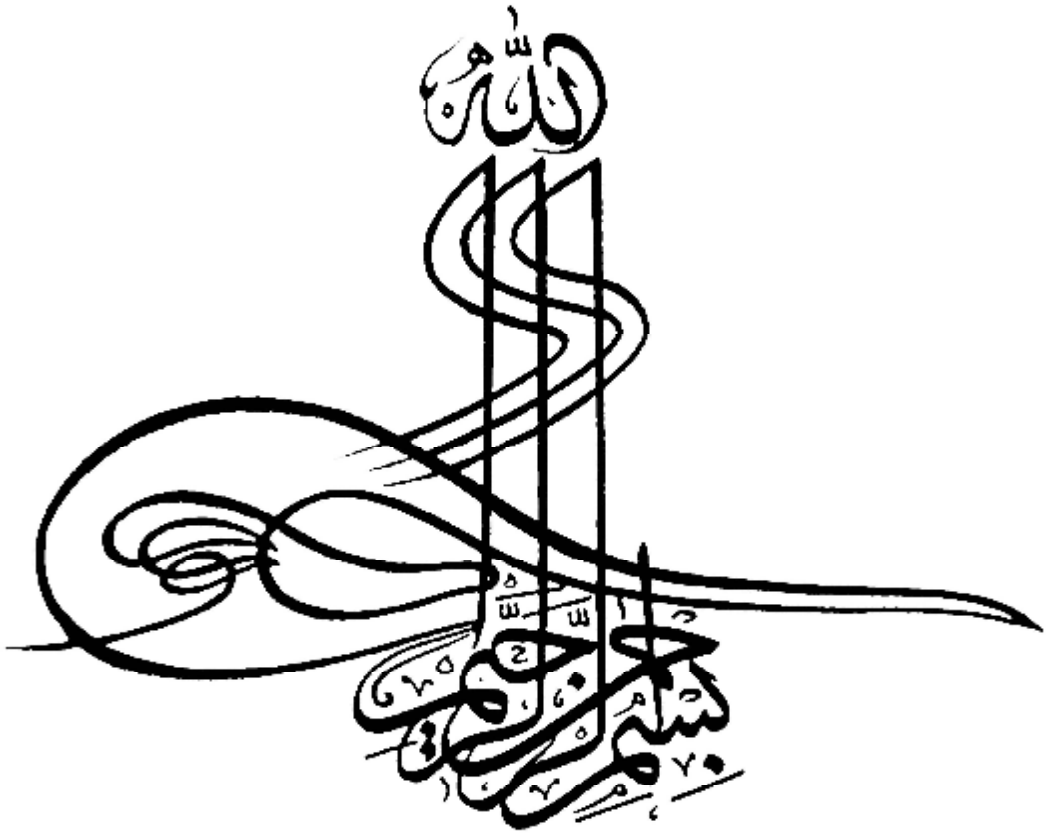
الله
بسم الله الرحمن الرحيم

دانشکده کشاورزی

گروه زراعت و اصلاح نباتات

ارزیابی تحمل شوری در ژنوتیپ‌های گندم پاییزه با استفاده از صفات فیزیولوژیک و ارتباط آن با نشانگرهای مولکولی ISSR

اساتید راهنما

دکتر امید سفالیان، دکتر علی اصغری

اساتید مشاور

دکتر مجید شکرپور، دکتر محمد صدقی

توسط

رامین سلمانی صمدی

تابستان

۱۳۹۰

دانشکده کشاورزی
گروه زراعت و اصلاح نباتات

ارزیابی تحمل شوری در ژنوتیپ‌های گندم پاییزه با استفاده از صفات فیزیولوژیک و ارتباط آن با نشانگرهای مولکولی ISSR

توسط:

رامین سلمانی صمدی

پایان‌نامه برای اخذ درجه کارشناسی ارشد
در رشته اصلاح نباتات
از
دانشگاه محقق اردبیلی
اردبیل - ایران

ارزیابی و تصویب شده توسط کمیته پایان نامه با درجه عالی

دکتر امید سفالیان (استاد راهنما و رئیس کمیته).....

دکتر علی اصغری (استاد راهنما).....

دکتر مجید شکرپور (استاد مشاور).....

دکتر محمد صدقی (استاد مشاور).....

دکتر ناصر زارع (داور داخلی).....

دکتر سدابه جهانبخش (داور داخلی).....

شهریور ۱۳۹۰

تقدیر و تشکر

سپاس بیکران ایزد منان را که در پرتولایزالش توفیق آموختن میسر گردید.

بر خود لازم می‌دانم مراتب تقدیر و تشکر را از همه عزیزانی که مرا در انجام این پایان نامه یاری نموده‌اند، اعلام نمایم.

از آقایان دکتر امید سفالیان و دکتر علی اصغری، که با صبر و حوصله راهنمایی‌های ارزنده‌ای فرمودند، سپاسگذاری می‌کنم.

از آقایان دکتر مجید شکرپور و دکتر محمد صدقی، که به عنوان مشاور در تهیه و تدوین این پایان نامه مرا یاری نمودند، تشکر می‌کنم.

از آقای دکتر ناصر زارع و خانم دکتر سدابه جهانبخش که زحمت بازخوانی و داوری این پایان نامه را تقبل نمودند کمال تشکر را دارم.

از همکلاسی‌ها و دوستان عزیزم بخصوص مهندس فیروزی قدردانی می‌کنم.

از تکنسین‌های آزمایشگاه‌های گروه زراعت و اصلاح نباتات، آقایان مهندس آقازاده و آردن تشکر می-کنم.

از پدر و مادر بزرگوارم، همسرم و خواهران مهربان و برادر عزیزم که در طول دوران تحصیلم مشوق و راهنمای من بودند ممنونم.

نام خانوادگی دانشجو: سلمانی صمدی **نام**: رامین

عنوان پایان نامه: ارزیابی تحمل شوری در ژنوتیپ‌های گندم پاییزه با استفاده از صفات فیزیولوژیک و ارتباط آن با نشانگرهای مولکولی ISSR

اساتید راهنما: دکتر امید سفالیان - دکتر علی اصغری **اساتید مشاور**: دکتر مجید شکرپور - دکتر محمد صدقی

مقطع تحصیلی: کارشناسی ارشد **رشته**: مهندسی کشاورزی **گرایش**: اصلاح نباتات

دانشگاه: محقق اردبیلی **تاریخ فارغ التحصیلی**: ۱۳۹۰/۶/۲۸ **تعداد صفحه**:۱۲۷

واژه‌های کلیدی:گندم، تنوع ژنتیکی، شوری، هیدروپونیک، ISSR , RAPD

چکیده

برای ارزیابی تحمل شوری در ارقام مختلف گندم و ارتباط آن با نشانگرهای مولکولی ISSR تحقیقی در آزمایشگاه دانشکده کشاورزی در سال ۱۳۸۸ انجام شد. آزمایش روی ۲۴ رقم گندم براساس طرح فاکتوریل در قالب طرح بلوک کامل تصادفی با سه تکرار و سه سطح تنش (شاهد، ۴۵ و ۹۰ میلی مولار کلرید سدیم) به صورت کشت هیدروپونیک انجام شد. نتایج نشان داد که با افزایش تنش شوری مقدار پرولین، کلروفیل، سدیم و نفوذپذیری غشاء افزایش یافت اما مقدار آنها در ارقام مختلف متفاوت بود. طبق نتایج بدست آمده رقم پیشگام و فینکان به ترتیب بیشترین و کمترین مقدار را بخود اختصاص دادند. براساس نتایج بدست آمده شاخص STI قادر به تمایز ژنوتیپ‌های گروه A از سایر ژنوتیپ‌ها می-باشد. براساس شاخص‌های STI و MP، رقم پیشگام بیشترین مقدار وزن خشک ریشه و وزن خشک ساقه را داشت. بنابراین این رقم بالاترین مقدار را در هر دو محیط تنش و غیرتنش دارا بود. ارقام دریا و فینکان کمترین مقدار شاخص‌های MP، STI را در هر دو محیط تنش و غیرتنش داشت. همچنین، نشانگرهای مولکولی می‌توانند به عنوان ابزاری تکمیلی برای تایید فرضیه وجود تنوع ژنتیکی در میان لاین‌های مشتق شده از گندم مورد استفاده قرار گیرد.۲۰ آغازگر RAPD و ۳۴ آغازگر ISSR استفاده گردید که از میان آنها به ترتیب ۶ آغازگر RAPD و ۱۵ آغازگر ISSR چندشکل و تکرارپذیر بودند. این آغازگرها برای تجزیه خوشه‌ای استفاده شدند. شاخص های PIC، MI، I و Uh برای آنالیز ISSR به ترتیب ۰/۳۳۵، ۱/۳۹، ۰/۵۰۲، ۰/۳۵۰ و برای آنالیز RAPD به ترتیب ۰/۳۹۱، ۱/۲۰، ۰/۵۷۲ و ۰/۴۰۹ بدست آمد. براساس تجزیه رگرسیون چندگانه صفات مورفوفیزیولوژیکی، موثرترین آغازگرها درشرایط شاهد S۲۷-۳ و R۳۵-۲، در شرایط تنش ٤٥ میلی مولار S۱۱-۳ و R۳۵-۲ و در شرایط ۹۰ میلی مولار S۲-۵ بودند. و این نشان دهنده وجود تنوع قابل توجهی میان ارقام گندم می باشد.

فهرست مطالب

عنوان.....صفحه

فصل اول ـ مقدمه و بررسی منابع

۱-۱- مقدمه ۹
۱-۲- تاریخچه و اهمیت گندم ۱۱
۱-۳- طبقه بندی گندم ۱۱
۱-۴- اکولوژی گندم ۱۲
۱-۵- تعریف تنش ۱۲
۱-۶- تنش‌های محیطی ۱۳
۱-۷- تنش شوری ۱۳
۱-۷-۱- مکانیسم‌های تحمل شوری ۱۷
۱-۷-۲- اصلاح برای تحمل به شوری ۲۰
۱-۷-۳- ژنتیک تحمل به شوری ۲۲
۱-۷-٤- اثر شوری بر روی رشد رویشی و زایشی ۲۳
۱-۷-۵- اثر شوری بر روی محتوای سدیم و پتاسیم گیاه ۲٦
۱-۷-٦- اثر تنش شوری بر روی میزان کلروفیل برگ ۲۷
۱-۷-۷- اثر تنش شوری بر میزان فلورسنس کلروفیل ۲۸
۱-۷-۸- اثر تنش شوری بر روی میزان پرولین ۳۰
۱-۷-۹- تاثیر تنش شوری بر نفوذپذیری غشای سلولی(آزمون نشت یونی) ۳۲
۱-۸- شاخص‌های تحمل ۳۳
۱-۸-۱- شاخص تحمل(TOL) ۳۵
۱-۸-۲- شاخص میانگین ریاضی بهره‌وری(MP) ۳۵
۱-۸-۳- شاخص تحمل به تنش(STI) ۳۵
۱-۸-٤- شاخص حساسیت تنش (SSI) ۳٦
۱-۹- تکنیک کاشت هیدروپونیک ۳۶
۱-۱۰- منابع مقاومت به تنش وتنوع ژنتیکی مورد نیاز ۳۸
۱-۱۱- نشانگر ۴۰
۱-۱۲- انواع نشانگرهای ژنتیکی ۴۰
۱-۱۲-۱- نشانگرهای مورفولوژیکی ٤۰

۱-۱۲-۲- نشانگرهای بیوشیمیایی ٤١
۱-۱۲-۳- نشانگرهای مولکولی (DNA) ٤١
۱-۱۳- تعدادی از نشانگرهای مولکولی موجود ۴۳
۱-۱۳-۱- چند شکلی طولی قطعات حاصل از برش (RFLP): ٤٣
۱-۱۳-۲- چند شکلی طولی قطعات تکثیرشده (AFLP): ٤٤
۱-۱۳-۳- نشانگر SSR ٤٤
۱-۱۳-٤- تکرارهای موجود در بین توالی‌های ساده (ISSR): ٤٥
۱-۱۳-۵- چند شکلی قطعات DNA تکثیرشده تصادفی (RAPD): ٤٦
۱-۱۴- اهداف پژوهش ۴۸

فصل دوم ـ مواد و روش‌ها

۲-۱- مواد گیاهی ۵۰
۲-۲- کشت هیدروپونیک ۵۱
۲-۳- تهیه محلول‌های غذایی ۵۱
۲-۴- اعمال تیمارها در سیستم هیدروپونیک ۵۲
۲-۵- اندازه‌گیری پارامترهای مرتبط با تنش شوری ۵۳
۲-۶- صفات مورفولوژیک ۵۳
۲-۷- صفات فیزیولوژیک ۵۴
۲-۸- شاخص‌های تحمل ۵۴
۲-۹- تجزیه و تحلیل داده‌های کمی ۵۶
۲-۱۰- ارزیابی ژنوتیپی ۵۷
۲-۱۰-۱- استخراج DNA ۵۷
۲-۱۰-۲- تعیین کمیت و کیفیتDNA ۵۸
۲-۱۰-۳- واکنش PCR ۵۸
۲-۱۰-٤- تجزیه و تحلیل داده‌های مولکولی ٦١

فصل سوم ـ نتایج و بحث

۳-۱- کاشت هیدروپونیک ۶۴
۳-۱-۱- تجزیه واریانس ٦٤
۳-۱-۲- مقایسه میانگین صفات مورفولوژیک ٦٨
۳-۱-۳- مقایسه میانگین صفات فیزیولوژیک ۷۰
۳-۲- شاخص‌های تحمل و حساسیت به تنش شوری ۷۹
۳-۳- برآورد پارامترهای ژنتیکی بر اساس صفات مورفولوژیک و فیزیولوژیک ۸۴
۳-۴- نتایج همبستگی صفات مورد بررسی ۸۵
۳-۴-۱- همبستگی صفات در سطح شاهد ۸۵

۳-۴-۲- همبستگی صفات در سطح شوری ۴۵ میلی مولار کلرید سدیم ۸۵
۳-۴-۳- همبستگی صفات در سطح شوری ۹۰ میلی مولار کلرید سدیم ۸۶
۳-۴-۴- همبستگی شاخص‌های تحمل اندام هوایی و ریشه با برخی صفات مورفولوژیک و فیزیولوژیکی در سطح تنش ۱ ..... ۸۶
۳-۴-۵- همبستگی شاخص‌های تحمل اندام هوایی و ریشه با برخی صفات مورفولوژیک و فیزیولوژیکی در سطح تنش ۲ ..... ۸۷
۳-۵- گروهبندی ژنوتیپ‌های گندم از نظر صفات مورد بررسی ۹۴
۳-۶- تجزیه مولکولی ISSR و RAPD ۱۰۰
۳-۶-۱- چند شکلی نوارهای ISSR و RAPD ۱۰۰
۳-۶-۲- برآورد تنوع ژنتیکی بین ارقام ۱۰۰
۳-۷- برآورد فاصله ژنتیکی بین ارقام گندم ۱۰۳
۳-۸- تجزیه خوشه‌ای بر اساس داده‌های ملکولی ۱۰۴
۳-۹- تجزیه به مولفه‌های هماهنگ اصلی بر اساس داده‌های مولکولی ۱۰۴
۳-۱۰- آزمون مانتل ۱۰۶
۳-۱۱- رابطه بین داده‌های مولکولی و صفات مورفوفیزیولوژیک ۱۰۷
۳-۱۲- نتیجه‌گیری ۱۱۲
۳-۱۳- پیشنهادات ۱۱۳
منابع مورد استفاده ۱۱۴

فصل اول

مقدمه وبررسی منابع

۱-۱- مقدمه

گندم از مهمترین محصولات غذایی جهان است که ۱۷ درصد محصول جهانی، نزدیک به نیمی از تغذیه مردم جهان و ۲۰ درصد پروتئین و کالری غذای انسان را شامل می‌شود (گوپتا و همکاران، ۲۰۰۸). امروزه، مهمترین عامل کاهش دهنده عملکرد گیاهان زراعی تنش‌های محیطی به‌شمار می‌رود و مقابله و یا تخفیف اثرات تنش‌ها به عنوان راهکاری مفید در جهت افزایش عملکرد این محصولات می‌باشد. تنش‌های محیطی همیشه عامل کاهش کمیت و کیفیت محصولات زراعی بوده‌اند که مقاومت گیاهان به این تنش‌ها صفتی پیچیده است و تعداد زیادی ژن یا QTL در کنترل آن دخالت دارند. زمانیکه گیاهان با این تنش‌ها مواجه می‌شوند، تغییرات فیزیولوژیکی، بیوشیمیایی و مورفولوژیکی زیادی در جهت مقاومت گیاه و سازگار شدن آن با تنش حاصل می‌شود که این تغییرات در گونه‌های مختلف گیاهی و حتی ارقام مختلف یک گونه متفاوت می‌باشد (ویز و همکاران، ۲۰۰۱). یکی از مشکلات اساسی بر سر راه کشاورزی کمبود منابع آب شیرین و کیفیت آن جهت آبیاری است. با توجه به توسعه کشاورزی فاریاب و اجتناب ناپذیر بودن استفاده از منابع آبی با کیفیت پایین و شور، تخریب اراضی زراعی مرغوب و گرایش به سمت شور و قلیا شدن خاک مساله ساز خواهد بود (کافی و همکاران، ۱۳۸۲). شوری خاک از جمله تنش‌های محیطی است که به عنوان یک مشکل عمده در مناطق خشک و نیمه خشک محدود کننده عملکرد گیاهان زراعی است (کینگ بوری، ۱۹۸٦). در اراضی شور اگر چه عملیات زراعی برای رفع مشکل شوری ضروری می‌باشد، ولی به سبب شور شدن مجدد تدریجی خاک، اقدام برای اصلاح گیاهان زراعی در جهت ایجاد مراتب مقاومت یا تحمل به شوری در راستای بالا بردن عملکرد ضروری به نظر می‌رسد (وین جونز و همکاران، ۱۹۸٤). جهت رسیدن به عملکرد مطلوب در شرایط تنش شوری، به گیاهی با مقاومت مناسب نیاز است. از سوی دیگر با توجه به تنوع گونه‌های گیاهی که هر کدام دارای صفات وراثتی و مکانیزم‌های ویژه حفظ و تداوم بقا می‌باشند، به نظر می‌رسد که می‌توان

اقدام به شناسایی، اصلاح و گزینش گونه‌های مقاوم به شوری کرد (کریمی، ۱۳۷۵). در این راستا شناسایی ژن‌های مفید در ذخایر توارثی گیاهی یکی از اصول مهم و راهبردی در اصلاح نباتات است. آگاهی از تنوع ژنتیکی موجود در ارقام اهلی و خویشاوندان وحشی یک گونه گیاهی در به کارگیری آن در یک برنامه اصلاحی از اهمیت زیادی برخوردار است. روش مرسوم تعیین تنوع ژنتیکی بر مبنای ویژگی‌های مورفولوژیکی است. ویژگی‌های مورفولوژیکی به دلیل تاثیر عوامل محیطی، پوشش ژنومی ضعیف و وابستگی به بافت و مرحله رشدی گیاه، کاربرد محدودی دارند (هاردون و همکاران، ۱۹۹٤). امروزه نشانگرهای مولکولی در تشخیص ژن‌های مقاومت به تنش‌های محیطی و زیستی نوید بخش می-باشند. در دهه‌های اخیر، پیشرفت‌های سریعی در جهت توسعه نشانگرهای مولکولی و کاربرد آن‌ها در مکان یابی[1] و بررسی مولکولی QTLهای مرتبط با صفات زراعی پیچیده و در نهایت اصلاح به کمک نشانگرها[2] صورت گرفته است (کوشیک و همکاران، ۲۰۰۳). این روش‌ها به عنوان مکمل روش‌های مرسوم و کلاسیک در سرعت بخشیدن به فعالیت‌های به‌نژادی، افزایش دقت و صرفه جویی در نیروی کار و هزینه‌ها نقش چشم‌گیری دارند. در این تکنیک‌ها تنوع در سطح DNA مورد بررسی قرار می‌گیرد و مستقل از شرایط محیطی هستند. انواع مختلفی از نشانگرهای مولکولی تا به امروز معرفی شده‌اند تا ابزار دقیقی را برای بررسی ساختار ژنتیکی موجودات فراهم کنند (مک کیل، ۱۹۹۵؛ نقوی و همکاران، ۱۳۸٦). شناسایی تنوع ژنتیکی به‌نژادگران را در امر انتخاب والدین برای انجام تلاقی‌های مطلوب یاری می‌کند. بنابراین، تعیین تنوع ژنتیکی و بررسی ارتباط جایگاه‌های ژنی و صفات مهم زراعی به همراه روش‌های مولکولی چشم انداز نوینی را برای ارزیابی تنوع زیستی و بررسی ارتباط صفات کمی پیچیده با جایگاه‌های ژنی مرتبط با آنها در اهداف اصلاحی فراهم آورده است (امام جمعه، ۱۳۷۸).

1. Mapping
2 .Marker assisted selection

۱-۲- تاریخچه و اهمیت گندم

گندم به احتمال زیاد یکی از اولین گیاهانی است که بوسیله انسان زراعت شده است و به همین دلیل مهمترین گیاه زراعتی به شمار می‌آید. سازگاری این گیاه به شرایط مختلف آب و هوایی بیشتر است و از طرف دیگر غذای اولیه و اصلی اغلب مردم جهان را تشکیل می‌دهد. در مقایسه با سایر محصولات بیشترین سطح کشت را به خود اختصاص داده است. این گیاه در حدود ٦٥٠٠ سال قبل از میلاد در مناطقی از آسیا مانند ایران، عراق، هندوستان، قفقاز و همچنین اطراف دریای مدیترانه وجود داشت و کشت می‌شد. تولید گندم در دنیا در درجه اول برای تغذیه انسان و در درجه دوم برای تغذیه پرندگان و حیوانات و مصارف صنعتی می‌باشد. گندم از نظر تولید وسطح زیر کشت مهمترین محصول کشاورزی ایران است و افزایش محصول آن روز به روز مورد توجه قرار گرفته است (نورمحمدی و همکاران، ۱۳۷۷؛ خدابنده، ۱۳۸۷). در سال‌های اخیر تولید گندم در ایران به حدود ۱۵ میلیون تن رسیده است. این میزان تولید از سطحی معادل ٦/۹ میلیون هکتار (۲/۷ میلیون هکتار آبی و ٤/۲ میلیون هکتار دیم) برداشت می‌شود که از میزان تولید فوق حدود ٤/٥ میلیون تن از اراضی دیم، ۱۰/۱ میلیون تن از اراضی آبی تولید شده است. وسعت اراضی دیم و وابستگی تولید در این مناطق به نزولات جوی که در کشور دارای نوسانات زیادی است، آسیب پذیری تولید گندم را به نحو بارزی افزایش داده است (وزارت جهاد کشاورزی، ۱۳۸٦).

۱-۳- طبقه بندی گندم

این گیاه از تیره گندمیان و جنس تریتیکوم است که تمام گونه‌های آن بر اساس تعداد کروموزوم‌ها در یکی از سه گروه دیپلوئیدی[1]، تتراپلوئیدی[2] و هگزاپلوئیدی[3] قرار می‌گیرند. گندم‌های دیپلوئید دارای چهارده عدد کروموزوم (۲n=۱٤) و ژنوم AA و به گندم‌های تک دانه معروف هستند. از این گروه می‌توان به *T. monococcum* و *T. boeoticum* اشاره کرد. گندم‌های تتراپلوئید دارای ۲۸ کروموزوم (۲n=۲۸) و به گندم‌های دو دانه‌ای معروفند و دارای ژنوم AABB می‌باشند. از گونه‌های زراعی این گروه می‌توان به گندم دوروم *T. durum* اشاره کرد که بیشتر برای تهیه ماکارونی، شیرینی پزی و مصارف

1.Diploid 2.Tetraploid 3. Hexaploid

صنعتی مورد استفاده قرار می‌گیرد. این گندم پس از گندم نان دارای اهمیت بسیار زیادی است و بطور عمدهً در برخی از کشورهای مدیترانه‌ای ایران، عراق، سوریه، پاکستان، چین، آمریکا و کانادا کشت می-گردد. گندم‌های هگزاپلوئید دارای ٤٢ عدد کروموزوم (٢n=٤٢) و ژنوم AABBDD هستند. مهمترین گونه این گندم‌ها، *T. aestivum* (گندم نان) است و گونه غالب تجارتی دنیا محسوب می‌شود. ازگونه-های دیگر می‌توان به گونه‌های *T. spelta* ، *T. sphaerococcum* و ... اشاره کرد. (بی نام، ١٣٨٢).

١-٤- اکولوژی گندم

گندم گیاهی خودگشن است، و حدود ٤-١ درصد دگرگشنی در آن وجود دارد. گندم‌ها را از نظر نیاز سرمایی به سه دسته پاییزه، بهاره و بهاره- پاییزه تقسیم بندی می‌کنند. این طبقه‌بندی برای گندم اغلب در مناطقی که از نظر دمایی نوسانات زیادی دارند، استفاده می‌کنند (خلیل زاده، ١٣٧٥). دمای مناسب جهت جوانه زنی حدود ٢٢-٢٠ درجه سانتی‌گراد می‌باشد. میزان آب مورد نیاز گندم به عوامل متعددی مثل میزان رطوبت نسبی هوا، نوع خاک، زود رسی و دیر رسی و نوع ارقام بستگی دارد. در رابطه با نیاز فتوپریودی گندم، ارقام دارای برگ‌های پهن در مقایسه با برگ‌های باریک به نور بیشتری نیاز دارند و از نظر نوع خاک نیز زراعت گندم در هر خاکی به جز خاک‌های شور، قلیایی و باتلاقی امکان پذیر است. ارقام مختلف گندم نسبت به تغییرات آب وهوایی حساس هستند و بنابراین یک رقم را نمی-توان در آب وهوای مختلف کشت کرد (تاجبخش، ١٣٨٢).

١-٥- تعریف تنش

تنش نتیجه‌ای از کمبود شدید یک نیاز اساسی یا فراوانی ماده مضر یا سمی در محیط گیاه است. تنش ممکن است که طی مراحل معینی از چرخه زندگی گیاهان اثر بزرگتری روی آن‌ها داشته باشد و واکنش گیاه به یک تنش به آسانی قابل تعیین نیست (ویز و همکاران، ٢٠٠١). لویت (١٩٨٠) تنش را نتیجه روند غیر عادی فرایندهای فیزیولوژیکی می‌داند که از تاثیر یک یا ترکیبی از عوامل زیستی و محیطی حاصل می‌شود و آن‌ها را در دو دسته تنش‌های زیستی و غیر زیستی قرار داده است. از تنش‌های زیستی می‌توان انواع آفات و عوامل بیماری‌زا را نام برد. تنش‌های فیزیکوشیمیایی یا غیر زیستی به پنج گروه تقسیم می‌شوند. اهمیت تعدای از آن‌ها به علت فراگیر بودن و همچنین تحقیقات انجام شده،

مشخص گردیده است. به طوریکه از بین این گروه، خسارت ناشی از کمبود آب، شوری و دما در سطح دنیا گسترده‌تر است و به همین جهت بیشتر مورد مطالعه قرار گرفته‌اند (لویت، ۱۹۸۰).

۱-٦- تنش‌های محیطی

تنش در اشکال مختلف یک اتفاق با احتمال وقوع بالا برای تمام گیاهان موجود در شرایط زراعی و طبیعی می‌باشد. به نظر می‌رسد که تنش‌های ملایم اغلب اتفاق می‌افتند و منجر به کاهش رشد می‌شوند، در حالی که تنش‌های شدید می‌توانند منجر به خسارت جبران ناپذیر گردند. برآورد شده است که تنها ۱۰ درصد از زمین‌های قابل کشت دنیا عاری از هر گونه تنش می‌باشند (صابری،۱۳۸۳). مشاهده شده است که در حدود ۷۲% از تغییرات عملکرد در غلات به سه مولفه عملکرد شامل متوسط تعداد سنبله در واحد سطح، متوسط تعداد دانه در هر سنبله و متوسط وزن هزار دانه مربوط می‌شود. آب، مواد غذایی، دما، نور و سایر عوامل محیطی هر یک از اجزای عملکرد را تحت تاثیر قرار می‌دهند. بدین ترتیب عملکرد دانه تحت تاثیر عوامل مختلف ژنتیکی و غیر ژنتیکی است که این عوامل دارای روابط پیچیده و متقابل روی یکدیگر هستند و منجر به تعیین عملکرد دانه خواهند شد (هاشمی دزفولی، ۱۳۷۵).

۱-۷- تنش شوری

شوری عبارت است از غلظت بیش از حد عناصر معدنی در محلول آب یا خاک که منجر به تجمع نمک در ناحیه ریشه شود و گیاه در جذب آب کافی از محلول خاک دچار اشکال گردد (سرمدنیا، ۱۳۷۲). در مطالعاتی که تا کنون انجام شده است، شوری بعنوان یک تنش محیطی غیر زیستی، رشد و نمو گیاهان را تحت تاثیر قرار می‌دهد و یکی از مهمترین عوامل محدود کننده تولید کشاورزی در مناطق نیمه خشک و خشک می‌باشد (فلاورز و یئو، ۱۹۹۵). کاهش رشد در گیاهان تحت شرایط تنش شوری می‌تواند به دلیل کاهش ذخایر انرژی گیاه باشد که این امر متاثر از کاهش و اختلال فعالیت‌های زیستی و متابولیسمی گیاه است (کریپیس و گالیبا، ۲۰۰۰). گزارش‌های مختلف نیز حکایت از کاهش رشد، کاهش تولید ماده خشک و همچنین کاهش عملکرد نهایی در اکثر گیاهان نظیر گندم، جو، لوبیا و پنبه بر اثر تنش شوری می‌باشد (پوستینی و سلماسی، ۱۳۷٦).

با توجه به نیاز روز افزون بشر برای تامین نیازهای غذایی روزمره خود و با توجه به افزایش بی‌رویه جمعیت جهان یافتن ارقام گندم دارای دامنه تحمل بالا نسبت به شوری راهی مناسب در جهت افزایش تولید این محصول اساسی در زمین‌ها و یا محیط‌های شور می‌باشد (گرینوای و مونز، ۱۹۸۰). دستیابی به ارقام مقاوم به شوری که دارای عملکرد بیشتر در شرایط تنش باشند، به عنوان یکی از راه حل‌های مقابله با این تنش مطرح است. سرمدنیا (۱۳۷۲) راه حل اساسی بر طرف کردن یا کاهش دادن اثر تنش‌های محیطی را یافتن ژنوتیپ‌هایی می‌داند که دارای مجموعه‌ای از صفات مطلوب با وراثت پذیری بالا باشند. هوشمند و همکاران (۲۰۰۵) نیز اصلاح گیاهان را راه حل مناسبی برای کاهش اثر تنش شوری می‌دانند. زیرا، می‌توان از طریق اصلاح ارقامی که قادر به رشد و تولید اقتصادی در شرایط شوری متوسط هستند، بر آثار منفی تنش شوری فایق آمد.

شوری خاک بر اثر آبیاری، زهکشی نامناسب، پیشروی دریا در مناطق ساحلی و تجمع نمک در نواحی بیابانی و نیمه بیابانی در حال افزایش است. شوری برای رشد گیاه یک عامل محدودکننده است و باعث ایجاد محدودیت‌های تغذیه‌ای از طریق کاهش جذب پتاسیم، نیترات، فسفر و کلسیم، افزایش غلظت یونی درون سلولی و تنش اسمزی می‌گردد (حاجی‌زاده، ۱۳٦۸؛ علیزاده، ۱۳۷۰). فلاورز و یئو (۱۹۹۵) شوری را به عنوان یک اصطلاح عمومی که بیانگر حضور مخلوط‌های متنوعی از نمک‌های خاک می‌باشد، در نظر گرفت. شوری خاک به‌دلیل جلوگیری از جذب آب و عناصر به درون گیاه یکی از مهم‌ترین محدودیت‌های رشد گیاهان زراعی محسوب می‌شود و به عنوان مشکل بزرگ کشاورزی به ویژه در کشاورزی آبی گزارش شده است. مسمومیت یونی، تنش اسمزی و کمبود مواد مغذی که در شرایط وقوع شوری رخ می‌دهند، سبب به هم خوردن توازن متابولیکی و در پی آن تنش اکسیداتیو می‌گردند (تایز و زیگر، ۱۹۹۱). شوری خاک دامنه وسیعی از اختلالات در سلول‌ها و کل گیاه ایجاد می‌کند و رشته‌ای از فرآیندهای معین ایجاد می‌کند که منجر به تجمع کاتیون سمی Na^+ و آنیون Cl^- می‌شود و بر جذب مواد غذایی از طریق اثرات متقابل رقابتی و یا نفوذ پذیری انتخابی یون‌ها در غشاها اثر می‌گذارد، در نتیجه باعث کاهش رشد گیاه می‌گردد (گراتان و گریو، ۱۹۹۲؛ محمد و همکاران، ۱۹۹۸). مقاومت به نمک شامل سلسله‌ای از صفات پیچیده‌ای است که به شرایط فیزیولوژیک درون سلولی در گیاه بستگی دارد (بروریا و آریه، ۱۹۹۸). بنابراین، بررسی جنبه‌های فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی

مقاومت به تنش شوری از اهمیت ویژه‌ای برخوردار است و کمک شایانی در تعیین استراتژی بهبود عملکرد گیاهان زراعی ایفا می‌کند (محمد و همکاران، ۱۹۹۸). مونز و همکاران (۱۹۸۲) اظهار داشتند که علت خسارت شوری، افزایش یون‌ها و یا کمبود آب است. همچنین کمبود آب مورد نیاز برای توسعه بافت‌ها را مسوول کاهش رشد آنها می‌دانند. کاهش رشد بیشتر ناشی از افزایش میزان جذب یون‌ها و بالا رفتن محتوای یونی و همچنین قندها تحت شرایط شور است. در واقع با افزایش Na^+ در محیط، سرعت جذب K^+ به داخل سلول‌های در حال طویل شدن بسیار کاهش می‌یابد. محدود شدن محتوای یونی در بافت‌های در حال توسعه باعث محدود شدن جذب آب و کاهش توسعه سلول می گردد. کمبود آب به واسطه محتوای یونی محدود کننده رشد می‌باشد. کینگسبری و اپستین (۱۹۸٦) در مطالعه اثر یون‌های مختلف بر روی رشد دو ژنوتیپ گندم اظهار داشتند که اثرات سمی ناشی از تجمع یون Na^+ است.

تنش شوری از طریق کاهش تعداد و سطح برگ، بسته شدن روزنه‌ها و تغییر الگوی قرار گرفتن برگ‌ها بر روی ساقه و پیچیدگی برگ‌ها باعث کاهش شدت فتوسنتز در گیاه می‌گردد (آمتور و مک‌کری، ۱۹۸٤). برخی‌ها معتقدند که NaCl بر اثر تخریب اجزای فسفریلاسیون و صدمه به غشای کلروپلاست بر روی فتوسنتز تأثیر می‌گذارد (لئوپولد و ویلینگ، ۱۹۸٤). حساس‌ترین مرحله رشد از نظر تنش شوری در اکثر گونه‌های گیاهی، مراحل اولیه رشد می‌باشد و بیشتر پژوهش‌های مربوط به این زمینه نیز در همین مرحله از رشد انجام گرفته است (رومباگ و ژوهانسون، ۱۹۸۱؛ ذکری و پرسونز، ۱۹۹۰). در بسیاری از مطالعات کاهش رشد در نتیجه افزایش تنش شوری در گیاهان از جمله گندم (سپاسخواه و بورسما، ۱۹۷۹)، جو (مونز و همکاران، ۱۹۸۲)، برنج (دیونیسیو- سه سه و توبیتا، ۱۹۹۸)، سیب زمینی (بناویدس و همکاران، ۲۰۰۰)، پنبه (ملونی و همکاران، ۲۰۰۳) و گوجه فرنگی (رومرو- آباندا و همکاران، ۲۰۰۱) گزارش شده است.

از جمله رویدادهای مهم بیوشیمیایی در گیاهان تحت تنش شوری، تغییرات به صورت کاهش و یا افزایش پروتئین، قند و پرولین می‌باشد. کاهش سنتز پروتئین توسط اندام‌های مختلف گیاهان تحت تنش شوری در گندم (عبدالقدیر و پالسن، ۱۹۸۲)، جو (هلال و منگل، ۱۹۷۹)، گوجه‌فرنگی (الرواحی و همکاران، ۱۹۹۲) و ذرت شیرین (پسرکلی و همکاران، ۱۹۸۹) گزارش شده است. برعکس افزایش سنتز پروتئین در برنج (دوبی و رانی، ۱۹۸۹)، نخود (مهتا و ورا، ۱۹۸۷) بر اثر تنش شوری مشاهده شده است.

ایجاز راسل و همکاران (۱۹۹۷) و ریجیانی و همکاران (۱۹۹۵) گزارش کردند که با افزایش شوری، طول ساقه و ریشه نیشکر و گندم کاهش یافت، ولی طول ریشه بیشتر از طول ساقه تحت تاثیر قرار گرفت. قدسی و همکاران (۱۳۸۱) با بررسی اثرات تنش شوری بر جوانه‌زنی و ویژگی‌های گیاهچه‌ای گندم و تریتیکاله، نشان دادند که اثرات اصلی رقم و تنش شوری و همچنین اثرات متقابل آنها بر کلیه صفات مورد بررسی معنی‌دار بود. افزایش تنش شوری موجب کاهش درصد و سرعت جوانه‌زنی، طول کلئوپتیل، طول ریشه‌چه، افزایش میانگین مدت جوانه‌زنی و نسبت طول کلئوپتیل به ریشه‌چه شد. اکبری مقدم (۱۳۸۱) با بررسی و مقایسه عملکرد ارقام مختلف گندم تحت تنش شوری، نشان دادند که عملکرد ارقام و لاین‌های مورد بررسی بر اثر تنش شوری کاهش یافت. همچنین، رابطه منفی و معنی‌داری بین عملکرد دانه و تعداد دانه در سنبله در غلظت‌های بالای شوری مشاهده گردید.

شوری زیاد ناشی از کلریدسدیم حداقل سه نوع مشکل ویژه در گیاهان عالی ایجاد می‌کند (رنگل، ۱۹۹۲):

۱. فشار اسمزی محلول بیرونی از فشار اسمزی سلول‌های گیاهی بیشتر می‌شود، که این خود نیاز به تنظیم اسمزی توسط سلول‌های گیاهی دارد.

۲. برداشت و انتقال یون‌های غذایی مثل یون‌های پتاسیم و کلسیم توسط سدیم اضافی دچار اختلال می‌شود.

۳. سطوح بالای سدیم و کلر اثرات سمی مستقیمی بر سیستم‌های غشایی و آنزیمی ایجاد می‌کند.

برای مقابله با مشکل شوری خاک دو روش عمده وجود دارد. روش اول به‌کارگیری تکنولوژی است که در آن زمین‌های شور را باید در مقیاس وسیع با آب شیرین کیفیت‌دار آبیاری کرد. روش دوم، روش بیولوژیکی است که در آن از متدهای اصلاح گیاهان، برای ایجاد مقاومت به شوری استفاده می‌کنند. روش بیولوژیکی مقابله با شوری بطور وسیع بکار گرفته شده است ولی موفقیت چشمگیر وقتی حاصل می‌گردد که منابع گیاهی با تغییرات ژنتیکی مطلوب در دسترس قرار گیرند (اپستین، ۱۹۶۳).

۱-۷-۱- مکانیسم‌های تحمل شوری

با وجود اهمیتی که شوری در کاهش تولید محصولات کشاورزی دارد، فیزیولوژی و اساس مولکولی این تنش نسبت به دیگر تنش‌های محیطی نظیر خشکی، گرما و یا سرما کمتر مورد بررسی قرار گرفته است. در ارتباط با پاسخ گیاهان به تنش‌های مختلف این موضوع آشکار شده است که بسیاری از این پاسخ‌ها از مکانیسم‌هایی سرچشمه می‌گیرند که در تنش‌های مختلف شوری، خشکی و سرما مشابه می‌باشند (بوهنرت و همکاران، ۱۹۹۵).

نقش غشاهای سلول در نقل و انتقال یون‌ها، همچنین کانال‌های آب و هورمون‌های گیاهی در تنش شوری قابل ملاحظه است. اما با وجود این، مکانیسم‌های فیزیولوژیک و متابولیک درگیر در تحمل به شوری هنوز به طور کامل مشخص و روشن نشده است. پاسخ گیاهان به تنش شوری بسیار پیچیده است. این پاسخ از غلظت نمک، نوع یون‌ها، عوامل مختلف محیطی و مرحله رشد و نموی گیاه تأثیر می‌پذیرد. تنش شوری مخلوطی از تنش‌های مختلف اسمزی، اکسیداتیو و مسمومیت یونی می‌باشد (سوبارو و ژوهانسن، ۱۹۹۹). گیاهان برای مقابله با این تنش‌ها در شرایط شوری کم و ملایم، با استفاده از برخی محصولات فتوسنتزی برای افزایش غلظت مواد محلول سعی می‌کنند فشار اسمزی داخلی خود را حفظ کنند و با جذب آب بیشتر نشانه‌ای از کمبود آب ظاهر نسازند. همچنین گیاهان با ورود و خروج یون‌ها، تعادل یونی خود را برای انجام طبیعی فعالیت‌های متابولیک تنظیم می‌کنند. به عنوان مثال، جذب و انتقال یون‌های سمی نظیر Na^+ و Cl^- محدود می‌گردد و انتقال یون‌های مورد نیاز در فعالیت‌های متابولیک نظیر پتاسیم ثابت مانده و یا افزایش می‌یابد (گاله و زرونی، ۱۹۸۵). تحمل به شوری را می‌توان تداوم رشد گیاهان در محیط حاوی NaCl و یا ترکیبی از مخلوط نمک‌ها تعریف کرد (شانون، ۱۹۸٤). به طور کلی، گیاهان از لحاظ جذب نمک به دو گروه تقسیم می‌شوند: گروه اول، هالوفیت‌ها هستند که تحمل نسبی به شرایط شور دارند و قادرند مقادیر بالایی از سدیم و کلر را در بافت‌هایشان ذخیره کنند. گروه دوم گلایکوفیت‌ها می‌باشند که تحمل کم به شرایط شور نشان می‌دهند و نمی‌توانند نمک را در بافت‌های خود ذخیره کنند (یونگار، ۱۹۹۱). هم در هالوفیت‌ها و هم در گلایکوفیت‌ها ممکن است که مواد آلی گوناگونی در واکنش به شوری تجمع یابند. پرولین یکی از این مواد می‌باشد که در بسیاری از گونه‌های گیاهی از جمله جو، یونجه، آرابیدوپسیس، سویا، لوبیا، توتون، اسفناج، سیب زمینی و برنج در

واکنش به تنش شوری تجمع می‌یابد (مک‌کو و هانسون، ۱۹۹۲؛ دلانی و ورما، ۱۹۹۳). تجمع پرولین با تحمل به تنش‌های خشکی و شوری رابطه دارد و ممکن است که به عنوان یک منبع ذخیره کربن و نیتروژن در درون سلول نیز به حساب آید (بوهنرت و جنسن، ۱۹۹٦). در بررسی ژنوتیپ‌های گندم و جو با سطوح مختلف تحمل به شوری مشاهده گردید که تحمل به شوری دارای دو مرحله است. اولین مرحله که باعث کاهش شدید رشد می‌شود، مربوط به اثر یون‌های خارج از ریشه است که اثر اسمزی نامیده می‌شود. دومین مرحله که باعث کاهش رشد بر اثر سمیت یون‌ها در داخل گیاه می‌شود، به نام اثر اختصاصی یون‌ها خوانده می‌شود (مونز و همکاران، ۱۹۹۵). تمامی پلی‌آمین‌های طبیعی نظیر اسپرمیدین، اسپرمین، کاداورین[1] و پوترسین[2]، به میزان زیادی از باز ماندن روزنه‌ها جلوگیری می‌کنند و بر بسته ماندن آنها تحت تنش‌های سخت شوری و خشکی مؤثر می‌باشند (لیو و همکاران، ۲۰۰۰).

برخی از مکانیسم‌های تحمل به شوری مانند دفع از طریق غده‌های نمکی در تعداد معدودی از گیاهان وجود دارد و به عنوان مکانیسمی عمومی در سایر گیاهان دیده نمی‌شود (نیو و همکاران، ۱۹۹۵). مورفولوژی گیاه و انتقال نمک در آوندها نیز تحت کنترل ژن‌های تکوینی با الگوی تنظیمی پیچیده می‌باشد. لذا مطالعه و بررسی آنها کار مشکلی است (وینیکوف، ۲۰۰۱). بر اثر شوری نسبت یون‌های داخل سلول توسط نفوذ Na^+ از طریق مجاری غیر انتخابی K^+ تغیر می‌یابد (بلوم والد، ۲۰۰۰). بنابراین، تنظیم انتقال و توزیع یون‌ها در داخل بافت‌های مختلف گیاهان و داخل سلول‌های گیاه عاملی ضروری در تحمل به شوری می‌باشد (ریی و آینگار، ۱۹۹۹). لویت (۱۹۸۰) تحمل نمک را با عدم وجود اثرات منفی شوری بر روی رشد گیاهانی که نمک در بافت آنها تجمع یافته است، مرتبط می‌داند و بر این اساس آن را از مکانیسم‌های اجتناب مجزا می‌داند. به عبارت دیگر وی مکانیسم‌های مقاومت را شامل دو مولفه تحمل و اجتناب قلمداد می‌کند. از مکانیسم‌های اجتناب از تنش شوری می‌توان به دفع نمک در ناحیه ریشه و یا رشد ترجیحی ریشه در قسمت‌های با شوری کمتر خاک، انتقال نمک به داخل اندامک‌های اختصاصی مانند غدد نمکی و کیسه‌های نمکی و یا ذخیره نمک در برگ‌های پیرتر اشاره کرد. اگر چه تحمل نمک به معنای عدم افت رشد و یا افت اندک رشد با وجود نمک در درون بافت‌های گیاهی تعریف می‌شود، به این معنا نیست که تحمل شوری ناشی از یک مکانیسم متابولیک می‌باشد

1. Cadaverin 2. Putrescine

(خوش خلق سیما و عسگری، ۱۳۸۰). زیرا نشان داده شده است که آنزیم‌های استخراج شده از متحمل‌ترین گونه نسبت به شوری به اندازه آنزیم‌های گیاهان حساس به تنش شوری حساسیت نشان می‌دهند (مارشنر، ۱۹۹۵؛ تایز و زایگر، ۱۹۹۱). در واقع گیاهان متحمل شوری از خسارت تنش شوری بواسطه بیرون راندن یون‌ها از برگ‌ها و یا بوسیله تجمع یون‌ها در واکوئل‌ها و دور نگه‌داشتن ماشین سوخت و ساز سلولی از تأثیرات منفی آنها در امان می‌مانند (تایز و زایگر، ۱۹۹۱) و چنانچه یون‌هایی با قابلیت ایجاد سمیت در سطح سلول بویژه سیتوپلاسم تجمع پیدا کنند، منجر به نابودی سلول و گیاه خواهد شد (خوش خلق سیما و عسگری، ۱۳۸۰). به این ترتیب می‌توان ادعا کرد که با درک و مطالعه فرآیند جذب، انتقال و تجمع مواد و عناصر غذایی در گیاهان با الگوی ذخیره این ترکیبات در سطح اندام‌ها، بافت‌ها و سلول می‌توان به ایجاد راهکارهای مؤثر در اصلاح و تولید گیاهان متحمل به تنش شوری امیدوار بود. به نظر می‌رسد هر عاملی که منجر به قرار گرفتن عناصر سمی مانند سدیم و کلر در بخش واکوئلی گردد، قادر خواهد بود که هزینه‌های تنظیم پتانسیل اسمزی را در حد قابل ملاحظه‌ای کاهش بدهد. مطالعه ترکیب تجمع مواد معدنی در گیاهان نشان می‌دهد که حضور غلظت بالای سدیم در بافت‌های گیاه منجر به کاهش رشد گیاه نخواهد شد. نکته حایز اهمیت این است که گیاهان چگونه با غلظت‌های بالای سدیم و دیگر یون‌های سمی در شرایط تنش شوری کنار می‌آیند (خوش خلق سیما و عسکری، ۱۳۸۰).

غشای سلول‌های ریشه گیاهان به عنوان اولین مانع در مقابل نمک، تراوایی اندکی نسبت به Na^+ در مقایسه با K^+ دارند. حتی این غشاها جذب ترجیحی نسبت به K^+ نشان می‌دهند. به عنوان مثال تراوایی سلولی ریشه در جو نسبت به یون پتاسیم بیش از سه برابر یون سدیم می‌باشد (گلن و همکاران ۱۹۹۷). اکثر گیاهان حتی گونه‌های کم تحمل به نمک این انتخاب‌گری بالا نسبت به یون پتاسیم در مقایسه با سدیم را در شوری‌های کم تا متوسط دارا هستند و K^+ را به جای Na^+ در سلول‌های خود ذخیره می‌کنند (گلن و همکاران ۱۹۹۷، پیتمن ۱۹۸٤). از این دیدگاه نسبت یون‌های سدیم به پتاسیم (Na^+/K^+) و یا بر عکس نسبت یون‌های پتاسیم به سدیم (K^+/Na^+) می‌تواند به عنوان شاخصی مناسب در مورد اثرات متضاد سدیم و پتاسیم در گیاه مطرح باشد. این نسبت در بافت گیاه به عنوان شاخص سمیت سدیم به