دو فصلنامه علمی- پژوهشی خشک بوم
جلد ۲، شماره ۱، بهار و تابستان ۱۳۹۱

اثر تنش خشکی بر برخی از شاخص های فیزیولوژیکی دو رقم سیب‌زمینی (Kenebec و Concord) در شرایط کشت درون شیشه

۱- سمانه نجف‌زاده اصل، کارشناسی ارشد فیزیولوژی گیاهی، دانشگاه اصفهان
۲- علی اکبر احسانپور، استاد گروه زیست شناسی، دانشگاه اصفهان
ehsanpou@sci.ui.ac.ir

دریافت: ۱۳۹۰/۱۱/۱۸
پذیرش: ۱۳۹۱/۰۶/۱۴

چکیده

در این تحقیق تحمل به خشکی گیاه سیب‌زمینی در دو رقم Kenebec و Concord در شرایط کشت درون شیشه بررسی شد. ابتدا قطعه‌هایی از ساقه دارای یک جوانه جانبی از هر دو رقم سیب زمینی در محیط کشت MS حاوی ۵۰ میکرومولار تیوسولفات نقره تکثیر شدند. سپس به محیط کشت مایع MS منتقل و پس از ریشه‌دهی، در معرض تنش خشکی با غلظت های صفر، ۲ و ۴ درصد محلول پلی اتیلن گلیکول، به مدت ۱۴ روز قرار گرفتند. پس از پایان مدت تنش، شاخص‌های فیزیولوژیکی شامل وزن تر، وزن خشک و محتوای رنگیزه های فتوسنتزی (کلروفیل a, b, کل و کاروتنوئید) جهت تعیین گیاهان متحمل و حساس به تنش اندازه‌گیری شد. نتایج نشان داد که رقم Kenebec نسبت به رقم Concord کاهش کمتری در شاخص‌های مذکور تحت شرایط تنش نشان داده و مقاوم‌تر است. جهت مطالعه ساز وکارهای تحمل به خشکی در هر دو رقم، میزان پرولین و قندهای محلول در اندام هوایی مورد بررسی قرار گرفت. نتایج نشان داد که با افزایش غلظت پلی اتیلن گلیکول، مقدار پرولین و همچنین مقدار قندهای محلول در اندام هوایی به‌طور معنی‌داری در رقم Kenebec افزایش می‌یابد. افزایش در مقدار پرولین در رقم Concord فقط تا غلظت ۲٪ مشاهده شد. مقدار کربوهیدرات محلول رقم Concord با افزایش غلظت پلی اتیلن گلیکول، تغییر معنی‌داری از نظر آماری نسبت به نمونه شاهد نشان نداد.

واژگان کلیدی: تنش خشکی؛ پرولین؛ سیب‌زمینی؛ قند محلول.

مقدمه

رشد و تولید محصولات گیاهی همواره تحت تأثیر شرایط مختلف محیطی مانند خشکی، شوری، نبود تعادل مواد غذایی و دمای نامناسب، است. خشکی به‌عنوان یکی از مهم‌ترین عوامل محدودکننده رشد گیاهان و تولید محصولات گیاهی در بیشتر زمین‌های کشاورزی دنیا است (Tas & Tas, 2007; Jaleel et al., 2008). بیش از ۴۵٪ زمین‌های کشاورزی دنیا در معرض خشکی و شوری همیشگی بوده، که در آن‌جا ۳۸٪ جمعیت کره زمین زندگی می‌کنند. سالانه دو میلیون هکتار (حدود ۱٪) زمین‌های کشاورزی دنیا کیفیت خود را از دست می‌دهند که موجب کاهش یا عدم تولید محصولات گیاهی می‌گردد (Ashraf & Foolad, 2007). تنش خشکی از طریق تأثیر بر روی فرآیندهای مختلف فیزیولوژیکی و رشد گیاه، مانند فتوسنتز، تنفس سلولی، جذب یون، کربوهیدرات‌ها و متابولیسم رشد را کاهش می‌دهد (Jaleel et al., 2008; Farooq et al., 2008). واکنش‌های گیاهان نسبت به تنش خشکی در سطوح مختلف از سلول تا تمام گیاه و بسته به شدت و مدت تنش و نیز بر حسب گونه‌ی گیاه و حتی در ژنوتیپ‌های متعلق به یک گونه متفاوت است (Chaves et al., 2002; Jaleel et al., 2008).

تنش خشکی می‌تواند موجب تخریب غشاء پلاسمایی و تونوپلاست گردد. تخریب غشاءهای پلاسمایی و تونوپلاست، باعث آزاد شدن آنزیم‌های هضم گشته و در آخر، این آنزیم‌ها موجب تخریب سیتوپلاسم می‌شوند (Liu et al., 1998). پدیده انباشته شدن یون‌ها نیز که از کمبود آب ناشی می‌شود، می‌تواند به سلول آسیب رساند و غشاها را پاره نموده و باعث تغییر ماهیت پروتئین‌ها گردد. دیگر آسیب‌های متابولیکی ناشی از تنش خشکی، از هم پاشیدگی اسیدهای نوکلئیک مانند DNA و RNA می‌باشد.

در اثر تنش خشکی، محتویات رنگدانه‌های فتوسنتزی و کاروتنوئیدها در برگ‌ها از بین می‌رود. کلروفیل‌ها سریع‌تر از کاروتنوئیدها شکسته شده وتجزیه می‌شوند. نسبت جذب CO_2 در برگ‌ها، به علت بسته شدن روزنه‌ها کم و فعالیت تیلاکوئیدها نیز کاهش می‌یابد. خشکی همچنین باعث شکسته شدن کلروپلاست‌ها و کاهش میزان کلروفیل گشته و مقدار فعالیت آنزیم‌ها را در چرخه کالوین در طی فرآیند فتوسنتز کاهش می‌دهد (Monakhova & Chernyadev, 2002). تنش خشکی در هر دو سطح بیوشیمیایی و فتوشیمیایی بر مکانیسم‌های فتوسنتزی تأثیر می‌گذارد. در گیاهانی که در معرض خشکی قرار می‌گیرند، کنترل روزنه‌ای (بسته بودن روزنه‌ها)، بیشترین نقش را در کاهش در فتوسنتز دارد (Yordanov et al., 2000).

از دیگر علت‌های کاهش فتوسنتز، انتقال مواد فتوسنتزی است که تحت تأثیر تنش خشکی قرار گرفته و موجب اشباع شدن برگ‌ها از این مواد و محدود شدن فتوسنتز می‌گردد (Taiz & Zeiger, 2006). به‌طور کلی، در شرایط تنش خشکی رشد گیاه به علت محدود شدن تعدادی از فرآیندهای فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی شامل فتوسنتز، تنفس، انتقال و جذب یون‌ها و متابولیسم کربوهیدرات‌ها، مواد غذایی و هورمون‌ها کاهش می‌یابد (Cornic & Briantais, 1999).

یکی از پاسخ‌های عمومی و رایج گیاهان به تغییرات پتانسیل اسمزی که در اثر تنش‌های خشکی، شوری، گرما و سرما ایجاد می‌شود، تجمع ترکیبات متابولیتی با وزن مولکولی و قابلیت حلالیت بالا، که به ترکیبات سازگار معروف‌اند، است (Serraj & Sinclair, 2002). این ترکیبات از طریق مسیرهای مختلفی مانند کمک به تنظیم فشار اسمزی در سطح سلول، حذف گونه‌های فعال اکسیژن، محافظت از استحکام غشای سلولی، ممانعت از آب‌زدایی (دهیدراسیون) و تثبیت آنزیم/پروتئین از سلول‌های گیاهی محافظت می‌کنند (Bohnert & Jensen, 1996).

پرولین یک آمینواسید غیرپروتئینی و اسمولیت سازگار بوده و در pH خنثی فاقد بار الکتریکی و در آب از قابلیت حل شدن بالائی برخوردار است. افزون بر این، پرولین در غلظت‌های بالا، اختلالی در فعل و انفعالات مربوط به حلال‌های مولکول‌های درشت ایجاد نمی‌کند و همراه با قندها بی‌درنگ پس از خروج گیاه از خشکی تجزیه می‌شود (Serraj & Sinclair, 2002). تجمع مواد محلول سازگار، باعث افزایش اسمولاریته سلول و کاهش خروج جریان آبی می‌شود. این پدیده باعث ایجاد تورژسانس شده که آن در توسعه سلولی ضروری است. به منظور حفظ یکپارچگی غشائی تحت شرایط تنش کم‌آبی، لازم است تا از تغییر ساختمان پروتئین‌ها جلوگیری به عمل آید. اثر متقابل پرولین با آنزیم‌ها سبب حفظ ساختار پروتئین‌ها و فعالیت‌های مربوط به آن‌ها می‌شود. پرولین به‌عنوان یک مخزن ذخیره کربنی و نیتروژن و نیز جاروب‌گر رادیکال آزاد عمل می‌کند (Bohnert & Jensen, 1996). پرولین همچنین توانائی تشکیل کلوئیدهای آب‌دوست در محیط‌های مایع، با یک ساختار آب‌گریز که با پروتئین واکنش انجام می‌دهد را دارا است. از سوی دیگر، پرولین می‌تواند در آب‌پوشی لایه احاطه کننده فسفولیپیدها نقش داشته و با گروه‌های سرفسفولیپیدها بر همکنش انجام دهد (Vendrruscolo et al., 2007).

قندها به دو شیوه از سلول محافظت می‌کنند. در شیوه نخست، گروه‌های هیدروکسیل قندها ممکن است به منظور حفظ و ادامه واکنش‌های آب‌دوست در غشاها و نیز پروتئین‌های موجود در گیاه در طی دهیدراتاسیون جایگزین آب شوند. از این رو قندها، از طریق پیوندهای هیدروژنی با پروتئین‌ها و غشاها واکنش نشان داده و از این طریق از تغییر پروتئین‌ها جلوگیری می‌کنند. در شیوه دوم، قندها نقش اساسی در کریستاله کردن ایفا می‌کنند.

منظور از کریستاله کردن، تشکیل بلورهای بیولوژیکی در سیتوپلاسم سلول‌های دهیدراته شده است (Leopold et al., 1994). کربوهیدرات‌ها در فرآیندهای فیزیولوژیکی مانند فتوسنتز، تعرق و تنفس، نقش مستقیم داشته و از این‌رو تغییردر مقدار آن‌ها از اهمیت بالایی برخوردار است. میزان انباشت پرولین تا حدودی به سطوح کربوهیدرات‌ها بستگی دارد . به نظر Larher و همکاران، ساکاروز یکی از عوامل موثر در انباشت پرولین است (Larher et al., 1996).

در گیاهان، قندها در طی فرآیند فتوسنتز تولید می‌شوند. نقش قندها به عنوان سوبسترا در متابولیسم کربن و انرژی شناخته شده است. حفاظت از گیاه در مقابل از دست دادن آب به افزایش قندها در جوانه‌ها و ریشه‌ها بستگی دارد. مطالعات نشان داده است که تنش خشکی تبدیل هگزوزها و سایر کربوهیدرات‌ها مانند ساکاروز و نشاسته را به الکل‌های قندی (پلی‌اول‌ها) و پرولین را در پی دارد (Wang et al., 1996).

گیاه سیب‌زمینی با نام علمی (*Solanum tuberosum* . *L*) یکی از ۹۰۰ گونه جنس *Solanum*، از خانواده Solanaceae است. این گیاه از مهم‌ترین محصولات غذایی جهان بوده (Orczyk et al., 2003) که تولید آن به ۲۷۵ میلیون تن در سال می‌رسد. بر اساس گزارش مرکز اطلاعات سیب‌زمینی (Center Information of Potato) در سال ۲۰۰۷، سیب‌زمینی به‌عنوان چهارمین گیاه مهم زراعی پس از گندم، ذرت و برنج به حساب می‌آید. در ایران نیز این گیاه پس از گندم مقام دوم را از نظر تولید مواد غذایی به خود اختصاص داده است.

سیب‌زمینی از نظر ارزش غذایی و تولید پروتئین و انرژی در واحد سطح دارای اهمیت زیادی است. غده سیب‌زمینی دارای حدود ۸۰٪ آب، ۱۸٪ نشاسته، ۲٪ پروتئین و چربی و ویتامین‌های A، B، C و مواد معدنی مانند کلسیم، فسفر و آهن است (CIP, 2007). مطالعات پیشین نشان داده است که دو رقم Kenebec و Concord به ترتیب رقم‌های نسبتاً مقاوم و حساس به شوری هستند (Agaei et al., 2007).

با توجه به اهمیت گیاه سیب‌زمینی و همچنین موقعیت جغرافیایی بیشتر مناطق ایران به عنوان مناطق خشک و نیمه خشک، مطالعه اثر تنش خشکی بر روی گیاه سیب‌زمینی بسیار با ارزش است. برای اصلاح گیاه سیب‌زمینی شناخت مکانیسم مقابله با تنش خشکی و نیز تشخیص اثر تنش خشکی بر روی فرآیندهای فیزیولوژیکی و متابولیسمی گیاه نخستین گام به شمار می‌آید. بنابراین، تحقیق حاضر با هدف ارزیابی پاسخ‌های گیاه سیب‌زمینی نسبت به تنش خشکی و شناخت مکانیسم‌های عملکردی مؤثر در پاسخ‌های گیاه سیب‌زمینی نسبت به تنش خشکی و اثر تنش خشکی بر روی شاخص‌های رشد و نمو و فیزیولوژیکی گیاه سیب‌زمینی صورت می‌گیرد.

مواد و روش

تهیه محیط کشت پایه MS

جهت تهیه محیط کشت MS (Murashige & Skoog, 1962)، با توجه به غلظت هر یک از عناصر از محلول‌های پایه به مقدار مورد نیاز از این محلول‌ها برداشته شد. سپس این محلول در مقدار کمی آب مقطر ریخته شد و با افزودن ۳۰ گرم ساکاروز به آن حجم محلول با آب مقطر به ۱۰۰۰ میلی‌لیتر رسانده شد. مقدار pH محلول به وسیله HCl و NaOH یک نرمال در حدود ۵/۷-۵/۹ تنظیم و در نهایت مقدار ۱۲ گرم آگار (نوع میکروبیولوژی شرکت مرک) به آن افزوده شد. در ادامه، محلول جهت ذوب آگار در درون مایکروفر قرار داده شد در پایان ۴۰ میلی‌لیتر از محیط کشت مذاب به دست آمده درون شیشه‌های مخصوص کشت بافت گیاه ریخته شد و در دمای ۱۲۱°C و فشار ۱/۲ اتمسفر به مدت ۱۵ دقیقه اتو کلاو گردید. محیط‌های کشت، پس از سرد شدن کامل، جهت تکثیر گیاهان مورد استفاده قرار گرفت.

تکثیر گیاهان سیب‌زمینی

به منظور تکثیر، از قطعات ساقه دارای یک جوانه جانبی سیب‌زمینی رشد یافته بر روی محیط MS در بر گیرندهٔ ۵۰ میکرومولار تیوسولفات نقره (STS) استفاده گردید. در هر مرحله، گیاهچه‌ها به مدت ۴ هفته روی محیط MS با STS جدید رشد یافتند. در مرحله بعد، گیاهچه‌ها در لوله‌های آزمایش حاوی محیط MS مایع کشت گردید. لوله‌های در بر گیرندهٔ قطعات جدا کشت مزبور در اتاق کشت و دوره نوری ۱۶ ساعت نور، ۸ ساعت تاریکی و

دمای ۲۵ °C قرار گرفت. محیط کشت MS با غلظت‌های ۰، ۲ و۴ درصد PEG با وزن مولکولی ۶۰۰۰ به‌عنوان تیمار استفاده گردید.پس از ریشه‌دهی، گیاهچه‌های سیب‌زمینی به لوله‌های آزمایش حاوی محیط‌های کشت مذکور منتقل و پس از گذشت دو هفته از زمان کشت، آن‌ها مورد بررسی و آزمون تجزیه و تحلیل‌های رشد قرار گرفتند.

اسمولاریته غلظت‌های مختلف PEG توسط دستگاه اسمومتر(ME11-N photoelectric colorimeter) اندازه‌گیری شد (جدول ۱). تغییر غلظت (اسمولاریتی) محیط کشت می‌تواند به دلیل هیدرولیز ساکاروز محیط کشت باشد.

جدول۱. اسمولاریته محیط کشت‌های در بر گیرندهٔ غلظت‌های مختلف PEG پیش و پس از اتوکلاو

PEG (٪)	اسمولاریته پیش از اتوکلاو (mmol/Kg)	اسمولاریته پس از اتوکلاو (mmol/Kg)
۰	۱۷۱	۲۱۷
۲	۱۹۰	۲۲۶
۴	۱۹۷	۲۴۴

اندازه‌گیری وزن‌تر و وزن خشک

پس از دو هفته از زمان کشت، هر دو رقم سیب‌زمینی کشت شده در غلظت‌های مختلف PEG، از محیط‌های کشت مایع خارج شد. پس از آبگیری ریشه آن‌ها به وسیلهٔ کاغذ صافی، وزن‌تر گیاهان اندازه‌گیری شد. سپس جهت خشک کردن، گیاهان در آون با دمای ۷۰ °C به‌مدت ۲۴ ساعت قرار داده شد و مجموع وزن خشک بخش هوایی و ریشه به‌عنوان وزن خشک کل در هر تکرار یادداشت گردید.

استخراج و سنجش کلروفیل

مقدار ۰/۱گرم از بافت برگ گیاه و به تعداد ۳ تکرار برداشت و سپس با استفاده از ۵ میلی لیتر استون ۸۰٪ در تاریک بر روی یخ یکنواخت گردید. میزان کلروفیل a و b وکلروفیل کل (a+b) وکاروتنوئیدها با روش Arnon (Arnon, 1949) در عصاره حاصل به کمک اسپکتروفتومتر در طول موج‌های ۶۶۳، ۶۴۵ و ۴۷۰nm اندازه‌گیری شد.

اندازه‌گیری کربوهیدرات‌های محلول

برای اندازه‌گیری کربوهیدرات مقدار ۰/۰۵ گرم از نمونه‌های تازه گیاهی برداشت و سپس در ۲/۵ میلی‌لیتر اتانول (۸۰٪) در هاون چینی به مدت ۵ دقیقه سائیده شد. کربوهیدرات موجود در عصاره به‌دست آمده با استفاده از معرف آنترون با دستگاه اسپکتروفتومتری (مدل Pharmacia LKB – Novaspec) در طول موج ۶۲۵ nm بر اساس روش Fsles (Fsles, 1951) اندازه‌گیری شد.

اندازه‌گیری پرولین

نخست، ۲۰ میلیگرم از بافت‌های برگ و ساقه گیاه سیب‌زمینی با ۱/۷ میلی‌لیتر سولفوسالیسیلیک اسید ۳٪ (حجم/وزن) به‌خوبی ساییده شد. عصارهٔ به دست آمده درون لوله‌های آزمایش ۱/۵ میلی‌لیتری منتقل و سپس به‌مدت ۲۰ دقیقه در سرعت ۱۴۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفیوژ شدند. در عصاره تخلیص شده مقدار پرولین بر اساس روش Bates (Bates et al., 1973) در طول موج ۵۲۰nm اندازه‌گیری شد.

تجزیه و تحلیل آماری داده‌ها

همهٔ آزمایش‌ها در قالب طرح کاملاً تصادفی و با سه تکرار انجام شد. تجزیه واریانس داده‌ها با استفاده از نرم افزار Sigma Stat 2.0 انجام شد. مقایسه میانگین‌ها بر اساس آزمون توکی و معنی‌دار بودن تیمارها در سطح ($p\leq0.05$) صورت گرفت.

نتایج

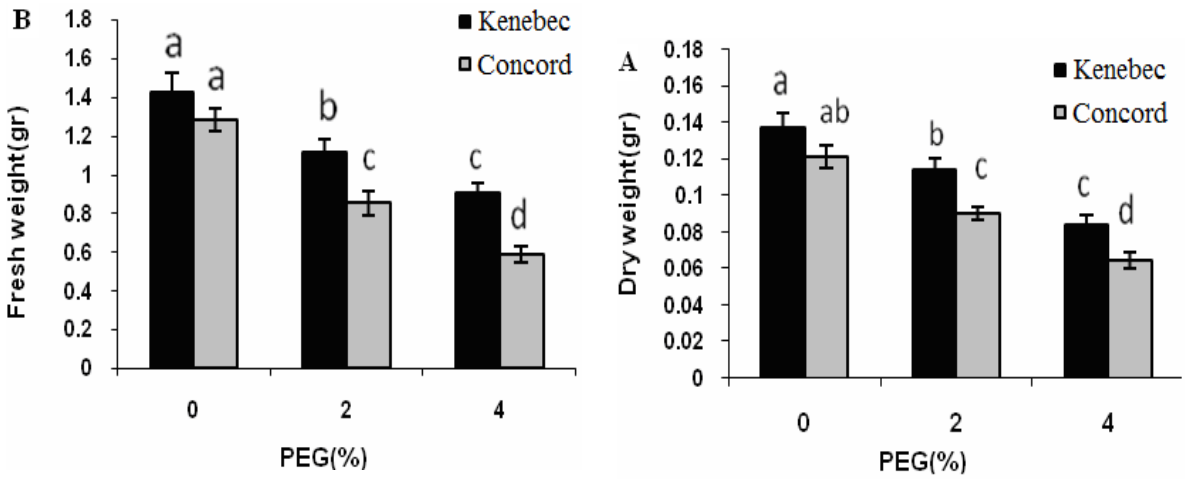
وزن تر و وزن خشک

با افزایش غلظت PEG در محیط کشت، مقدار وزن تر و خشک کل در هر دو رقم سیب زمینی به‌طور معنی‌داری نسبت به گیاهان شاهد کاهش یافت (شکل ۱).

کلروفیل کل

با افزایش غلظت PEG در محیط کشت، مقدار کلروفیل کل در اندام‌های هوایی هر دو رقم سیب‌زمینی، به‌طور معنی‌داری نسبت به گیاهان شاهد کاهش یافت (شکل ۲). مقدار کاهش کلروفیل کل در رقم حساس سیب‌زمینی (یعنی Concord) در غلظت‌های ۲ و۴٪ PEG به‌ترتیب کاهش۳۷/۷٪ و ۵۵/۷٪ و در رقم

مقاوم(یعنیKenebec) در غلظت‌های مشابه به‌ترتیب، ۲۰/۳۰٪ و ۴۳/۷۶٪ است.

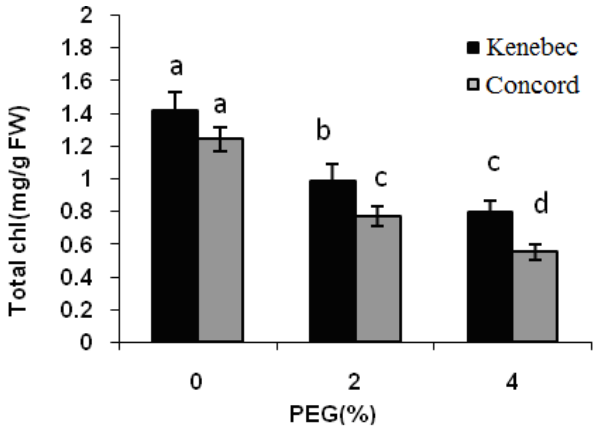


شکل ۱. اثر تنش خشکی بر مقدار وزن خشک (نمودار A) و وزن تر (نمودارB) سیب‌زمینی در دو رقم Kenebec و Concord (داده‌ها، میانگین ۳ تکرار و SD± است. حروف نامشابه در نمودارها نشان دهنده اختلاف معنی‌دار (P≤0.05) بر اساس آزمون توکی است).

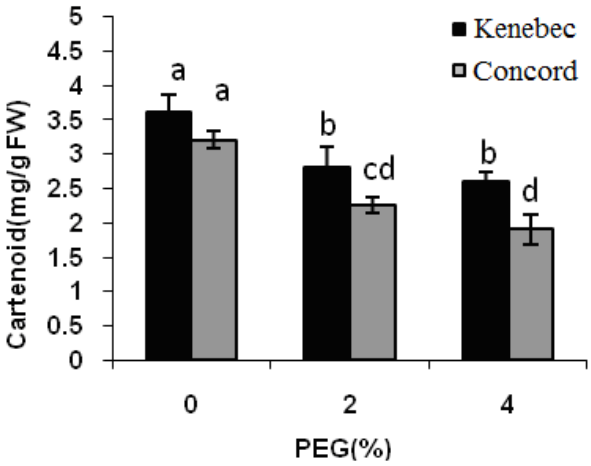
لازم به یادآوری است که در غلظت‌های مذکور PEG، مقدار کلروفیل کل در اندام‌های هوایی رقم (Kenebec) کاهش کمتری نسبت به رقم حساس (Concord) نشان داد که از نظر آماری نیز معنی‌دار است (P<0.01).

کاروتنوئیدها

با افزایش غلظت PEG در محیط کشت، مقدار کاروتنوئیدها در اندام‌های هوایی هر دو رقم به‌طور معنی‌داری نسبت به گیاهان شاهد کاهش یافت. کاهش در مقدار کاروتنوئید در رقم حساس (Concord) در غلظت‌های ۲ و ۴٪ PEG به ترتیب ۲۹/۷٪ و ۴۰/۷٪ و در رقم مقاوم (Kenebec) در غلظت‌های مشابه به ترتیب ۲۲/۲٪ و ۲۷/۷٪ است (شکل ۳). لازم به یادآوری است که در تمام غلظت‌های PEG، مقدار کاروتنوئیدها در اندام‌های هوایی رقم Kenebec کاهش کمتری نسبت به رقم Concord نشان داد که این اختلاف از نظر آماری نیز معنی‌دار بود (P<0.01).



شکل ۲. اثر تنش خشکی بر مقدار کلروفیل کل در گیاه سیب‌زمینی در دو رقم Kenebec و Concord (داده‌ها، میانگین ۳ تکرار SD± بوده و حروف نامشابه نشان دهندهٔ اختلاف معنی‌دار (P≤0.05) بر اساس آزمون توکی است).

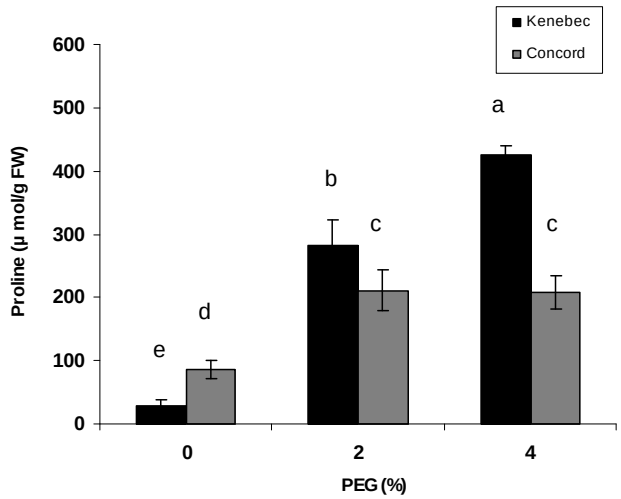


شکل ۳. اثر تنش خشکی بر مقدار کاروتنوئیدها ی گیاه سیب‌زمینی در دو رقم Kenebec و Concord (داده‌ها، میانگین ۳ تکرار SD± و حروف نا مشابه در نمودارها نشان دهنده اختلاف معنی‌دار (P≤0.05) بر اساس آزمون توکی است).

پرولین

با افزایش غلظت PEG در محیط کشت، مقدار پرولین در اندام‌های هوایی رقم Kenebec به طور معنی‌داری نسبت به گیاهان شاهد افزایش یافت. بیشترین افزایش پرولین مربوط به غلظت ۴٪ محلول PEG است (شکل ۴).

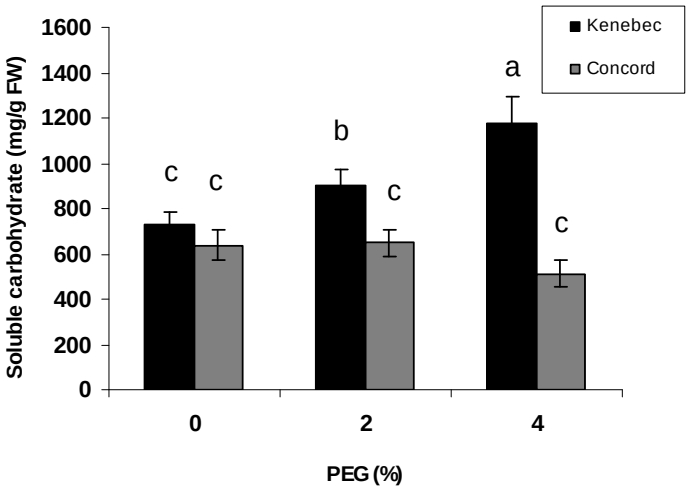
در رقم Concord مقدار پرولین تا غلظت ۲٪ افزایش یافته، ولی با افزایش غلظت PEG از ۲٪ به ۴٪ تغییری در مقدار پرولین دیده نمی‌شود.



شکل ۴. اثر تنش خشکی بر مقدار پرولین گیاه سیب‌زمینی در دو رقم Kenebec و Concord (داده‌ها، میانگین ۳ تکرار SD± و حروف نامشابه در نمودارها نشان دهنده اختلاف معنی‌دار (P≤0.05) بر اساس آزمون توکی است).

کربوهیدرات محلول

با افزایش غلظت PEG در محیط کشت، مقدار قندهای محلول در اندام‌های هوایی رقم Kenebec در غلظت ۴٪ به‌طور معنی‌داری نسبت به گیاه شاهد افزایش یافت. به طوری‌که در رقم Concord در تمام غلظت‌های PEG، تغییر معنی‌داری نسبت به شاهد نشان نداد (شکل ۵).



شکل ۵. اثر تنش خشکی بر مقدار کربوهیدرات محلول گیاه سیب‌زمینی در دو رقم Kenebec و Concord (داده‌ها میانگین ۳ تکرار SD± و حروف نامشابه در نمودارها نشان دهنده اختلاف معنی‌دار (P≤0.05) بر اساس آزمون توکی است).

بحث

رفتار عمومی گیاهان در شرایط تنش، کاهش تولید وزن تر و خشک گیاه است (Farooq et al., 2009). زیرا راندمان تولید گیاه با ایجاد و گسترش تنش خشکی و در پی آن کاهش پتانسیل آب، وزن تر و خشک همه اجزاء گیاه به علت کاهش فتوسنتز و تثبیت کربن کاهش می‌یابد. کاهش پتانسیل آب در دوره‌ی کم‌آبی، سبب کاهش آب بافت‌های گیاه شده که نتیجه آن کاهش سطح برگ، کوچک شدن برگ‌ها و کاهش طول ساقه است. در شروع تنش آب، جلوگیری از رشد و تقسیم سلولی منجر به کاهش توسعه برگ‌ها می‌شود (Shao et al., 2008). سطح برگ کمتر، موجب تعرق کمتر و در نتیجه جذب آب کمتر از خاک می‌گردد. محدودیت سطح برگ می‌تواند نخستین خط دفاعی برای مقابله با خشکی باشد. در تحقیقات انجام شده بر روی گیاهان گوناگون، روند کاهش در وزن خشک اندام‌های هوایی در پتانسیل‌های منفی‌تر گزارش شده است. از دیگر علت‌های کاهش وزن و کاهش رشد رویشی گیاه، می‌توان به کاهش فتوسنتز و تولید ماده خشک در طول دوره کم‌آبی اشاره نمود (Nayyar & Gupta, 2006).

بر اساس نتایج این تحقیق، وزن‌های تر و خشک گیاه سیب‌زمینی در هر دو رقم با افزایش غلظت PEG کاهش نشان می‌دهد، ولی این کاهش در رقم Concord به طور معنی‌داری بیشتر از رقم مقاوم Kenebec بود. در مطالعات مشابه، کاهش زیست توده (بیوماس) به دلیل تنش آبی به طور تقریب در همهٔ ژنوتیپ‌های گیاه آفتابگردان (Tahir & Mehi, 2001)، لوبیا (Webber et al., 2006) مشاهده شده است و با نتایج این تحقیق که با پیشرفت تنش خشکی، وزن کل گیاه کاهش می‌یابد، انطباق دارد. کاهش بیشتر وزن در رقم Concord ممکن است، به‌دلیل حساسیت بیشتر و ناسازگاری این رقم به تنش خشکی باشد. بر اساس نتایج بسیاری از تحقیقات، تنش‌های اسمزی مقدار کلروفیل گیاهان را کاهش می‌دهد (Farooq et al., 2008؛ Farooq et al., 2009). کاهش مقدار کلروفیل در گیاهانی مانند *Catharanthus oleus* (Jaleel et al., 2008) و آفتابگردان (Kiani et al., 2008). که در معرض تنش خشکی قرار گرفته بودند، نیز گزارش شده است. در این تحقیق نیز با افزایش غلظت PEG در هر دو رقم Kenebec و Concord مقدار کلروفیل کل و کاروتنوئیدها نسبت به نمونه‌های شاهد کاهش یافت. کاهش بیشتر محتوای کلروفیلی در رقم Concord ممکن است به‌دلیل حساسیت بیشتر، عدم سازگاری و مقاومت این رقم به تنش خشکی باشد. همچنین کاهش مقدار کلروفیل می‌تواند به علت افزایش تجزیه کلروفیل یا کاهش ساخت آن باشد (Santosa, 2004). بررسی ساختارهای تحت تنش اسمزی توسط Fang و همکاران (1998) نیز نشان داده است که تنش خشکی و شوری روی تیلاکوئیدها وغشاء پلاستیدها اثر گذاشته و باعث تجزیه آن‌ها می‌گردد. همچنین ممکن است که تجزیه کلروپلاست‌ها موجب افزایش فعالیت آنزیم کلروفیلاز ودر نتیجه کاهش میزان کلروفیل گردد.

در هنگام تنش خشکی، مقدار اکسیژن فعال سلول‌های گیاهی مانند پراکسیدهیدروژن و رادیکال‌های اکسیژن افزایش می‌یابد. این اکسیژن‌های فعال باعث آسیب به سلول‌ها و پراکسیداسیون چربی‌ها می‌شوند. مشخص گردیده است که اثرات زیانبار H_2O_2 بیشتر مربوط به پراکسیداسیون چربی‌های کلروپلاست است (Sairam & Serivastava, 2002).

با افزایش غلظت PEG در هر دو تیمار از ۲٪ به ۴٪، در رقم مقاوم‌تر (Kenebec) مقدار کاروتنوئیدها تغییر معنی‌داری نشان نداد، که می‌تواند به علت نقش آنتی‌اکسیدانی کاروتنوئیدها باشد. کاروتنوئیدها طبقه بزرگی از مولکول‌های ایزوپرونوئیدها هستند که توسط همه اندام‌های فتوسنتزکننده و بسیاری از اندام‌های غیرفتوسنتزی گیاه ساخته می‌شوند. کاروتنوئیدها افزون بر داشتن نقش به‌عنوان رنگدانه فرعی، به‌عنوان یک عامل آنتی‌اکسیدان مؤثر عمل نموده و نقش منحصر به فردی در حفاظت از فرآیندهای فتوشیمیایی و حفظ و ادامه آن‌ها بازی می‌کنند. نقش مهم حفاظتی بتاکاروتن در بافت فتوسنتز کننده ممکن است از طریق اشباع مستقیم کلروفیل‌های سه تایی انجام می‌شود که مانع تولید اکسیژن منفرد و در نتیجه حفاظت از گیاه در برابر آسیب‌های اکسیداتیو می‌گردد(Farooq et a., 2008) .

در پاسخ به تنش، کاهش پتانسیل اسمزی به‌وسیله تجمع اسمولیت‌ها، ظرفیت حفظ فشار ترگر سلول را افزایش می دهد. این عمل برای فرآیند های فیزیولوژیکی مانند فتوسنتز، فعالیت آنزیم‌ها و تکثیر سلولی، اساسی است. می‌توان اظهار نمود که افزایش پرولین سبب حفاظت از آنزیم‌ها و حامل ها و آنتی‌پورترها و آنزیم‌های مؤثر در نقل و انتقال یون‌ها تحت تنش خشکی می‌شود. تجمع پرولین یک پاسخ رایج به طیف وسیعی از تنش‌های محیطی از جمله ظرفیت پایین آب در گیاهان به شمار می‌آید. گونه‌های گیاهی و حتی رقم‌های گوناگون در درون یک گونه، اختلافات زیادی در پاسخ نسبت به تنش اسمزی دارند.

پرولین در بسیاری از گونه‌های گیاهی تحت شرایط تنش‌هایی مانند شوری، خشکی، درجه حرارت و نور با مقادیر مختلف تجمع می‌یابد. پرولین به عنوان یک محلول سازگار در گیاهان، از ساختار پروتئینی سلول‌های گیاهی حفاظت می‌کند. پرولین همچنین به وسیله عمل متقابل بین فسفولیپیدها موجب پایداری غشاء سلول‌ها می‌گردد. افزون بر این، به عنوان یک از بین برنده رادیکال‌های هیدروکسیل و یا به‌عنوان یک منبع نیتروژن و ذخیره انرژی استفاده می‌شود (Vendruscolo et al., 2007; Hare et al., 1998).

در بعضی از گونه‌های گیاهی مانند سیب‌زمینی، پرولین نقش اصلی را در تنظیم فشار اسمزی بازی می‌کند (Bussis & Heinke, 1998). تجمع پرولین در سیب‌زمینی رقم مقاوم این تحقیق، تأیید کنندهٔ نقش این ماده در افزایش تحمل خشکی در این گیاهان است. عدم تجمع پرولین در رقم حساس Concord نیز بیان‌گر این است که حداقل بخشی از حساسیت این رقم به تنش خشکی ناشی از ساخته نشدن پرولین به مقدار کافی در این رقم است.

رابطه مثبت بین انباشت پرولین و تحمل خشکی در ذرت (Mohammadkhani & Heidari, 2008)، برنج (Mostajeran & Rahimi, 2009)، و تنش شوری در سیب‌زمینی (Aghaei et al., 2008) گزارش شده است.

با توجه به افزایش غلظت پرولین در اندام‌های هوایی رقم مقاوم در این تحقیق و نبود تغییر معنی‌دار در غلظت‌های بالای PEG در اندام‌های هوایی رقم حساس، می‌توان چنین نتیجه گرفت که پرولین در گیاه سیب‌زمینی می‌تواند به‌عنوان یک شاخص مقاومت به خشکی به شمار آید. پرولین به‌دلیل نقش کلیدی در تنظیم اسمزی در شرایط تنش خشکی موجب افزایش مقاومت به خشکی شده و اثرات تخریبی تنش اسمزی ناشی از خشکی را تا حدودی کاهش می‌دهد. افزایش غلظت محلول‌های سازگار از شامل قندهای محلول در سلوهای گیاهی، به عنوان یک مکانیسم موثر در تحمل خشکی معرفی شده است. کربوهیدرات‌ها به خاطر داشتن رابطه‌ی مستقیم با فرآیندهای فیزیولوژیکی از مانند فتوسنتز، انتقال مواد و تنفس، از اهمیت ویژه‌ای برخوردارند. از میان قندهای محلول در گیاه، ساکارز (تشکیل دهندهٔ ۷۰٪ قندهای محلول در سلول‌های گیاهی) و نیز فروکتان نقش اساسی در سازش به تنش شوری و خشکی دارند. ساکارز می‌تواند به‌عنوان جایگزین آب برای

حفظ فسفولیپدها در فاز آبی-کریستال عمل نموده و نیز مانع ایجاد تغییرات ساختمانی در پروتئین‌های محلول شود.

اسمولیت‌ها هنگام تنش‌کم آبی با درشت مولکول‌ها پیوندهای هیدروژنی برقرار می‌کنند و از ایجاد پیوندهای هیدروژنی درون‌مولکولی که می‌تواند باعث آسیب برگشت ناپذیر به ساختار سه بعدی پروتئین شود، جلوگیری می‌کند. ترهالوز که یک دی‌ساکارید غیر کاهنده گلوکز است، در طی تنش خشکی از طریق استحکام بخشیدن به غشاها و درشت مولکول‌ها نقش مثبت خود را بازی می‌کند. بیان بیش از حد ترهالوز در مراحل اولیه تنش خشکی، به علت افزایش حفاظت از فتوسیستم دو در برابر اکسیداسیون نوری به حفظ ظرفیت بالای فتوسنتز کمک می‌نماید (Garg et al., 2002).

مقدار قندهای محلول در اندام‌های هوایی رقم مقاوم تحت تیمارهای مختلف PEG افزایش معنی‌داری نشان داد. در حالی که در اندام‌های هوایی رقم حساس، درتمام غلظت‌های PEG تغییر نیافت. بنابراین افزایش میزان قندهای محلول در رقم مقاوم سیب زمینی می‌تواند یک مکانیسم سازشی در جهت افزایش مقاومت به خشکی در آن باشد. تجمع نیافتن قندهای محلول در رقم حساس در تنش خشکی، تأیید کنندهٔ نقش قندهای محلول در ایجاد مقاومت به خشکی است. شاید یکی از علت‌های حساسیت گیاه، عدم توانایی آن در تجمع قندهای محلول به‌عنوان یک اسموتیکوم آلی و نیز منبع انرژی در شرایط تنش خشکی باشد.

انباشت قندهای محلول در واکنش به تنش خشکی در مطالعات فراوانی ثابت گردیده است (Iznloo et al., 2008).

بر اساس نظر برخی پژوهشگران، مقدار قندهای محلول در مقایسه با پرولین، عامل بهتری برای گزینش و غربال‌گری جهت مقاومت گیاه در برابر خشکی در گندم رقم دوروم گزارش شده است (Umezawa et al., 2006). همچنین رابطه مثبتی بین تجمع کربوهیدرات محلول و تحمل خشکی در ذرت (Mohammadkhani & Heidari, 2008). و برنج (Mostajeran & Rahimi, 2009) و تحمل به شوری در گیاه سیب‌زمینی (Aghaei et al., 2007) گزارش شده است.

Zhang et al. (2005) نشان داد که مقدار قندهای محلول در رقم سیب‌زمینی مقاوم‌تر (سیب‌زمینی Tingshi-2) در تنش شوری افزایش یافت، در حالی که در رقم حساس Zihuabai کاهش یافت. این گزارش یافته‌های این تحقیق را در دو ر قم Kennebec و Concord تأئید می‌کند Thapa et al. (2011) نشان داد که قندهای محلول می‌تواند نقش محافظت‌کننده‌ی اسمزی را در برابر تأثیر تنش خشکی در اندام‌های هوایی سیب‌زمینی را داشته باشد.

با توجه به شاخص‌های فیزیولوژیکی و مکانیسم‌های مقاومت مورد مطالعه در این تحقیق، به نظر می‌رسد که مقاومت رقم Kenebec به احتمال زیاد به دلیل افزایش پرولین و کربوهیدرات‌های محلول و در نتیجه حفاظت از ساختار پروتئین‌ها و جلوگیری از پراکسیداسیون غشاء است.

نتایج این بررسی نشان داد که شاخص‌های پرولین و کربوهیدرات‌های محلول می‌تواند به عنوان شاخص‌های بسیار مناسبی برای بررسی میزان مقاومت به خشکی در گونه‌های سیب زمینی معرفی گردد و بتوان از آن در انتخاب و غربال‌گری گیاهان مقاوم به خشکی استفاده نمود. افزون بر این‌که، با توجه به ظرفیت بالای رقم Kenebec در مقابله با تنش خشکی درک بهتر مکانیسم های فیزیولوژیکی آن در به نژادی گیاهان مقاوم به خشکی مورد استفاده قرار گیرد.

قدردانی

نویسندگان مقاله از معاونت پژوهشی و تحصیلات تکمیلی دانشگاه اصفهان و همچنین قطب علمی تنش‌های گیاهی دانشگاه اصفهان به خاطر حمایت از این پژوهش تشکر می‌نمایند.

References

Aghaei, K., Ehsanpour, A. A., & Komatsu, S. (2008). Proteome analysis of potato under salt stress. *Journal of Proteome Research*, 7, 4858–4868.

Aghaei, K., Ehsanpour, A. A., & Komatsu, S. (2009). Potato responds to salt stress by increased activity of antioxidant enzymes. *Journal of Integrative Plant Biology*, 51(12), 1095–1103.

Aghaei, K., Ehsanpour, A.A., Balali, G., & Mostajeran, A. (2007). In vitro screening of potato (*Solanum tuberosum* L.) cultivars for salt tolerance using physiological parameters and RAPD analysis. *American-Eurasian Journal of Environmenal Science*, 2, 159-163.

Arnon, K. I. (1949). Copper enzymes in isolated chlorophlasts and polyphenol oxidase in *Beta vulagaris. Plant Physiology*, 24, 1-15.

Ashraf, M., & Foolad, M. R. (2007). Roles of glycine betaine and proline in improvming plant abiotic stress resistance. *Environmental and Experimental Botany*, 59, 206-216.

Bates, L., Waldren, R. P., & Tear, I. P. (1973). Rapid determination of free proline for water stress studies. *Soil Science and Plant Nutrition*, 39, 205-207.

Bohnert, H. J., & Jensen, R. G. (1996). Strategies for engineering water-stress tolerance in plants. *Trends in Biotechnology*, 14, 89-97.

Bussis, D., & Heineke, D. (1998). Acclimation of potato plants to polyethylene glycol induced water deficit. Π. Cantants of subcellular disturbtion of organic solutes. *Journal of Exprment Botany*, 49, 1361-1370.

Chaves, M. M., Pereira, J. S., Maroco, J., Rodriques, M. L., Ricardo, C. P. P., Osorio, M. L., Carvatho, I., Faria, T., & Pinheiro, C. (2002). How plants cope with water stress in the field photosynthesis and growth? *Annales of Botany*, 89, 907-916.

Cornic, G., & Briantais, J. M. (1991). Partitioning of photosynthetic electron flow between CO_2 and O_2 reduction in a C_3 leaf (*Phaseolus vulgaris*) at different CO_2 concentration and during drought stress. *Planta*, 193, 178-184.

Fales, F. W. (1951). The assimilation and degradation of carbohydrates of yeast cells. *Journal of Biology Chemistry,* 193, 113-116.

Fang, Z., Bouwkamp, J., & Solomos, T. (1998). Chlorophyllase activities and chlorophyll degradation during leaf senescence in non-yellowing mutant and wild type of *Phaseolus vulgaris* L. *Journal of Experimen Botany*, 49, 503-510.

Farooq, M., Basra, S. M. A., Wahid, A., Cheema, Z. A., Cheema, M. A., & Khaliq, A. (2008). Physiological role of exogenously applied glycinebetaine in improving drought tolerance of fine grain aromatic rice (*Oryza sativa* L.). *Journal of Agronomy and Crop Science*, 194, 325-333.

Farooq, M., Wahid. A., Kobayashi, N., Fujita, D., & Basra, S. M. A. (2009). Plant drought stress effects. Mechanisms and management. *Agronomy for Sustainable Development*, 29, 185-212.

Garg, A. K., Kim, J. K., Owens, T. G., Ranwala, A. P., Choi, Y. D., Kochian, L.V., & Wu, R. J. (2002). Trehalose accumulation in rice plants confers high tolerance levels to different abiotic stresses. *Proceeding of the National Academy of Sciences USA*., 99, 15898–15903.

Izanloo, A., Condon, A. G., Langridge, P., Tester, M., & Schnurbusch, T. (2008). Different mechanisms of adaptation to cyclic water stress in two South Australian bread wheat cultivars. *Journal of Experimental Botany*, 59, 3327-3346.

Jaleel, C. A., Sankar, B., Murali, P. V., Gomathinayagam, M., Lakshmanan, G. M. A., & Panneerselvam, R. (2008). Water deficit stress effects on reactive oxygen metabolism in *Catharanthus roseus* L. Impact on ajmalicine accumulation. Colloids Surfaces. *Biointerfaces*, 62, 105-111.

Kiani, S. P., Maury, P., Sarrafi, A., & Grieu, P. (2008). QTL analysis of

chlorophyll fluorescence parameters in sunflower (*Helianthus annuus* L.) under well-watered and water-stressed conditions. *Plant Science,* 175, 565-573.

Larher, F., Rotival-Garmier, N., Lemsesle, P., Plaman, M., & Boucherean, A., (1996). The glycine betaine inhibitory effect on the osmo-induced praline response of rape leaf discs. *Plant Science*, 113, 21-31.

Leopold, A. C., Sun, W. Q., & Bernal-Lugo, L. (1994). The glassy state in seeds: Analysis and function. *Seed Science Research*, 4, 267-274.

Liu, J., & Zhu, J. K. (1998). A calcium sensor homolog required for plant salt tolerance. *Science*, 280, 1943–1945.

Mohammadkhani, N., & Heidari, R. (2008). Effects of drought stress on soluble proteins in two maize varieties. *Turkish Journal of Biology*, 32, 23-30.

Monakhova, O. F., & Chernyadev, I. I. (2002). Protective role of kartolin-4 in wheat plants exposed to soil drought. *Applied and Environmental Microbiology*, 38, 373-380.

Murashige, T., & Skoog, F. (1962). A revised medium for rapid growth and bioassays with tobacco tissue cultures. *Physiologia Plantarum*, 15, 473-497.

Nayyar, H., & Gupta, D. (2006). Differential sensitivity of C_3 and C_4 plants to water deficit stress: Association with oxidative stress and antioxidants. *Environmental and Experimental Botany*, 58, 106–113.

Orcayk, W., Przetakiewicz, J., & Nadolska-Orczyk, A. (2003). Somatic hybrids of *Solanum tuberosum:* Application to genetics and breeding. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture*, 74, 1-13.

Sairam, R. K., & Srivastava, G. C. (2002). Changes in antioxidant activity in sub-cellular fractions of tolerant and susceptible wheat genotypes in response to long term salt stress. *Plant Science*, 162, 897-904.

Santos, C. (2004). Regulation of chlorophyll biosynthesis and degradation by salt stress in sunflower leaves. *Scienta Horticulture*, 103, 93-99.

Sasikala, D. P. P., & Devi Prasad, P. V. (1994). Salinity effects on in vitro performance of some cultivars of potato. *Brazilian Journal of Plant Physiology*, 6, 1-6.

Serraj, R., & Sinclair, T. R. (2002). Osmolyte accumulation: an it really help increase crop yield under drought conditions? *Plant, Cell and Environment*, 25, 333–341.

Shao, H. B., Chu, L. Y., Lu, Z. H., & Kagn, C. M. (2008). Primary antioxidant free radical scavenging and redox signaling pathways in higher plants. *International Journal of Biological Sciences*, 2, 8-14.

Sivakumar, P., Sharmila, P., & Saradhi, P. P. (2000). Proline alleviates salt-stress induced enhancement in ribulose-1, 5-bisphosphate oxygenase activity. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 279, 512-515.

Tahir, M. H. N., & Mehid, S. S. (2001). Evaluation of open pollinated sunflower (*Helianthus annuus* L.) populations under water stress and normal conditions. International *Journal of Agricature and Biology*, 3, 236-238.

Taiz, L., & Zeiger, E. (2006). *Plant Physiology.* 4th ED. Sinauer Associates, Inc, Publishers Sunderland, Massachusetts. 738.

Tas, S., & Tas, B. (2007). Some physiological responces of drought stress in wheat genotypes tolerance of fine grain aromatic rice (*Oryza sativa* L.). *Journal of Agronomy and Crop Science,* 194, 325-333.

Thapa, G., Dey, M., Sahoot, L., & Panada, S.k. (2011). An insight into the drough stress induced alternations in plants. *Biologia Plantarum,* 55, 603-613

Umezawa, T., Fujita, M., Fujita, Y., Yamaguchi- Shinozaki K., & Shinozaki, K. (2006). Engineering drought tolerance in plants: discovering and tailoring genes to unlock the future. *Current Opinion in Biotechnology,* 17, 113-122.

Vendruscolo, A. C. G., Schuster, I., Pileggi, M., Scapim, C .A., Molinari, H. B. C., Marur, C. J., & Vieira, L. G. C. (2007). Stress-induced synthesis of proline

confers tolerance to water deficit in transgenic wheat. *Journal of Plant Physiology,* 164, 1367-1376.

Wang, Z., Quebedeaux B., & Stutte, G. W. (1996). Partitioning of (14_C) glucose into sorbitol and other carbohydrates in apple under water stress. *Australian Journal of Plant Physiology* , 23, 245-251.

Webber, H. A., Madramootoo, C. A., Bourgault, M., Horst, M. G., Stulina, G., & Smith, D. L. (2006). Water use efficiency of common bean and green gram grown using alternate furrow and deficit irrigation. *Agricaltural Water Management*, 86, 259- 268.

Yordanov, I., Velikova, V., & Tsonev, T. 2000. Plant responses to drought, acclimation, and stress tolerance. *Photosynthetica,* 38, 171-186.

Arid Biome Scientific and Research Journal
Vol. 2 No. 1 2012

Effect of drought stress on some physiological parameters of two potato cultivars (Kenebec and Concord) under in vitro culture condition

1-S. Najaf Zadeh, MSc. in Plant Physiology, University of Isfahan, I.R. Iran
2- A. Ehsanpour, Professor of Department of Biology, University of Isfahan, I.R. Iran
ehsanpou@sci.ui.ac.ir

Received: 07 Feb 2012
Accepted: 04 Sep 2012

Abstract

Drought as one of the environmental stresses, is the most significant factor restricting plant growth and crop production. Drought stress can results in disruption of water potential gradients, turgor loss, membrane integrity disruption and protein denaturation. In addition, it inhibits the photochemical activities. Potato is an important plant in agriculture that has an average sensitivity on salt and a high sensitivity on draught. In this study, potato's residence against draught was investigated in two cultivars of Kenebeck and Concord under in vitro culture conditions. Potato cultivars were grown in MS medium containing 50 µM Silver Thiosulfate (STS) and they were transferred to liquid medium of MS after rooting then were treated for 14 days with concentration of 0, 2 and 4 percent of PEG (MW 6000). After four weeks post treatment, physiological factors such as fresh and dry weight, content of photosynthesis pigments (total chlorophyll and carotenoid) were measured in order to identify resistant and sensitive plants against water stress. Results indicated that Kenebec showed lower reduction in the above-mentioned factors under stress conditions compared to Concord. In order to study mechanisms of resistance against draught in these two types, proline and soluble carbohydrate in shoot were investigated. According to results, with increasing, PEG concentration proline and the soluble carbohydrate increase significantly in the shoots Kenebec. Proline concentration in Concord showed an increase only 2% PEG treatment. In comparison to control plants, soluble carbohydrates in Concord showed no significant increase.

Keywords: Drought stress; Proline; Potato; Soluble sugars.