بررسی پاسخ دو رقم انجیر به خشکی در شرایط درون شیشه‌ای

اختر شکافنده و شادی حجتی

به ترتیب دانشیار و دانش آموخته کارشناسی ارشد رشته باغبانی دانشکده کشاورزی دانشگاه شیراز

مقدمه

روش‌های سنتی به نژادی برای انتخاب گیاهان متحمل به خشکی، فرایندی وقت‌گیر و پیچیده است. با توجه به تناسبی که به احتمال بین واکنش سلول، اندام و کل گیاه نسبت به تنش‌ها وجود دارد از روش کشت درون شیشه‌ای برای دست‌یابی به گیاهان متحمل به خشکی استفاده می‌شود. از طریق روش‌های درون شیشه‌ای می‌توان تعداد گیاه بیشتری را در زمان کوتاهتر و فضای محدودتری بررسی کرد. با توجه به ثابت بودن محیط کشت مورد استفاده، شرایط محیطی کنترل شده و اعمال یکنواخت تنش در همه گیاهچه‌ها می‌توان اثر سایر عوامل محیطی به جز عامل مورد مطالعه را به طور کامل حذف نمود.

امروزه به منظور اعمال تنش خشکی در شرایط درون شیشه‌ای از پلی اتیلن گلیکول (PEG) استفاده می‌شود. این ماده یک ترکیب با وزن مولکولی بالا است و بدون نفوذ به گیاه، پتانسیل آب محیط کشت را به صورتی مشابه با شرایط خشکی خاک کاهش می‌دهد.

مواد و روش ها

در این پژوهش دو رقم انجیر 'سبز' و 'سیاه' در برابر تنش خشکی ایجاد شده به وسیله‌ی پلی اتیلن گلیکول (PEG) در شرایط درون شیشه ای، مقایسه شدند. مواد گیاهی اولیه قطعات گرهی به طول ۱ تا ۱/۵ سانتی‌متر بودند که از شاخه‌های تازه رشد کرده و سترون شده جدا شدند. با توجه به اینکه ریز نمونه‌ها دارای ترکیبات فنلی هستند که به محیط کشت تراوش شده و سبب کندی رشد و حتی از بین رفتن نمونه‌ها می شوند برای کنترل آنها از محلول ۲ درصد اسید اسکوربیک و اسید سیتریک استفاده شد و نمونه‌ها به مدت ۴۵ دقیقه در این محلول قرار داده شدند. سپس آنها را به زیر دستگاه جریان هوای سترون (لامینار) انتقال داده و به مدت ۴۰ ثانیه در الکل ۸۰٪ و در ادامه در محلول ۱۵٪ سفید کننده کلراکس (۵/۵ ٪ هیپوکلریت سدیم) به مدت ۱۵ دقیقه تیمار شده و ۳ بار با آب مقطر سترون آبشویی شدند. ریزنمونه‌ها قبل از کشت برای حذف رطوبت اضافی به مدت زمان محدودی روی کاغذ صافی سترون قرار داده شدند.

در این پژوهش از محیط کشت موراشیگی واسکوگ (MS) با اضافه کردن ۳۰ گرم در لیتر سوکروز استفاده شد. به منظور اعمال تنش، به محیط کشت بالا ۴ میزان متفاوت (۰، ۲، ۴و۶ درصد که به ترتیب معادل ۰، ۰/۱۴-، ۰/۳۶- و ۰/۶۶- بار پتانسیل آب می شود) پلی اتیلن گلایکول (PEG) وزن شده و به محیط کشت اضافه شد. سپس هر کدام از محیط‌های کشت جداگانه با آب مقطر دو بار تقطیر به حجم رسانده و pH هر یک به کمک NaOH و HCl ۰/۱ نرمال روی 5.7±0.1 تنظیم شد. سپس میزان ۷ گرم در لیتر آگار به آنها افزوده شد و روی اجاق همزن مغناطیسی قرار داده تا شفاف شوند. پس از آن مقدار ۱۰۰

سی سی از محیط‌های کشت ساخته شده در ظروف کشت (از شیشه‌های ۵۰۰ سی سی شفاف و قابل اتوکلاو شدن استفاده شد) ریخته شد ودر اتوکلاو در دمای ۱۲۱ درجه سانتی‌گراد و فشار ۱۵ پوند بر اینچ مربع به مدت ۱۵ دقیقه استریل شدند.

در ابتدا ریزنمونه‌های قطعه‌های گرهی بر روی محیط کشت MS کشت داده شد. پس از ۳۰ روز شاخساره‌های بدست آمده به محیط کشت حاوی مقدارهای مختلف PEG منتقل شدند. شاخه‌ها به مدت ۴۵ روز در این محیط در دمای $25\pm3^{\circ}C$ و ۱۶ ساعت روشنایی و ۸ ساعت تاریکی، زیر نور لامپ مهتابی با شدت ۱۶ لوکس قرار داده شدند.

جهت مقایسه و سنجیدن توان تحمل و تغییرات ایجاد شده در دو رقم انجیر، در پایان آزمایش تعدادی از شاخص‌های مرفولوژیکی و فیزیولوژیکی از قبیل طول شاخه، سطح برگ، سطح ویژه برگ، وزن تر و خشک شاخساره، محتوای نسبی آب برگ (RWC) ،مقدار اسید آمینه پرولین در برگ، مقدار قند و نشاسته، میزان یون‌های K^+ و Na^+، میزان کلروفیل و آسیب به غشای سلولی اندازه‌گیری شدند.

آزمایش فاکتوریل ۲ ×۴ در یک طرح به طور کاملاً تصادفی شامل ۴ سطح PEG، ۲ رقم مختلف انجیر با ۱۰ تکرار و در هر تکرار ۳ ریزنمونه انجام شد. داده‌های به دست آمده از تیمارهای مختلف با نرم افزار SPSS آنالیز شد و مقایسه میانگین‌ها توسط آزمون دانکن در سطح ۵ درصد انجام شد.

نتایج

تنش خشکی به صورت معنی‌داری وزن تر، وزن خشک و طول شاخساره ریزقلمه‌های انجیر را کاهش داد. هرچند رقم 'سیاه'، نسبت به رقم 'سبز' از سرعت رشد بیشتری در شرایط بدون تنش برخوردار بود، اما با افزایش شدت تنش خشکی، نرخ کاهش شاخص‌های رشد شاخه در رقم 'سیاه' بیش از رقم 'سبز' ارزیابی شد. افزون بر این، سطح برگ و سطح ویژه برگ رقم‌های انجیر نیز در تنش خشکی کاهش یافت. در مورد کاهش سطح برگ، ریزقلمه های انجیر 'سیاه' در برابر افزایش PEG به محیط کشت، حساسیت بیشتری نسبت به رقم 'سبز' نشان دادند.

تنش خشکی، درصد محتوای نسبی آب برگ ریزقلمه هر دو رقم را کاهش داد. در این راستا، کاهش محتوای نسبی آب برگ در رقم 'سبز' نرخ بیشتری داشت. بطوری که درصد محتوای نسبی آب در تیمار۶٪ نسبت به شاهد به طور معنی‌داری کاهش یافت. اما در رقم 'سیاه' کاهش مشاهده شده معنی‌دار نبود.

امروزه این پدیده که تنش خشکی با کاهش پتانسیل تورژسانس (آماس) سلول‌های گیاهی باعث کاهش رشد گیاهان می‌شود، به صورت گسترده‌ای مورد قبول است. همانگونه که از داده‌های محتوای نسبی آب بر می‌آید، کاهش رشد ریزقلمه های انجیر در شرایط تنش خشکی می‌تواند در اثر کاهش معنی‌دار محتوای نسبی آب آن‌ها رخ داده باشد. افزون بر این، در شرایط کم آبی جذب مواد و عناصر غذایی نیز کاهش یافته و بنابراین رشد و توسعه برگ‌ها محدود می‌شود. با کاهش سطح برگ، گیاه آب کمتری از طریق تعرق از دست می‌دهد. بنابراین محدود شدن سطح برگ را می‌توان به عنوان اولین مکانیسم دفاعی گیاه در برابر خشکی در نظر گرفت.

با افزایش شدت تنش خشکی پرولین و قندهای محلول به صورت معنی‌داری در برگ ریزقلمه‌های ارقام انجیر تجمع یافتند. افزایش قندهای محلول در پاسخ به تنش آبی می‌تواند به جابجایی کمتر آن‌ها از برگ، مصرف کمتر آن‌ها در اثر کاهش رشد و تغییرات دیگری چون هیدرولیز نشاسته نسبت داده شود.

پرولین مهمترین ملکول آلی است که در شرایط اغلب تنش‌های محیطی در بافت های گیاهان تجمع می‌یابد. در پژوهش حاضر نیز افزایش پرولین همگام با کاهش محتوای نسبی آب برگ و افزایش میزان نشت یونی (آسیب وارده به غشا) صورت گرفته است. نکته قابل توجه در داده های به دست آمده این است که از معدود تفاوت های معنی دار بین ارقام انجیر، تفاوت در محتوای پرولین برگ آن ها می‌باشد که در رقم 'سبز' بیش از رقم 'سیاه' بود. تحمل نسبی بیشتر رقم سبز به خشکی می تواند از ارتباط مستقیم بین تجمع پرولین و تحمل نسبی به تنش خشکی حکایت داشته باشد.

با افزایش تنش خشکی، به صورت معنی‌داری از میزان کلروفیل در برگ ارقام انجیر کاسته شد. کاهش در میزان کلروفیل می‌تواند در اثر کم شدن تولید آن و آسیب‌های ساختاری به مراکز فتوسیستم و تخریب کلروپلاست باشد، که در این راستا عوامل مختلفی می‌توانند نقش داشته باشند. در اثر خشکی تشکیل پلاستیدهای جدید، کلروفیل a و b و کاروتن کاهش یافته و نسبت کلروفیل a به کلروفیل b تغییر می‌یابد. در شرایط کمبود آب، غلظت اسید آمینه‌ی پرولین افزایش می‌یابد. از آنجایی که کلروفیل و پرولین هر دو از گلوتامات سنتز می‌شوند بنابراین می‌توان گفت افزایش سنتز پرولین در شرایط تنش خشکی منجر به کاهش سنتز کلروفیل می‌شود. در این پژوهش نیز افزایش پرولین همگام با کاهش میزان کلروفیل حاصل شده است. کاهش غلظت کلروفیل در گیاهان تحت تنش، علاوه بر برهم خوردن توازن عناصر تغذیه‌ای و معدنی می‌تواند به علت افزایش فعالیت آنزیم تخریب کلروفیل یعنی کلروفیلاز نیز باشد.

در شرایط تنش درون شیشه‌ای میزان نشت یونی (آسیب وارده به غشا) به صورت معنی‌داری افزایش یافت. افزایش نشت یون با افزایش شدت تنش خشکی و همگام با کاهش معنی‌دار محتوای نسبی آب رخ داد. نکته جالب توجه این است که میزان تغییرات در محتوای نسبی آب برگ انجیر 'سبز' بسیار گسترده‌تر از رقم 'سیاه' می‌باشد اما تفاوت در میزان نشت یونی در برگ این ارقام تفاوت زیادی را نشان نمی‌دهد. این مطلب از تحمل نسبی بیشتر رقم سبز به کم آبی حکایت دارد. در این خصوص به احتمال تجمع پرولین و قند بیشتر می‌تواند در پایدارسازی غشا نقش ایفا کرده باشد.

نتایج این پژوهش نشان دادند که می‌توان از روش‌های درون شیشه‌ای به گونه موفقیت آمیزی در انتخاب واریته‌ها و ارقام متحمل انجیر به تنش اسمزی استفاده نمود. بر اساس یافته‌های این پژوهش مشخص گردید که رقم 'سیاه' نسبت به رقم 'سبز' از قدرت رشد بیشتری برخوردار است ولی در شرایط تنش، نرخ محدود شدن رشد آن بیش از رقم 'سبز' می‌باشد. هرچند که تفاوت‌های چشمگیری در بیشتر شاخص‌های مورد بررسی بین ارقام به چشم نخورد، اما در مجموع کارآیی رقم 'سبز' در شرایط تنش خشکی بیشتر از رقم 'سیاه' ارزیابی شد. با توجه به داده‌های موجود این مسئله را می‌توان به تجمع بیشتر قندها و پرولین نسبت

داد. به این ترتیب با توجه به تحمل بیشتر نسبت به خشکی توصیه می‌شود که در کشت‌های دیم، از رقم ’سبز‘ استفاده شود.

کلمات کلیدی: تنش خشکی، انجیر، پارامترهای رشد، پلی اتیلن گلیکول (PEG) و پرولین

پژوهشکده ی مطالعات خشکی