بسم الله الرحمن الرحيم

دانشگاه اصفهان

دانشکده علوم

گروه زیست‌شناسی

پایان‌نامه کارشناسی ارشد رشته‌ی زیست‌شناسی گرایش

فیزیولوژی گیاهی

مطالعه‌ی تحمل به خشکی دو رقم سیب‌زمینی Kenebec و Concord در شرایط کشت در شیشه

استاد راهنما:

دکتر علی‌اکبر احسانپور

پژوهشگر:

سمانه نجف‌زاده‌اصل

خرداد ماه 1390

کلیه حقوق مادی مترتب بر نتایج مطالعات، ابتکارات و نوآوری‌های ناشی از تحقیق موضوع این پایان‌نامه متعلق به دانشگاه اصفهان است.

سپاس بی‌کران پروردگار یکتا را که، هستی مان بخشید و به طریق علم و دانش رهنمونمان شد، به همنشینی رهروان روشنایی مفتخرمان نمود و خوشه چینی از علم و معرفت را روزیمان ساخت.

از پدر بزرگوار و عزیزم که لحظات به امید حمایت در پناه او سهل و آسان می‌نمود سپاسگزارم.

از مادر عزیز و مهربانم که عشق و استواری را در لحظه لحظه زندگیم جاری ساخت و سخنانش رهنمون برگزیدن راه زندگیم شد سپاسگزارم.

از همسر عزیزم که صبورانه در کنار من بود متشکر م.

از یاران باصفا و بی‌دریغ زندگی، خواهران عزیزم ممنونم.

با سپاس بیکران از استاد عزیز و ارجمند جناب آقای دکتر احسانپور که علاوه بر دانش و فضل، منش و مرام ایشان درسی آموختنی است و با دلسوزی و علاقه بسیار در تمام مراحل کار همراه من بودند.

از استاد ارجمند جناب آقای دکتر شریعتی بخاطر کمک در بخشی از کارو قبول داوری داخل گروه که در طول تحصیل شوق به شناخت را به من آموختند، سپاسگزارم.

ار استاد ارجمند سرکار خانم دکتر فریبا امینی بخاطر قبول داوری خارج گروه این پایان نامه و ارائه نکات ارزنده علمی سپاسگزارم.

از تمامی همکلاسی‌ها ودوستان عزیزم بویژه خانم شکوفه حاجی هاشمی، لیلا عرب،آقای عینلی، فاطمه رستمی، زینب علی‌نیایی، سمیه زارعی و محبوبه ریامی برای کمک‌های صمیمانه و بی‌دریغشان از صمیم قلب قدردانی و تشکر میکنم.

از مدیر محترم گروه زیست‌شناسی جناب آقای دکتر مشتاقیان و تمامی اساتید عالیقدر گروه که در طی این سال‌ها از دریای علم ودانش ایشان بهره‌مند شدم کمال تشکر را دارم.

تقدیم به

خورشید درخشان زندگی ام، اسطوره مهربانی سمبل صبر و صلابت و تفسیر همه بودن و زیستنم، **مادر نازنینم**

که به جانم شهد وجود بخشید، همان که دریای بیکران محبتش را با عشق وصف ناپذیر نثارم نمود و وجودش همواره در سختی های زندگی تکیه گاهم بود. به پاس مهر بی دریغش

تقدیم به

بلندای آسمان زندگی ام، اسوه مهر، صفا و صمیمیت، **پدر مهربانم**

که فتح قله های سختی را با همت به من آموخت، هم او که حاصل یک عمر تلاش خویش را خالصانه به پایم ریخت و شکوفایی و پویندگی ام همه از پایندگی آفتاب مهر اوست. به پاس زحمات فراوانش

تقدیم به

یار و همراه زندگی ام، مظهر محبت، صبر و فداکاری، **همسر عزیزم**

که وجودش امید زندگی است به پاس صبوری ها و مهربانی هایش

چکیده :

خشکی به‌عنوان یکی از تنش‌های محیطی یکی از مهمترین عوامل محدودکننده رشد گیاهان و تولید محصولات کشاورزی دنیا می‌باشد. تنش خشکی منجر به اختلال گرادیان‌های پتانسیل آب، کاهش تورگر، اختلال در یکپارچگی غشا و دناتوراسیون پروتئین‌ها می‌شود. تنش خشکی از فتوسنتز گیاهان و از انجام واکنش‌های فتوشیمیایی گیاه جلوگیری می‌کند. سیب‌زمینی یک گیاه زراعی مهم است که حساسیت متوسطی به شوری وحساسیت زیادی به خشکی دارد. لذا در این مطالعه تحمل به خشکی گیاه سیب‌زمینی در دو رقم Kenebec و Concord در شرایط کشت شیشه بررسی شد. بدین ترتیب ابتدا گیاهان هر دو رقم در محیط کشت MS حاوی ۵۰ میلی‌مولار STS تکثیر شدند سپس به محیط کشت مایع MS منتقل و پس از ریشه‌دهی با غلظت‌های صفر، ۲ و ۴ درصدتیمارهای PEG-STS و PEG+STS، به مدت ۱۴ روز مورد تیمار قرار گرفتند. بعد از اتمام مدت تنش پارامترهای فیزیولوژیکی از قبیل وزن تر, خشک و محتوای رنگیزه‌های فتوسنتزی(کلروفیل a, b, کل و کارتنوئید) به‌منظور تعیین گیاهان مقاوم و حساس به تنش اندازه‌گیری شد. نتایج حاصل نشان داد که گیاه رقم Kenebec نسبت به رقم concord کاهش کمتری در پارامترهای مذکور تحت شرایط تنش نشان دادند و بنابراین مقاوم‌تر می‌باشند. جهت مطالعه مکانیسم‌های تحمل به خشکی در هر دو رقم, میزان پرولین, قندهای محلول, فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی (کاتالاز و آسکوربات پراکسیداز)، و پروتئین محلول کل در اندام هوایی و در نهایت الگوی الکتروفورزی پروتئین‌ها مورد بررسی قرار گرفت. نتایج نشان داد که با افزایش غلظت PEG در هر دو تیمار میزان پرولین و نیز میزان قندهای محلول در اندام هوایی به‌طور معنی‌داری در رقم Kenebec به‌شدت افزایش یافت. افزایش در میزان پرولین در رقم Concord فقط تا غلظت ۲% هر دو تیمار مشاهده شد. میزان کربوهیدرات محلول رقم Concord با افزایش غلظت PEG، در هر دو تیمار، تغییری نسبت به نمونه شاهد نشان نداد. تغییرات در فعالیت آنزیم های آنتی اکسیدان در رقم Kenebec روند مشابهی با میزان پرولین،و کربوهیدرات محلول نشان داد به‌طوری‌که فعالیت آنزیم‌های کاتالاز و آسکوربات‌پراکسیداز در رقم Concord در غلظت‌های ۲ و ۴ درصد PEG کاهش معنی داری نشان داد. در غلظت‌های بالای PEG میزان گونه‌های فعال اکسیژن به‌دلیل بسته شدن روزنه‌ها و کاهش CO_2 افزایش یافته و گیاه نیز جهت کاهش اثرات مخرب آنها فعالیت آنزیم‌های جاروب‌کننده آنها از جمله کاتالاز و آسکوربات‌پراکسیداز را افزایش می‌دهد. تغییرات پروتئین درهر دو رقم و هر دو تیمار در غلظت ۴% PEG مشاهده شد به‌طوری‌که رقم Kenebec در غلظت مذکور افزایش و رقم Concord کاهش میزان پروتئین کل را نسبت به نمونه شاهد نشان دادند. کاهش میزان پروتئین در رقم حساس می‌تواند به‌دلیل کاهش و یا توقف فرآیند های رونویسی ، ترجمه و یا تخریب پروتئین‌ها در اثر کاهش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی و افزایش رادیکال‌های اکسیژن باشد. . بررسی الگوی الکتروفورزی پروتئین‌ها در مطالعه حاضر مشخص شد که فقط ۲ پروتئین در تیمار(PEG-STS) و ۴ پروتئین در تیمار PEG+ STS در ساختار هوایی، سنتزشان به‌وسیله تنش خشکی تحت تاثیر قرار می‌گیرد که به‌صورت افزایش، کاهش و یا القاء در بیان نمود یافت. بررسی الگوی الکتروفورزی پروتئین در باند ۱ و۴ در رقم Concord در تیمار PEG+STS نشان داد که با افزایش غلظت PEG کاهش بیان داشت. به‌طوری که در رقم Kenebec در همین تیمار باند ۱ و ۴ با افزایش غلظت PEG به شدت افزایش بیان داشت. در تیمار PEG بدون

STS باند ۱ در رقم Concord با افزایش غلظت PEG کاهش بیان شدید و باند ۲ افزایش بیان نسبی داشت. به‌طوری که در رقم Kenebec باند ۱ با افزایش غلظت PEG به‌شدت افزایش بیان داشت اما باند ۲ تغییر نکرده بود.

کلمات کلیدی: سیب‌زمینی، مقاومت به خشکی، ویژگی‌های فیزیولوژیکی، پرولین، قندهای محلول، آنزیم آنتی‌اکسیدان، پروتئین‌های کل.

فهرست مطالب

عنوان **صفحه**

فصل اول: مقدمه و بررسی منابع

1-1- مقدمه..... 1

2-1- سیب‌زمینی و اهمیت غذایی و دارویی آن.....2

3-1 تنش چیست؟.....3

4-1 اثر تنش کم‌آبی در سطح سلول‌های گیاهی 4

5-1 اثر تنش خشکی بر رشد رویشی گیاه 5

6-1 آسیب اکسیداتیو و افزایش سطح گونه‌های فعال اکسیژن 7

7-1 سیستم دفاع آنتی‌اکسیدان در گیاهان.....12

1-7-1سیستم دفاع آنتی اکسیدان آنزیمی.....13

1-1-7-1 سوپراکسید دیسموتاز (SOD).....13

2-1-7-1 پراکسیداز ها 14

3-1-7-1 کاتالاز 15

2-7-1 سیستم دفاعی آنتی‌اکسیدان غیرآنزیمی 15

1-2-7-1 گلوتاتیون.....15

2-2-7-1 آسکوربیک اسید 16

3-2-7-1 توکوفرول.....16

8-1 تنظیم اسمزی و مواد محلول در تنش 16

1-8-1 نقش کربوهیدرات ها در افزایش مقاومت نسبت به تنش خشکی 18

1-1-8-1 پلی‌اولها.....20

2-8-1 نقش پرولین در افزایش مقاومت نسبت به تنش خشکی 21

9-1 نقش پروتئین‌ها در مقاومت نسبت به خشکی گیاهان 23

1--9-1 ژن‌ها وپروتئین‌هایLEA.....24

2-9-1 ژن‌ها و پروتئین‌های HSPs.....۲۵

3-9-1 دهیدرین‌ها 25

4-9-1 پروتئین انتقال دهنده لیپید (LTP) ۲۵

10-1 تنظیم بیان ژن‌ها توسط تنش خشکی 26

عنوان **صفحه**

1-11 عمل هورمون های گیاهی در پاسخ به تنش خشکی 28

1-12 کشت بافت سیب زمینی 29

1-13 مواد کاهش دهنده پتانسیل آب (Osmoticum) 30

1-13-1 خصوصیات مولکولیPEG 31

1-14 اهداف تحقیق: 32

فصل دوم: مواد و روش‌ها

2-1 تهیه محیط کشت پایهMS ۳۳

2-2 آماده سازی محلول تیوسولفات نقره ($STS=Ag_2S_2O_3$) 34

2-3 تکثیر گیاهان سیب‌زمینی 34

2-4 اندازه‌گیری وزن‌تر و وزن خشک ۳۵

2-5 استخراج و سنجش کلروفیل 35

2-6 اندازه‌گیری کربوهیدرات‌های محلول 36

2-6-1 روش اندازه‌گیری کربوهیدرات‌های محلول 36

2-6-2 رسم منحنی استاندارد کربوهیدرات‌های محلول 37

2-6-3 محاسبه مقدار کربوهیدرات‌های محلول با استفاده از منحنی استاندارد 37

2-7 اندازه‌گیری پرولین ۳۸

2-8 مطالعه فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان تحت تنش خشکی 39

2-8-1 استخراج عصاره آنزیمی 39

2-8-2 اندازه‌گیری فعالیت آنزیم کاتالاز 40

2-8-3 اندازه‌گیری فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز 41

2-9 استخراج پروتئین 41

2-9-1: اندازه‌گیری پروتئین 41

2-9-2 رسم منحنی استاندارد 42

2-10 تهیه ژل SDS-PAGE 42

2-10-1 آماده‌سازی عصاره‌های پروتئینی جهت الکتروفورز ۴۳

2-12-2 رنگ آمیزی ژل با نیترات نقره (Silver nitrate staining) 44

2-11 طرح آماری مورد استفاده و آنالیز داده ها 45

عنوان **صفحه**

فصل سوم: نتایج

3-1 بهبود رشد ظاهری ومورفولوژیکی گیاه سیب‌زمینی 46
3- 2 اثر تنش خشکی برمیزان وزن تر دردو رقم Kenebec و Concord 48
3-3 اثر تنش خشکی برمیزان وزن خشک 50
3-4 اثر تنش خشکی برمیزان کلروفیل A در اندام‌های هوایی 52
3-5 اثر تنش خشکی برمیزان کلروفیل b در اندام‌های هوایی 54
3-6 اثر تنش خشکی برمیزان کلروفیل کل در اندام‌های هوایی 56
3-7 اثر تنش خشکی برمیزان کارتنوئیدها در اندام‌های هوایی 58
3-8 اثر تنش خشکی برمیزان پرولین در اندام‌های هوایی 60
3-9 اثر تنش خشکی برمیزان کربوهیدرات‌های محلول در اندام‌های هوایی 62
3-10 اثر تنش خشکی برفعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان در اندام‌های هوایی 64
3-10-1 اثر تنش خشکی برفعالیت آنزیم آنتی‌اکسیدان (CAT) در اندام‌های هوایی 64
3-10-2 اثر تنش خشکی برفعالیت آنزیم آنتی‌اکسیدان (APX) در اندام‌های هوایی 66
3-11 اثر تنش خشکی برمیزان پروتئین‌های کل در اندام‌های هوایی 68
3-12 اثر تنش خشکی برتغییرات الگوی پروتئین‌ها در اندام‌های هوایی 71

فصل چهارم:

بحث و نتیجه گیری **75**
4-1 اثر تنش خشکی بر فاکتورهای رشد رویشی گیاه 75
4-2 تاثیر تنش خشکی بر روی ترکیب رنگدانه‌ها(کلروفیلA، کلروفیل B، کلروفیل کل و کارتنوئیدها)... 77
4-3 بررسی تأثیر STS به عنوان بازدانده فعالیت اتیلن 79
4-4 تغییر محتویات کلروفیلی و کارتنوئیدها در حضور (STS) 80
4-5 تاثیر تنش خشکی بر میزان پرولین در اندام‌های هوایی گیاه سیب‌زمینی 81
4-6 نقش قندهای محلول بر مقاومت به خشکی در سیب‌زمینی 84
4-7 اثر تنش خشکی بر فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان کاتالاز و آسکوربات پراکسیداز در اندام‌های هوایی 87
4-8 اثر تنش خشکی و میزان پروتئین‌های محلول در ارقام سیب‌زمینی 92

10-4 تغییرات الگوی الکتروفورزی پروتئینی در حضورتیمارهای PEG -STS و PEG+STS..... 94

عنوان **صفحه**

11-4 جمع بندی 96
12-4 پیشنهادات 97
پیوست‌ها 98
منابع و مآخذ 108

فهرست شکل‌ها

عنوان **صفحه**

شکل3-1 :وضعیت رشد رقم Kenebec در محیط کشت حاوی تیمارهای PEG-STS و PEG+STS.....47
شکل 3-2 وضعیت رشد عمومی رقم Concord در محیط کشت PEG-STS وPEG+STS.....47
شکل 3- 3 اثر تنش خشکی بر میزان وزن تر در گیاه سیب‌زمینی دو رقم Kenebec و Concord.....49
شکل 3- 4 اثر تنش خشکی بر میزان وزن خشک گیاه سیب‌زمینی در دو رقم Kenebec و Concord.....51
شکل 3- 5 اثر تنش خشکی بر میزان کلروفیل A در اندام‌های هوایی سیب‌زمینی دو رقم Kenebec و Concord 53
شکل 3-6 اثر تنش خشکی بر میزان کلروفیل B در اندام‌های هوایی سیب‌زمینی دو رقم Kenebec و Concord 55
شکل 3- 7 اثر تنش خشکی بر میزان کلروفیل کل در اندام‌های هوایی سیب‌زمینی دو رقم Kenebec و Concord 57
شکل 3- 8 اثر تنش خشکی بر میزان کارتنوئیدها در اندام‌های هوایی سیب‌زمینی دو رقم Kenebec و Concord 59
شکل 3- 9 اثر تنش خشکی بر میزان پرولین در اندام‌های هوایی سیب‌زمینی دو رقم Kenebec و Concord 61
شکل 3- 10 اثر تنش خشکی بر میزان کربوهیدرات محلول در اندام‌های هوایی سیب‌زمینی دو رقم Kenebec Concord.....63
شکل 3- 11 اثر تنش خشکی بر میزان فعالیت آنزیم کاتالازدر اندام‌های هوایی سیب‌زمینی، دو رقم Kenebec و Concord.....65
شکل 3- 12 اثر تنش خشکی بر میزان فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز در اندام‌های هوایی سیب‌زمینی دو رقم Kenebec و Concord 67
شکل 3- 13 اثر تنش خشکی بر میزان پروتئین‌های کل در اندام‌های هوایی سیب‌زمینی دو رقم Kenebec و Concord.....70
شکل 3-14: الگوی الکتروفورزی SDS-PAGE پروتئین‌های اندام‌های‌هوایی سیب‌زمینی دو رقم Kenebec و Concord در غلظت‌های 0، 2 و4 در صد PEG در محیط کشت حاوی 50 میلی‌مولارSTS.....71
شکل 3-15: الگوی الکتروفورزی SDS-PAGE پروتئین‌های اندام‌های هوایی سیب‌زمینی دو رقم Kenebec و Concord در غلظت‌های 0، 2 و4 در صد PEG در محیط کشت بدون STS.....72

عنوان **صفحه**

شکل 3-16 تراکم نسبی باندهای پروتئینی سیب‌زمینی در اندام‌های هوایی دو رقم Kenebec و Concord در محیط کشت حاوی تیمارهای PEG+STS.....73

شکل 3- 17 تراکم نسبی باندهای پروتئینی سیب‌زمینی در اندام‌های هوایی دو رقم Kenebec و Concord در محیط کشت حاوی PEG -STS..... 74

فهرست جدول ها

عنوان **صفحه**

جدول2-1: اسمولاریته محیط کشت‌های حاوی غلظت‌های مختلف PEG قبل و بعد از اتوکلاو.....35
جدول 2-2: مواد مورد نیاز برای عصاره‌گیری آنزیمی.....40
جدول 2-3: ترکیبات مورد استفاده در ژل الکتروفورز SDS-PAGE.....43

کوتاه نوشت‌ها:

ABA: Abscisic acid
ANOVA: Analysis of variance
APS: Amonium persulphate
APX: Ascorbate peroxidase
BSA: Bovine serum albumin
CAT: Catalase
CBB: Commassie brilliant blue
EC: Enzyme code
EC: Extinction coeficient
EDTA: Ethylene diamine tetra acetic acid
HSPs: Heat shock protein
LEA: Late embryogenesis abundant
LTP: Lipid transfer protein
MS: Murashighe and Skoog
OR genes:Osmotic Regulated genes
PBS: Phosphate buffer saline
PEG:Polyethylene glycol
PR: Pathogen related proteins
PVP: Poly vynil pirrolidon
P5CS: 1-pyrroline-5-carboxylate synthase
P5CR: 1-pyrroline-5-carboxylate Reductase
ROS: Reactive oxygen species
SDS: Sodium dodecyl solfate
SDS-PAGE: Sodium dodecyl sulfate-poly acrylamid gel electrophorsis
SOD: Super oxid dismutase
STS: Silver Thiosulfate
TBE: Tris- borate/EDTA electrophoresis
TCA: Trichloroaceticacid
2D-PAGE:2 dimensioned- gel electrophoresis
TEMED: tetramythyl ethelene diamine
MDA**:** malondealdehyde

فصل اول

مقدمه و بررسی منابع واهداف

۱-۱ مقدمه:

رشد و تولید محصول گیاهی همواره تحت تاثیر شرایط مختلف محیطی مانند خشکی، شوری، عدم تعادل مواد غذایی و درجه حرارت‌های نامناسب، محدود می‌گردد.خشکی به‌عنوان یکی از مهمترین عوامل محدودکننده رشد گیاهان و تولید محصولات گیاهی در اکثر زمین‌های کشاورزی دنیا می‌باشد (Tas and Tas ,2007; Jaleel et al., 2007). تا سال ۱۹۷۶ تخمین زده شد که کمتر از ۱۰ درصد زمین‌های کشاورزی دنیا از آثار مخرب عوامل تنش‌زای محیطی در امان باشند و با گسترش شوری وخشکی خاک‌های کشاورزی این مقدار کمتر نیز شده است. برای مثال بیش از ۴۵ درصد زمین‌های کشاورزی دنیا در معرض خشکی و شوری مکرر می‌باشند، که در آنجا ۳۸ درصد جمعیت انسانی کره زمین ساکن می‌باشند . به‌علاوه سالانه دو میلیون هکتار (حدود ۱درصد)زمین‌های کشاورزی دنیا کیفیت خود را از دست می‌دهند واین مسئله موجب کاهش یا عدم تولید محصولات گیاهی می‌گردد.

امروزه تکنولوژی مناسبی که بتواند از لحاظ اقتصادی تولید محصولات کشاورزی را تحت انواع شرایط تنش‌زا تسهیل نماید، وجود ندارد. به هر حال توسعه و پیشرفت در زمینه تولید گیاهان تحمل کننده‌ی شرایط تنش‌زای محیطی امیدبخش می‌باشد وممکن است در تامین نیازهای غذایی روزافزون کشورهای درحال توسعه و

تحت توسعه کمک نماید. با این حال رشد وپرورش گیاهان کشاورزی مقاوم در برابر تنش، علاوه بر سایر ملزومات دیگر نیازمند کسب دانش در مورد مکانیزم‌های فیزیولوژیکی، و کنترل ژنتیکی صفاتی است که در مراحل مختلف رشد گیاه نقش دارند. در طی دو دهه گذشته، تحقیقات در زمینه‌ی بیوتکنولوژی و زیست‌شناسی سلولی ومولکولی چشم‌اندازهای قابل توجهی در مورد مکانیسم‌های تحمل تنش در گیاهان در سطح مولکولی پیش روی ما گذاشته است(Ashraf and Foolad, 2007; Xiong and Zhu, 2002) .

۲-۱ سیب‌زمینی و اهمیت غذایی و دارویی آن

گیاه سیب‌زمینی با نام علمی (*Solanum tuberosum* L.) یکی از ۹۰۰ گونه جنس Solnum، از خانواده Solanaceae و از مهم‌ترین محصولات غذایی جهان است (Orczyk et al., 2003) که تولید آن به ۲۷۵ میلیون تن در سال می‌رسد و ۱۸ میلیون هکتار از اراضی جهان را به خود اختصاص داده است. این محصول که در حدود ۸۰۰۰ سال پیش توسط بومیان منطقه آمریکایی لاتین در بولیوی و پرو کشت می‌شده، در اواخر قرن ۱۶ میلادی (سال ۱۵۳۶) توسط اسپانیایی‌ها از کوه‌های آند در آمریکای جنوبی به اروپا منتقل و سپس نقش مهمی در تغذیه مردم اروپا به‌دست آورد و پس از آن ملوانان اروپایی آن را از طریق مرزهای آبی به سایر نقاط جهان معرفی نمودند (Ortiz and Human., 2003).

خانواده سولاناسه دارای ۹۰ جنس و بیش از ۳۰۰۰ گونه است که اعضای آن در سرتاسر جهان پراکنده‌اند، ولی اغلب آن‌ها در مناطق آند و آمازون و آمریکای جنوبی متمرکز گشته‌اند. گونه‌های این خانواده از نظر اکولوژیکی تنوع قابل ملاحظه‌ای داشته به گونه‌ای که گستردگی این محصول جنگل‌های بارانی، کوه‌های بلند با دمای زیر صفر و بیابان‌های بدون باران را هم شامل می‌شود (Bohs and Olmsteed 1997).

بیش از ۲۰۰ گونه طبیعی از جنس Solanum تولید کننده غده در جهان وجود دارد اما *Solanum tuberosum* یکی از اصلی‌ترین و بزرگ‌ترین گونه‌های سیب‌زمینی تتراپلوئید و دارای ۴۸ کروموزوم (4n=4x=48) می‌باشد (Ortiz and Human, 2001). مصرف سیب‌زمینی در اروپا و شمال آمریکا با تقاضای فزاینده اخیر جهت تولید غذا و امنیت غذایی در کشورهای در حال توسعه همراه شده است. طبق گزارش مرکز بین‌المللی سیب‌زمینی (CIP) [1] در سال ۲۰۰۷ سیب‌زمینی به‌عنوان چهارمین گیاه مهم زراعی پس از گندم، ذرت و برنج به حساب می‌آید (CIP, 2007). در ایران نیز پس از گندم مقاوم دوم را از نظر تولید مواد غذایی به خود

[1] . Centro Internacional de la Papa

اختصاص داده است. اهمیت سیب‌زمینی به‌عنوان غذا به حدی است که سال ۲۰۰۸ میلادی از سوی سازمان ملل متحد به‌عنوان سال بین‌المللی سیب‌زمینی[1] نام گذاری گردید.

سیب‌زمینی از نظر ارزش غذایی و تولید پروتئین و انرژی در واحد سطح تقریباً در بین محصولات زراعی بی‌رقیب می‌باشد. غده سیب‌زمینی حدود ۸۰% آب، ۱۸% نشاسته، ۲% پروتئین و چربی و ویتامین‌های A، B، C و مواد معدنی مانند کلسیم، فسفر و آهن می‌باشد. همچنین سیب‌زمینی برای مقاصد پزشکی کاربرد دارد از جمله برای دفع آلودگی‌های روده‌ای – معدی و کبدی(رهنما، ۱۳۸۲).

سیب‌زمینی دارای گلیکوآلکالوئیدها و ترکیبات سمی (Solanine, Chaconine) است، این ترکیبات که به‌طور عمده در برگ‌ها، ساقه‌ها و جوانه‌ها تجمع می‌یابند گیاه را در برابر مهاجمین محافظت می‌نماید (Happala, 2005). کربوهیدرات غالب در سیب‌زمینی به‌صورت نشاسته است که بخشی از این نشاسته نسبت به هضم آنزیمی در روده کوچک و شکم انسان مقاوم بوده و تا حدی اثرات فیزیولوژیکی آن مانند فیبر است و برای پیشگیری از سرطان کلون، بهبود تحمل گلوکز و حساسیت به انسولین، کاهش غلظت تری‌گلیسیرید و کلسترول پلاسما پیشنهاد می‌گردد (Hylla et al., 1998).

طبق طبقه‌بندی‌های انجام شده، سیب‌زمینی را معمولاًدر گروه گیاهان نسبتاً حساس به شوری و بسیار حساس به خشکی قرار می‌دهند. (Suharjo, 2007; Katerji et al., 2000)

سیب‌زمینی بیش از یک قرن ونیم پیش به‌عنوان یک گیاه جدید وارد کشور ما شده است و امروزه در بیشتر نقاط ایران از جمله استان‌های مرکزی، آذربایجان‌شرقی و غربی، خراسان ، اصفهان، کردستان، همدان، کرمانشاه، فارس، سمنان وتهران کشت می‌شود (رهنما، ۱۳۸۲).

۱-۳ تنش چیست؟

تنش عبارت است ازیک عامل محدودکننده یا نوسانات غیر قابل پیش‌بینی اعمال شده روی الگوهای متابولیکی عادی گیاهان که می‌تواند باعث آسیب دیدن، بیماری یا ناهنجاری در فیزیولوژی گیاه شود (Jaleel et al., 2007). این تغییر در شرایط بهینه زندگی سبب بروز پاسخ‌های خاص در فیزیولوژی یک موجود زنده می‌شود. این پاسخ‌ها بسته به نوع شرایط ممکن است موقتی یا دائمی باشند (Larcher, 1993; Gaspar et al., 2002). حتی اگر تنش موقتی باشد، باعث کاهش توان زیستی گیاه وایجاد زمینه مناسب برای بیماری‌های مزمن و

[1] . International Year of the Potato

آسیب‌های غیرقابل برگشت می‌شود (Larcher, 1993). خشکی، شوری ودرجه حرارت پائین از جمله شرایط محیطی هستند که می‌توانند روی رشد و تولید محصول گیاهی اثرات نامطلوب داشته باشد. گیاهان به این تنش‌ها بصورت‌های بیوشیمیایی و فیزیولوژیکی در مراحل سلولی مولکولی پاسخ می‌دهند، بنابراین می‌توانند به بقا خود ادامه دهند (Ingram and Barteles, 1996; Razmjoo et al., 2008). مکانیسم‌های فیزیولوژیکی که واکنش‌های گیاه را در مقابل شوری وخشکی بالا تنظیم می‌کند شباهت زیادی به یکدیگر دارند. بدین معنا که سلول‌های گیاهی حضور هر دو تنش را فقدان آب تفسیر کرده و پاسخ یکسانی به آنها می دهد (Hasegawa et al., 2000). خشکی نوعی تنش چند بعدی است که در سطوح مختلف گیاه را تحت تاثیر قرار می‌دهد (Razmjoo et al., 2008). تنش خشکی از طریق تأثیر بر روی فرایندهای مختلف فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی رشد گیاه، مانند فتوسنتز، تنفس سلولی، جذب یون، کربوهیدرات ها و متابولیسم رشد را کاهش می‌دهد (Jaleel et al., 2008; Farooq et al., 2008). واکنش‌های گیاهان نسبت به تنش کمبود آبی در سطوح سازمانی مختلف و بسته به شدت و مدت تنش و نیز بر حسب گونه‌ی گیاه و حتی در گیاهان متعلق به یک گونه متفاوت است (Chaves et al., 2002; Jaleel et al., 2007). مقاومت گیاه در برابر تنش‌های غیرآلی چه در سطح کل گیاه وچه در سطح سلولی بسیار پیچیده است (Ashraf and Harris, 2004) .

۴-۱ اثر تنش کم‌آبی در سطح سلول‌های گیاهی

زمانی که مقدار قابل توجهی از آب سلول‌های گیاهی خارج شود، اولین تاثیر آن روی گیاه به‌صورت مکانیکی است که موجب کاهش فشار تورگر سلول می شود (Levitt, 1980). با کاهش آب و فشار تورگر، حجم سلول کاهش می‌یابد. در این حالت غشاء پلاسمایی از دیواره سلولی جدا شده و فقط در پلاسمودسماتا این اتصال برقرار است. تشکیل و پایداری ساختار غشاء پلاسمایی، به‌دلیل وجود محیط آبکی در سلول است. دم‌های فسفولیپیدهای آب‌گریز در غشاء توسط محیط آبی از یکدیگر دور نگه داشته شده و به این روش، یک ساختار سلول دولایه‌ای ایجاد می‌کنند (فاز بلوری- آبی). زمانی که آب از سلول خارج گردد، ساختار غشاء دگرگون می‌شود و گروه سرهای آب دوست فسفولیپیدها به یکدیگر نزدیک شده و غشاء متراکم می‌گردد (فاز ژل). در مقایسه با فاز بلوری- آبی، در این فاز، چربی‌های غشاء از انرژی کینیتیک و همچنین حرکات جانبی و چرخشی کمتری برخوردار هستند. تنش خشکی می‌تواند موجب فروپاشی غشاء پلاسمایی و تونوپلاست گردد. فروپاشی غشاءهای پلاسمایی و تونوپلاست، باعث آزاد شدن آنزیم‌های هیدرولیتیک می‌گردد که در نهایت، این آنزیم‌ها

موجب اتولیز سیتوپلاسم می‌شوند (Leprince et al., 1993; Liu et al., 1998). ویژگی‌های کارکردی آب، عبارت از پرکردن بخش اعظمی از حجم سلول، فراهم کردن محیط نقل و انتقال و همچنین نقشی که در واکنش‌ها و فرایندهای سلولی به‌عنوان یک حلال بر عهده دارد، سبب می‌شود تا با خروج آب سلول، تنظیم اجزاء سلولی دگرگون شده و متابولیسم مختل گردد. پدیده انباشته شدن یون‌ها نیز که از کمبود آب ناشی می‌شود، می‌تواند به سلول آسیب رسانده، غشاها را منقطع نموده و باعث دناتوره شدن پروتئین‌ها گردد ازجمله دیگر آسیب‌های متابولیکی ناشی از تنش خشکی، می‌تواند به از هم پاشیدگی اسیدهای نوکلئیک مانند DNA و RNA اشاره کرد (Campbell, 1991).

۱-۵ اثر تنش خشکی بر رشد رویشی گیاه

در تمامی سطوح گیاه تاثیرتنش‌های محیطی معمولاً بصورت کاهش در فتوسنتز و رشد گیاه بارز گردیده و مرتبط با تغییرات متابولیسم کربن و نیتروژن است (Mwanamwenge et al.,1999) .در اثر تنش خشکی، محتویات رنگدانه‌های فتو سنتزی (chl a,b) و کارتنوئیدها در برگ‌ها ا ز بین می‌رود. کلروفیل‌ها سریعتر از کارتنوئیدها شکسته شده وتجزیه می‌شوند. نسبت جذب CO_2 در برگ‌ها ، به‌علت بسته شدن روزنه‌ها، کم می‌گردد. فعالیت تیلاکوئیدها ونسبت تنفس نیز کاهش می‌یابد. خشکی همچنین باعث شکسته شدن کلروپلاست‌ها و کاهش میزان کلروفیل می‌گردد و میزان فعالیت آنزیم‌ها را در چرخه کالوین در طی فرایند فتوسنتز کاهش می‌دهد(Monakhova and Chernyadev, 2002) .

سازگاری گیاه با عوامل تنش هم از طریق عوامل دفاعی موجود درخود گیاه و نیز عوامل دفاعی القا شده در گیاه حاصل می‌شود. تنش خشکی در هر دو سطح بیوشیمیایی و فتوشیمیایی بر مکانیزم‌های فتوسنتزی تاثیر می‌گذارد. در گیاهانی که در معرض خشکی قرار گرفته اند، کنترل روزنه‌ای(بسته بودن روزنه ها)، بیشترین عامل در کاهش در فتوسنتز می‌باشد (Yordanov et al., 2000).

یکی دیگر از دلایل کاهش فتوسنتز، انتقال مواد فتوسنتزی است که تحت تأثیر تنش خشکی قرار گرفته و موجب اشباع شدن برگ‌ها از این مواد می‌شود و فتوسنتز را محدود می‌نماید (Taiz and Zeiger, 2006).

به‌طور کلی در شرایط تنش خشکی رشد گیاه به واسطه محدود شدن تعدادی از فرایندهای فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی از جمله فتوسنتز، تنفس، انتقال و جذب یون ها و متابولیسم کربوهیدرات‌ها، مواد غذایی و هورمون‌ها کاهش می‌یابد (Chaves, 1991; Cornic and Briantais, 1999; Lawlor, 1995).