بسم الله الرحمن الرحيم

دانشگاه ایلام

دانشکده کشاورزی

گروه زراعت و اصلاح نباتات

پایان نامه کارشناسی ارشد (M.Sc) در رشته مهندسی کشاورزی

گرایش اصلاح نباتات

عنوان:

مطالعه مولکولی و آنالیز توالی ژن موثر در مقاومت به خشکی Wdhn13 (LEA) در گندم های زراعی نان، دوروم و گونه های دهنده ژنومی آنها

اساتید راهنما:

دکتر علی اشرف مهرابی - دکتر دانیال کهریزی

استاد مشاور:

دکتر علی اصغر نصراله نژاد قمی

گردآورنده:

مهران فلک ناز

بهمن ماه ۱۳۹۰

تقدیم به پیشگاه حضرت ولیعصر(عج)

و تقدیم به روح پاک پدرم

و

تقدیم به **مادر** فداکارم

کسی که وجودم برایش همه رنج و وجودش برایم همه مهر؛

کسی که توانش رفت تا به توانایی برسم و مویش سپید گشت تا روی سپید بمانم؛

کسی که فروغ نگاهش، گرمی کلامش و روشنی رویش

سرمایه جاودانه زندگی من است.

در برابر وجود گرامیش زانوی ادب بر زمین زده و با دلی مملو از عشق و محبت و

خضوع

بر دستانش بوسه می زنم

سپاسگزاری

بر آستان جانان سر گر توان نهادن　　گلبانگ سربلندی بر آسمان توان زد

سپاس بی کران حکیم سخن در زبان آفرین را که به این بنده حقیر خود فرصت آموختن عطا کرد و در سایه لطف کرم بی مثالش مجالی مجا کرد تا بتوانم بخشی از آموخته های خود را در قالب این پایان نامه ارائه نمایم.

ابتدا بر خود لازم می دانم که از زحمات بی دریغ اساتید راهنمای عزیزم جناب آقای دکتر علی اشرف مهرابی و جناب آقای دکتر دانیال کهریزی و همچنین استاد مشاور محترم جناب آقای دکتر علی اصغر نصرالله نژاد که در این راه همواره در کنار من بوده و گنجینه دانش گرانبهای خود را خالصانه در اختیار من قرار دادند و همیشه درهای جدیدی از دنیای علم و دانش را به روی من گشودند کمال تشکر و قدردانی را داشته باشم.

از خانواده عزیزم، به خصوص مادرم که در تمامی دوران زندگی و در طول دوره تحصیل همواره در کنار من بودند و همچنین از دوستان و برادرانم مهندس پرویز حیدری و مهندس هادی محمدی بابازیدی که در اجرای این پایان نامه مرا یاری دادند ممنون و سپاسگزارم. همچنین از سرکار خانم مهندس زارعی مسئول آزمایشگاه بیوتکنولوژی دانشگاه ایلام و همچنین از جناب آقای مهندس خیرالله یاری از اعضاء هیئت علمی مرکز تحقیقات بیولوژی پزشکی دانشگاه علوم پزشکی کرمانشاه نیز به پاس زحمات بیشمار این عزیزان در اجرای این پایان نامه کمال تشکر و قدردانی را دارم.

آشنایی با دوستانی خوب از جمله مهندس هادی خارستانی، مهندس مجتبی قوامی، مهندس محمدجواد مصطفی پور، مهندس سجاد منصوری، مهندس علی کرمی، مهندس حمزه شیرویی، مهندس ایوب تیموری، رسول عظیمی مهر، سید امیر کلانترزاده، نوید فلاح حق محمدی و همچنین خواهر خوبم سرکار خانم طاهره رستمی و دیگر دوستان عزیزم موهبتی از جانب خداوند بود که در این دوره به این جانب عطا شد و من هیچگاه خاطرات این دوستان خوب را از یاد نخواهم برد.

باشد که این یادآوری نمایان گر سپاس بی پایان من نسبت به زحمات تمامی کسانی باشد که در این راه پر فراز و نشیب مرا یاری دادند.

مهران فلک ناز - بهمن ۱۳۹۰

چکیده:

با توجه به اینکه خشکی یکی از معضلات کشاورزی امروز است و با توجه به اینکه گندم یکی از مهمترین محصولات زراعی است و بخش مهمی از زنجیره غذایی انسان را به خود اختصاص داده و همچنین اینکه سطح زیر کشت آن در کشور ما بالاست و کشور ما نیز در کمربند خشک و نیمه خشک قرار دارد، لذا مطالعات در زمینه مقاومت به خشکی حائز اهمیت است. با توجه به اینکه توالی ژن Wdhn13 که یکی از ژن های مقاومت به خشکی بوده و باعث سنتز پروتئین LEA در گندم می شود تنها در گندم نان (*Triticum aestivum*) توالی یابی شده لزوم مطالعه و انجام این طرح جهت بدست آوردن آلل های جدیدی از این ژن در گونه های زراعی و وحشی گندم از جمله گندم های دیپلوئید، تتراپلوئید و هگزاپلوئید جهت شناسایی و توالی یابی و انتقال به گونه های حساس حائز اهمیت است. در این تحقیق از گندم های زراعی نان گنبد، سرداری، دروم شوش، دروم بروجرد و گندم های وحشی اورارتو، دیکوکوئیدز، تائوشی و اسپلتوئیدز استفاده شد، که پس از PCR توسط آغازگر اختصاصی طراحی شده از روی توالی ژن Wdhn13 موجود در NCBI نمونه های زراعی نان گنبد، سرداری، دوروم شوش، دوروم گنبد و همچنین گونه های زراعی اورارتو و دیکوکوئیدز ژن مورد نظر را تکثیر کردند. پس از مطالعه بیوانفورماتیکی توالی ژن Wdhn13 در گندم های دارای ژن مورد نظر بر اساس توالی DNA مشخص شد که توالی این ژن Wdhn13 در گندم سرداری با توالی ژن Wdhn13موجود در NCBI بیشترین شباهت و توالی ژن Wdhn13 در گندم اورارتو کمترین شباهت را با توالی ژن Wdhn13 موجود در NCBI دارد. آنالیز ها در سطح پروتئین بیانگر این بود که گندم سرداری و گندم دوروم بروجرد بیشترین شباهت و گندم اورارتو کمترین شباهت را در ارتباط با ژن Wdhn13 با توالی ژن Wdhn13 موجود در NCBI دارد. علت این تفاوت هم تغییرات در اسید آمینه ها بر اساس تغییرات در توالی DNA نمونه ها می باشد. همردیفی از طریق نرم افزار BLAST و درخت فیلوژنتیکی رسم شده بر اساس الگوریتم UPGMA نیز موید این نتیجه بودند. همچنین درخت فیلوژنتیکی رسم شده سیر تکاملی منطقی را در ارتباط با این ژن برای اشتقاق گونه های دیپلوئید، تتراپلوئید و هگزاپلوئید نشان داد. جدول فاصله توالی ها نیز موید این بود که نتایج BLAST و درخت فیلوژنتیک بر هم منطبق می باشند.

عنوان | صفحه

فصل اول:

۱-۱- مقدمه ۱

۱-۲- اهداف ۲

فصل دوم:

۲-۱- خشکی ۵

۲-۱-۱-مکانیزم های مقاومت به خشکی ۵

۲-۱-۲- ژنتیک مقاومت به خشکی ۷

۲-۱-۳- اصلاح مقاومت به خشکی ۸

۲-۱-۴- روشهای ارزیابی مقاومت به خشکی ۹

۲-۱-۵- رهیافت های بیوتکنولوژی برای مقاومت به خشکی ۱۰

۲-۱-۵-۱- روش هدفمند ۱۰

۲-۱-۵-۲- روش تصادفی ۱۲

۲-۱-۶- انتخاب به کمک نشانگر ۱۲

۲-۲- گندم ۱۳

۲-۲-۱- پراکنش جغرافیایی گندم ۱۴

۲-۲-۲- انتقال ژنهای مفید از خویشاوندان وحشی به گندم ۱۵

۲-۲-۳- منشاء ژنوم گندم ۱۵

۲-۲-۳-۱- منشاء ژنوم A ۱۵

۲-۲-۳-۲- منشاء ژنوم D ۱۶

عنوان | صفحه

۲-۲-۳-۳- منشاء ژنوم B ۱۷

۲-۲-۴- روابط فیلوژنتیکی گونه‌ها ۲۰

۲-۲-۵- طبقه بندی و ساختار ژنومی تریتیکوم ۲۰

۲-۲-۶- صفات مرتبط با مقاومت به تنش خشکی در گندم ۲۴

۲-۳- پروتئین LEA و مقاومت به تنش‌های محیطی ۲۵

۲-۳-۱- پروتئین LEA ۲۵

۲-۳-۱-۱- دسته بندی پروتئین‌های LEA ۲۶

۲-۳-۱-۲- گروهبندی پروتئین‌های LEA ۲۶

۲-۳-۲- بیان ژنهای سنتزکننده پروتئین LEA وساختار پروتئین ۲۸

۲-۳-۳- ارتباط پروتئین های LEA با مقاومت به تنش‌های محیطی ۲۹

۲-۴- مروری بر مطالعات انجام گرفته ۳۰

۲-۵- ژن Wdhn13 ۳۵

۲-۶- بیوانفورماتیک ۳۵

۲-۶-۱- پیشرفت علم بیوانفورماتیک ۳۷

۲-۶-۱-۱- تعامل بیوانفورماتیک با سایر رشته‌ها ۳۷

۲-۶-۲- پدیدار شدن دورنمای سیستم نرم افزاری بیو انفورماتیک ۳۸

۲-۶-۳- زمینه‌های مهم بیوانفورماتیک ۳۹

۲-۶-۴- موضوعات سیستم نرم افزاری بیوانفورماتیک ۴۰

۲-۶-۵- تاریخچه بیوانفورماتیک ۴۰

عنوان | صفحه

۲-۶-۶- نقش بیوانفورماتیک ۴۲

۲-۶-۷- بیوانفورماتیک ابزاری برای تحلیل حیات در سطح مولکولی ۴۲

۲-۶-۸- ابزار های وب و منابع بیو انفورماتیک ۴۳

۲-۶-۹- پایگاه داده ۴۳

۲-۶-۱۰-NCBI ۴۴

۲-۶-۱۱- ماهیت داده های زیستی ۴۴

۲-۶-۱۲- زیست شناسی مولکولی برای دانشمندان کامپیوتر ۴۵

۲-۶-۱۳- مدل سازی کامپیوتر و شبیه سازی ۴۵

۲-۶-۱۴- رشد و نمو تکنولوژی ۴۶

۲-۵-۱۵- کاربرد های بیوانفورماتیک در کشاورزی ۴۶

فصل سوم:

۳-۱- مواد گیاهی ۴۹

۳-۲- استخراج DNA ژنومی و PCR با پرایمر تخصصی ۴۹

۳-۲-۱- تعیین کیفیت وکمیت DNA ژنومی استخراج شده ۵۲

۳-۲-۲- خالص سازی باند مورد نظر ۵۶

۳-۲-۲-۱-خالص سازی از طریق محصول PCR ۵۶

۳-۲-۲-۲- خاص سازی از طریق برش باند از روی ژل آگارز ۵۷

۳-۳- آنالیز های بیو انفورماتیکی ۵۹

عنوان | صفحه

فصل چهارم:

۴-۱- نتایج اولیه ۶۱

۴-۲- تکثیر ژن Wdhn13 در ژنوم های گندم با آغازگر اختصاصی ۶۳

۴-۳- توالی یابی ژن تکثیر یافته Wdhn13 درگونه های مختلف گندم ۶۴

۴-۴- نتایج مقایسات بیوانفورماتیکی ۶۵

۴-۴-۱- نتایج بدست آمده در سطح DNA و پروتئین ۶۵

۴-۵- تعیین میزان شباهت نمونه ها از نظر ژن Wdhn13 ۷۲

۴-۶- آنالیز های فیلوژنتیکی ۷۵

۴-۶-۱- آنالیز فیلوژنتیکی بر اساس توالی DNA ۷۵

۴-۶-۲- آنالیز فیلوژنتیکی بر اساس توالی پروتئین ۷۶

۴-۷- نتیجه گیری نهایی ۷۸

پیشنهادات ۷۹

منابع:

منابع فارسی ۸۱

منابع انگلیسی ۸۲

شکل ها

عنوان صفحه

شکل ۲-۱- نقشه پراکنش جغرافیایی گندم در سطح جهانی ۱۵

شکل ۲-۲- ساختار پروتئین LEA در بانک اطلاعات پروتئینی(PDB) ۲۹

شکل-۳-۱- دستگاههای مورد استفاده جهت تعیین کیفیت DNA ۵۳

شکل-۳-۲- بخشی از گراف تعیین توالی ژن Wdhn13 در گونه گندم نان گنبد ۶۰

۴-۱- نتایج و کیفیت استخراج نمونه های مورد استفاده ۶۱

۴-۲- نتایج PCR برای DNA گندم استخراج شده جهت لطمینان از پرایمر و به

دست آوردن دمای تکثیر پرایمر ۶۲

۴-۳- تکثیر ژن Wdhn13 از طریق PCR با *pfu* polymerase و پرایمر تخصصی

در گندم های مختلف ۶۳

۴-۴- بخشی از گراف تعیین توالی ژن Wdhn13 در گونه گندم نان گنبد ۶۴

۴-۵- نتیجه همردیفی توالی ژن Wdhn13 گندم اورارتو با توالی موجود در NCBI ۶۶

۴-۶- نتیجه همردیفی توالی ژن Wdhn13 گندم دیکوکوئیدز با توالی موجود در NCBI ۶۷

۴-۷- نتیجه همردیفی توالی ژن Wdhn13 گندم دروم بروجرد با توالی موجود در NCBI ۶۸

۴-۸- نتیجه همردیفی توالی ژن Wdhn13 گندم دروم شوش با توالی موجود در NCBI ۶۹

۴-۹- نتیجه همردیفی توالی ژن Wdhn13 گندم نان گنبد با توالی موجود در NCBI ۷۰

۴-۱۰- نتیجه همردیفی توالی ژن Wdhn13 گندم سرداری با توالی موجود در NCBI ۷۱

۴-۱۱- نتایج هم ردیفی توالی های بدست آمده با توالی موجود در NCBI در سطح DNA ۷۳

عنوان صفحه

۴-۱۲- نتایج هم ردیفی توالی های بدست آمده با توالی موجود در NCBI در سطح پروتئین ۷۴

۴-۱۳- درخت فیلوژنتیکی نمونه ها بر اساس الگوریتم UPGMA برای ژن Wdhn13

در نمونه های گندم مورد مطالعه بر اساس توالی ۷۵

۴-۱۴- ماتریس فاصله های نمونه ها برای ژن Wdhn13 در نمونه های گندم مورد مطالعه

بر اساس توالی DNA ۷۶

۴- ۱۵- درخت فیلوژنتیکی نمونه ها بر اساس الگوریتم UPGMA برای ژن

Wdhn13 در نمونه های گندم مورد مطالعه بر اساس توالی پروتئین ۷۷

۴- ۱۶- ماتریس فاصله های نمونه ها برای ژن Wdhn13 در نمونه های گندم مورد مطالعه

بر اساس توالی پروتئین ۷۷

جداول

عنوان صفحه

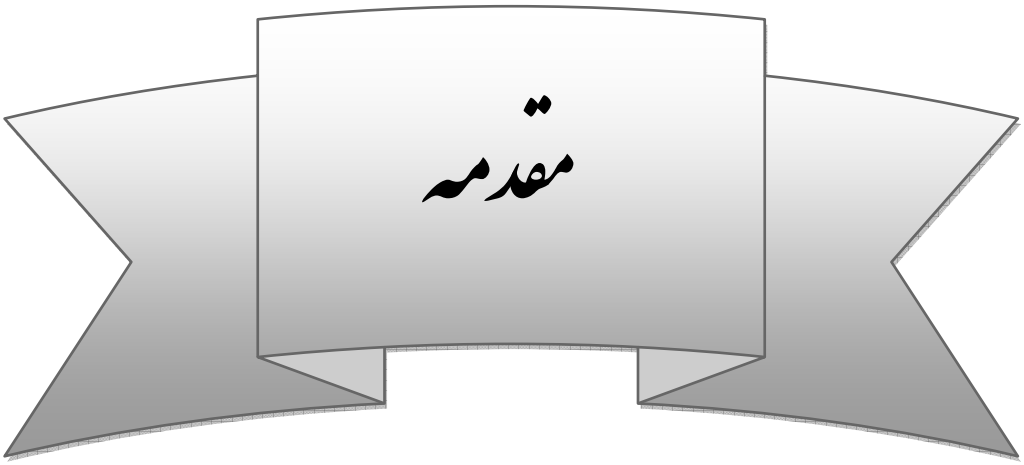
جدول۲-۱ گونه‌های جنس تریتیکوم و ساختار ژنومی آن‌ها ۱۴

جدول ۳-۱- انواع گندم مورد استفاده در این تحقیق ۴۹

جدول ۳-۲- اجزاء تشکیل دهنده بافر استخراج DNA ۵۲

جدول ۳-۳- مستر میکس مورد استفاده برای PCR ۵۴

جدول ۳-۴- مستر میکس مورد استفاده برای PCR نمونه ها با آنزیم pfu ۵۶


مقدمه

۱-۱- مقدمه

خشکی در واقع یک رویداد هواشناختی است که با عدم وقوع بارندگی در یک دوره زمانی همراه می باشد، دوره ای که به اندازه کافی بلند است تا باعث تخلیه رطوبتی خاک و تنش کمبود آب همراه با کاهش پتانسیل آب در بافت های گیاهی گردد. اما از دیدگاه کشاورزی، خشکی عبارت است از ناکافی بودن مقدار و توزیع آب قابل استفاده در طی دوره رشد گیاه که این امر موجب کاهش بروز توان کامل ژنتیکی گیاه می گردد. خشکی عامل اصلی محدود کننده تولیدات کشاورزی می باشد که گیاه را از رسیدن به حداکثر توان محصول دهی باز می دارد. اثر خشکی بر عملکرد و درآمد نهایی زارع کاملاً شناخته شده است. اغلب گیاهان زراعی بویژه در طی دوره گلدهی تا نمو بذر به تنش کمبود آب حساسند. حتی گیاهانی مانند ارزن دم روباهی، سورگوم و لوبیا چشم بلبلی نیز که در نواحی خشک و نیمه خشک کشت می شوند در مرحله زایشی تحت تاثیر تنش خشکی قرار می گیرند.

تنش خشکی مانع از تظاهر کامل پتانسیل ژنتیکی گیاهان زراعی می شود و از اینرو موجب کاهش تولیدات گیاهی می گردد. در مقاومت به خشکی سه مکانیزم دخالت دارند که عبارتند از: فرار از خشکی، اجتناب از خشکی و تحمل خشکی. علاوه بر این ها صفات مختلف مورفولوژیکی، فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی، باعث ایجاد مقاومت به خشکی می شوند. نحوه توارث (تک ژنی و چند ژنی بودن) و نحوه عمل ژن (افزایشی و غیر افزایشی بودن) در صفات مورفولوژیکی و فیزیولوژیکی متفاوت است. با این حال، ژن های مسئول بیوسنتز انواع مواد محلول سازگار[1] شناسایی و از موجودات مختلفی همچون گیاهان، مخمر، موش و انسان همسانه سازی شده اند. روش های اصلاحی مختلفی برای مقاومت به خشکی وجود دارند که هریک دارای مزایا و معایبی هستند. شناسایی و انتقال ژن های مسئول بیوسنتز متابولیت های متعددی همچون پرولین، ترهالوز و پلی آمین ها از موجودات مختلف به گیاهان زراعی از طریق مهندسی ژنتیک به طور موفقیت آمیزی صورت گرفته است. به عنوان مثال ژنهای مسئول سنتز پروتئین های فراوان در اواخر دوره جنینی[2] که از جو گرفته شده و از طریق روش تفنگ ژنی[3] به برنج منتقل شده و منجر به تولید برنج تراریخت مقاوم به خشکی شده است.

---

[1] - Compatible solution
[2] - Late embryogenesis abundant protein
[3] - Shotgun

در کشاورزی، مقاومت به خشکی عبارت است از توانایی یک گیاه زراعی برای تولید محصول اقتصادی با حداقل کاهش عملکرد در شرایط تنش نسبت به شرایط بدون تنش (۵).

به لحاظ اینکه بخش قابل توجهی از اراضی زیر کشت گندم در ایران در مناطق خشک و نیمه خشک قرار گرفته و همچنین این مناطق دارای دامنه‌ای از تنش‌های زیستی (از جمله آفات، بیماری‌ها) و تنش‌های غیرزیستی (از جمله خشکی، شوری و ...) می باشد (۴)، لذا با توجه به این موضوع شناسایی ژن و آلل های ژن مقاومت به خشکی از طریق روش های بیوانفورماتیکی و سر انجام انتقال آن به گونه های حساس می تواند باعث افزایش مقاومت به خشکی گردد.

بیوانفورماتیک[۴] شاخه ای از علم زیست شناسی است که به ذخیره، تجزیه و تحلیل و تفسیر اطلاعات ازمایشگاهی می پردازد. امروزه به دلیل تولید انبوه اطلاعات در علم زیست شناسی به کامپیوتر نیاز می باشد. ابزار بیوانفورماتیک شامل کامپیوترها، پایگاه های اطلاعاتی و روش ها و الگوریتم های آماری هستند که برای تجزیه و تحلیل داده ها به کار می روند. اهداف بیوانفورماتیک، استخراج اطلاعات و شناسایی روابط بین مجموعه داده هاست که داده ها در اغلب موارد شامل توالی های اسیدهای نوکلئیک و اسیدآمینه، ساختار های پروتئینی، پروفایل های بیان ژن، مسیر های متابولیکی یا بیوشیمیایی هستند. در واقع ترکیبی از علوم زیست شناسی، کامپیوتر و ریاضیات موجب ایجاد این علم جدید شده است(۳).

۱-۲- اهداف

با توجه به اینکه خشکی یکی از معضلات کشاورزی امروز است و با توجه به اینکه گندم یکی از مهمترین محصولات زراعی است و بخش مهمی از زنجیره غذایی انسان را به خود اختصاص داده و همچنین اینکه سطح زیر کشت آن در کشور ما بالاست و کشور ما نیز در کمربند خشک و نیمه خشک قرار دارد، لذا مطالعات در زمینه مقاومت به خشکی حائز اهمیت است. با توجه به اینکه ژن Wdhn13 که یکی از ژن های مقاومت به خشکی بوده و باعث سنتز پروتئین LEA در گندم می شود تنها در گندم نان[۵] توالی یابی شده لزوم مطالعه و انجام این طرح جهت بدست آوردن آلل های جدیدی از این ژن در گونه های زراعی و وحشی گندم از جمله گندم های دیپلوئید، تتراپلوئید و هگزاپلوئید با هدف شناسایی و توالی یابی و انتقال به گونه های حساس حائز اهمیت است

---

[4] - Bioinformatics

[5]- Triticum aestivum

اهداف اصلی این تحقیق عبارتند از:

- بررسی وجود ژن Wdhn13در گندم ارقام وحشی اورارتو[۶]، دیکوکوئیدز[۷]، تائوشی[۸] و اسپلتوئیدز[۹] و ارقام زراعی نان[۱۰]، سرداری[۱۱] و دوروم[۱۲]
- تعیین توالی ژن Wdhn13در گندم گندم ارقام وحشی اورارتو، دیکوکوئیدز، تائوشی و اسپلتوئیدز و ارقام زراعی نان سرداری و دوروم
- همردیفی و مقایسه ژن Wdhn13در گندم گندم ارقام وحشی اورارتو، دیکوکوئیدز، تائوشی و اسپلتوئیدز و ارقام زراعی نان سرداری و دوروم با توالی ژن Wdhn13مربوط به گندم نان موجود در پایگاه اطلاعات ژنتیکی NCBI
- معرفی توالی ژنWdhn13 در گندم گندم ارقام وحشی اورارتو، دیکوکوئیدز، تائوشی و اسپلتوئیدز و ارقام زراعی نان سرداری و دوروم به پایگاه های اطلاعاتی

---

[6] -Triticum urartu
[7] - Triticum dicocoides
[8] - Aegilops tauschii
[9] - Aegilops speltoides
[10] - Triticum aestivum
[11] - Triticum aestivum CV sardari
[12] - Triticum durum

کلیات و بررسی منابع

۲-۱- خشکی

خشکی[۱۳] در واقع یک رویداد هوا شناختی است که با عدم وقوع بارندگی در یک دوره زمانی همراه می‌باشد، دوره ای که به اندازه کافی بلند است تا باعث تخلیه رطوبتی خاک و تنش کمبود آب همراه با کاهش پتانسیل آب در بافت‌های گیاهی گردد. اما از دیدگاه کشاورزی، خشکی عبارت است از ناکافی بودن مقدار و توزیع آب قابل استفاده در طی دوره رشد گیاه که این امر موجب کاهش بروز توان کامل ژنتیکی گیاه می‌گردد. خشکی عامل اصلی محدود کننده تولیدات کشاورزی می‌باشد که گیاه را از رسیدن به حداکثر توان محصول دهی باز می‌دارد(۹).

اثر خشکی بر عملکرد و درآمد نهایی زارع کاملاً شناخته شده است. اغلب گیاهان زراعی به ویژه در طی دوره گل دهی تا نمو بذر به تنش کمبود آب حساس می‌باشند. حتی گیاهانی مانند ارزن دم روباهی[۱۴]، سورگوم[۱۵] و لوبیا چشم بلبلی[۱۶] نیز که در نواحی خشک و نیمه خشک کشت می‌شوند در مرحله زایشی تحت تأثیر تنش خشکی قرار می‌گیرند. در کشاورزی، مقاومت به خشکی عبارت است از توانایی یک گیاه زراعی برای تولید محصول اقتصادی با حداقل کاهش عملکرد در شرایط تنش نسبت به شرایط بدون تنش (۹).

۲-۱-۱- مکانیزم‌های مقاومت به خشکی

از نظر ژنتیکی، مکانیزم‌های مقاومت به خشکی[۱۷] را می‌توان به سه دسته تقسیم کرد که این مکانیسم‌ها عبارتند از فرار از خشکی، اجتناب از خشکی و تحمل به خشکی (۹ و ۱۰). با وجود این ، گیاهان زراعی معمولاً بیش از یک مکانیزم را برای مقاومت در برابر خشکی بکار می‌گیرند.

فرار از خشکی[۱۸] عبارت است از توانایی یک گیاه برای کامل کردن چرخه زندگی خود قبل از گسترش تنش کمبود آب در خاک و گیاه. این مکانیزم شامل توسعه سریع فنولوژیک (زود گل دهی و زود رسی)، انعطاف پذیری نموی (تنوع در طول دوره رشد بسته به شدت تنش کمبود آب) و انتقال فراورده های فتوسنتزی ما قبل گل دهی به دانه.

---

[13]-Drought
[14]-*Setaria Italica*
[15]-*Sorghum bicolor*
[16]-*Vigna unguiculata*
[17]-Drought resistance
[18]-Drought escape

اجتناب از خشکی[1] عبارت است از توانایی گیاه برای حفظ پتانسیل آب نسبتاً بالا در بافت‌ها علی رغم وجود کمبود رطوبت در خاک.

تحمل به خشکی[2] عبارت است از توانایی گیاه برای مقابله با کمبود آب با پایین آوردن پتانسیل آب بافت‌ها. اجتناب از خشکی از طریق مکانیزم‌های بهبود جذب آب، ذخیره سازی آب در سلول‌های گیاهی و کاهش از دست رفتن آب تحقق می‌یابد (۹ و ۱۰).

واکنش گیاهان در برابر تنش کمبود آب تعیین کننده میزان تحمل به خشکی آن‌هاست. به عنوان مثال، برخی ژنوتیپ‌های چغندر قند که ریشه های عمیق‌تری دارند قادر به جذب آب بیشتری بوده و دیرتر پژمرده می‌شوند و در شرایط خشکی تنوع ژنتیکی برای میزان پژمردگی، سرعت رشد برگ، تنظیم اسمزی و هدایت روزنه ای در واریته های مختلف چغندر قند مشاهده شده است (۷).

اجتناب از خشکی با دو روش صورت می‌گیرد: روش اول: حفظ آماس با افزایش عمق ریشه، سیستم ریشه ای کارآمد و افزایش هدایت هیدرولیکی، روش دوم: کاهش هدر رفتن آب با کاهش هدایت اپیدرمی (روزنه ای و عدسی)، کاهش جذب نور از طریق لوله ای شدن یا تا خوردن برگ‌ها، و کاهش سطح برگ برای پایین آوردن میزان تبخیر (۹ و ۱۰). در شرایط تنش خشکی، گیاهان با متعادل کردن حفظ آماس و کاهش هدر رفتن آب زنده می‌مانند. مکانیزم‌های تحمل به خشکی عبارتند از حفظ آماس از طریق تنظیم اسمزی (فرایندی که باعث تجمع مواد محلول در سلول می‌گردد)، افزایش اتساع پذیری سلول، کاهش اندازه سلول و تحمل در برابر آب کشیدگی از طریق مقاومت پروتوپلاسمی(۹ و ۱۰).

متأسفانه اغلب این سازگاری‌ها دارای معایبی هستند. ژنوتیپی که دوره رشد کوتاهی دارد معمولاً کم محصول تر از ژنو تیپ دیگری با دوره رشد معمولی می‌باشد. مکانیزم‌هایی که باعث

مقاومت به خشکی از طریق کاهش هدر رفتن آب می‌شوند (مانند بسته شدن روزنه‌ها و کاهش سطح برگ) معمولاً منجر به کاهش جذب دی اکسید کربن می‌گردند.(۹ و ۱۰)

---

[1]-Drought avoidance
[2]-Drought tolerance

تنظیم اسمزی با حفظ آماس گیاه مقاومت به خشکی را افزایش می‌دهد اما افزایش غلظت مواد محلول که تنظیم اسمزی را موجب می‌شود می‌تواند علاوه بر انرژی لازم برای تنظیم اسمزی اثرات نامطلوبی نیز در پی داشته باشد. در نتیجه، سازگاری گیاه باید ضمن حفظ محصول دهی مناسب، منعکس کننده تعادل میان فرار، اجتناب و تحمل به خشکی باشد.(۹ و ۱۰).

۲-۱-۲- ژنتیک مقاومت به خشکی

مقاومت به خشکی صفت پیچیده ای است که بروز آن بستگی به عمل و عکس‌العمل میان صفات مختلف مورفولوژیکی (زودرسی، کاهش سطح برگ، لوله ای شدن برگ، میزان موم، سیستم ریشه ای کارآمد، ریشک دار بودن، پایداری عملکرد و کاهش پنجه زنی)، فیزیولوژیکی (کاهش تعرق، افزایش راندمان مصرف آب، بسته شدن روزنه‌ها و تنظیم اسمزی)، و بیوشیمیایی (تجمع پرولین، پلی آمین، ترهالوز و غیره، افزایش فعالیت آنزیم نیترات ردوکتاز و افزایش ذخیره سازی کربوهیدرات‌ها) دارد. مکانیزم‌های ژنتیکی کنترل کننده این صفات چندان شناخته شده نیستند. (۹ و ۱۰).

شناسایی ژن‌های کنترل کننده صفات مورفولوژیکی و فیزیولوژیکی و محل آن‌ها در روی کروموزوم‌ها امکان پذیر بوده و نحوه توارث آن‌ها و ماهیت عمل ژن گزارش گردیده است. طول و تراکم ریشه‌ها به وسیله آللهای غالب و ضخیم بودن رأس ریشه به وسیله آلل های مغلوب کنترل می‌شود. با این وجود، لوله ای شدن برگ و تنظیم اسمزی وراثت تک ژنی نشان داده‌اند. تومار و پراسد(۱۹۹۶) یک ژن مقاومت به خشکی بنام *Drt1* را در برنج گزارش دادند که با ژن‌های ارتفاع بوته، رنگدانه و ریشک دار بودن پیوستگی دارد و دارای اثر پلیوتروپی بر روی سیستم ریشه می‌باشد. در لوبیا چشم بلبلی نیز گزارش شده است که مقاومت به خشکی به وسیله یک ژن غالب کنترل می‌شود (۹).

اگرچه گزارش های دیگری در این زمینه برای سایر صفات وجود دارد، تحقیقات بیشتری لازم است تا کنترل ژنتیکی صفات مورفولوژیکی و فیزیولوژیکی موثر در مقاومت به خشکی روشن‌تر شود.

علاوه بر تغییرات مورفولوژیکی و فیزیولوژیکی، تغییرات بیوشیمیایی نیز از جمله القای بیوسنتز مواد محلول سازگار روشی برای بیان وقوع تنش خشکی می‌باشد. در شرایط تنش خشکی، گیاهان سعی می‌کنند محتوای آب خود را با انباشته کردن مواد محلول متعدد که غیر سمی بوده و خللی در فرایندهای گیاه ایجاد نمی‌کنند حفظ نمایند. به این خاطر این مواد را مواد محلول سازگار می‌نامند. بعضی از آن‌ها عبارتند از فروکتان، ترهالوز، پلیول ها، گلایسین بتایین، پرولین و پلی آمین‌ها (۹ و ۱۰). ژن‌های مختلفی که مسئول آنزیم‌های دخیل در بیوسنتز این مواد محلول هستند شناسایی شده و از موجودات مختلف از جمله باکتری‌ها، مخمر، انسان و گیاه همسانه سازی شده‌اند.

۲-۱-۳- اصلاح مقاومت به خشکی

سه روش برای اصلاح مقاومت به خشکی وجود دارد. روش اول عبارت است از اصلاح برای عملکرد بالا در شرایط بدون تنش. از آنجایی که انتظار می‌رود حداکثر پتانسیل ژنتیکی عملکرد در شرایط بدون تنش تحقق یابد و همبستگی مثبت بالایی بین عملکرد در شرایط تنش و بدون تنش وجود دارد، ژنوتیپی با عملکرد بالا در شرایط بدون تنش عملکرد نسبتاً بالایی نیز در شرایط تنش خواهد داشت. این فلسفه اصلی این روش می‌باشد. با وجود این ، مفهوم بروز حداکثر پتانسیل ژنتیکی در شرایط بدون تنش مورد بحث می‌باشد زیرا اثر متقابل ژنوتیپ و محیط می‌تواند مانع از رسیدن ژنوتیپ پر محصول به عملکرد بالا در شرایط تنش خشکی گردد. بنابراین، روش دوم یعنی اصلاح برای عملکرد بالا در شرایط تنش خشکی واقعی پیشنهاد شده است اما مشکل این روش آن است که شدت تنش خشکی از سالی به سال دیگر و در نتیجه، فشار انتخاب محیطی بر روی مواد اصلاحی از نسلی به نسل دیگر بسیار متغیر است. این مسئله همراه با وراثت پذیری پایین عملکرد موجب پیچیدگی و کند شدن برنامه اصلاحی می‌گردد(۹ و ۱۰). روش سوم که می‌تواند جایگزینی برای دو روش مذکور باشد عبارت است از اصلاح مقاومت به خشکی در ژنوتیپ های پر محصول با وارد کردن مکانیزم‌های مورفولوژیکی و فیزیولوژیکی مقاومت به خشکی.

انتقال مقاومت به خشکی به ژنوتیپ های پر محصول پیچیده است زیرا اساس فیزیولوژیکی و ژنتیکی سازگاری به شرایط تنش خشکی کاملاً معلوم نیست. برعکس، اصلاح پتانسیل عملکرد یک ژنوتیپ مقاوم می‌تواند روش امیدبخش‌تری باشد به شرط اینکه تنوع ژنتیکی در داخل چنین ژنوتیپی وجود داشته باشد. برای دستیابی به ژنوتیپ های مقاوم به خشکی و پر محصول می‌توان از