

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ

مرکز اطلاعات آمار علمی ایران
تهران



دانشگاه ارومیه
دانشکده علوم

« گروه زیست شناسی »

پایان نامه برای اخذ درجه کارشناسی ارشد

عنوان :

ارزیابی مقاومت به خشکی، شوری، سرما، گرما و تغییرات PH و
بررسی تغییرات برخی از شاخصهای فیزیولوژیک و بیوشیمیایی در رابطه با
تنش های اعمال شده در مرحله Seedling در چهار رقم گندم ایرانی

013440

استاد راهنما
دکتر رضا حیدری

ارائه و نگارش
مسعود حیدری زاده

بهار ۱۳۸۰

۲۹۴۳۳

تقدیم به پدرم

که به من جسارت و استقامت آموخت

تقدیم به مادرم

که به من مهربانی و تواضع آموخت

تقدیم به همه آنهایی که

دانش ، دین و آزادی را پاس داشتند

سپاس

خداوند مهربان را به شکرانه الطاف بی‌پایانش از روی بندگی و اخلاص سپاس و ستایش می‌گویم تنها اوست که سزاوار بندگی و شایسته ستایش است.

آموزگاران ، معلمان ، دبیران ، مربیان و اساتیدم را که درس حقیقت ، آگاهی و زندگی به من آموختند ارج می‌گذارم و خود را مدیون تلاش ، تواضع و راهنمایی‌های آنها می‌دانم .

از پدر و مادرم ، آشنایان و دوستان و همه آنهایی که آگاهانه مشوقم بوده‌اند و در راه تحصیل دانش یاری‌ام نموده‌اند سپاسگزارم .
از شایسته که به شایستگی همراهیم کرد و مرا رتبه‌ها را با جان خرید
قدردانی می‌نمایم

از استاد بزرگوار و ارجمندم جناب آقای دکتر رضا حیدری که با صفا و صداقت خویش به من درس دقت پشتکار و اعتماد به نفس آموختند و تشویق‌های ایشان انگیزه و راهگشای من بود تشکر و قدردانی نموده بهروزی دنیا و سعادت آخرت ایشان را از خداوند بزرگوار مسألت می‌نمایم.

از اساتید ، کارشناسان و کارکنان گروه زیست‌شناسی دانشگاه ارومیه قدردانی و تشکر می‌نمایم

از همکاری و مساعدت کارشناسان مرکز تحقیقات کشاورزی ارومیه و مؤسسه تایپ و تکثیر پارسا سپاسگزارم

یادی از دوستان و همکلاسی‌های دوره کارشناسی ارشد آقایان راستی ، عبادی ، منصوریان ، گیتی‌بان و خانم‌ها ریاست ، سیاسی ، حیدریان ، دست‌پاک و جمال امید را وظیفه خود می‌دانم و در همه مراحل زندگی برایشان آرزوی موفقیت می‌نمایم .

فهرست

صفحه	عنوان
الف	چکیده فارسی

فصل اول کلیات (مقدمه ، اهداف و بررسی منابع)

۱	پیشگفتار
۳	سیستماتیک و گیاه شناسی گندم
۵	مطالعه رستیک ، رشد ارقام گندم
۷	مراحل مختلف رشد و نمو گندم
۹	جوانه زنی
۱۰	آلفا آمیلاز
۱۵	نیازهای زراعی گندم
۱۷	به نژادی گندم
۱۹	ویژگیهای بذر گندم
۲۰	ترکیبات شیمیایی بذر گندم
۲۳	استخراج پروتئین های گندم
۲۶	تنش خشکی
۲۸	پرولین
۳۱	تنش های دمایی

فصل دوم مواد و روشها

۳۳	خلاصه
۳۵	مطالعات انجام شده روی بذر ارقام
۳۵	روش تعیین رطوبت نسبی
۳۵	روش اندازه گیری پروتئین کل با متد کجلدال
۳۸	روش اندازه گیری قندهای محلول (متد فنل - سولفوریک اسید)
۳۹	روش اندازه گیری نشاسته

۴۰	روش اندازه گیری پروتئین های محلول (فولن - لوری)
۴۲	روش سنجش پرولین آزاد متد Bates
۴۳	تنش خشکی
۴۳	اندازه گیری درصد جوانه زنی ارقام مورد مطالعه
۴۵	تنش های دمایی
۴۵	تنش سرما
۴۶	روش سنجش فعالیت آلفا آمیلاز
۴۸	روش و مراحل کار الکتروفورز با تکنیک SDS - PAGE

فصل سوم نتایج

۵۳	نتایج
۶۷ تا ۵۷	جداول مربوط به نتایج (جداول شماره ۱ تا ۱۲)
۷۴ تا ۶۸	نمودارها و منحنی های مربوط به نتایج (نمودارهای شماره ۱ تا ۱۲)

فصل چهارم (بحث، نتیجه گیری و پیشنهادات)

۷۵	بحث
۸۲	آزمون دانکن
۸۹ تا ۸۶	جداول آنالیز واریانس (۱-۴ الی ۴-۴)
۹۴ تا ۹۰	جداول آزمون دانکن (۶-۴ الی ۱۵-۴)
۹۵	چکیده انگلیسی

فصل پنجم ضمیمه

۱۰۱ تا ۹۷	منحنی های استاندارد
۱۰۲	منابع
۱۱۴ تا ۱۰۷	تصاویر و عکس ها

عنوان: ارزیابی مقاومت به خشکی، شوری، سرما، گرما و تغییرات PH و بررسی تغییرات برخی از شاخصهای فیزیولوژیک و بیوشیمیایی در رابطه با تنش‌های اعمال شده در مرحله Seedling در چهار رقم گندم ایرانی

چکیده

وزن هزار دانه، درصد رطوبت، مقدار نشاسته، مقدار قندهای محلول و میزان پروتئین در بذر ارقام سرداری، زرین، سبلان و الموت اندازه‌گیری گردید. درصد این ترکیبات شیمیایی در بذر ارقام مورد مطالعه با هم متفاوت است.

دو رقم سرداری و زرین به صورت گلدانی با طرح آزمایشی پایه بلوکهای کامل تصادفی و به صورت فاکتوریل (فاکتور رقم \times فاکتور سطح تنش) در سه سطح تنش خشکی بر حسب ظرفیت زراعی (F.C) کاشته شدند. بعد از ده روز غلظت اسمورگولاتورها یعنی پرولین آزاد و قندهای محلول در ریشه و برگ گیاهچه‌ها اندازه‌گیری گردید. میزان پرولین و میزان قندهای محلول با افزایش شدت خشکی در ریشه و برگ هر دو رقم به صورت معنی‌دار افزایش نشان می‌دهند. افزایش پرولین در برگ و افزایش قندهای محلول در ریشه بیشتر است. شاخص فیزیولوژیک GR با افزایش شدت خشکی به طور معنی‌دار کاهش نشان می‌دهد. شاخص فیزیولوژیک وزنی R/S با افزایش شدت خشکی به طور معنی‌دار افزایش نشان می‌دهد.

رشد رویشی اولیه و پاسخهای فیزیولوژیک و بیوشیمیایی دو رقم آبی و دیم مورد مطالعه در شرایط تنش اعمال شده یکسان بوده جز در مورد پرولین برگ و R/S با همدیگر تفاوت معنی‌دار نشان نمی‌دهد.

اثر سرما، گرما، خشکی، شوری و PH بر جوانه‌زنی ارقام زراعی سرداری، سبلان، الموت و زرین بررسی گردید. در دمای ۵ درجه سانتیگراد الموت با ۱۰۰٪ جوانه‌زنی مقاومترین و زرین با ۵۸٪ جوانه‌زنی حساسترین ارقام به سرما شناخته شدند. در ۴۰ درجه سانتیگراد الموت با ۱۶٪ جوانه‌زنی

مقاومترین و زرین با صفر درصد جوانه‌زنی حساسترین ارقام به گرما بودند. در پتانسیل اسمزی ۱/۲۲- مگاپاسکال رقم سرداری با ۷۵٪ جوانه‌زنی مقاومترین و زرین با ۱۰٪ حساسترین رقم به کم آبی و خشکی بودند. در غلظت ۱۰ گرم در لیتر یا ۰/۱۷۱ مولار نمک طعام رقم سبلان با ۶۰٪ جوانه زنی مقاومترین و سرداری با ۴۰٪ جوانه‌زنی حساسترین رقم به شوری می‌باشند. جوانه‌زنی ارقام در سطوح متفاوت PH نشان داد که PH بهینه جوانه‌زنی در محدوده ۹-۵ بوده، رقم سرداری برای کشت در زمینهای اسیدی مناسب‌تر و رقم زرین حساسترین رقم به محیطهای اسیدی می‌باشد. مطالعه ترکیبات شیمیایی بذر ارقام، رابطه معنی‌دار بین درصد پروتئین بذر ارقام و مقاومت آنها به خشکی، شوری، سرما و گرما را نشان می‌دهد.

ستیک رشد در مرحله جوانه‌زدن نشان داد که رقم سرداری با RGR برابر ۰/۰۸۹ سریعترین رشد و سبلان با RGR برابر ۰/۰۶۴ رشد نسبی کمتری دارد.

درصد جوانه‌زنی ارقام در سطوح متفاوت دمائی (45°C تا صفر) با همدیگر مقایسه گردید درصد جوانه زنی رقم الموت دردهماهای بالا و پایین بطور معنی‌دار بیشتر از رقم زرین می‌باشد. بر این اساس می‌توان رقم الموت را مقاوم و رقم زرین را حساس به سرما و گرما معرفی کرد. در ارقام مقاوم درصد پروتئین بذر بیشتر و درصد نشاسته بذر کمتر از ارقام حساس می‌باشد. با استفاده از طرح آزمایشی بلوکهای کامل تصادفی دانه رسته‌های ۴ روزه را بمدت 24h، 5 h مورد تیمار حرارتی 43°C و تیمار سرما 4°C - قرار دادیم. بعد از این مدت تغییرات پروتئین کل و قندهای محلول و تغییر الگوی الکتروفورز پروتئینهای برگ ارقام گندم را در مقایسه با تیمار شاهد 18°C مورد مطالعه قرار دادیم. تیمار سرما ($4^{\circ}\text{C}/24\text{h}$) باعث افزایش قندهای محلول برگ در هر دو رقم می‌شود در حالیکه بر میزان پروتئین کل برگ اثر معنی‌دار ندارد. تیمار گرما 43°C میزان پروتئین کل و قندهای محلول برگ را در هر دو رقم بطور معنی‌دار افزایش می‌دهد. در تیمار حرارتی فاکتور مدت اعمال تنش (5h یا 24h) اثر معنی‌دار بر میزان پروتئین های برگ دارد. الکتروفورز

پروتئینهای برگ با روش SDS-PAGE ، تشکیل چهار باند پروتئینی ۲۱ ، ۱۷/۵ ، ۱۴/۶ و ۱۰/۲ کیلودالتونی را به هنگام اعمال تیمار حرارتی $43^{\circ} / 5h$ نشان داد که در سایر تیمارها تشکیل نگردیده اند . این پروتئینها همان Heat shock Proteins هستند .

بررسی اثر سرما بر فعالیت آلفا آمیلاز نشان داد که فعالیت این آنزیم متاثر از دما بوده و با کاهش دما فعالیت آن کاهش معنی دار می یابد دو رقم از این نظر تفاوت معنی داری نشان ندارند .

با کاهش فعالیت آمیلاز در اثر کاهش دما انتظار می رود که غلظت قندهای محلول در بخش بذری دانه رستها و گیاهچه ها کاهش و غلظت نشاسته افزایش یابد.

نتایج نشان داد که غلظت قندهای محلول متناسب با کاهش فعالیت آلفا آمیلاز کاهش نشان می دهد ولی این اثر معنی دار در مورد غلظت نشاسته مشاهده نشد .

تأثیر دما بر فعالیت آمیلاز ، غلظت قندهای محلول و نشاسته در بخش بذری گیاهچه های دو رقم مورد ارزیابی قرار گرفت نتایج نشان داد که فعالیت آمیلاز با کاهش دما بطور معنی دار کاهش می یابد غلظت قندهای محلول نیز با کاهش دما بطور معنی دار کاهش نشان می دهد ولی اثر کاهش دما بر میزان نشاسته در بخش بذری گیاهچه ها معنی دار نیست .

فصل اول

کلیات

- مقدمه
- اهداف
- بررسی منابع

فصل اول : کلیات

پیشگفتار

اختصاص بیش از ۷ میلیون هکتار از اراضی کشور به کشت گندم با تولید سالیانه ۱۲ میلیون تن (در سال زراعی ۷۶-۷۷) و مصرف سرانه بالغ بر ۲۰۵ کیلوگرم ، با اهمیت و استراتژیک بودن این محصول زراعی را می رساند . (۵)

گندم غذای اصلی مردم را تشکیل می دهد آمارها نشان می دهد ۸۷-۶۱ درصد کالری مورد نیاز و ۹۳-۷۸ درصد پروتئین دریافتی از مصرف نان تأمین می شود که این مقادیر در جوامع شهری و روستایی و استانهای مختلف کشور باهم متفاوت می باشند (در آذربایجانغربی فقط ۵۹ درصد کالری از غلات تأمین می شود در این استان تعادل بیشتری بین مواد غذایی مصرفی وجود داشته مصرف میوه نسبت به سایر استانها بیشتر است) (۵) . اگر میزان پروتئین گندم را به طور متوسط ۱۲ درصد در نظر بگیریم میزان پروتئین گیاهی حاصل از تولید سالیانه گندم در کشور بیشتر از ۱/۵ میلیون تن خواهد بود که این مقدار پروتئین با مصرف نان می تواند نقش اساسی در تأمین پروتئین مورد نیاز رژیم غذایی افراد جامعه داشته باشد . (۵)

گندم از نظر تولید و سطح زیر کشت مهمترین محصول کشاورزی ایران محسوب می شود با توجه به رشد جمعیت ضروری به نظر می رسد که افزایش سطح زیر کشت ، به نژادی ، به زراعی ، افزایش کیفیت و بالابردن عملکرد زراعی گندم ، از جوانب مختلف مورد توجه قرار گرفته و شرایط لازم برای حصول حداکثر تولید و افزایش سطح زیر کشت و مرغوبیت محصول در شرایط اقلیمی کشور فراهم گردد که این مستلزم تحقیقات بیشتر و قرار گرفتن موضوع در اولویت تحقیقاتی کشور می باشد .

اگر در ایران همانند سایر کشورها (و همچون چغندر قند) خرید گندم از کشاورزان بر اساس درصد پروتئین صورت گیرد کشاورزان به دنبال حل مشکلات بهبود کیفیت گندم بوده و برای افزایش

ارزش اقتصادی محصول خود کیفیت را بهبود خواهند بخشید و محققین نیز روشهای افزایش درصد پروتئین و بالابردن کیفیت آنرا پیشنهاد خواهند کرد که یکی از بهترین روشها ترویج مصرف بهینه کودها از جمله کود ازته و سولفات و ... می باشد .

کشور ما در اقلیم نیمه خشک قرار دارد و ۶۳/۸ درصد محصول گندم کشور از مزارع آبی بدست می آید از طرف دیگر سرماهای زودرس پائیزه و بهاره در بیشتر مناطق کشت گندم ما را وادار به معرفی و شناسائی ارقام مقاوم به سرما و خشکی می نماید

جوانه زنی Germination اولین مرحله رشد و نمو گندم می باشد ، فیزیولوژی جوانه زنی ، نیازهای فیزیولوژیکی و سنیتیک رشد در این مرحله ، بررسی تأثیر عوامل محیطی (PH ، شوری ، گرما ، سرما ، کم آبی) موثر بر جوانه زنی و ارزیابی میزان مقاومت ارقام مختلف نسبت به این تغییرات از اهداف اولیه دراین پایان نامه می باشند . مقایسه درصد ترکیبات شیمیایی شامل پروتئین ، قندهای محلول ، نشاسته رطوبت و وزن هزاردانه ارقام مورد مطالعه و بررسی تغییرات این ترکیبات به هنگام اعمال تنش های محیطی (خشکی ، سرما ، گرما) و در نهایت ارزیابی تغییرات بعضی از صفات مورفولوژیکی ناشی از تنش های مورد مطالعه از جوانب دیگر مورد مطالعه ما دراین پایان نامه بوده اند .

با یک طرح آزمایشی بلوکهای کامل تصادفی بصورت فاکتوریل 2×3 با ۳ تکرار تأثیر هرکدام از تنش های (خشکی ، سرما ، گرما) بطور جداگانه بر صفات مورد مطالعه در ارقام متفاوت با همدیگر مقایسه و تحلیل آماری بر آن انجام شد .

تغییرات بیان ژن و ترجمه پروتئین ها به هنگام تنش و سنتز یا عدم سنتز پروتئین های جدید در شرایط تنش در ارقام مختلف با روش SDS-PAGE¹ با هم مقایسه شدند .

¹ - Sodium dodecyl sulfat – Polyacrylamide gel electrophoresis

سیستماتیک و گیاه شناسی گندم

شاخه اسپرما توفیتا (دانه داران)	Spermatophyta
زیر شاخه نهاندانگان	Angiosperm
رده تک لپه ایها	Monocotyledon
راسته گلو مال (ها) گندمی ها	Glumales
تیره گرامیناسه	Graminaceae
زیر تیره پوئیده = پو آسه	Poaceae
طایفه تری تیه	Trticeae
جنس تری تیکوم	Triticum

جنس تری تیکوم در نقاط مختلف ایران دارای ۱۰ گونه می باشد و در کل تقریباً ۴۰ گونه در

سراسر جهان دارد که همگی وحشی و خودرو می باشند . (۸)

گندم های معمولی زراعی را می توان به سه گروه زیر تقسیم کرد :

گروه اول :

گندمهای زراعی با شماره کروموزومی $n=21$ شامل تری تیکوم^۱ ولگار، تری تیکوم کمپاکتوم^۲ و

تری تیکوم اسفروکوکوم^۳ و تری تیکوم اسپلتا^۴ و ... که همه آنها به بیماریهای انگلی حساس بوده و مقاوم نیستند (هگزا پلوئید)

1- Triticum vulgare
4- T. spelta

2- T.compactum

3- T.sphaerococcum

گروه دوم :

تریتیکوم دیکوکوم که گندمهای نشاسته دار و شماره کروموزوم پایه آنها $n=14$ است شامل تریتیکوم دوروم^۱ یا گندم سخت ، تریتیکوم تورژیدوم^۲ (درشت دانه) و تریتیکوم پولونیکوم^۳ بوده که به بیماریها حساسیت کمتری دارند (تراپلوئیدها)

گروه سوم :

تریتیکوم مونوکوکوم^۴ دارای کروموزوم پایه $n=7$ و بسیار مقاوم به بیماریها می باشد (دیپلوئید) دورگه شدن طبیعی و هیبریداسیون بین تریتیکوم دیکوکوم^۵ با ازیلوپس (زیر جنس تریتیکوم) می تواند منجر به گندمهای زراعی متنوع شود . (۱۰)

پس بطور کلی از نظر شماره کروموزومی گندم ها را به ۳ گروه زیر طبقه بندی می کنند :

الف - گندمهای دیپلوئید یا تریتیکوم مونوکوکوم $n=7$

ب- گندمهای تراپلوئید یا تریتیکوم دیکوکوم $n=14$

ج- گندمهای هگزاپلوئید *T.aestivum* $n=21$

الف - گندم دیپلوئید یا تریتیکوم مونوکوکوم دارای چندین وارته به نامهای مختلف می باشد مقاومت زیادی به سرما ، گرما و خشکی داشته ولی محصول آن خیلی پائین است از شمار گندمهای وحشی بوده احتمالاً جد تمام گندمهای زراعی می باشد از نظر ظاهری و فرم رویش ویژگیهای شاخصی دارد .

ب- گندمهای تراپلوئید یا تریتیکوم دیکوکوم دارای چندین وارته بوده از نظر شکل دانه و فرم رویش و خصوصیات ظاهری از انواع دیگر متمایز است تطابق خاص با زمینهای فقیر و خاکهای شنی

- 1- *T.durum*
- 2- *T.turgidum*
- 3- *T.polonicum*

- 4- *T.monococcum*
- 5- *T.dicicum*

و آب و هوای گرم و خشک و مقاومت خاصی نسبت به دمای پائین نشان می دهد یکی از مشخصات آن نشاسته ای یا آردینه ای بودن آندوسپرم و محدب بودن پشت دانه است .

ج- گندمهای هگزا پلوئید یا *T.aestivum* دارای واریته های خیلی زیادی است که حاصل به نژادی می باشد گلوتن مناسب نانوائی داشته با شرایط مختلف تطابق داشته در تمام مناطق دنیا کشت می شود و دامنه پراکندگی آن از هرگونه دیگر بیشتر است ۹۵٪ گندمهای ایران از واریته های این گونه می باشند که دارای ویژگیهای مورفولوژیکی و ظاهری قابل تفکیک از هم می باشند

پلی پلوئیدی و هیبریداسیون دو عاملی هستند که در پیدایش اشکال جدید گندمیان و گندمهای زارعی نقش بسیار مهمی دارند . (۱۰)

مطالعه سینینیک رشد در ارقام گندم

نمو یک موجود زنده شامل تغییرات کمی و افزایش ابعاد (رشد) و اکتساب خصوصیات جدید مورفولوژیکی و عملکردی (تمایز) می شود .

تکامل رشد در طی زمان را می توان با منحنی های رشد بیان و آنها را به مدل های ساده ریاضی تبدیل کرد که این امکان حصول پارامترهای مقایسه را می دهد .

رشد در حقیقت تغییرات کمی است که در طی نمو گیاه متجلی می گردد که این تغییرات با افزایش ابعاد بدون تغییرات قابل توجه در صفات کیفی تفسیر می شوند . بر اساس این تعریف باید معیار ارزشیابی را ابعاد هندسی مانند طول ، قطر ، سطح و بندرت حجم که با روشهای مکانیکی ، نور ، عکسبرداری مستقیم قابل اندازه گیری می باشند انتخاب نمود و نیز باید توجه داشت که تغییرات صرف مکانیکی قابل برگشت به جای رشد در نظر گرفته نشوند .

بهر آنست که رشد را بصورت افزایش جرم که الزاماً وابسته آن است مورد توجه قرار داد در اینصورت وزن تر (وزن ماده تر) و یا وزن خشک در نظر گرفته می شود .