دانشکده کشاورزی

گروه زراعت واصلاح نباتات

پایان نامه

برای دریافت درجه کارشناسی ارشد رشته اصلاح نباتات

عنوان

بررسی پاسخ ارقام گندم به تنش خشکی با استفاده از نشانگرهای ایزوزیمی

استاد راهنما:

دکتر مصطفی ولیزاده

استاد مشاور:

دکتر مظفر روستائی

پژوهشگر :

بیتا کاظمی اسکوئی

بهمن 1389

تقدیم به پدر بزرگوار و مادر مهربانم

و برادر عزیزم

به پاس تمامی لحظات زندگی ام

تقدیر و تشکر:

سپاس بی‌کران پروردگار یکتا را که هستی‌ام بخشید، مرا به طریق علم و دانش رهنمون شد و به همنشینی رهروان دانش مفتخرم نمود و خوشه چینی از خرمن علم و دانش را روزیم ساخت. گذر از ا ین راه و فائق آمدن بر مشکلات و دشواری ها ممکن نبود مگر به لطف و یاری آنها که از عطای وجودشان بهره‌مند بودم. حال که به لطف و عنایت خداوند متعال موفق به اتمام این پژوهش گردیدم بر خود لازم می-دانم از بزرگوارانی که مرا در این امر یاری کردند قدردانی نمایم. در ابتدا نهایت سپاس خود را خدمت استاد راهنمایم جناب آقای دکتر مصطفی ولی‌زاده به پاس راهنمایی ها و حمایت های بی دریغشان در راه انجام این پایان نامه ابراز مینمایم. از استاد مشاور جناب آقای دکتر مظفر روستایی به خاطر همکاری ارزشمند شان، از جناب آقای دکتر محمود تورچی که قبول زحمت فرموده و پایان نامه اینجانب را به دقت مطالعه و داوری نمودند، از جناب آقای دکتر محمد مقدم که مرا در انجام تجریه و تحلیل های آماری کمک و راهنمایی فرمودند، از جناب آقای دکتر سعید خماری و جناب آقای مهندس ابراهیم زرقانی به پاس راهنمایی های ازرشمندشان و تمامی دوستان و همکلاسی های عزیزم که مرا در انجام این تحقیق یاری نمودند، تشکر و قدردانی می نمایم. درخاتمه از زحمات و تلاش های پدر و مادر بزرگوار و برادر عزیزم که همیشه مشوق من در تحصیل علم بودند و امکانات کسب دانش را برای من فراهم آورده‌اند صمیمانه سپاسگذارم و همواره قدردان الطاف بی دریغشان خواهم بود.

نام خانوادگی: کاظمی اسکوئی نام: بیتا

عنوان پایان نامه: بررسی پاسخ ارقام گندم به تنش خشکی با استفاده از نشانگرهای ایزوزیمی

استاد راهنما: دکتر مصطفی ولیزاده

استاد مشاور: دکتر مظفر روستائی

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

دانشگاه : تبریز دانشکده: کشاورزی تاریخ فارغ التحصیلی : 89/11/16 تعداد صفحات: 94

واژه های کلیدی: ایزوزیم، تنش، پراکسیداز، کاتالاز، سوپراکسید دیسموتاز

چکیده:

خشکی یکی از فاکتورهای مهم محدود کننده تولید محصول در جهان و ایران است و این موضوع با افزایش تغییرات آب و هوایی کره زمین اهمیت بیشتری پیدا می‌کند. گندم غذای ضروری بیش از 35% مردم دنیاست. بنابرین ارزیابی واکنش ارقام متفاوت گندم در برابر تنش‌ها ضروری است. اندازه‌گیری آنزیم های آنتی اکسیدان در طول تیمارهای تنش خشکی به عنوان روشی جهت ارزیابی واکنش گیاه در برابر تنش پذیرفته شده است. در این پژوهش فعالیت آنزیم های آنتی اکسیدان و الگوی ایزوزیمی آنها در برگ و ریشه گیاهچه‌های هشت رقم گندم پائیزه با حساسیت متفاوت به خشکی (چهار رقم حساس و چهار رقم مقاوم) در دو شرایط عادی و تنش مورد بررسی قرار گرفت. میزان بیان آنزیم ها با استفاده از نرم‌افزار MCID اندازه‌گیری شد. در گیاهچه‌های حاصل از بذرهای فوق دو ایزوفرم سوپراکسید دیسموتاز (SOD) و یک ایزوفرم کاتالاز (CAT) و هفت ایزوفرم پراکسیداز (POX) شناسایی شدند. یک ایزوفرم از SOD و دو ایزوفرم از POX بین ریشه و برگ گیاهچه‌ها متفاوت بودند. فعالیت CAT در تمامی ارقام در شرایط تنش بدون تغییر باقی ماند. اما SOD و برخی ایزوفرم‌های POX به طور معنی‌داری در مقایسه با حالت عادی کاهش بیان پیدا کردند. ارقام متفاوت گندم پاسخ‌های متفاوتی به تنش از خود نشان دادند. در برگ اختلاف معنی‌داری($P<0.01$) بین دو گروه حساس و مقاوم از لحاظ فعالیت کمی شده تمامی ایزوزیم های POX مشاهده شد، به طوری که ارقام مقاوم بیشترین فعالیت را به خود اختصاص دادند. اثر متقابل معنی داری بین تنش و ارقام گندم از لحاظ فعالیت کمی شده ایزوزیم‌های SOD، CAT و POX در هیچکدام از بافت ها به دست نیامد. گروه مقاوم حدود 38% افزایش فعالیت نسبت به گروه حساس برای POX کل نشان داد. در ریشه‌ها نیز همانند برگ ها SOD در شرایط تنش به شکل معنی‌داری کاهش بیان نشان داد. ولی اثر متقابل شرایط محیطی و گروه‌های گندم معنی‌دار نبود. برای آنزیم CAT گروه‌های مقاوم گندم درحدود 29% نسبت به گروه حساس افزایش بیان داشته و اختلاف معنی‌دار نشان داد. چهارتا از ایزوزیم های پراکسیداز POX_3، POX_4، POX_5 و POX_7 ریشه اثر متقابل، برای گروه گندم و تنش نشان دادند. به طوری که برای همه آنها در شرایط عادی میزان بیان آنزیم در گروه مقاوم و حساس از نظر آماری یکسان بود، ولی میزان بیان در شرایط تنش برای گروه مقاوم کاهش معنی‌دار نشان داد. بنابراین از ایزوزیم های پراکسیداز ریشه در مطالعه پاسخ به تنش-ها و نیز احتمالاً گزینش با کمک نشانگر در گندم می توان استفاده کرد.

مقدمه 1

فصل اول: بررسی منابع

1-1-گندم 4
1-1-1-خاستگاه تاریخچه زراعت 4
1-1-1-ژنتیک و گیاهشناسی 4
1-2-تنش های محیطی 5
1-2-1- تعریف تنش 5
1-2-2-انواع تنش‌های محیطی 6
1-3-خشکی و تنش ناشی از آن 6
1-3-1-انواع خشکی 6
1-3-2-پاسخ گیاه در مقابل تنش خشکی 7
1-4-سازگاری ـ خوگیری 8
1-5- گونه های فعال اکسیژن دار (ROS) 9
1-5-1- محل و نحوه تولید آن 9
1-5-2- تولید ROS تحت تنش خشکی 13
1-5-3-پاک‌سازی و حفاظت تحت تنش خشکی 14
1-5-4-سیگنال‌دهی ROS تحت تنش خشکی 14
1-6-تنش اکسیداتیو 15
1-7-پاسخ آنتی‌اکسیدان 17

فصل دوم: مواد و روش ها

2-1-مواد گیاهی 25
2-1-1-ارقام و منشاء 25
2-2-الکتروفورز 26
2-2-1-الکتروفورز پروتئین‌های محلول 26
2-2-2-تهیه ژل 27
2-2-3محلول 30 درصد الکریلامید (A) 27
2-2-4- بافرژل 28
2-2-5-محلول الکترود 28
2-3-آنزیم های مورد مطالعه 29
2-3-1-استخراج آنزیمی 29
3-3-2-راه‌اندازی الکتروفورز افقی 30
2-4-رنگ آمیزی آنزیم ها 31
2-4-1-رنگ آمیزی کاتالاز 32
2-4-2-رنگ آمیزی پراکسیداز 32

2-4-3-رنگ آمیزی سوپراکسید دیسموتاز 32
2-5-کمی‌سازی نوارهای ایزوزیمی 33
2-6-نام گذاری نوارهای ایزوزیمی 35
2-6-تجزیه وتحلیل داده ها 36

فصل سوم: نتایج و بحث

3-1-فعالیت ایزوزیم های آنتی اکسیدان در برگ ها 38
CAT-3-1-1 44
SOD-3-1-2 45
POX-3-1-3 48
3-2- فعالیت ایزوزیم های آنتی اکسیدان در ریشه 62
SOD-3-2-1 63
CAT-3-2-2 66
POX-3-2-3 71
نتیجه گیری 80
منابع مورد استفاده 84

جدول1-2-شجره و پاسخ به خشکی هشت رقم گندم مورد مطالعه..... 25

جدول 2-2- نمونه ای از کمی‌سازی فعالیت ایزوزیمی برخی نوار های موجود در ژل..... 34

جدول1-3-تجزیه واریانس اثر تنش خشکی بر فعالیت ایزوزیم های آنتی اکسیدان در برگ گیاهچه‌های ارقام مقاوم و حساس گندم..... 43

جدول2-3-میانگین فعالیت ایزوزیم های سوپراکسیددیسموتاز..... 47

جدول 3-3–تجزیه واریانس اثر تنش خشکی بر فعالیت ایزوزیم های آنتی اکسیدان پراکسیداز در برگ گیاهچه‌های ارقام مقاوم و حساس گندم..... 50

جدول4-3-میانگین فعالیت ایزوزیم های پراکسیداز در دو شرایط عادی و تنش..... 51

جدول5-3- میانگین فعالیت ایزوزیم های پراکسیداز در ارقام مورد مطالعه گندم..... 54

جدول6-3-میانگین فعالیت ایزوزیم های پراکسیداز در ارقام مقاوم و حساس گندم..... 60

جدول 7-3–تجزیه واریانس اثر تنش خشکی بر فعالیت ایزوزیم های آنتی اکسیدان در ریشه گیاهچه‌های ارقام مقاوم و حساس گندم..... 65

جدول 8-3–تجزیه واریانس اثر تنش خشکی بر فعالیت ایزوزیم های آنتی اکسیدان در ریشه گیاهچه‌های ارقام مقاوم و حساس گندم..... 68

جدول 9-3-میانگین فعالیت ایزوزیم های کاتالاز و پراکسیداز در ارقام حساس و مقاوم گندم..... 69

جدول10-3- میانگین فعالیت ایزوزیم های سوپراکسیددیسموتاز و پراکسیداز در دو شرایط تنش و عادی 69

جدول 11-3-میانگین فعالیت ایزوزیم های کاتالاز و پراکسیداز در ریشه گیاهچه های ارقام گندم مورد مطالعه..... 70

شکل1-1-مراکز تولید ROS در سلول..... 12
شکل2-1-کمپلکس دفاعی آنزیم های آنتی اکسیدان..... 18
شکل 2-1-نمونه ای از الکتروفورگرام ارقام مقاوم وحساس گندم برای آنزیم پراکسیداز در تنش شدید..... 33
شکل 2-2-کمی سازی چند نوار آنزیمی در روی یک ژل..... 34
شکل 3-1- نمونه ای از الگوی ایزوزیمی کاتالاز (CAT) در برگ و ریشه گیاهچه های گندم پائیزه متعلق به بذور کشت شده در شرایط تنش خشکی در ژل پلی اکریلامید افقی..... 38
شکل 3-2- نمونه ای از الگوی ایزوزیمی سوپراکسید دیسموتاز (SOD_1 , SOD_2) در برگ و ریشه گیاهچه های گندم پائیزه متعلق به بذور کشت شده در شرایط عادی در ژل پلی اکریلامید افقی..... 39
شکل 3-3- نمونه‌ای از الگوی ایزوزیمی پراکسیداز (POX_1، POX_2، POX_3، POX_4، POX_5، POX_6، POX_7 و POX_8) در برگ و ریشه گیاهچه‌های گندم پائیزه متعلق به بذورکشت شده در شرایط تنش خشکی در ژل پلی اکریلامید افقی..... 40
شکل 3-4- نمونه‌ای از الگوی ایزوزیمی پراکسیداز (POX_1، POX_2، POX_3، POX_4، POX_5، POX_6، POX_7 و POX_8) در برگ و ریشه گیاهچه‌های گندم های مقاوم به تنش خشکی در هر دو شرایط تنش خشکی و عادی، T نشان دهنده رقم مقاوم می باشد..... 41
شکل 3-5- نمونه‌ای از الگوی ایزوزیمی پراکسیداز (POX_1، POX_2، POX_3، POX_4، POX_5، POX_6، POX_7 و POX_8) در برگ و ریشه گیاهچه‌های گندم های حساس به تنش خشکی در هر دو شرایط تنش خشکی و عادی، S نشان دهنده حساس بودن رقم است..... 42
شکل 3-6-میانگین فعالیت ایزوزیم SOD_2 در دوحالت تنش و عادی..... 46
شکل 3-7-میانگین فعالیت ایزوزیم SOD کل در دوحالت تنش و عادی..... 47
شکل 3-8- میانگین فعالیت دنسیومتریک ایزوزیم های الف) POX_6 ب) POX_5 ج) POX_4 در دو شرایط تنش و عادی در برگ گیاهچه‌های ارقام مقاوم و حساس گندم..... 52
شکل 3-9-میانگین فعالیت دنسیومتریک ایزوزیم POX_6در ارقام گندم مورد مطالعه..... 57
شکل 3-10- میانگین فعالیت دنسیومتریک ایزوزیم POX_5 در ارقام گندم مورد مطالعه..... 57
شکل 3-11-تغییرات در فعالیت دنسیومتریک ایزوزیم های الف)POX_4 ب) POX_3 ج)POX_2 در ارقام گندم مورد مطالعه..... 58
شکل 3-12-میانگین فعالیت دنسیومتریک ایزوزیم های POX در ارقام مقاوم و حساس گندم..... 59
شکل 3-13-تغییرات در فعالیت دنسیومتریک ایزوزیم هایPOX کل الف)شرایط تنش شدید و عادی ب) ارقام مقاوم و حساس ج) ارقام مورد مطالعه گندم..... 61
شکل 3-14-میانگین فعالیت دنسیومتریک ایزوزیم SOD در حالت تنش شدید و عادی..... 64

شکل 3-15- تغییرات در فعالیت دنسیومتریک ایزوزیم های CAT در الف) ارقام مورد مطالعه ب) ارقام مقاوم و حساس..... 67

شکل 3-16- میانگین فعالیت دنسیومتریک ایزوزیم های POX در ریشه گیاهچه‌های ارقام گندم در حالت تنش شدید و عادی..... 72

شکل 3-17-میانگین فعالیت دنسیومتریک ایزوزیم های POX_1 , POX_3 , POX_6 در ریشه گیاهچه‌های ارقام گندم در دو شرایط تنش شدید و عادی 72

شکل 3-18-تغییرات در فعالیت دنسیومتریک ایزوزیم های POX_3 در ریشه گیاهچه‌های ارقام گندم مورد مطالعه..... 73

شکل 3-19-میانگین فعالیت دنسیومتریک ایزوزیم های POX_4 , POX_3 , POX_5 در ریشه گیاهچه‌های ارقام مقاوم و حساس گندم..... 73

شکل3-20- میانگین فعالیت دنسیومتریک ایزوزیم های POX در ریشه گیاهچه‌های ارقام مقاوم و حساس گندم..... 74

شکل 3-21-میانگین فعالیت دنسیومتریک ایزوزیم های POX_7 در ریشه گیاهچه‌های ارقام مقاوم و حساس‌گندم در دو سطوح تنش شدید و عادی..... 76

شکل 3-22- تغییرات در فعالیت دنسیومتریک ایزوزیم های POX_5 در ریشه گیاهچه های ارقام مقاوم و حساس گندم در دو سطوح تنش شدید و عادی..... 77

شکل3-23-تغییرات در فعالیت دنسیومتریک ایزوزیم های POX_4 در ریشه گیاهچه های ارقام مقاوم و حساس گندم در دو سطوح تنش شدید و عادی..... 77

شکل 3-24-تغییرات در فعالیت دنسیومتریک ایزوزیم های POX_3 در ریشه گیاهچه های ارقام مقاوم و حساس گندم در دو سطوح تنش شدید و عادی..... 78

شکل 3-25-تغییرات در فعالیت دنسیومتریک ایزوزیم هایPOX کل در ریشه گیاهچه های ارقام مقاوم و حساس گندم در دو سطوح تنش شدید و عادی..... 78

مقدمه

گندم یکی از با ارزش ترین گیاهان زراعی است که سطحی در حدود 16 درصد زمین های زراعی دنیا را به خود اختصاص داده است و می تواند حتی در نواحی نیمه خشک در سطح وسیعی به صورت دیم کشت شود. گندم در شرایط مزرعه ای در معرض تنش های غیر زنده متفاوتی از قبیل کمبود آب، دمای بالا، شوری و سرما قرار می‌گیرد. تحت چنین شرایطی، در طول دوره رشد به طور موثر عملکرد آن تحت تاثیر قرار می گیرد. برآورد شده است که شرایط تنش زا می توانند به صورت بالقوه عملکرد گندم را بیشتر از 50% کاهش دهند (شوبا و آخلیش، 2007). در سال 2008 تولید گندم در جهان 683 میلیون تن بوده که آن را به سومین محصول پر تولید بعد از ذرت (826 میلیون تن) و برنج (685 میلیون تن) تبدیل کرده است (فائو، 2008). طبق آخرین آمار منتشر شده در سال 2008 در کشور ایران حدود شش و نیم میلیون هکتار گندم کشت شده است که دو نیم میلیون هکتار به صورت آبی و چهار میلیون هکتار به صورت دیم می-باشد. در سال زراعی 2008 کل تولید گندم کشور به 795 میلیون تن رسید، که 67 % آن در شرایط آبی و 33% شرایط دیم تولید شده است (فائو، 2008).

تنش همیشه به صورت مجموعه‌ای از کنش‌های متقابل عوامل محیطی در درجات مختلف برای همه ژنوتیپ‌های تنش دیده رخ می‌دهد. یکی از تنش های مهم تنش خشکی است که مانند بسیاری از تنش های محیطی دیگر اثر زیانباری روی عملکرد گیاهان زراعی می‌گذارد. کمی آب قابل دسترس در بیشتر مناطق کشاورزی جهان دلیل اصلی کاهش عملکرد غلات است لذا گیاهان مکانیسم هایی را گسترش داده اند که به آنها اجاره سازش و بقا در دوره تنش را می دهد. پاسخ به تنش خشکی به استراتژی سازش گیاه، مدت و سختی دوره خشکی بسته است و اگر بیش از یک مدت معین امتداد پیدا کند، منتج به تنش اکسیداتیو و در صورت عدم توانایی در کنترل، مرگ را به دنبال خواهد داشت.

اندازه گیری آنزیم های آنتی اکسیدان در طول تیمار تنش خشکی به عنوان یک شیوه جهت ارزیابی درگیری سیستم دفاعی در طول تنش پذیرفته شده است. هر چند نتایج متضادی در طول سالها جمع آوری شده، این تفاوت ها ممکن است مربوط به سن گیاه، تحمل، استراتژی در مقابل تنش، مدت استمرار و شدت تنش باشد. بعضی از محققین یک همبستگی مستقیم بین سطوح القای سیستم آنتی اکسیدان و درجه تحمل خشکی در گونه های گیاهی را نمایان ساختند (کروزدکاروال‌هو، 2008).

تحمل به خشکی صفت پیچیده ای است و عوامل زیادی روی آن تاثیر می گذارند تا یک گیاه در طول دوره رویشی موفق شود (چایتانیا و همکاران، 2003). از آنجایکه ارتباط قوی بین تحمل به خشکی و تغییر بیان ژن ها، تجمع متابولیت ها، پروتئین های مخصوص و آنزیم های آنتی اکسیدان در گیاهان فتوسنتز کننده وجود دارد. آگاهی از تغییرات پروتئین ها و آنزیم ها تحت شرایط تنش خشکی ممکن است کمکی برای شناسایی صفات فیزیولوژیکی موثر در برنامه‌های اصلاحی و تولید ارقام مقاوم باشد. در این راستا ارزیابی گروه های ژنوتیپی مختلف در شرایط محیطی متفاوت می تواند تا حدودی چگونگی پاسخ ژنوتیپ ها را با آنزیم های آنتی اکسیدان و یا سایر آنزیم ها روشن کند.

بررسی منابع

1-1-گندم

1-1-1-خاستگاه تاریخچه زراعت

گندم از مهمترین محصولات کشاورزی در ایران و جهان است. این محصول از اهمیت استراتژیک ویژه‌ای برخوردار بوده و از آن به عنوان قدرت سبز یاد می‌شود. به علاوه گندم غذای اصلی بیش از 35% مردم دنیا را تشکیل می‌دهد (شائو و همکاران، 2005). گندم جز اولین گیاهان اهلی شده است و باستان شناسان اولین محل اهلی شدن آن را منطقه‌ای واقع در بین‌النهرین و دلتای نیل که شامل قسمت‌های جنوبی ترکیه، سوریه، خاور شرق، فلسطین و مصر است معرفی کرده‌اند. یافته‌های اخیر همچنین اولین محل اهلی شدن گندم را به منطقه کوچکی در جنوب ترکیه به نام نوال چوری[1] در 9000 قبل از میلاد مسیح محدود می‌کنند (لو یادون، 2000). همچنین از آن به عنوان فاکتور کلیدی در ظهور جوامع شهری و شروع تمدن به دلیل کشت آسان در مقیاس وسیع با امکان نگهداری طولانی مدت یاد می‌کنند.

دانه گندم یک ماده غذایی ضروری بوده که برای ساخت آرد، خمیر مایه نان، بیسکویت، کلوچه، کیک، ماکارونی، پاستا و رشته استفاده می‌شود (کائووین وکائووین، 2002). گندم منبع اصلی پروتئین گیاهی در غذای انسان‌هاست و داشتن محتوای پروتئینی بالا نسبت به سایر گیاهان آن را به ماده غذایی اصلی بعد از برنج تبدیل می‌کند.

1-1-2-ژنتیک و گیاهشناسی

گندم نان گیاهی از تیره گرامینه و جز گیاهان اتوگام طبقه‌بندی می‌شود. از لحاظ خصوصیات گیاه-شناسی مانند سایر غلات دارای ریشه‌های افشان، ساقه توخالی و بندبند و رگبرگ‌های موازی می‌باشد. گل

[1] Nevali cori

آذین گندم از نوع سنبله است. گندم زراعی یک آلوهگزاپلوئید است به دلیل متفاوت بودن ژنوم گندم و وجود ژن‌های مختلف در هر یک از این ژنوم‌ها تعیین خصوصیات ژنتیکی هر صفت در این گیاه مشکل است.

در ایران بخش قابل توجهی از گندم در اراضی دیم تولید می‌گردد ولی متاسفانه به دلیل عدم وجود الگوی بارندگی منظم و مناسب و عدم به کارگیری روش‌های مناسب جمع‌آوری و ذخیره‌سازی ریزش‌های جوی، کمبود آب از مهمترین فاکتورهای محیطی محدود کننده عملکرد در این مناطق به حساب می‌آید.

ژنتیک گندم پیچیده‌تر از سایر گونه‌های اهلی شده است بعضی از گونه‌های آن دیپلوئید بوده و دارای دو مجموعه کروموزومی هستند (بریجواتر و آلدویچ، 1966) اما بسیاری پلی‌پلوئید با چهار یا شش مجموعه کروموزومی می‌باشند. در سال 2010 گروهی از دانشمندان توالی‌یابی کامل ژنوم گندم[2] را برای اولین بار اعلام کردند (بی نام 2010).

2-1-تنش های محیطی

1-2-1- تعریف تنش

در حالت کلی تنش عبارت است از فشار بیش از حد برخی نیروهای مخالف که سبب می‌شود سیستم-های طبیعی از عمل طبیعی خود بازداشته شود به بیان دیگر تنش عاملی است که پاسخ‌ها را تحت تاثیر قرار می‌دهد (جنیس و جونز، 1989).

مفهوم تنش در گیاهان عبارت است از تاثیر منفی و شدید تعدادی از عوامل زنده و یا غیرزنده موجود در محیط بر روی مکانیسم طبیعی گیاه که نهایتاً منجر به اختلال در روند تولید ماده خشک و کاهش

[2] Chinese Spring

عملکـرد مـی‌گـردد (اهـدایی و همکـاران، 1988). تـنش در واقـع در نتیجـه رونـد غیرعـادی فراینـدهای فیزیولوژیک ناشی از تاثیر یک یا ترکیبی از عوامل زیستی و محیطی به وجود می‌آید.

2-2-1-انواع تنش‌های محیطی

- زیستی(زنده)
- غیرزیستی(غیرزنده)

تنش‌های زیستی شامل حمله آفات و امراض به گیاهان می‌باشد. اما تنش‌های غیرزیستی شامل تنش کمبـود آب، شوری، دما، تشعشعات، امواج الکترومغناطیس می‌باشد(جنیس و جونز، 1989).

3-1-خشکی و تنش ناشی از آن

1-3-1-انواع خشکی

I. تنش کمبود آب: حالتی که گیاه به طور مصنوعی در معرض تنش قرار می‌گیرد.

II. تنش خشکی: به حالتی گفته می‌شود که تنش در اثر عدم وقوع بارندگی مفید ایجاد می‌شود.

2-3-1-پاسخ گیاه در مقابل تنش خشکی

کمبود آب به شدت رشد و عملکرد گیاهان را کاهش می‌دهد. میزان واکنش گیاهان به خشکی به مرحله رشد نباتات وابسته است (سیموا-استولاو و همکاران، 2008)، بنابراین شناسایی مراحل بحرانی و یا زمانی که گیاهان بیشترین حساسیت را نسبت به خشکی دارند بسیار مهم است. محققین دریافته‌اند که حساس-ترین مرحله رشد گندم به تنش خشکی مرحله گل‌دهی است. اثرات زیان‌آور خشکی نه تنها به شدت بلکه به زمان وقوع آن در طول فصل رویش نبات نیز بستگی دارد (یانگ و همکاران، 2008). به طور کلی خشکی تنش‌های متفاوتی را به گیاهان وارد می‌کند که می‌تواند حالت‌های متفاوتی از اثرات فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی را در گیاه شامل شود. به عنوان مثال ممکن است موجب کاهش تقسیم سلولی و یا به تاخیر انداختن رشد سلولی گردد، کاهش فتوسنتز، بسته‌شدن روزنه‌ها و تغییر در مقدار کلروفیل را نیز به بار می-آورد. ازتغییرات دیگر، سلولی می‌توان به کاهش محتوای پروتئینی، افزایش فعالیت ریبونوکلئازها، هیدرولیز پروتئین‌ها و تجمع اکسیژن‌های فعال اشاره نمود که در گیاهان متاثر از تنش خشکی اتفاق می‌افتد (التینوکوت و همکاران، 2001). اگر پاسخ نهایی گیاه (عملکرد) کمتر تحت تاثیر تنش قرار بگیرد نشانگر مقاومت گیاه می‌باشد (جنیس و جونز، 1989). مقاومت به تنش به توانایی گیاهان از نظر اینکه در حضور تنش تا چه حدی می‌توانند بقای خود را حفظ کنند یا به چه اندازه رشد کنند اطلاق می‌شود.

مقاومت گیـــاهان در مقابله با صدمـــات ناشی از تنش‌ها متفاوت اسـت و مـی‌تـوان بـه صـورت زیـر تقسیم بندی کرد:

الف) گریز یا فرار[3]

ب) به تأخیر انداختن[4]

ج) تحمل تنش[5] (بلوم، 1989)

خزاعی و کافی (1381) اظهار کردند که ارقام حساس به خشکی عمدتاً از مکانیسم اجتناب از خشـکی بهره‌مند هستند به طوری که در شرایط تنش با بستن روزنه‌ها و حفـظ آب از کـارایی مصـرف آب بـالاتری برخوردار می‌باشند و این در حالی است که ارقام نیمه‌مقاوم و مقاوم به خشکی عمـدتاً متکـی بـر مکانیسـم تحمل خشکی می‌باشند.

4-1-سازگاری ـ خوگیری

واکنش گیاه در برابر تغییرات محیطی به دو جزء اصلی قابل تقسـیم اسـت. سـازگاری[6] بـه دارا بـودن ترکیب مطلوبی از صفاتی که اثرات زیان‌آور را به حداقل می‌رساند و اثرات سودآور را بـه حـداکثر اطـلاق می‌شود، به شرطی که این صفات یا ویژگی‌ها قابل توارث باشند. به عبـارت دیگـر سـازگاری یـک پاسـخ ژنوتیپی به تغییرات دراز مدت محیطی است. تغییرات ژنتیکی پایدار بوده و در طی نسل‌ها باقی می‌ماننـد در

---

[3] Escape

[4] Postponment

[5] Tolerance

[6] Adaptation

مقابل خوگیری[7] واکنشی است که توسط یک عامل محیطی القا می‌شود و منجر به تغییر فنوتیپی بدون تغییر درجه ژنتیکی می‌گردد، یعنی قابل توارث نیست. با وجود این خوگیری معمولاً به وسیله یک عامل تنش‌زا شروع می‌شود و در واکنش به آن تغییرات موقتی فیزیولوژیکی، بیوشیمایی و مولکولی در درون گیاه روی می‌دهد. خوگیری تغییر در مقدار بیان ژن‌ها، جایگزین کردن یک ژن به جای ژن دیگر، انتخاب ژن‌هایی با دستوارت متفاوت یا انتخاب ژن‌هایی که پروتئین یکسان با خواص متفاوت یا هر دو را می‌تواند شامل شود. پاسخ به تنش در ادامه موجب تنظیم پایدار و طولانی مدت می‌گردد که بازتابی از یک کنش نموی به شرایط محیطی جدید است (هانر و همکاران، 1998؛ گای، 1990).

5-1- گونه‌های فعال اکسیژن‌دار (ROS)[8]

1-5-1- محل و نحوه تولید آن

اکسیژن 21% از کل ترکیبات گازی موجود در اتمسفر را تشکیل می‌دهد که به دلیل برخورداری از الکترون‌های جفت در اربیتال‌های خود حالت پایدار دارد ولی این عنصر پتانسیل ردوکس بالایی داشته و در سلول‌های گیاهی و اندامک‌های آنها حضور فعال دارد. اکسیژن های فعال (ROS) از کاهش ناتمام یا جزئی O_2 اتمسفری حاصل می شوند، آنها را AOS و ROT یا اکسیژن فعال وابسته نیز می نامند (گارا و همکاران، 2003؛ گیل وتوتجا، 2010).

تولید ROS یا همان اکسیژن‌های فعال درطول تنش محیطی یکی از دلایل مهم کاهش قابلیت تولید، خسارت و مرگ است که این تنش‌ها را در گیاهان همراهی می‌کند. ROS ها در هر دو حالت تنش و عدم

[7] Acclimation

[8] Reactive oxygene species