid biosynthesis in leaves. *WWW.PNAS. Org* **97(23)**:12908-12913.
- Stewart, C. R. and G. Voetberg. 1985. Relationship between stress- induced ABA and proline accumulations and ABA- induced proline accumulation in excised barley leaves. *Plant Physiol.* **79**:24-27.
- Tardieu, F. ; J. Zhang ; N. Katerji ; O. Bethenod ; S. Palmer and W. J. Davies. 1992. Xylem ABA controls the stomatal conductance of field grown maize subjected to soil compaction or soil drying. *Plant Cell Environ.* **15**:193-197.
- Wright, S. T. C. 1978. Phytohormones and stress phenomenon. In: Phytohormones and related components '

- A comprehensive treatise'. D. S. Letham et al.,(eds). Elsevier north Holland Biomedical Press(Amsterdam): Vol.2:495-536.
- Zeevaart, J. A. D. 1977. Sites of abscisic acid synthesis and metabolism in *Ricinus communis* L. *Plant Physiol.* **59**:788-791.
- Zhang, J. and W. J. Davies. 1989. Absciscic acid produced in dehydrating roots may enable the plant to measure the water status of the soil. *Plant Cell Environ.* **12**:73-81.
- Zhang, J. and W. J. Davies. 1990a. Changes in the concentration of ABA in the xylem sap as a function of changing soil water status can account for changes in leaf conductance and growth. *Plant Cell Environ.* **13**:277-285.
- Zhang, J. and W. J. Davies. 1990b. Does ABA in the xylem control the rate of leaf growth in soil-dried maize and sunflower plants? *J. Exp. Bot.* **41**:765-772.
- Zhang, J. and W. J. Davies. 1991. Antitranspirant activity in xylem sap of maize plants. *J. Exp. Bot.* **42**:317-321.

Drought stress effect on abscisic acid accumulation and stomatal conductivity of sugar beet

S.Vazan¹, Z. Ranji², M. H. Houshdar Tehrani³, A. Ghalavand⁴ and M. Sanei Shariat Panahi⁵

ABSTRACT

Drought stress is one of the limiting factors in crop production. In order to estimate drought stress effects on ABA accumulation and stomatal conductivity of sugar beet (*Beta vulgaris* L.) leaves, an experiment was conducted in Karaj and Mashhad, in 1999. Research was carried out in factorial experiment based on RCBD with 3 replications. In this experiment 9 genotypes of sugar beet were tested. Treatments were water stress (50 days non irrigation in early growth period) and non stress. Results showed that drought stress significantly affected the ABA accumulation in leaves, and genotype $\times$ stress interaction was also significant. White sugar yield genotypes decreased as ABA increased in drought stress treatment. The correlation coefficient between root yield and ABA accumulation was low and non-significant. It is concluded that genotypes had enough time after drought stress to compensate for their yields. Stomatal conductivity decreased when ABA increased. It was due to stomatal closure and decreasing the transpiration.

Keywords: Sugar yield, Drought stress, Absciscic acid, Stomatal conductivity, Transpiration.

1, Assist. Prof., I.A. Univ., Karaj, Iran, 2, Research Associ. Prof., Sugarbeet seed Improvement Institute, Karaj, Iran, 3, Assist. Prof., Tehran Univ., Tehran, Iran, 4, Associ. Prof., Tarbiat modarres Univ. Tehran, Iran and 5, Prof., Tehran Univ. Tehran, Iran.