

بهنزادی و ارزیابی منابع ژنتیکی مقاوم به خشکی در انجیر (*Ficus carica* L.) با استفاده از شاخص‌های فیزیولوژیکی و آنالیزهای مولکولی (پروتئومیکس)

مجید راحمی، مهدیه غلامی، احمد علی رستمی

علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه شیراز

مقدمه

استان فارس مهمترین منطقه انجیرخیز ایران است و شهرستان استهبان بزرگترین تولید کننده انجیر خشک این استان به شمار می‌رود. سطح زیر کشت انجیر در کشور بیش از ۳۵ هزار هکتار می‌باشد که سهم شهرستان استهبان بیش از ۲۰ هزار هکتار با تولید بیش از ۲۰ هزار تن انجیر خشک می‌باشد. خطر از بین رفتن سایر ارقام انجیر، بر اثر کشت پیوسته یک رقم تجاری جدی به نظر می‌رسد. از طرفی گرچه انجیر یک محصول متحمل به خشکی شناخته می‌شود اما بروز پدیده خشکسالی در سال‌های اخیر خسارات جبران ناپذیری به باغات انجیر دیم وارد نموده به نحوی که حیات این درختان را تهدید می‌کند. از آنجا که باغات انجیر دیم صرفاً از آب حاصل از نزولات جوی ادامه حیات می‌دهند، لذا کاهش میزان بارندگی و پراکنش نامناسب نزولات آسمانی ضربات مهلکی بر این باغات وارد نموده است. با توجه به نوسانات شدید اقلیم، گسترش خشکسالی‌های شدید در فلات ایران امری اجتناب ناپذیر می‌باشد. در چنین شرایطی ادامه کشت و کار انجیر بدون دستیابی به ارقام متحمل به خشکی غیر ممکن خواهد بود.

هدف

در پژوهش حاضر با در نظر گرفتن یافته‌های پژوهش‌های گذشته به منظور بررسی پاسخ فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی چهار رقم مختلف انجیر ('دیم دهدز'، 'سبز استهبان'، 'سیاه' و 'شاه انجیر') در شرایط تنش خشکی، میزان آنتی اکسیدانت‌های آنزیمی و غیر آنزیمی در این ارقام مورد مطالعه قرار گرفت. طی دوره تنش بر روی گیاهان انجیر چند ویژگی مورد ارزیابی قرار گرفت تا بتوان چند مارکر تنش خشکی در انجیر را برای غربال سریع در برنامه‌های بهنزادی تحمل به خشکی معرفی نمود. هدف دیگر از انجام این کار شناخت تفاوت ارقام انجیر و ارقامی که بالقوه متحمل به خشکی هستند می‌باشد که می‌توانند در مناطق کم باران و مستعد خشکسالی دوام بیاورند. به علاوه دانش تغییرات پروتئین‌ها در شرایط تنش به ما کمک می‌کند تا مکانیزم

مولکولی تحمل به تنش را در سطح ترجمه به جای سطح رونویسی درک کنیم. همچنین با انجام تلاقی‌های کنترل شده در ارقام و ژنوتیپ‌های انجیر، پایه‌های متحمل به خشکی برای انجیر معرفی شد.

مواد و روش‌ها

این پروژه در سال‌های ۱۳۸۸ تا ۱۳۹۲ در دانشکده کشاورزی، بخش علوم باغبانی به صورت دو آزمایش متمایز به اجرا درآمد. در **آزمایش اول**، گیاهان حاصل از قلمه‌های ریشه‌دار شده در چهار رقم (دیم دهدز، سبز استهبان، سیاه و شاه انجیر) پس از ۴ ماه در گلدان کاشته شدند. همه گلدان‌ها در یک روز از خاک پر شدند تا میزان رطوبت در همه آنها یکسان باشد. برای زهکشی گلدان‌ها یک لایه سنگریزه در کف آنها ریخته شد. به کمک ترازو وزن همه گلدان‌ها به یک اندازه تنظیم شد. آبیاری کلیه گلدانها تا قبل از شروع آزمایش به طور منظم انجام شد به طوری که هیچ کدام از گیاهان دچار تنش آبی نشوند. سپس گلدان‌ها به گلخانه منتقل شدند. پس از اندازه‌گیری ظرفیت زراعی خاک (FC) گلدان‌ها، کلیه گیاهان تا ۴ ماه، روزانه تا حد FC آبیاری شدند تا اینکه کاملاً استقرار یافتند. پس از آن آزمایش در اواخر تابستان ۱۳۸۹ با انتخاب ۴۰ گلدان برای هر رقم شروع شد. ۴۰ گلدان در هر رقم به دو گروه ۲۰ تایی تقسیم شد. گروه اول گلدان‌هایی بودند که در معرض تنش خشکی قرار گرفتند. گروه دوم کماکان هر روز تا FC آبیاری شدند. پس از ۱۴ روز دوره بدون آبیاری، گلدان‌های گروه اول مجدداً برای ۷ روز آبیاری و رطوبت آنها در حد ظرفیت مزرعه حفظ شد.

به منظور تعیین رقم مقاوم به خشکی، شاخص‌های فیزیولوژیکی (پتانسیل کل آب، محتوای نسبی آب برگ و نسبت وزن تورگر به وزن خشک و...) و بیوشیمیایی (میزان کلروفیل، کارتنوئید، آنتوسیانین، آنزیم‌های کاتالاز، آسکوربات پراکسیداز و گایکول پراکسیداز و...) اندازه‌گیری شد و همچنین با استفاده از پروتومیکس تغییرات پروتئین برگ گیاه در این شرایط هم مورد ارزیابی قرار گرفت. برای تجزیه و تحلیل داده‌ها از نرم افزارهای SAS, SPSS و Excel استفاده شد و از ANOVA برای مقایسه تفاوت میانگین‌ها استفاده گردید. میانگین‌ها با استفاده از آزمون دانکن در سطح ۵ درصد با یکدیگر مقایسه شدند. ضریب همبستگی پیرسون (r) بین پارامترهای انتخابی با استفاده از ترکیب داده‌های همه ۴ رقم ($n=32$) به دست آمد.

نتایج

نتایج شاخص‌های فیزیولوژیک نشان داد ارقام **دیم دهدز** و **سبز استهبان** تحمل بیشتری به تنش کم آبی نسبت به **سیاه** و **شاه‌انجیر** دارند. در ادامه‌ی آزمایشات، میزان رنگدانه‌ها، آنتی اکسیدان‌های آنزیمی و غیرآنزیمی نیز اندازه‌گیری شد. نتایج نشان داد در شرایط تنش خشکی، رقم دیم دهدز میزان رنگدانه بیشتر و فعالیت آنزیمی بیشتری نسبت به سایر ارقام داشت. همچنین مشخص شد آنزیم کاتالاز فعالیت آنتی اکسیدانی مؤثری در ارقام مورد بررسی نداشت. تنش کم آبی به طور معنی‌داری میزان α -توکوفرول را در هر

چهار رقم انجیر افزایش داد ولی باعث کاهش معنی دار غلظت اسید اسکوربیک در آنها شد. بیشترین میزان بیان پروتئین در رقم دیم دهدز در شرایط تنش در آزمایشات الکتروفورز دو بعدی، مقاومت بهتر این رقم به شرایط کم آبی را تأیید کرد.

در آزمایش دوم به منظور ارزیابی اثر تنش خشکی بر والد نر همانند آزمایش اول اعمال تنش خشکی به گیاهان والدین نر (برانجیر دانه سفید، پوزدنبالی، شاه انجیری، و خرمایی) انجام شد و برخی از شاخص‌های فیزیولوژیک (محتوای نسبی آب برگ، پتانسیل آب برگ، غلظت رنگیزه ها، میزان پرولین و آنزیم های آنتی اکسیدانی برگ) و مورفولوژیک (طول، قطر شاخساره و سطح برگ) اندازه گیری شد. در مرحله بعد ارزیابی تنش خشکی بر نتاج حاصل از تلاقی والدین مادری (ارقام انجیر سبز، شاه انجیر، و انجیر سیاه) علت حذف رقم چهارم بومی نبودن این رقم در شهرستان استهبان و نداشتن ارزش تجاری آن می‌باشد. با والد پدری صورت گرفت و مشابه آزمایش قبل تنش خشکی اعمال و فاکتورهای فیزیولوژیک و مورفولوژیک بررسی شدند. در انتها روابط ژنتیکی والدین و نتاج آن‌ها با نشانگر SSR ارزیابی شد و نمودار خوشه‌ای این ژنوتیپها رسم گردید.

نتایج نشان داد که تنش خشکی با کاهش محتوای آب نسبی و پتانسیل آب برگ باعث بروز آسیب‌های ساختاری به غشا و رنگیزه‌ها و کاهش فتوسنتز شد. انجام تنظیم اسمزی با تجمع پرولین، کربوهیدرات‌های محلول و پروتئین-ها با تحمل خشکی ژنوتیپ‌های برانجیر و نتاج آن‌ها ارتباط مستقیمی نشان داد. ظرفیت آنتی اکسیدانی بافت برگ به واسطه عملکرد آنتوسیانین‌ها، اسکوربیک اسید، پوترسین، اسپرمین، و پراکسیدازها نقش بسزایی در کاهش آسیب به غشاء و اندامک‌ها داشت. از ۴ آغازگر SSR در ۵۲ گیاه استفاده شد. دندروگرام خوشه‌ای به روش UPGMA با ضریب تشابه ۸۲/۵ درصد به ۴ گروه تقسیم شد. خوشه اول دربرگیرنده ژنوتیپ‌های نمونه برداری شده از منطقه استهبان و نیریز بود. خوشه دوم عمدتاً دربرگیرنده ژنوتیپ‌های جهرم، کازرون، داراب و نورآباد بود. درخوشه سوم دو ژنوتیپ فعل سربسته کازرون و شاه انجیر نیریز در یک خوشه قرار گرفتند و خوشه چهارم تنها شامل شاه انجیر مروارید داراب بود.

نتایج این پژوهش نشان داد که بالا بودن ظرفیت آنتی اکسیدانی بافت برگ به واسطه عملکرد آنتوسیانین‌ها، اسکوربیک اسید، پوترسین و اسپرمین، و پراکسیدازها نقش بسزایی در کاهش آسیب به اندامک‌ها و فتوسنتز دارند و برای بقای گیاه در شرایط تنش خشکی حائز اهمیت فراوان هستند. در مجموع بر اساس یافته‌های این پژوهش ژنوتیپ‌های **برانجیر شاه انجیری و خرمایی** به عنوان متحمل ترین گیاهان نسبت به تنش خشکی شناسایی و معرفی شدند. در مجموع بر اساس یافته‌های این پژوهش ژنوتیپ‌های **برانجیر شاه انجیری و خرمایی** به عنوان متحمل ترین ژنوتیپ‌ها نسبت به تنش خشکی معرفی شدند. **دورگه-های ۱** (پوزدنبالی ♂ × سیاه ♀)، **۷** (خرمایی ♂ × شاه انجیر ♀)، **۸** (خرمایی ♂ × سبز ♀) و **۹** (شاه انجیری ♂ × سیاه ♀) نیز به عنوان گیاهان متحمل به خشکی معرفی شدند. با توجه به یافته‌های این پژوهش ارقام دیم دهدز و سبز استهبان به عنوان **پیوندک** توصیه می‌شوند، ولی چون رقم دیم دهدز به صورت تجاری کشت نمی‌شود، انجیر سبز استهبان که کاملاً شناخته شده می‌باشد و به صورت تجاری کشت می‌شود به عنوان پیوندک

توصیه می‌شود و دو رگه های ۱،۷،۸ و ۹ به عنوان پایه های مقاوم به خشکی توصیه می‌شوند. همچنین طبق برآوردهای صورت گرفته در سال های آینده با خشکسالی مواجه خواهیم بود لذا توصیه می‌شود از پایه های بذری مقاوم به خشکی (دورگه های ۱،۷،۸ و ۹) جهت پایه و از انجیر سبز استهبان به عنوان پیوندک استفاده شود تا ضمن افزایش عمق ریشه در خاک و استفاده بهتر از آبهای طبقات پایین تر خاک، پیوندک (انجیر سبز) در فصل رشد با مشکلاتی از قبیل ریزش برگ و عدم رسیدن میوه مواجه نشود.

کلمات کلیدی: انجیر، پروتئومیکس، خشکی، فیزیولوژی