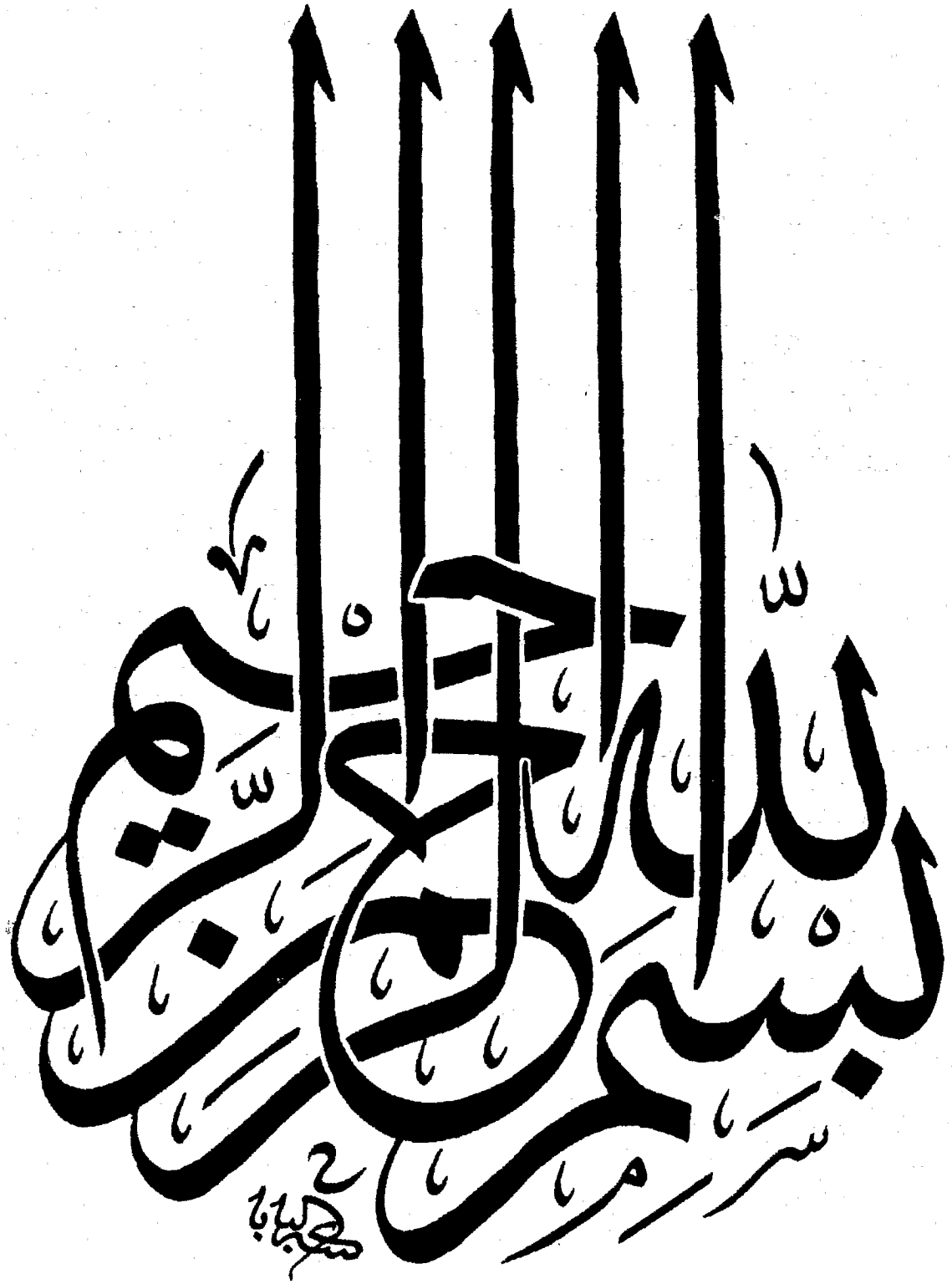



٤٦٣٧٨

دانشکده کشاورزی

گروه زراعت و اصلاح نباتات

رساله دکتری (Ph.D.)

در رشته اصلاح نباتات (گرایش ژنتیک-بیومتری)

عنوان

# تجزیه پروتئوم ژنوتیپ‌های کلزا در شرایط تنش خشکی

اساتید راهنما

دکتر محمود تورچی  دکتر قاسم حسینی سالکده

اساتید مشاور

دکتر سید ابوالقاسم محمدی  دکتر محمدرضا نیشابوری

پژوهشگر

**مجید نوروزی**

۱۳۸۷/۱۸/۳۳۷

۴۶۳۷۸

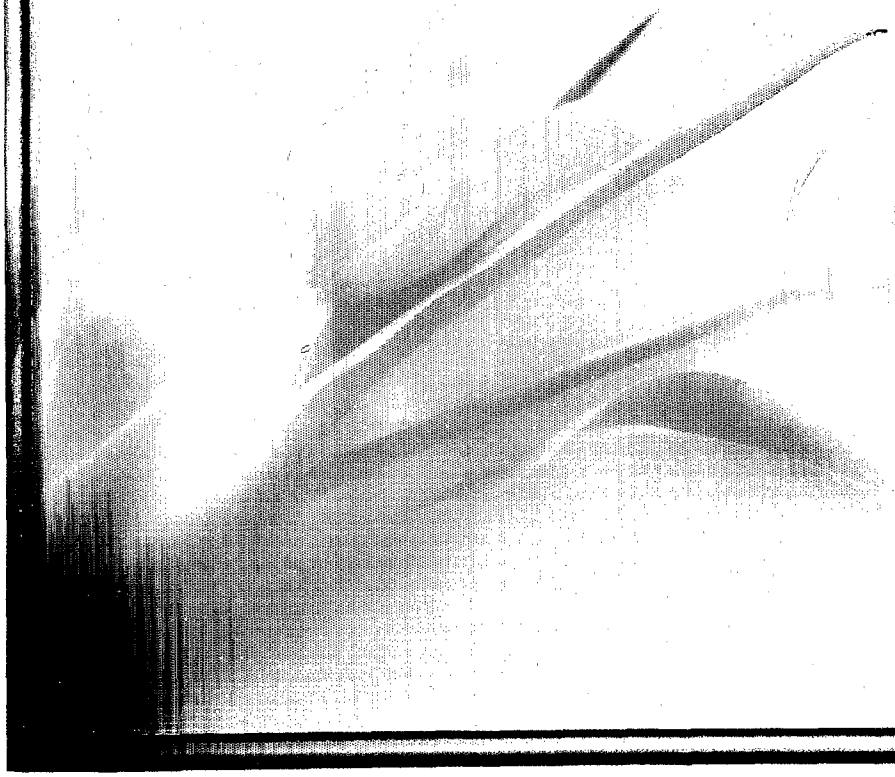
تیر ماه ۱۳۸۷

تقدیم به اساتید علم و اخلاق

جناب آقای دکتر عزیز جوانشیر

جناب آقای دکتر محمد مقدم

جناب آقای دکتر سعید اهری زاد



## تقدیر و تشکر

حمد و سپاس خداوند یکتا را که ذکر و یادش آرام‌بخش دلهاست. بدین وسیله از اساتید راهنمای بزرگوارم جناب آقای دکتر محمود تورچی و جناب آقای دکتر قاسم حسینی سالکده که با مساعدت‌ها و راهنمایی‌های ارزنده‌شان باعث به ثمر رسیدن این اثر گردیدند صمیمانه تقدیر و تشکر می‌نمایم. از اساتید گرامی، آقایان دکتر ابوالقاسم محمدی و دکتر نیشابوری که زحمت مشاوره پایان‌نامه اینجانب را متقبّل شدند کمال امتنان را دارم. از داوران محترم پایان‌نامه، آقایان دکتر محمد مقدم، دکتر سعید اهری‌زاد و دکتر فواد مرادی که زحمت داوری، بازخوانی دقیق و رفع اشکالات آن را تقبل نمودند صمیمانه سپاسگزارم.

از سایر اساتید گروه که افتخار کسب علم را در محضرشان داشته‌ام قدردانی‌می‌کنم. همچنین از جناب آقای دکتر نصراله‌زاده مدیر محترم گروه زراعت و اصلاح نباتات و جناب آقای دکتر فاخری‌فرد، نماینده تحصیلات تکمیلی دانشگاه به خاطر هماهنگی و مساعدت‌های بی‌دریغشان تشکر می‌کنم. همچنین از دکتر بهرام علیزاده به سبب همکاری در تهیه بذور مورد مطالعه و راهنمایی‌های ارزنده‌شان قدردانی می‌کنم.

لطف و همراهی آقایان دکتر علی بنده‌حق، دکتر جاوید عمارت‌پرداز، دکتر شاهین نوری‌نژاد، مهندس سید حامد طباطباوکیلی، مهندس امیر کهنمویی، مهندس عبداله حسینی و خانم‌ها، مهندس الهام سرحدی، مهندس منظر حیدری، مهندس اکرم غفاری و مهندس الناز شکوئی را در اجرای پایان‌نامه ارج نهاده و صمیمانه تقدیر و تشکر می‌نمایم. همچنین از مدیریت محترم و کارکنان زحمت‌کش دانشکده کشاورزی، مجتمع آزمایشگاه‌های دانشکده کشاورزی و بخش پروتئومیکس مؤسسه بیوتکنولوژی کرج که در اجرای پایان‌نامه یاری‌ام نموده‌اند تشکر می‌کنم.

از تمامی دوستان و همکارانی که به نحوی از انحا در طول تحصیل و اجرای پایان‌نامه، بنده حقیر را مورد لطف و مرحمت خود قرار داده و یاری‌ام نموده‌اند و امکان قید نامشان میسّر نمی‌باشد تشکر نموده و آرزوی سعادت برای ایشان دارم.

در پایان از پدر و مادر عزیزتر از جانم، خواهر و برادران عزیزم و همسر مهربانم که در طی دوران تحصیل همواره مشوق و حامی اینجانب بوده‌اند از صمیم قلب نهایت تشکر و قدردانی را دارم.

مجید نوروزی

**نام خانوادگی:** نوروزی **نام:** مجید

**عنوان پایان نامه:** تجزیه پروتئوم ژنوتیپ های کلزا در شرایط تنش خشکی

**استادان راهنما:** دکتر محمود تورچی و دکتر قاسم حسینی سالکده

**استادان مشاور:** دکتر سید ابوالقاسم محمدی و دکتر محمدرضا نیشابوری

**مقطع تحصیلی:** دکتری **رشته:** اصلاح نباتات **گرایش:** ژنتیک بیومتری **دانشگاه:** تبریز

**دانشکده:** کشاورزی **تاریخ فارغ التحصیلی:** ۱۳۸۷/۰٤/۳۱ **تعداد صفحه:** ۱۸۱

**کلید واژه ها:** کلزا، تنش کمبود آب، صفات مورفو-فیزیولوژیک، پروتئومیکس، الکتروفورز دو بعدی

## چکیده

خشکی یکی از مهمترین عوامل محیطی محدود کننده رشد و عملکرد گیاهان زراعی است. کلزا در مناطق نیمه‌خشک معمولا طی مرحله گلدهی با تنش خشکی مواجه شده و عملکرد ژنوتیپ‌های حساس آن بطور قابل ملاحظه‌ای کاهش می‌یابد. هدف این پژوهش شناسایی ژنوتیپ‌های مقاوم و حساس کلزا به تنش خشکی و بررسی تغییرات پروتئوم آنها در پاسخ به تنش خشکی بود. برای این منظور تعداد ۱۴ ژنوتیپ کلزای پاییزه از نظر صفات مورفولوژیکی، فیزیولوژیکی، بیوشیمیایی و زراعی طی دو آزمایش مزرعه‌ای و گلخانه‌ای در شرایط تنش کمبود آب مورد ارزیابی قرار گرفتند. بر اساس نتایج حاصل از آزمایش‌های مزرعه‌ای و گلخانه‌ای، ژنوتیپ‌های Orient و Okapi بعنوان متحمل و Fornax و Dexter بعنوان حساس به تنش خشکی شناخته شدند. به منظور بررسی اثر تنش خشکی بر الگوی بیان پروتئوم ریشه کلزا، طی آزمایش‌های تکمیلی دو ژنوتیپ Orient و Fornax بترتیب بعنوان متحمل‌ترین و حساس‌ترین ژنوتیپ‌ها انتخاب و استخراج پروتئین ریشه آنها در دو شرایط عادی و تنش کمبود آب انجام شد. تجزیه الگوی پروتئوم ژل‌های الکتروفورز دوبعدی نشان داد که از بین حدود ۸۰۰ لکه پروتئینی قابل تشخیص، رنگ‌آمیزی شده با نیترات نقره، ۷۴ لکه پروتئینی تغییرات معنی‌داری از نظر آماری و عامل القا در شرایط عادی و تنش خشکی نشان دادند که از این تعداد، ۴۰ پروتئین با استفاده از روش اسپکتروفتومتری جرمی MALDI-TOF-TOF و جستجو در بانک‌های اطلاعاتی پروتئین مورد شناسایی قرار گرفت. نتایج نشان داد که تعداد پروتئین‌های پاسخ‌دهنده به تنش خشکی در ژنوتیپ Orient نسبت به Fornax بیشتر است. افزایش بیان معنی‌دار و بالای برخی از پروتئین‌های شناسایی شده مانند سوپراکسید دیسموتاز، آسکوربات پراکسیداز، پراکسی‌ردوکسین و تیوردوکسین در ژنوتیپ Orient نسبت به Fornax بیانگر توانایی بالاتر این ژنوتیپ در کاهش اثرات تخریبی تنش‌های اکسیداتیو و مقابله با آنها است. دو ایزومر از پروتئین فریتین در هر دو ژنوتیپ افزایش بیان معنی‌داری داشتند که بیانگر نقش تثبیت اتم‌های آهن در کاهش غیر مستقیم اثرات تنش است. افزایش بیان معنی‌دار پروتئین ATPase غشای واکوئلی و یکی از زیرواحدهای آن در ژنوتیپ مقاوم مشاهده شد و این افزایش بیان به توان تنظیم اسمزی بالای ژنوتیپ Orient ربط داده شد.

پروتئین TCTP فقط در ژنوتیپ متحمل Orient و تحت شرایط تنش خشکی تظاهر یافت. به نظر می‌رسد که نقش مهم این پروتئین در تداوم چرخه سلولی یکی از عوامل موثر در تداوم رشد و مقاومت بالاتر ژنوتیپ Orient در شرایط کمبود آب باشد. کاهش بیان معنی‌دار پروتئین Caffeoyl-CoA O-methyltransferase در ژنوتیپ مقاوم Orient و درنتیجه احتمال کاهش تولید لیگنین در سلول‌های ریشه را می‌توان راهکاری برای تداوم رشد ریشه و جذب مقادیر بیشتر آب از منطقه وسیع‌تر خاک دانست. علاوه بر پروتئین‌های مذکور، تغییر بیان معنی‌دار پروتئین‌های دیگری که در فرایندهای مختلف سلولی مانند محافظت سلول از تنش گرمایی، یوبی‌کوئیتینه شدن، چرخه کالوین، تنفس سلولی، کاهش فعالیت پروتئازها، تنفس نوری و متابولیسم انرژی در میتوکندری نقش دارند، مشاهده شد. شناسایی و بررسی بیان ژن‌های رمز کننده این پروتئین‌ها چشم‌انداز خوبی برای اصلاح مولکولی کلزا جهت ایجاد مقاومت به تنش خشکی است.

## فهرست مطالب

عنوان | صفحه


مقدمه ..... ۱

### فصل اول : بررسی منابع

۱-۱- تنش خشکی ..... ۴

۱-۱-۱- سازگاری به خشکی ..... ۴

۱-۱-۲- اهمیت مطالعات تنش خشکی در کلزا ..... ۵

۱-۲- صفات مورد مطالعه و ارتباط آنها با تنش خشکی ..... ۶

۱-۲-۱- عملکرد دانه و اجزای آن ..... ۶

۱-۲-۲- وزن خشک بوته ..... ۷

۱-۲-۳- روابط آبی گیاه و تنظیم اسمزی ..... ۸

۱-۲-۴- محتوای پرولین و محلول‌های سازگار ..... ۱۰

۱-۲-۵- صفات ریشه ..... ۱۱

۱-۲-۶- هدایت روزنه‌ای ..... ۱۳

۱-۲-۷- میزان کلروفیل و فلئورسانس کلروفیل برگ ..... ۱۴

۱-۳- مقاومت به خشکی در سطح مولکولی ..... ۱۵

۱-۳-۱- پروتئین‌ها و ژن‌های پاسخ دهنده به تنش ..... ۱۶

۱-۳-۲- مدیریت تنش اکسیداتیو ..... ۱۹

۱-۳-۳- تغییرات پس از ترجمه پروتئین‌های پاسخگو به تنش ..... ۲۱

۱-۳-۴- نقش اسید آبسزیک و هورمون‌های دیگر در پاسخ گیاهان به تنش خشکی ..... ۲۵

۱-۴- تنظیم بیان ژن به هنگام تنش خشکی ..... ۲۵

۱-۵- سیگنال‌های مرتبط با تنش، مسیر انتقال و اجزای آن ..... ۲۷

۶-۱- کشف ژن‌های مرتبط با تنش خشکی و تولید گیاهان تراریخته متحمل به تنش خشکی ..... ۳۱
۷-۱- دستورزی ژنتیکی عوامل رونویسی ..... ۳۳
۸-۱- ژنومیکس و تجزیه و تحلیل بیان ژن در سطح مولکولی ..... ۳۳
۱-۸-۱- تجزیه و تحلیل بیان ژن در سطح رونوشت (ترانس کریپتومیکس) ..... ۳۴
۲-۸-۱- تجزیه و تحلیل بیان ژن در سطح متابولیت‌ها (متابولومیکس) ..... ۳۶
۳-۸-۱- تجزیه و تحلیل بیان ژن در سطح پروتئین (پروتئومیکس) ..... ۳۷
۹-۱- مروری بر تکنیک پروتئومیکس ..... ۴۲
۱-۹-۱- نمونه برداری ..... ۴۲
۲-۹-۱- الکتروفورز دو بعدی ..... ۴۳
۳-۹-۱- استخراج پروتئین از نمونه گیاهی ..... ۴۴
۴-۹-۱- رنگ آمیزی و آشکارسازی پروتئین‌ها ..... ۴۶
۵-۹-۱- تجزیه و تحلیل کمی پروتئین‌های آشکار شده توسط نرم‌افزار ..... ۴۷
۱۰-۱- توالی‌یابی پروتئین‌ها ..... ۴۸
۱-۱۰-۱- روش توالی‌یابی انتهایی ادمن ..... ۴۸
۲-۱۰-۱- روش طیف سنجی جرمی ..... ۴۸
۱۱-۱- بیوانفورماتیک ..... ۴۹
۱۲-۱- اهداف پژوهش ..... ۵۱

## فصل دوم : مواد و روش‌ها

۱-۲- ارزیابی‌های دو ساله مزرعه‌ای ..... ۵۲
۱-۱-۲- مواد گیاهی ..... ۵۲
۲-۱-۲- کاشت و طرح آزمایشی ..... ۵۲
۳-۱-۲- عملیات داشت ..... ۵۳

۴-۱-۲- اندازه‌گیری صفات ..... ۵۴
۱-۴-۱-۲- فلئورسانس کلروفیل و کارایی فتوسیستم II ..... ۵۴
۲-۴-۱-۲- میزان کلروفیل ..... ۵۴
۳-۴-۱-۲- هدایت روزنه‌ای برگ ..... ۵۵
۴-۴-۱-۲- میزان پرولین ..... ۵۵
۵-۴-۱-۲- پتانسیل کل آب برگ ..... ۵۶
۶-۴-۱-۲- پتانسیل اسمزی برگ ..... ۵۶
۷-۴-۱-۲- پتانسیل تورمی برگ ..... ۵۶
۸-۴-۱-۲- تنظیم اسمزی ..... ۵۷
۹-۴-۱-۲- محتوای آب نسبی برگ ..... ۵۷
۱۰-۴-۱-۲- صفات زراعی ..... ۵۷
۱۱-۴-۱-۲- صفات مربوط به ریشه ..... ۵۸
۲-۲- آزمایش گلخانه‌ای ..... ۵۸
۱-۲-۲- کنترل میزان رطوبت خاک گلدان‌ها ..... ۵۹
۳-۲- آزمایش تجزیه پروتئوم ریشه ..... ۶۰
۱-۳-۲- استخراج پروتئین ..... ۶۰
۲-۳-۲- تعیین غلظت پروتئین‌ها ..... ۶۲
۳-۳-۲- اجرای بعد اول الکتروفورز دو بعدی ..... ۶۳
۴-۳-۲- بعد دوم الکتروفورز و رنگ آمیزی ژل ها ..... ۶۳
۵-۳-۲- اکتساب تصاویر، تجزیه ژل ها و توالی‌یابی پروتئین‌ها با MS و شناسایی توالی ها ..... ۶۵
۴-۲- تجزیه‌های آماری ..... ۶۶

## فصل سوم : نتایج و بحث

۱-۳- میانگین و دامنه تغییرات صفات مورد مطالعه در مزرعه ..... ۶۷

۲-۳- تجزیه واریانس داده‌های مزرعه‌ای ..... ۶۸
۳-۳- اثر تنش خشکی بر عملکرد و اجزای عملکرد دانه ..... ۷۲
۴-۳- اثر تنش خشکی بر رشد گیاه ..... ۷۳
۵-۳- اثر تنش خشکی بر رشد ریشه و صفات مربوطه ..... ۷۳
۶-۳- تاثیر تنش خشکی روی فتوسنتز ..... ۷۴
۷-۳- تاثیر تنش خشکی روی روابط آبی گیاه ..... ۷۶
۸-۳- مقایسه میانگین صفات مورد مطالعه در مزرعه ..... ۷۷
۹-۳- درصد کاهش یا افزایش میانگین صفات مورد مطالعه در مزرعه ..... ۸۲
۱۰-۳- گروه‌بندی ژنوتیپ‌ها از نظر کلیه صفات مورد بررسی در مزرعه ..... ۹۲
۱۱-۳- تجزیه واریانس داده‌های آزمایش گلخانه‌ای ..... ۹۴
۱۲-۳- مقایسه میانگین صفات در سطوح مختلف تنش کمبود آب ..... ۹۷
۱۳-۳-درصد تغییرات میانگین صفات مورد مطالعه در گلخانه ..... ۱۰۳
۱۴-۳- گروه‌بندی ژنوتیپ‌ها از نظر صفات مورد مطالعه در گلخانه ..... ۱۱۰
۱۵-۳- تجزیه پروتئوم ریشه دو ژنوتیپ حساس و مقاوم به خشکی کلزا ..... ۱۱۷
۱۶-۳- شناسایی پروتئین ها با اسپکتروفتومتری جرمی ..... ۱۲۰
۱۷-۳-گروه بندی پروتئین‌های شناسایی شده بر اساس نوع بیان و ژنوتیپ مربوطه ..... ۱۲۴
۱۸-۳- نقش پروتئین‌های شناسایی شده و ارتباط آنها با تنش خشکی ..... ۱۲۵
۱-۱۸-۳- تنش اکسیداتیو و پروتئین‌های مرتبط با آن ..... ۱۲۵
۲-۱۸-۳- پروتئین‌های تثبیت کننده اتم‌های آهن و ارتباط آنها با تنش خشکی ..... ۱۳۴
۳-۱۸-۳- پروتئین‌های درگیر در تنظیم اسمزی ..... ۱۳۷
۴-۱۸-۳- پروتئین درگیر در چرخه سلولی و ارتباط آن با تنش خشکی ..... ۱۳۹
۵-۱۸-۳- پروتئین درگیر در سنتز لیگنین و ارتباط آن با تنش خشکی ..... ۱۴۱
۶-۱۸-۳- پروتئین درگیر در چرخه کالوین ..... ۱۴۲

۷-۱۸-۳- پروتئین‌های درگیر در کاهش اثرات تنش گرمایی ..... ۱۴۳
۸-۱۸-۳- پروتئین درگیر در فرایند تنفس سلولی ..... ۱۴۶
۹-۱۸-۳- پروتئین‌های درگیر در فرایند یوبی‌کوئیتینه شدن ..... ۱۴۷
۱۰-۱۸-۳- پروتئین‌های بازدارنده فعالیت پروتئازها ..... ۱۵۰
۱۱-۱۸-۳- پروتئین‌های درگیر در تنفس نوری و ارتباط آنها با تنش خشکی ..... ۱۵۲
۱۲-۱۸-۳- پروتئین‌های درگیر متابولیسم انرژی در میتوکندری ..... ۱۵۴
۱۳-۱۸-۳- پروتئین‌هایی که نقش و ارتباط آنها با تنش خشکی بطور کامل مشخص نشده است ..... ۱۵۵
جمع بندی و نتیجه‌گیری کلی ..... ۱۵۸
پیشنهادات ..... ۱۶۰
ضمیمه ..... ۱۶۱
منابع مورد استفاده ..... ۱۶۴

فصل اول

# بررسی منابع

## مقدمه

گیاه روغنی کلزا (*Brassica napus* L.) یکی از مهمترین گیاهان زراعی است که عمدتا برای تهیه روغن خوراکی از آن استفاده می‌شود و تفاله آن بعنوان یک منبع سرشار از پروتئین در تغذیه دام بکار می‌رود. در حال حاضر کلزا پس از سویا و پنبه دانه سومین گیاه روغنی دنیا به شمار می‌رود.

خشکی، شوری، دمای بالا و پایین، بادهای شدید، آلاینده‌ها و تشعشعات از عوامل مهم ایجاد تنش در گیاهان می‌باشند که باعث کاهش تولیدات گیاهی می‌شوند (یاماگوچی- شینوزاکی و همکاران، ۲۰۰۲؛ لاولور، ۲۰۰۲).

خشکی بعنوان شایعترین تنش محیطی شناخته شده است که تقریباً تولید محصول در ۲۵ درصد زمینهای کشاورزی جهان را محدود می‌کند و به تنهایی عامل اصلی کاهش عملکرد محسوب می‌شود. پاسخ گیاهان به تنش خشکی بسیار پیچیده است و شامل تغییرات کشنده و یا سازگار شونده می‌باشد. با توجه به اینکه ایران از نظر جغرافیایی جزو مناطق خشک و نیمه‌خشک است، بنابراین کشت کلزا نیز با توجه به محدودیت منابع آبی محدود می‌گردد. درنتیجه اصلاح برای مقاومت به خشکی در این گیاه مهم اقتصادی ضروری به‌نظر می‌رسد. محدودیت آب در کشت کلزا معمولا در اواخر دوره رشد گیاه و مصادف با زمان گلدهی و پر شدن دانه رخ داده و موجب کاهش عملکرد می‌شود. ثابت شده است که بیشترین تاثیر تنش خشکی روی کلزا، طی دوره گلدهی آن می‌باشد (ریچاردز و تورلینگ، ۱۹۷۸) و میزان اثر تنش خشکی به ژنوتیپ، شدت و مدت زمان تنش، آب و هوا، شرایط و مرحله رشد گیاه بستگی دارد (روبرتسون و هولند، ۲۰۰۴). در راستای سازگاری گیاه به شرایط آب و هوایی خشک، تغییرات مورفولوژیکی، فیزیولوژیکی و تجمع متابولیتهای جدید همزمان با تغییرات ساختاری، موجب افزایش کارآیی تحت شرایط تنش‌زا می‌گردد (بوهنرت و برسان، ۲۰۰۱). بنابراین درک بهتر روابط محیط و ژنوتیپ و بررسی خصوصیات فیزیولوژیکی، بیوشیمیایی و مولکولی گیاه در شرایط نامساعد

محیطی و بخصوص تنش خشکی باعث درک بهتر نحوه سازگاری گیاه و وقایع دخیل در مکانیسم‌های تحمل به خشکی خواهد شد. بدین ترتیب کشت گیاهان در شرایط واجد تنش و با عملکرد قابل قبول امکانپذیر خواهد شد. با وجود این صفت مقاومت به خشکی در گیاهان اساساً پدیدهٔ پیچیده‌ای است که از جنبه های مختلف فیزیولوژیکی و مولکولی قابل بحث و بررسی است. بعلاوه بهبود ژنتیکی در سازگاری به خشکی از طریق گزینش برای عملکرد و پایداری عملکرد در سال‌ها و مکان‌های مختلف، به دلیل وراثت‌پذیری کم صفت عملکرد و اثر متقابل ژنوتیپ و محیط پیشرفت کندی داشته است. راهکار دیگر بهبود عملکرد و رشد گیاه تحت شرایط تنش خشکی، توجه به صفات ثانویه دخیل در مقاومت به خشکی، از جمله صفات ریشه است (بابو و همکاران، ۲۰۰۳). مطالعه ریشه گیاهان در بستر طبیعی (خاک)، با توجه به عدم وجود روش‌های دقیق اندازه‌گیری و همچنین مشکلات نمونه برداری و خطای بالای آن، اطلاعات کمی در مورد نحوه عمل ژن‌ها و مکانیسم‌های درگیر در مقاومت به خشکی ارایه می‌دهد (پاسیورا، ۲۰۰۷).

تعیین توالی ژنوم آرابیدوپسیس، برنج و سایر گیاهان زراعی، فرصت تازه‌ای برای تشخیص و تشریح عملی ژن ها و مسیرهای بیوشیمیایی مسئول در کنترل ویژگیهای زراعی، سازگاری با شرایط نامساعد محیطی، مقاومت به تنش های زنده و غیر زنده و خواص کیفی فراهم آورده است. استفاده از اطلاعات ژنومی دو گیاه آرابیدپسیس و برنج به عنوان گیاهان مدل، نقش کلیدی در کاربرد اطلاعات حاصل از آنها در سایر گیاهان داشته است.

پروتئومیکس ابزار قدرتمندی را در شناسایی و بررسی ژن‌های پاسخ دهنده به تنش ارائه می دهد و در سال های اخیر استفاده از این راهکار جهت شناخت بیشتر ماهیت تنش های زنده و غیر زنده و کشف مکانیزم های دفاعی گیاهان جهت استفاده در برنامه های اصلاحی رشد چشمگیری یافته است.

هدف از این مطالعه، در ابتدا گزینش ژنوتیپ‌های مقاوم و حساس کلزای پاییزه بر اساس صفات

مورفولوژیکی، فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی بود. مقایسه الگوی پروتئینی نمونه‌های ریشه ژنوتیپ‌های مقاوم و حساس انتخابی از مرحله قبل و شناسایی پروتئین‌های پاسخ دهنده به تنش با استفاده از راهکار پروتئومیکس هدف بعدی این پژوهش را تشکیل دادند. استفاده از این اطلاعات در کنار داده‌های حاصل از سایر تکنیک های مولکولی، علاوه بر شناسایی دقیق‌تر اثرات خشکی روی گیاه و مکانیسم‌های مقاومت به خشکی در سطح مولکولی، می‌تواند بستر مناسبی را جهت اصلاح برای مقاومت به خشکی در کلزا و گیاهان مشابه دیگر فراهم آورد.

خشکی، شوری، سرما و گرما به عنوان تنشهای محیطی، اثر منفی روی رشد گیاهان دارند و تنش خشکی بیشتر از سایر تنش‌ها باعث کاهش رشد و عملکرد گیاهان می‌شود (یاماگوچی- شینوزاکی و همکاران، ۲۰۰۲). در گیاهان متعدد مانند کلزا (رائو و مندهام، ۱۹۹۱؛ هاشم و همکاران، ۱۹۹۸)، سویا (اسلون و همکاران، ۱۹۹۰)، برنج (ونوپراساد و همکاران، ۲۰۰۲) و سایر گیاهان (بلام و همکاران، ۱۹۹۶) ارتباط معنی‌داری بین برخی از خصوصیات مورفولوژیکی و فیزیولوژیکی تحت شرایط تنش خشکی گزارش گردیده است. در این فصل برخی از تحقیقات در مورد صفات مورفولوژیک، فیزیولوژیک ، بیوشیمیایی و زراعی مرتبط با تنش خشکی و نتایج حاصل از آنها مرور می گردد.

## ۱-۱- تنش خشکی

### ۱-۱-۱- سازگاری به خشکی

گیاهان بطور طبیعی در معرض تغییرات آب و هوایی قرار می گیرند. بنابراین سازگاری آنها به محیط برای ادامه بقای گیاهان ضروری است. سازگاری به خشکی عمدتاً از طریق مقاومت یا فرار از خشکی بوجود می‌آید و هر یک از این دو نیز به نوبه خود تحت تاثیر عوامل مختلف قرار می گیرند (بلام، ۱۹۸۸). مهمترین مکانیسم‌های سازگاری به خشکی عبارتند از :

۱- فرار از خشکی : فرار از خشکی ساده‌ترین راه سازگاری به شرایط خشکی است. در این حالت ژنوتیپ‌ها قبل از آغاز دوره کمبود آب، دوران رشد رویشی و زایشی خود را از طریق کاهش دوره رشد پشت سر می گذارند و بدون نیاز به مکانیسم خاصی برای غلبه بر تنش، محصول تولید می کنند. فرار از خشکی زمانی مفید است که فصل بارش قابل اعتمادی وجود دارد اما طول این فصل بارانی کوتاه است.

۲- مقاومت به خشکی : مقاومت به خشکی عبارت از تکمیل دوره رشد و زنده ماندن یک ژنوتیپ از نسلی به نسل دیگر تحت شرایط محدودیت آب قابل دسترس است و از دیدگاه زراعی می‌تواند به

صورت تولید اقتصادی یک محصول در شرایط محدودیت آب تعریف گردد. مقاومت به خشکی به دو طریق اجتناب از خشکی (به تاخیر انداختن پسابیدگی) و تحمل خشکی صورت می‌گیرد.

## ۲-۱-۱- اهمیت مطالعات تنش خشکی در کلزا

هرچند که رشد و عملکرد گیاهان تابع ساختار ژنتیکی آنها است ولی به شدت تحت تاثیر عوامل محیطی قرار می‌گیرد. کمبود آب اصلی‌ترین عامل محدود کننده تولیدات گیاهی در سطح جهان است (رائو و مندهام، ۱۹۹۱). در ایران نیز بخش عمده‌ای از اراضی کشاورزی در مناطق خشک و نیمه خشک متمرکز شده است و در این مناطق، توزیع بارندگی به نحوی است که مراحل گلدهی و پرشدن دانه در کلزا اغلب با خشکی مواجه می‌گردد (گریگور و منتیرو، ۱۹۹۸). کشور ما با وجود تولید حدود ۷۴۵ هزار تن دانه روغنی، بخش عمده‌ای از روغن مصرفی خود (حدود ۱ میلیون تن) را از خارج کشور تامین می‌کند و درصد خودکفائی در سال ۱۳۸۵-۱۳۷۰ با توسعه کشت کلزا از ۱۰ درصد به حدود ۱۸ درصد رسیده است (بی‌نام، ۲۰۰۷). بنابراین، توسعه کشت دانه‌های روغنی در راستای رسیدن به خودکفایی در زمینه روغن‌های خوراکی با کیفیت مناسب از اهمیت ویژه‌ای برخوردار است. در حال حاضر با بهبود کیفیت روغن و کنجاله کلزا و معرفی ارقام با عملکرد بالا و روغن مطلوب از نظر داشتن اسیدهای چرب ضروری و نداشتن اسیدهای چرب نامطلوب، این گیاه جزو دانه‌های روغنی مهم در جهان به شمار می‌آید و سطح زیر کشت آن به شدت رو به افزایش است (کرزمانسکی، ۱۹۹۸). به عنوان مثال، تولید جهانی کلزا از سال ۲۰۰۴ تا ۲۰۰۵ از ۳۶ میلیون تن به ۴۶ میلیون تن افزایش یافته است (فائو، ۲۰۰۷).

کمبود آب در کلزا باعث کاهش رشد و کاهش تولید محصول می‌گردد (کومار و سینگ، ۱۹۹۸). بنابراین، درک هر چه بهتر ویژگیهای فیزیولوژیک، مورفولوژیک و بیوشیمیائی مرتبط با تنش خشکی کمک شایان توجهی را برای رسیدن به تولید بیشتر و ایجاد ارقام مقاوم به کمبود آب می‌کند. برای

رسیدن به این هدف علاوه بر روشهای کلاسیک و متداول اصلاح نباتات بررسی دقیق مکانیسم‌های درگیر در واکنش گیاه به کمبود آب بسیار مهم می‌باشد.

## ۲-۱- ارتباط صفات مختلف با تنش خشکی

### ۱-۲-۱- عملکرد دانه و اجزای آن

عملکرد دانه در کلزا در طول دوره پس از گرده‌افشانی تعیین می‌گردد، زیرا تشکیل خورجین‌ها طی این مرحله صورت می‌گیرد. تنش خشکی باعث کاهش تعداد خورجین و حتی کاهش تعداد دانه در خورجین طی این مرحله می‌گردد (والتون، ۱۹۹۹). هاشم و همکاران (۱۹۹۸) گزارش کردند که عملکرد دانه کلزا تحت تنش کمبود آب در مرحله اول رویشی، مرحله آخر رویشی و مرحله گلدهی به ترتیب ۵۹ درصد، ۷۴ درصد و ۸۸ درصد کمتر از گیاهان بدون تنش بود. رائو و مندهام (۱۹۹۱) نشان دادند که با افزایش طول دوره گلدهی در شرایط مزرعه‌ای، تعداد دانه و تعداد خورجین نیز افزایش می‌یابد ولی در شرایط تنش خشکی با توجه به کم شدن زمان لازم برای رشد خورجین‌ها و پر شدن دانه‌ها، عملکرد دانه به شدت کاهش می‌یابد و تاثیر تنش خشکی در مرحله گلدهی باعث بیشترین کاهش عملکرد می‌گردد. تحقیقات دیگری نیز تاثیر منفی تنش خشکی را بر عملکرد دانه در کلزا نشان داده اند (شارما، ۱۹۹۲؛ کومار و سینک، ۱۹۹۸). جبران اجزای عملکرد[1]، مکانیسم با ارزشی است که به بهبود عملکرد در شرایط تنش و یا پس از اتمام دوره تنش کمک می‌کند. بطوریکه ممکن است در شرایط تنش، افزایش در وزن دانه به دنبال کاهش در تعداد دانه و یا افزایش در تعداد دانه به دلیل کاهش در تعداد خوشه رخ دهد (بلام و همکاران، ۱۹۹۶). معمولا تحت شرایط تنش، میانگین وزن دانه تغییر زیادی نمی کند و علت آن اثر جبرانی تعداد کم دانه در خورجین می‌باشد و معمولا تعداد دانه تعیین کننده عملکرد می‌باشد (فوکای و

[1] Yield component compensation

کوپر، ۱۹۹۵). ولی کومار و همکاران (۱۹۹۴) افزایش وزن ۱۰۰۰ دانه را تحت شرایط تنش خشکی در کلزا گزارش نمودند.

عملکرد دانه در کلزا با تعداد خورجین در بوته همبستگی بالایی دارد و تعداد خورجین نیز تابعی از تعداد شاخه، غنچه‌ها، گلها و میزان منابع غذایی در دسترس گیاه می‌باشد. در کلزا عملکرد دانه به شدت تحت تاثیر تعداد خورجین در بوته می‌باشد و تنش خشکی و دمای بالا در طول دوره گلدهی باعث کاهش تعداد خورجین و تعداد دانه می‌شود (رود و میجر، ۱۹۸۴). افزایش درصد عقیمی دانه‌ها در اثر تنش کمبود آب و همچنین رقابت دیواره خورجین‌ها با دانه‌های در حال رشد برای دریافت مواد فتوسنتزی، دلایل اصلی کاهش عملکرد دانه در اثر وقوع تنش خشکی هستند (فوکای و کوپر، ۱۹۹۵). افزایش رقابت و محدودیت مواد فتوسنتزی به هنگام وقوع تنش‌های محیطی، موجب سقط خورجین و کاهش عملکرد گیاه می‌شود (رایت و همکاران، ۱۹۹۶). کلارک و سیمپسون (۱۹۷۸) نشان دادند که بیشترین کاهش عملکرد و اجزای آن از قبیل تعداد خورجین و تعداد دانه در خورجین در مرحله گلدهی کلزا تا رسیدگی فیزیولوژیک تحت شرایط تنش خشکی اتفاق می‌افتد. معمولا میانگین وزن دانه در مقایسه با تعداد خورجین و تعداد دانه در خورجین کمتر تحت تاثیر محیط قرار می‌گیرند (کیلر و مورگان، ۱۹۸۸).

### ۲-۲-۱- وزن خشک بوته

عملکرد بیولوژیک گیاه شامل کل ماده خشک بخش هوایی و ریشه است. گزارشات مختلفی وجود دارد که بیانگر حساسیت بیشتر بخش هوایی گیاه به تنش خشکی است. دمای بالا و خشکی از طریق کاهش فتوسنتز و تبخیر و تعرق، باعث کاهش ماده خشک گیاهان می‌شود (جونز، ۱۹۹۲). بررسی مقایسه‌ای سازگاری گونه‌های *B. juncea* و *B. napus* تحت کاهش آب خاک نشان داده است که

حفظ فشار تورمی بالا در *B. juncea* عامل اصلی سازگاری این گونه به شرایط کم آبی می‌باشد. چون این امر باعث دوام بیشتر سطح برگ و درنتیجه تولید ماده خشک و در نهایت عملکرد بالاتر می‌شود (رایت و همکاران، ۱۹۹۶). گزارش شده است که در شرایط تنش، گیاهان دارای وزن خشک بالاتر، با انتقال مواد فتوسنتزی به ریشه و دانه تا حدودی از اثر تنش اجتناب می‌کنند (درسر و همکاران، ۲۰۰۳). گزارشات متعدد دیگری نیز در مورد کاهش وزن خشک گیاهان مختلف مانند کلزا (مرادشاهی و همکاران، ۲۰۰۴)، پنبه (باسال و همکاران، ۲۰۰۵)، لوبیا (بوترا و ساندرس، ۲۰۰۱) و چغندر قند (محمدیان و همکاران، ۲۰۰۵) تحت شرایط تنش خشکی وجود دارد.

### ۳-۲-۱- روابط آبی گیاه و تنظیم اسمزی[1]

گیاهان در سطوح مورفولوژیکی، آناتومیکی، سلولی و مولکولی به تنشهای محیطی پاسخ می‌دهند. اندازه‌گیری مقدار آب نسبی[2] (RWC)، پتانسیل آب برگ[3] و پتانسیل اسمزی[4] شاخص‌های وضعیت آبی گیاهان می‌باشند که در مدیریت و ارزیابی میزان تحمل به خشکی گیاهان مفید هستند (جونز، ۱۹۹۲). تعادل آب در گیاه بوسیله تغییر بین تعرق و جذب آب توسط ریشه کنترل می‌شود (سینکلر و لودلاو، ۱۹۸۵). لاولور (۲۰۰۲) گزارش کرد که کاهش RWC تحت تنش خشکی باعث کاهش هدایت روزنه‌ای و جذب $CO_2$ و در نتیجه کاهش رشد گیاه می‌شود. نتایج مشابهی در رابطه با کاهش RWC در گیاهانی نظیر کلزا (جنسن و همکاران، ۱۹۹۶)، سویا (لاکوز و گویمت، ۲۰۰۲) و بادام زمینی (آوال و ایکدا، ۲۰۰۲) گزارش شده است. گیاهان متحمل به کمبود آب، تحت شرایط تنش خشکی معمولا دارای RWC بالاتری نسبت به گیاهان حساس هستند که علت آن توانایی بیشتر گیاهان متحمل در جذب آب

[1] Osmotic Adjustment
[2] Relative Water Content
[3] Leaf water potential
[4] Osmotic potential