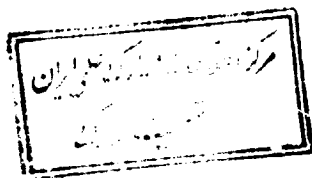


بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ

۱۳۸۰ / ۴ / ۲۰



دانشگاه شهید باهنر کرمان
دانشکده علوم - بخش زیست شناسی

پایان نامه تحصیلی برای دریافت درجه کارشناسی ارشد

موضوع پایان نامه :

بررسی فیزیولوژیکی مقاومت به سرما در پنج رقم پسته رفسنجان

نگارش:

سید محمد حسینی

اساتید راهنما:

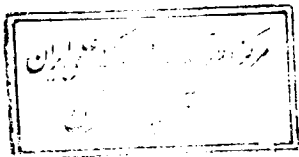
دکتر خسرو منوچهری کلانتری

دکتر ابراهیم نوروزیان

012175

۳۵۳۳۹

شهریور ماه ۱۳۷۹



این پایان نامه

به عنوان یکی از شرایط احراز درجه کارشناسی ارشد
به

بخش زیست شناسی
دانشکده علوم، دانشگاه شهید باهنر کرمان

تسلیم شده است و هیچ گونه مدرکی به عنوان فراغت از تحصیل دوره مذکور شناخته نمی شود.

امضاء
نوروزیان
ع ۱۶۱۱

دانشجو: سید محمد حسینی صفی آباد
اساتید راهنما: دکتر خسرو منوچهری کلانتری
دکتر ابراهیم نوروزیان
استاد مشاور: دکتر محمد جواد آروین

داور ۱: دکتر محمد تقی آساد
داور ۲: دکتر علی احمدی مقدم



حق چاپ محفوظ و متعلق به مولف است

تقدیم...

تقدیم به همسر عزیز و پدر و مادر گرامیم که در مدت تحصیل با راهنمائیها و صبر خود مرا یاری کرده و از هیچ کوششی در این راه دریغ ننموده‌اند.

تشکر و قدردانی:

با سپاس به درگاه خداوند که به من سعادت کوشش در راه کسب علم و دانش را عطا فرمود. در ابتدا لازم است از راهنمائیهای استاد گرامی جناب آقای دکتر خسرو منوچهری کلانتری که در طی این دوره با قبول راهنمائی این پایان نامه مرا یاری نموده و با تجربیات ارزنده خود مرا در پیشبرد فعالیتهای تحقیقاتی راهنمائی نموده‌اند کمال تشکر را بعمل آورم.

از زحمات استاد ارجمند جناب آقای دکتر ابراهیم نوروزیان جهت راهنمائی، مساعدت‌های بی دریغ علمی و عملی لازم در ارتباط با رساله حاضر سپاسگزاری می‌نمایم. از استاد بزرگوار جناب آقای دکتر محمد جواد آروین که مشاوره این پژوهش را برعهده داشتند و مرا در کلیه مراحل از نظریات ارزشمندشان بهره‌مند ساختند تشکر می‌نمایم.

از مساعدت و عنایت آقای دکتر عبدالحمید شوشتری ریاست محترم بخش زیست‌شناسی و آقای دکتر محمدرضا خواجه، آقای مهندس پورسیدی، خانم دکتر وحیده ناظری و سرکار خانم وفادوست و سایر اساتید بخش زیست‌شناسی که با بذل توجه مسئولانه چه در طی تحصیل و چه در رفع مشکلات این پایان نامه مرا یاری نموده‌اند نهایت تشکر را دارم. از مساعدت و عنایت آقای مهندس فریور ریاست محترم تحقیقات پسته کشور، آقای مهندس علی اسماعیل‌پور معاونت محترم تحقیقات پسته و آقای مهندس سید جواد حسینی فرد و آقای مهندس علیپور و سایر دوستان که مرا در جمع آوری نمونه و مطالب یاری نموده‌اند سپاسگزارم.

از اساتید محترم آقای دکتر اساد و آقای دکتر علی احمدی که وقت گرانمایه خود را برای مطالعه پایان نامه اینجانب صرف نموده‌اند و با نظرات اصلاحی خود اشکالات موجود را رفع کردند صمیمانه سپاسگزارم.

از محبت‌های صمیمانه دوستان عزیز آقای رضا کوچکزاده، خانم کرامت، خانم نادرنژاد، خانم رضانژاد، خانم قطب‌الدینی، آقای طاهرنژاد، آقای باقری و آقای حسنی کمال امتنان را دارم.

در خاتمه از درگاه خداوند متعال طول عمر و توفیق روزافزون اساتید محترم و دانش پژوهان گرامی را در خدمت به اهداف عالیه مسئلت دارم

چکیده:

پسته (*Pistacia Vera L.*) گیاهی است چندساله و دوپایه که در بین محصولات باغی از نظر صادرات بخش عظیمی را به خود اختصاص داده است با توجه به ارزآوری بالای آن در بخشهای وسیعی از راضی استان کرمان بویژه شهرستان رفسنجان کاشته شده است.

دمای پایین در محدوده عرضهای شمالی و جنوبی رشد گیاهان را محدود می نماید. و گسترش بسیاری از گیاهان را محدود به نواحی خاصی می کند. درخت پسته نیز مانند پاره ای از درختان میوه در سطح وسیع بعلت بروز مکرر هوای سرد بهاره که گل و میوه های جوان را از بین می برد تحت تاثیر قرار گرفته و کاشت این گیاه در مناطق سردسیر محدود می شود.

شواهد علمی نشان می دهند که غشاهای سلولی در رابطه با آسیبهای ناشی از تنش سرما بیشترین خسارت را متحمل می شوند و از این طریق باعث میشوند که تورم سلولها، نشت یونها، تغییرات لپیدهای غشاء و غیره بطور محسوسی در غشاء صورت گیرد. از طرفی گزارشهایی وجود دارد که نشان می دهد در طول دوره مقاوم شدن و سازگاری با سرمازدگی یک یا چندین ماده شامل قندها، اسیدهای آمینه، پروتئین ها، اسیدهای نوکلئیک در سلول ساخته و انباشته می گردند.

به منظور بررسی مقاومت به سرما در پنج رقم پسته (اکبری - احمدآقایی - اوحدی - کله قوچی و غلامرضایی) تست سرمایی روی ارقام مذکور اعمال گردید و نتایج آزمایشات بیوشیمیایی در رابطه با تغییرات مقدار عناصر سدیم - پتاسیم - کلسیم - قندهای محلول، اسیدهای آمینه پرولین - اتیلن - پروتئین ها از نظر آماری مورد بررسی قرار گرفت.

نتایج نشان داد که میزان پرولین نسبت به شاهد معنی دار بود. همچنین بعضی از ارقام نسبت به تغییرات قندها نتایج معنی داری را نشان دادند. لازم به ذکر است اندازه گیری میزان اتیلن متصاعد شده از بافتهای گیاهی در ساعتهای متوالی تا ۸ ساعت پس از تست سرمایی هیچگونه پاسخی را نداشت و بعد از این پیکهای بسیار ضعیف ظاهر گردید که این امر احتمالاً نشاندهنده این است که گاز اتیلن در آسیب های مربوط به سرمازدگی تأثیری ندارد.

الکتروفورز پروتئینهای جوانه های گل در فصل خواب و فصل رویشی نشان داد که در طول دوره مقاوم شدن پروتئینهای مقاوم به سرما، ۳۲ و ۲۰ کیلو دالتونی، که از گلیکوپروتئین های غنی از گلیسین و آلانین و آبدوست می باشند انباشته می گردد و مطالعات انجام شده ارتباط دهیدرینها و این پروتئینها را نشان می دهد و در آغاز فصل رویش این پروتئینها ناپدید می شوند علت فعالیت این پدیده را می توان مربوط به فعالیت پپتولیتیکی عمده در آغاز فصل رویش دانست. در همین ارتباط نشت یونهای سدیم، پتاسیم و کلسیم نیز ارتباط معنی داری را در بافتهای ارقام سرما دیده نشان داد.

فهرست مطالب

صفحه

عنوان

فصل اول: مقدمه و هدف

۱ - ۱ - ۱ - تاریخچه و منشأ پسته	۱
۱ - ۱ - ۱ - مناطق عمده پسته کاری در دنیا	۲
۱ - ۱ - ۲ - موقعیت اقلیمی مناطق پرورش پسته	۲
۱ - ۱ - ۳ - گیاهشناسی پسته	۲
۱ - ۲ - اهمیت سرمازدگی پسته	۳
۱ - ۳ - هدف	۴

فصل دوم: بررسی نوشته‌ها

۲ - ۱ - تنش‌ها	۶
۲ - ۲ - فرآیند خسارت ناشی از یخ زدن و آب شدن یخ در سلولها	۸
۲ - ۲ - ۱ - جایگاه اولیه خسارت	۱۰
۲ - ۳ - مکانیزم‌های ارائه شده در خسارت سرما	۱۱
۲ - ۳ - ۱ - تغییرات متابولیکی	۱۱
۲ - ۳ - ۲ - سازش به سرما	۱۶
۲ - ۴ - نیاز سرمایی	۱۶

فصل سوم: مواد و روشها

۳ - ۱ - ارقام مورد آزمایش	۱۸
۳ - ۲ - روش اجرای طرح	۱۸

۱۸	۳-۲-۱- تست سرمایی
۱۹	۳-۳- ترکیبات مورد اندازه گیری
۱۹	۳-۳-۱- تعیین مقدار پروتئین ها به روش فولن لوری
۲۱	۳-۳-۲- تعیین مقدار قندهای محلول به روش فنل اسید سولفوریک
۲۲	۳-۳-۳- اندازه گیری مقدار پرولین با روش بیتس
۲۲	۳-۳-۳-۱- تهیه معرف
۲۲	۳-۳-۳-۲- روش آزمایش
۲۳	۳-۳-۳-۳- روش رسم منحنی استاندارد
۲۳	۳-۳-۴- تعیین مقدار یونهای معدنی Ca^{2+}, Na^+, K^+ به روش باشعله
۲۴	۳-۴-۱- رسم منحنی استاندارد پتاسیم
۲۴	۳-۴-۲- رسم منحنی استاندارد سدیم
۲۴	۳-۴-۳- رسم منحنی استاندارد کلسیم
۲۴	۳-۳-۵- هدایت الکتریکی
۲۵	۳-۴- اندازه گیری اتیلن
۲۵	۳-۴-۱- اندازه گیری اتیلن در نمونه های کنترل
۲۵	۳-۴-۲- اندازه گیری اتیلن در نمونه های تیمار شده
۲۶	۳-۴-۳- مشخصات دستگاه کروماتوگرافی گازی و طریقه استفاده از آن
۲۶	۳-۴-۴- رسم منحنی استاندارد اتیلن
۲۷	۳-۵- الکتروفورز
۲۷	۳-۵-۱- فاکتورهای مؤثر بر حرکت ذرات باردار
۲۹	۳-۵-۲- مراحل انجام یک آزمایش الکتروفورزی
۳۰	۳-۵-۳- روش الکتروفورز
۳۰	۳-۵-۳-۱- استخراج و تهیه عصاره پروتئین
۳۱	۳-۵-۳-۲- محلولهای لازم برای الکتروفورز و روش تهیه آنها
۳۳	۳-۵-۳-۳- بافر الکتروفورز برای سیستم ناپوسته دارای SDS

۳۳	۳-۵-۴- مراحل تهیه ژل الکتروفورز ناپیوسته
۳۵	۳-۵-۳- تثبیت ژل
۳۵	۳-۵-۶- رنگ آمیزی ژل
۳۶	۳-۵-۷- رنگبری ژل
۳۶	۳-۵-۸- محاسبه تحرک نسبی و تعیین وزن مولکولی
۳۷	۳-۶- عملیات آماری

فصل چهارم: نتایج و بحث

۳۸	۴-۱- نتایج حاصل از سرما در میزان پروتئین
۴۳	۴-۲: نتایج حاصل از اثر سرما در میزان فندهای محلول
۴۷	۴-۳- نتایج حاصل از اثر سرما در میزان پرولین
۵۰	۴-۴ نتایج حاصل از اثر سرما روی نشت یونها
۵۰	۴-۴-۱- نتایج مربوط به نشت یون کلسیم
۵۲	۴-۴-۲- نتایج مربوط به نشت یون پتاسیم
۵۴	۴-۴-۳- نتایج حاصل از سنجش نشت یون سدیم
۵۴	۴-۵- نتایج حاصل از اثر سرما روی میزان هدایت الکتریکی
۵۵	۴-۶ نتایج حاصل از سنجش میزان پرولین، فندهای محلول و پروتئین در آبان ماه
۵۵	۴-۶-۱- نتایج حاصل از سنجش میزان پروتئین در آبان ماه
۵۷	۴-۶-۲- نتایج حاصل از سنجش میزان فندهای محلول در آبان ماه
۵۷	۴-۶-۳- نتایج حاصل از سنجش میزان پرولین در آبان ماه
۵۹	۴-۷- نتایج مربوط به اثر سرما در تولید اتیلن و بحث مربوط به آن
۶۲	۴-۸- تاثیر ABA در تنش سرما
۶۳	۴-۹- نقش چربیها در خسارت سرمازدگی
۶۶	نتیجه گیری کلی و پیشنهادات

ضمائم

جدول ۱ - مقایسه میانگینهای اثرات تنش سرما بر روی ترکیبات اندازه گیری شده در میوه پنج رقم پسته	۶۸
جدول ۲ - مقایسه میانگینهای اثرات تنش سرما بر روی ترکیبات اندازه گیری شده در برگ پنج رقم پسته	۶۹
جدول ۳ - میزان قند محلول، پروتئین و پرولین در آبان ماه	۷۰
جدول ۴ - دستور تهیه ژل کوچک در سیستم ناپیوسته دارای SDS	۷۱
جدول ۵ - مشخصات پروتئینهای استاندارد	۷۲
منحنی استاندارد گلوکز و پرولین	۷۳
منحنی استاندارد پروتئین و اتیلن	۷۴
منحنی استاندارد کلسیم و پتاسیم	۷۵
منابع	۷۶

فهرست نمودارها

صفحه	عنوان
۳۹	نمودار ۴-۱- تأثیر تنش سرما بر میزان پروتئین کل در میوه پنج رقم پسته
۳۹	نمودار ۴-۲- تأثیر تنش سرما بر میزان پروتئین کل در برگ پنج رقم پسته
۴۵	نمودار ۴-۳- تأثیر تنش سرما بر میزان قند محلول در میوه پنج رقم پسته
۴۵	نمودار ۴-۴- تأثیر تنش سرما بر میزان قند محلول در برگ پنج رقم پسته
۴۸	نمودار ۴-۵- تأثیر تنش سرما بر میزان پرولین در میوه پنج رقم پسته
۴۸	نمودار ۴-۶- تأثیر تنش سرما بر میزان پرولین در برگ پنج رقم پسته
۵۳	نمودار ۴-۷- تأثیر تنش سرما بر میزان کلسیم در میوه پنج رقم پسته
۵۳	نمودار ۴-۸- تأثیر تنش سرما بر میزان پتاسیم در میوه پنج رقم پسته
۵۶	نمودار ۴-۹- تأثیر تنش سرما بر میزان هدایت الکتریکی میوه در پنج رقم پسته
۵۶	نمودار ۴-۱۰- تأثیر تنش سرما بر میزان هدایت الکتریکی برگ در پنج رقم پسته
۵۸	نمودار ۴-۱۱- میزان پروتئین و قند محلول در برگ پنج رقم پسته در دیمه
۵۸	نمودار ۴-۱۲- میزان پرولین در برگ در پنج رقم پسته در دیمه
۶۰	نمودار ۴-۱۳- میزان اتیلن تولید شده در میوه پنج رقم پسته تحت شرایط کنترل

فصل اول

مقدمه و هدف

فصل اول: مقدمه:**۱ - ۱ - تاریخچه و منشاء پسته**

پسته^(۱) از ادوار باستان در زندگی ایرانیان حائز اهمیت فراوان بوده است. منشاء احتمالی پسته را آسیای مرکزی گزارش کرده‌اند، جائیکه رویشگاههای بزرگی از درختان پسته وحشی در این مناطق دیده می‌شود و امروزه شامل کشورهای ایران، ترکستان و افغانستان است [۷ و ۲۶]. مطابق مستندات تاریخی موجود منشاء پیدایش پسته در قلمرو ایران بوده و در شمال شرقی آن استقرار یافته است، سرزمینی که بعدها پارت و سپس خراسان نام گرفت رویشگاه اصلی و اولیه این گیاه است [۳۶].

اولین ارقام پسته در ایران حاصل پرورش و اهلی کردن درختان پسته وحشی بوده است که تعداد این ارقام بسیار محدود بوده و شکل ظاهری این ارقام با محصول پسته خودرو شباهت داشت است بتدریج بر اثر پیوند و جابجایی این ارقام و توجه باغداران ایرانی از نظر درستی دانه‌های پسته تا حدودی تحول ایجاد شده و ارقام جدیدی بوجود آمده است [۲].

۱-۱-۱: مناطق عمده پسته کاری در دنیا:

در قاره آسیا علاوه بر ایران در کشورهای سوریه، ترکیه، اردن، قبرس، لبنان و فلسطین پرورش درختان پسته معمول می‌باشد. در قاره اروپا در کشورهای ایتالیا و یونان باغهای پسته وجود دارد و نیز در دره رن فرانسه باغهای کوچک پسته احداث گردیده است و حدود سی سال پیش کوششهایی به منظور ایجاد باغهای پسته در استرالیا بعمل آمده است. در قاره آمریکا توسعه باغهای پسته بصورت فزاینده‌ای در ایالات متحده در ۱۵ سال اخیر اوج گرفته است. در قاره آفریقا

در کشور تونس و مراکش باغهای پسته وجود دارد. سوریه بعد از ایران قدیمی ترین کشوری است که کاشت و پرورش درختان پسته در آن معمول بوده است [۲ و ۷ و ۲۶].

۱-۱-۲: موقعیت اقلیمی مناطق پرورش پسته:

بطور کلی درختان پسته در عرض جغرافیایی بین ۲۴-۴۲ درجه شمالی و در ارتفاع ۹۰۰-۲۰۰۰ متری سطح دریا قرار گرفته اند، کشت و پرورش درختان پسته در ایران در عرض جغرافیایی ۲۷-۳۷ درجه شمالی انجام شده است. [۲ و ۵۵].

۱-۱-۳: گیاهشناسی پسته:

جنس پسته (*pistacia*) متعلق به خانواده آناکاردیاسه^(۱) می باشد و گیاهی دو پایه است که دارای گل های تک جنس نر و ماده مجزا می باشد. برگها مرکب و ۳-۵ برگچه دارد، گل نر در ارقام پسته دارای ۳-۵ پرچم با میله های کوتاه و گل های ماده دارای ۲-۵ کاسبرگ، تخمدان فوقانی تا حدی کروی و یا تخم مرغی شکل و دارای یک تخمک می باشد. میوه پسته شفت با لپه های گوشتی هستند [۴ و ۷ و ۱۶]. درخت پسته خزان کننده و ارتفاعی تا ۱۰ متر و گاهی با چند تنه و تاج متراکم، گسترده و بزرگ و برگ های درخشانده می باشد. ارقام پسته کاشته شده در ایران متعلق به چهارگونه می باشند [۸]. که شامل:

Pistacia vera L.-

Pistacia atlantica Desf.

Pistacia mutica F.M.

Pistacia khinjuk stoncks

۱-۲ - اهمیت سرمازدگی پسته:

حدود سیصد هزار گونه گیاهی در دنیا وجود دارد که دویست و پنجاه هزار گونه آنها از نهاندانگان می‌باشند. دمای پایین زیر ۱۰ درجه سانتیگراد در محدوده عرضهای شمالی و جنوبی، رشد گیاهان را محدود می‌نماید و بنابراین این تعداد گونه‌های سازگاز با این شرایط را در این نواحی نیز محدود می‌کند. گیاهانی که در مناطق گرمسیری می‌رویند عموماً در دمای ۴۵ - ۱۸ درجه سانتیگراد رشد و تولید مثل می‌کنند، در حالیکه این محدوده دمایی برای گیاهان نواحی معتدل ۳۵ - ۸ درجه سانتیگراد است [۲۱]. رشد روز افزون جمعیت در جهان افزایش تولید در محصولات کشاورزی را می‌طلبد، برای دستیابی به این هدف علاوه بر استفاده از روشهای تولید؛ انتخاب صحیح رقم که متناسب با شرایط منطقه کشت و پرورش آنها باشد اهمیت ویژه‌ای دارد. پاره‌ای از درختان میوه در سطح وسیع به علت بروز مکرر هوای سرد بهاره که گل و میوه‌های جوان را از بین می‌برد در بسیاری از نقاط، کشت و پرورششان محدود می‌شود. و بالطبع این محدودیت بیشتر متوجه درختانی است که زودتر از سایر انواع تولید شکوفه می‌نمایند. این مسئله به قدری مهم است که علاوه بر خسارت مالی به باغداران، در نرخ بین‌المللی محصولات نیز مؤثر است [۲۱]. طبق آمار ارائه شده از طرف معاونت برنامه‌ریزی و پشتیبانی اداره کل آمار و اطلاعات وزارت کشاورزی از نظر صادرات محصولات باغی در بین کشورهای صادرکننده منتخب، ایران پانزدهمین کشور می‌باشد و سهم صادرات محصولات باغی کشور از صادرات جهان ۱/۷ درصد است [۶]. همچنین ایران از نظر تولید محصول پسته در جایگاه اول قرار دارد. بر طبق آمار گزارش سالیانه صنعت پسته کالیفرنیا در سال ۱۹۹۵ تولید پسته دنیا ۲۰۸۸۳۳ تن بوده است که از این مقدار ۳۹٪ کل تولید جهانی متعلق به ایران بوده است که در بین تولیدکننده‌های جهان مقام