بسم الله الرحمن الرحيم

۱۳۸۷۴۶

دانشگاه ارومیه

دانشکده علوم

گروه زیست شناسی

2-992

پایان نامه برای اخذ درجه کارشناسی ارشد

بررسی اثر تنش خشکی روی ویژگی های بیوشیمیایی و آناتومی گیاه آفتابگردان

(*Helianthus annuus* L.)

استاد راهنما:

دکتر طیبه فربودنیا

پروفسور رضا حیدری

سمیه آذرخویش

۱۳۸۹/۲/۸

تابستان 1388

۱۳۸۷۶۶

کارشناسی ارشد

پایان نامه : سمیه ارخوشی به تاریخ : ۸۸/۶/۳۰ شماره : ۹۹۲ - ۲ مورد پذیرش هیات محترم داوران با رتبه عالی و نمره ۱۸/۵ قرار گرفت.

۱- استاد راهنما و رئیس هیئت داوران : دکتر مکیبه قدیمی نیا و دکتر رضا حیدری

۲- استاد مشاور : -

۳- داور خارجی : دکتر جلیل خارا

۴- داور داخلی : دکتر ناصر عباسپور

۵- نماینده تحصیلات تکمیلی : دکتر سعید استاد باشی

پدرم،

بسیار خرسندم که امروز توانستم به گوشه ای از وصیت تو جامه عمل پوشانده و روح پاکت را در کنار حضرت سیدالشهدا خوشحال و راضی کنم.

تقدیم به تو که با خون پاکت آرامش امروز را برایمان فراهم ساختی؛

مادرم،

صبر و شکیبایی تو بود که توانستم امروز را برایت تقدیم کنم.

تقدیر و تشکر :

سپاس بی حد و پایان آن حقیقتی را که مرا از گودال عمیق نیستی به ورطه بی نهایت هستی کشانید، حقیقتی که زیبایی های وصف ناپذیر و نعمت های بی کرانش مرا به سوی دانستن و بیشتر فهمیدن وسوسه کرده، می کند و خواهد کرد.

پس از شکرگذاری به درگاه خداوند منان، از اساتید راهنمای بزرگوارم سرکار خانم دکتر طیبه فربودنیا و جناب آقای دکتر رضا حیدری که همواره از حمایت های ایشان بهرمند بوده ام سپاسگذاری می کنم.

از آقای دکتر حسینی، خانم فرناد و خانم حسینی به خاطر راهنمایی های ارزنده شان سپاسگذارم.

از دوستان عزیزم خانم ها الهام رستگار مقدم و رزا رادمان نیز نهایت تشکر را دارم.

و در نهایت از مادر، پدر و همسرم به خاطر حمایت های بی دریغشان متشکرم.

فهرست

عنوان صفحه

چکیده ۱

۱. مقدمه ۲

۱-۱. تنش خشکی ۲

۱-۲. مکانیسم های مقاومت به خشکی در گیاهان ۳

۱-۳. مروری بر پژوهش های گذشته ٤

۱-٤. گیاه شناسی آفتابگردان ۱۱

۲. مواد و روش ها ۱٤

۲-۱. شرایط رشد گیاهان ۱٤

۲-۲. اندازه گیری طول، وزن تر و وزن خشک ریشه و اندام هوایی و نسبت ریشه به اندام هوایی ۱٤

۲-۳. وضعیت آبی گیاهان ۱۵

۲-٤. اندازه گیری سطح برگ ۱۵

۲-۵. اندازه گیری میزان رنگیزه های فتوسنتزی ۱۵

۲-٦. اندازه گیری میزان پرولین ۱٦

۲-۷. اندازه گیری میزان قندهای محلول ۱٦

۲-۸. اندازه گیری میزان پراکسیداسیون چربی ها (MDA) ۱۷

۲-۹. اندازه گیری میزان فعالیت آنزیم های GuPX, APX, CAT ۱۷

۲-۱۰. اندازه گیری میزان پروتئین محلول ۱۸

۲-۱۱. الکتروفورز پروتئین ها ۲۰
۲-۱۲. مطالعات آناتومیکی ساختار ریشه و ساقه ۲٤
۲-۱۲-۱. مقطع گیری، رنگامیزی و تهیه عکس از ساختار ریشه و ساقه ۲٤
۲-۱۳. آنالیز آماری ۲٤
۳. نتایج ۲۵
۳-۱. آنالیز رشد ۲٦
۳-۲. آنالیز بیوشیمیایی ۳۲
۳-۳. آناتومی ساختار ریشه و ساقه ٤۱
٤. بحث ٤۸
٤-۱. تنش خشکی و اثر آن بر پارامترهای رشدی ٤۸
٤-۲. تنش خشکی و اثر آن بر رنگیزه های فتوسنتزی ٤۹
٤-۳. تنش خشکی و اثر آن بر تجمع مواد محلول ۵۰
٤-٤. تنش خشکی و اثر آن بر فعالیت آنزیم های آنتی اکسیداتیو و پراکسیداسیون لیپیدهای غشایی ۵۲
٤-۵. تنش خشکی و اثر آن بر میزان پروتئین ها و ظهور پروتئین های تنشی ۵۳
٤-٦. تنش خشکی و اثر آن بر ویژگی های آناتومیکی آفتابگردان ۵٤
پیشنهادات و تحقیقات آتی ۵٦
۵. پیوست ها ۵۷
٦. منابع ٦۱
چکیده انگلیسی ٦۹

فهرست جدول ها

جدول ۱: تغییرات قطر ریشه و ساقه گیاهچه های آفتابگردان در اثر تنش خشکی..... ٤١

جدول ۲: تغییرات قطر بزرگ ترین گزیلم ریشه گیاهچه های آفتابگردان در اثر تنش خشکی..... ٤٤

جدول ۳: تغییرات تعداد دستجات آوندی در ریشه و ساقه گیاهچه های آفتابگردان در اثر تنش خشکی..... ٤٥

فهرست تصاویر

تصویر ۱: اثر تیمار های مختلف خشکی پس از ٥ روز در گیاهچه های آفتابگردان..... ٢٥

تصویر ۲: الکتروفورز ژل SDS-PAGE پروتئین های برگ های گیاهچه های آفتابگردان تحت تیمارهای مختلف خشکی..... ٤٠

تصویر ۳: تغییرات قطر ریشه گیاهچه های آفتابگردان با اعمال درجات مختلف تنش خشکی..... ٤٢

تصویر ٤: تغییرات قطر ساقه گیاهچه های آفتابگردان با اعمال درجات مختلف تنش خشکی..... ٤٣

تصویر ٥: تغییرات قطر بزرگ ترین آوند چوبی ریشه گیاهچه های آفتابگردان با اعمال درجات مختلف تنش خشکی..... ٤٤

تصویر ٦: تغییرات تعداد دستجات آوندی در ریشه گیاهچه های آفتابگردان با اعمال درجات مختلف تنش خشکی..... ٤٦

تصویر ۷: تغییرات تعداد دستجات آوندی در ساقه گیاهچه های آفتابگردان با اعمال درجات مختلف تنش خشکی..... ٤٧

چکیده

در این تحقیق گیاهچه های 14 روزه آفتابگردان (*Helianthus annuus* L.) به مدت 5 روز تحت تیمارهای آبی مختلف قرار گرفتند. این تیمارها به صورت درصدی از میزان ظرفیت زراعی خاک (100٪ (شاهد)، 75٪، 50٪، 25٪، 0٪) اعمال شدند.

پس از پایان مدت آزمایش، نمونه های گیاهی برداشت شده و پس از آماده شدن، اندازه گیری های مربوط به برخی از پارامترهای کمی و کیفی در اندام هوایی و ریشه گیاهان تحت تیمار مورد مطالعه و بررسی قرار گرفت و نتایج نشان دادند که طول، وزن تر و خشک ریشه ها و اندام هوایی، محتوای نسبی آب (RWC)، میزان کلروفیل a و b و کلروفیل کل به طور معنی داری کاهش می یابد. اما میزان کاروتنوئیدها با کاهش میزان آب افزایش پیدا کرده بود.

در بررسی تغییرات بیوشیمیایی، تجمع قندهای محلول و میزان پرولین پس از تنش خشکی اندازه گیری شدند و میزان آن ها در گیاهان تحت تنش نسبت به گیاهان شاهد افزایش یافت.

اندازه گیری پاسخ سیستم دفاعی آنتی اکسیداتیو به تنش خشکی نشان داد که میزان فعالیت آنزیم های حفاظتی افزایش یافته است که این افزایش در اندام هوایی بیش از ریشه ها بود. میزان مالون دی آلدهید (MDA) نیز با افزایش شدت تنش در ریشه و اندام هوایی افزایش پیدا کرده بود.

با افزایش میزان کم آبی، میزان پروتئین های محلول در ریشه و اندام هوایی کاهش یافته بود. در بررسی پروفیل پروتئین ها به روش SDS-PAGE ، تغییرات پروتئین ها در شرایط تنش خشکی نشان داده شد. برخی از پروتئین ها در برگ ها افزایش یافته و برخی دیگر در تنش خشکی شدید از بین رفته یا کاهش یافته اند.

همچنین به منظور مطالعه تغییرات بافتی و آناتومیکی، با مقطع گیری از ریشه و ساقه گیاهچه های آفتابگردان و عکسبرداری از آن ها نشان داده شد که با افزایش شدت خشکی قطر ریشه و تعداد دستجات آوندی افزایش و قطر ساقه و قطر آوندهای چوبی در ریشه کاهش یافته است.

کلمات کلیدی: تنش خشکی، آفتابگردان، الکتروفورز، آنزیم های آنتی اکسیداتیو.

مخفف ها: APX: آسکوربات پراکسیداز، CAT: کاتالاز، GuPX: گایاکول پراکسیداز، MDA: مالون دی آلدهید، ROS: گونه های اکسیژن واکنشی، RWC: محتوای نسبی آب، SDS-PAGE: سدیم دودسیل سولفات- الکتروفورز ژل پلی آکریلامید.

1. مقدمه

1-1. تنش خشکی

تنش معمولا به صورت فاکتورهای خارجی محیطی یا ترکیبی از فاکتورها تعریف می شود که اثر نامطلوبی روی گیاه به وجود می آورد و رشد آن را مهار می کند. در هر دو شرایط طبیعی و کشاورزی، گیاهان پیوسته در معرض تنش های محیطی قرار می گیرند. برخی فاکتورهای محیطی مثل دمای هوا می تواند در عرض چند دقیقه تنش زا باشد. میزان آب خاک ممکن است چند روز تا چند هفته طول بکشد و فاکتورهایی مثل کمبود مواد معدنی می تواند ماه ها طول بکشد تا اثر تنش زایی آن ها آشکار شود. تنش نقش مهمی در تغییر چگونگی پراکندگی و توزیع گونه های گیاهی به وسیله خاک و آب و هواایفا می کند (71).

خشکی یکی از شایع ترین و محدود کننده ترین عوامل رشد محصولات زراعی در نواحی خشک و نیمه خشک جهان می باشد. خشکی از نظر یک هواشناس به عنوان یک دوره (مثلا 15 روزه) بدون باران قابل ملاحظه تعریف می شود. در کشاورزی خشکسالی عبارت است از یک دوره خشکی که نتیجه اش کاهش عملکرد در حد پایین تر از شرایط مناسب فراهمی آب است. از نظر یک فیزیولوژیست گیاهی خشکسالی چیزی فراتر از یک فقدان بارندگی است؛ از این منظر خشکی به صورت کاهش آب در دسترس خاک تعریف می شود که به صورت کاهش در پتانسیل آب خاک شناسایی می شود (44). به طور کلی شرایط محیطی خاک یا هوا یا هر دو که مانع دستیابی گیاه به آب کافی جهت انجام اعمال حیاتی آن شده و تکرار آن که به از دست دادن آب بافتهای گیاه منجر گردد، خشکی نامیده می شود (71).

تنش آبی یا کمبود آب در گیاه زمانی حادث می شود که تلفات آب در اثر تعرق بیش از میزان جذب آن باشد. گرچه همیشه همراه با خشکی، تنش آبی نیز وجود دارد، اما ممکن است در غیاب خشکی نیز این تنش به وجود آید و آن در حالتی است که تعرق گیاه زیاد باشد ولی به علت پایین بودن درجه حرارت خاک، یا وجود املاح نمک در محلول خاک و یا عدم تهویه کافی در محیط ریشه جذب آب کاهش می یابد (71).

2-1. مکانیسم های مقاومت به خشکی در گیاهان

کاهش پتانسیل آب، جذب آب را برای گیاه مشکل می کند و این باعث تحریک گستره ای از پاسخ ها می شود که به گیاه اجازه می دهد تا از اتلاف آب جلوگیری کند و کاهش آب بافت را تحمل کند. در صورت ادامه خشکی، ممکن است گیاه از بین برود، مگر این که دارای مکانیسم های مقاومت باشد. از آنجایی که گیاهان قادر به حرکت نیستند، از طریق تغییرات مورفولوژیکی، فیزیولوژیکی، بیوشیمیایی و آناتومیکی به تنش های محیطی پاسخ می دهند (45،12). با این وجود بسته به گونه گیاه، مراحل مختلف مثل جوانه زنی، دوره رشد رویشی و موقع تشکیل گل و میوه می تواند برای تنش آبی مهم تر باشد. علاوه بر تنوع ژنتیکی، تاثیر خشکی روی یک گیاه بستگی به زمان و شدت تنش دارد (73). ممکن است پاسخ به بی آبی در چند ثانیه (مثلا تغییر در فسفریلاسیون یک پروتئین)، یا در چند دقیقه، ساعت یا روز (مثل تغییر در بیان ژن و مورفولوژی گیاه) اتفاق افتد. به طور کلی تنش خشکی بسته به شدت آن باعث اختلال در گرادیان پتانسیل آب، ازبین رفتن آماس، ازبین رفتن یکپارچگی غشاء، تغییر ماهیت (denaturation) پروتئین ها، اختلال در سنتز پروتئین، تنفس و سنتز اسیدهای نوکلوئیک می شود (73).

بسته شدن روزنه (6،15)، کاهش سطح برگی (40)، کاهش تعداد برگ (25)، لوله شدن برگ (45)، از علائم تنش خشکی می باشند. بسته شدن روزنه در طی کمبود آب بخصوص اگر شدید باشد، باعث محدودیت در جذب کربن و در پی آن کاهش فتوسنتز در برگ می شود (18).

Hsiao و همکاران (34) واکنش های گیاه به تنش خشکی را به 5 گروه تقسیم کردند:

1) کاهش پتانسیل آب سلول 2) کاهش فشار تورژسانس سلول 3) تراکم مولکول های کوچک و درشت به هنگام کاهش حجم سلول در اثر کاهش آماس 4) به هم خوردن روابط فضایی پلاسمایی، تونوپلاست و غشاهای ارگانلی در اثر تغییرات حجمی 5) تغییر در ساختمان سه بعدی ماکرومولکول ها.

واکنش گیاهان در برابر خشکی متفاوت است. بعضی از آن ها قبل از آغاز دوره خشکی، رشد خود را به پایان می رسانند و در واقع با فرار از خشکی با آن مقابله می نمایند. عده ای دیگر از گیاهان با افزایش ضخامت کوتیکول، کاهش سطح برگ، کاهش تعداد روزنه، پوشانیدن سطح برگ با کرک و غیره، با کاهش میزان تبخیر از اثرات خشکی اجتناب می کنند (مقاومت به خشکی و تحمل در پتانسیل آب بافتی بالا). دسته ای دیگر از گیاهان آن هایی هستند که با وجود کاهش پتانسیل آب داخلی ناشی از تنش

خشکی می توانند زنده بمانند و به حیات خود ادامه دهند. این گیاهان را متحمل به خشکی می نامند، که با تنظیم وتطبیق اسمزی خود در شرایط تنش به کمک تنظیم کننده های اسمزی که در گیاهان مختلف متفاوتند و از تغییرات بیوشیمیایی ناشی از تنش حاصل می گردند، اثرات تنش را کاهش می دهند یا از بین می برند. در واقع این گیاهان یا در برابر کاهش پتانسیل آب داخلی متحملند و یا از کاهش بیشتر پتانسیل آب داخلی جلوگیری می کنند (71).

3-1. مروری بر پژوهش های گذشته

در اثر کمبود آب حجم سلول، تقسیم سلولی، دیواره سازی سلول، اندازه کل گیاه و وزن تر و خشک گیاه به عنوان ملاک های کلی رشد اغلب کاهش می یابند (36). یکی از اولین نشانه های کمبود آب، کاهش تورژسانس و در نتیجه کاهش رشد و توسعه سلول بخصوص در ساقه و برگ ها است (37). رشد سلول حساس ترین فرایندی است که تحت تاثیر تنش آبی قرار می گیرد، بنابراین با کاهش رشد سلول، اندازه اندام محدود می شود (71). به همین دلیل است که اولین اثر محسوس کم آبی روی گیاهان را می توان از روی اندازه کوچک برگ ها یا ارتفاع گیاهان تشخیص داد (40). کمبود آب علاوه بر کاهش توسعه برگ از طریق ریزش و مرگ برگ ها در طول مراحل مختلف رشد، بر شاخص سطح برگ (Leaf Area Index) نیز اثر می گذارد. سطح برگی کوچک آب کمتری منتشر می کند و به طور موثری ذخیره محدود آب را در خاک در طول دوره طولانی تری حفظ می کند(71).

با افزایش تنش خشکی رشد ریشه ها کاهش می یابد، البته اگر فاصله ریشه تا آب کم باشد، ریشه ها به سمت آب در خشکی رشد می کنند و طویل می شوند (71). آب برای رشد ریشه ضروری است. ریشه ها در لایه های خشک خاک قادر به رشد نیستند. البته ریشه ها طی مکانیسمی با تجمع مواد محلول درنوک خود و افزایش فشار تورژسانس برای زمان محدودی به رشد ادامه می دهند (10).

شدت تنش آبی اغلب با اثر آن روی محتوای نسبی آب (RWC) و پتانسیل آب برگ سنجیده می شود. مطالعات مختلف روی گونه های محتلف نشان داده اند که با افزایش مدت و شدت تنش، RWC گیاهان کاهش می یابد (1). گزارش شده است که این کاهش در ارقام حساس بیش از ارقام مقاوم به خشکی است (1).

برآورد میزان تنش آبی گیاه از طریق اندازه گیری محتوای رطوبت خاک در برخی موارد مهم است اما برای مطالعه اثرات کمبود آب بر واکنش های فیزیولوژیکی کافی نمی باشد. اکثر محققان معتقدند که اندازه گیری رطوبت خاک به علت تغییرات مداوم آب در گیاه، نمی تواند به تنهایی شاخص نیاز آبی گیاه باشد. قابل اعتماد ترین روش در رابطه با بررسی و ضعیت آبی گیاه عبارت است از تعیین محتوای نسبی آب گیاه که به صورت درصدی از محتوی آب در حال اشباع (آماس کامل) بیان می گردد و برخی پژوهشگران از آن تحت عنوان محتوای نسبی آب (RWC) استفاده می کنند (43).

رابطه معنی دار قوی بین RWC و میزان فتوسنتز وجود دارد (43). همچنین Ramesh و Devasenapathy (61) اعلام کردند که در سویا و ذرت تحت تنش شدید، بین هدایت روزنه ای با پتانسیل آب برگ و RWC رابطه خطی وجود دارد.

ارتباط و همبستگی بین RWC و پتانسیل آب، گاهی اوقات برای برآورد مقاومت بافت ها در مقابل دهیدراسیون به کار می رود. RWC معرف بسیار خوبی از وضعیت آبی گیاه است و یک شاخص مهم انتخاب جهت تحمل خشکی می باشد (72) و ارقام مقاوم به خشکی، RWC بالاتری دارند. Abdalla و همکاران بیان داشتند که RWC در گیاهانی که تحت تنش های مختلف قرار گرفتند به طور تصاعدی نسبت به شاهد کاهش یافت. این کاهش در ارقام حساس نسبت به ارقام مقاوم بیشتر بود (1).

به طور کلی تنش خشکی از طریق کاهش سطح برگ، بسته شدن روزنه ها، کاهش در قابلیت هدایت روزنه ها (69)، کاهش در آبگیری کلروپلاست و سایر بخش های پروتوپلاسم (که به نحوی کارایی فتوسنتز را کاهش می دهد)، کاهش سنتز پروتئین و کلروفیل به سبب تقلیل فرایند فتوسنتز می شود. تنش آبی می تواند به طور مستقیم به فرایندهای بیوشیمیایی مربوط به فتوسنتز اثر گذاشته و به طور مستقیم ورود CO_2 به داخل روزنه ها را که به علت شرایط کم آبی بسته اند، کاهش دهد (17). کاهش میزان گشادی روزنه نه تنها موجب کاهش شدت فتوسنتز به میزان نصف می شود، بلکه حتی اگر CO_2 را با فشار وارد برگ کنند،

فتوسنتز افزایش نمی یابد. تحت تنش خشکی، دهیدراسیون بافت گیاهی می تواند در نتیجه تنش اکسیداتیو باشد که باعث تخریب ساختمان کلروپلاست و در پی آن کاهش میزان کلروفیل می شود که این نیز به نوبه خود باعث کاهش فعالیت فتوسنتزی می شود. انتقال مواد فتوسنتزی نیز تحت تاثیر تنش آب قرار گرفته و موجب اشباع برگ ها از این مواد می گردد که ممکن است فتوسنتز را محدود نماید (14). بدیهی است که با محدود شدن فرآورده های فتوسنتزی در شرایط کمبود آب، رشد گیاه و در نهایت عملکرد آن دچار نقصان می شود (80).

خشک شدن بافت های برگ نه تنها مانع ساخته شدن کلروفیل می شود، بلکه به نظر می رسد که باعث تخریب کلروفیل موجود نیز می شود. خشکی باعث شکسته شدن کلروپلاست ها و کاهش میزان کلروفیل می شود. در اثر خشکی تشکیل پلاستیدهای جدید، کلروفیل a، کلروفیل b و نسبت کلروفیل a به b تغییر می یابد (61). در شرایط کمبود آب غلظت اسید آمینه پرولین افزایش می یابد. از آنجایی که کلروفیل و پرولین هر دو از پیش ماده مشترک گلوتامات سنتز می شوند، بنابراین می توان گفت که افزایش سنتز پرولین در شرایط تنش خشکی منجر به کاهش سنتز کلروفیل می گردد (41). برعکس میزان کاروتنوئیدها افزایش می یابد (58). کاروتنوئیدها نقش محافظتی داشته و کلروفیل را در برابر اکسیداسیون نوری محافظت می کنند. بنابراین افزایش مقدار آن ها تحت تنش خشکی باعث مقاومت بهتر گیاه در برابر تنش می شود و نشان دهنده افزایش دفاع آنتی اکسیدانی است (56).

از آنجا که فشار آماس بالای سلول برای انجام فعالیت های فیزیولوژیکی از جمله رشد سلول ها و حرکات روزنه ای ضروری است، بنابراین گیاهان به هنگام مواجهه با شرایط خشکی با به خدمت گرفتن مکانیسم های مختلف سعی می کنند فشار آماس خود را بالا نگه دارند. یکی از مکانیسم های کارآمدی که گیاه برای حفظ فشار آماس در شرایط کمبود آب از آن بهره می برد، پدیده ای موسوم به تنظیم اسمزی است (3).

تنظیم اسمزی مکانیسم عمده مقاومت در برابر تنش های آبی در محیط های خشک وشور است. به طورکلی تنظیم اسمزی به کاهش پتانسیل اسمزی در اثر تجمع مواد محلول در شرایط تنش های خشکی و شوری گفته می شود و شدت انجام آن به سرعت و میزان توسعه تنش، نوع و سن اندام و تنوع ژنتیکی درون و بین گونه ای بستگی دارد (8).

تنظیم اسمزی از دو طریق صورت می گیرد: تنظیم غیر فعال که در نتیجه کاهش مقدارنسبی آب بافت است و تنظیم فعال که ار طریق تجمع املاح یا متابولیت ها یا کاهش گسترش حجم سلول صورت می گیرد. در طی این پدیده فیزیولوژیکی سلول های گیاهان غلظت برخی یون ها مانند پتاسیم، سدیم، کلسیم، نیترات و کلر را در واکوئل خود و نیز برخی متابولیت ها نظیر اسیدهای آمینه (بخصوص پرولین)، قندها (به ویژه منوساکاریدها)، پلی اول ها (قندهای الکلی)، پلی آمین ها، ترکیبات آمینی چهارتایی (خصوصا گلیسین بتائین) و اسیدهای آلی (عمدتا مالات و سیترات) را در سیتوزول افزایش می دهند و بدین ترتیب با کاهش پتانسیل اسمزی، فشار تورگر (آماس) سلول ها در سطح بالا حفظ شده و ادامه فعالیت های فیزیولوژیکی گیاه ممکن می گردد. متابولیت های مذکور هیچ گونه تداخلی با واکنش های عادی متابولیکی گیاه ندارند و به عنوان اسمولیت های (متابولیت) سازگار شناخته می شوند (79).

در بین اسمولیت های سازگار، روی پرولین مطالعات زیادی انجام گرفته و نشان داده شده که این آمینو اسید بسیار محلول، در پتانسیل های آبی پایین در بافت برگی و مریستم اندام هوایی گیاهان و نواحی راسی ریشه در معرض تنش آبی تجمع می یابد (23). افزایش مقدار پرولین نتیجه سنتز جدید آن است و از تجزیه پروتئین ها حاصل نمی شود (14).

علاوه بر تنظیم اسمزی، پرولین به عنوان یک محافظ در برابر تنش عمل می کند. بدین ترتیب که به طور مستقیم یا غیر مستقیم با ماکرومولکول ها اثر متقابل داشته و از این طریق در حفظ شکل و ساختار طبیعی آن ها در شرایط تنش کمک می کند. پرولین دارای بخش های آبدوست و آبگریز می باشد (15). پرولین محلول می تواند حلالیت پروتئین های مختلف را تحت تاثیر قرار دهد و جلوی غیر طبیعی شدن آن ها را بگیرد. این بدان جهت است که رابطه متقابلی بین مولکول پرولین و سطح آبگریز پروتئین ها برقرار شده و به علت افزایش سطح کل آبدوست مولکول های پروتئین، پایداری آن ها افزایش یافته و از تغییر ماهیت آن ها جلوگیری می شود. این پدیده ها در سیتوپلاسم سلول تحت تنش دارای اهمیت حیاتی هستند (5). آنزیم ها نیز به دلیل ساختمان پروتئینی خود تحت تاثیر این مکانیسم ایجاد شده توسط پرولین قرار گرفته و محافظت می شوند. به طوری که تجمع پرولین، عاملی در جهت محافظت آنزیم ها معرفی شده است (82).

عملکردهای دیگری نیز برای پرولین در نقش آنتی اکسیدان پیشنهاد شده است، از جمله: جاروب کننده رادیکال های هیدروکسیل (5) و تنظیم نسبت NAD/NADH و در نتیجه حفاظت از پروتئین ها و غشاها در برابر آسیب ها (80).

نشان داده شده است که تحت شرایط کمبود آب، کربوهیدرات ها سهم مهمی از تنظیم اسمزی را در نقاط رشدی برگ ها، ساقه ها و ریشه ها به خود اختصاص می دهند. اطلاعات به دست آمده در مورد هیپوکوتیل گیاهچه های آفتابگردان نشان داده اند که هگزوزها (گلوکز و فروکتوز) و نمک های آلی پتاسیم عمده ترین ترکیبات اسمزی هستند (14).

افزایش قندهای محلول در پاسخ به تنش آبی می تواند به جابجایی کمتر آن ها از برگ، مصرف کمتر آن ها در اثر کاهش رشد و تغییرات دیگری چون هیدرولیز نشاسته نسبت داده شود (80). گزارش شده است که افزایش غلظت هگزوزها مثل گلوکز و فروکتوز تحت شرایط کمبود آب ممکن است ناشی از تجزیه نشاسته و یا جلوگیری از سنتز نشاسته باشد که باعث تخصیص مواد فتوسنتزی برای تشکیل کربوهیدرات های محلول در پاسخ به تنش می شود (83).

پیشنهاد شده است که تحت شرایط تنش آبی، قندهای محلول می توانند به عنوان ترکیبات اسمزی و نیز به عنوان حفاظت کننده اسمزی عمل کنند. در نقش یک ترکیب اسمزی، افزایش قند در اثر تنش آبی، همبستگی معنی داری با تنظیم اسمزی و حفظ تورگر دارد و در نقش حفاظت کننده اسمزی، قندها به پروتئین ها و غشاها ثبات می بخشند. بدین ترتیب که در تشکیل باندهای هیدروژنی با دنباله های قطبی پلی پپتیدها و گروه های فسفات فسفولیپید، جانشین آب می گردند (80).

تحت شرایط کم آبی، تولید رادیکال های آزاد در گیاهان افزایش می یابد و انباشت الکل های قندی ممکن است تا حدودی پروتئین ها را در مقابل آسیب اکسیداتیو رادیکال های آزاد محافظت نماید (11).

نقش قندها نه فقط دخالت مستقیم در سنتز ترکیبات دیگر و تولید انرژی است، بلکه در استحکام غشاء (32)، عمل به عنوان تنظیم کنندگان بیان ژن و مولکول های سیگنال (70) نیز نقش دارند.

گیاهان عالی تحت تنش های محیطی راهکارهای مختلف دفاعی اعمال می کنند (60). آن ها برای نجات یافتن از تنش های محیطی نیاز دارند تا از واکنش های مختلف بیوشیمیایی استفاده کنند (12). همچنین گیاهان برای محافظت، به آنزیم های جاروب کننده رادیکال های اکسیژن از جمله سوپراکسید دیسموتاز (SOD)، آسکوربات پراکسیداز (APX)، گلوتاتیون ردوکتاز (GR)، گایاکول پراکسیداز (GuPX) و کاتالاز (CAT) مجهز شده اند (4). تولید گونه های اکسیژن واکنشی (ROS) مثل رادیکال های سوپراکسید، پراکسید هیدروژن، رادیکال های هیدروکسیل و اکسیژن منفرد که می توانند به DNA، پروتئین ها، کلروفیل و

عملکرد غشا آسیب وارد کنند، از محصولات جانبی متابولیسم اکسیداتیو در کلروپلاست ها، میتوکندری ها و پراکسیزوم ها می باشد. تولید ROS در پاسخ به تنش های مختلف غیر زنده مثل خشکی ، شوری و دماهای بالا بیشتر القا می شود. مطالعات مختلف نشان می دهند که وقتی گیاهان در معرض تنش های زنده وغیر زنده قرار می گیرند، آنزیم های آنتی اکسیدان افزایش می یابند (62).

رادیکال های سوپراکسید توسط SOD به H_2O_2 (پراکسید هیدروژن) تبدیل می شوند (4). حذف H_2O_2 به وسیله APX انجام می شود که H_2O_2 را به رادیکال های منو دهیدروآسکوربات اکسید می کند. این رادیکال ها توسط گلوتاتیون به آسکوربات احیا می شوند. گلوتاتیون که در این پروسه به گلوتاتیون دی سولفات اکسید می شود، با مصرف NADPH به وسیله GR بازیافت می شود. مطالعات متعدد نشان داده اند که فعالیت آنزیم های آنتی اکسیدان، با مقاومت گیاه به تنش های محیطی همبستگی دارد (62).

مالون دی آلدهید (MDA) یک محصول سمی اصلی پراکسیداسیون لیپیدها است که به طور وسیع به عنوان نشانگر تولید رادیکال آزاد استفاده می شود (33). رادیکال های اکسیژن فعال و سمی می توانند به طور جدی متابولیسم نرمال را از طریق آسیب اکسیداتیو به لیپیدها، پروتئین ها و اسیدهای نوکلئیک مختل کنند (41). مکانیسم های پاسخ به سیستم های جاروب کننده اکسیژن فعال و پراکسیداسیون لیپیدها به تنش خشکی بسیار پیچیده است، به طوری که نه قفط وابسته به ژنوتیپ گیاه و شدت تنش است، بلکه واکنش های مختلف آنزیمی نیز وجود دارد(29).

با قرارگرفتن گیاه در معرض خشکی در طول دوره رشد، تغییراتی در بیان، تجمع و سنتز پروتئین ها مشاهده شده است. در الکتروفورز گیاه ذرت مشاهده شده است که تنش خشکی بیان 50 پروتئین را افزایش و 23 پروتئین را کاهش می دهد و باعث سنتز 10 پروتئین جدید می شود. این پروتئین های سنتز شده در پاسخ گیاه به تنش خشکی دخالت دارند مثل پروتئین RAB17 (پاسخ به ABA) و آنزیم های دخیل در مسیرهای متابولیکی مثل گلیکولیز، چرخه کربس و سنتز لیگنین (52).

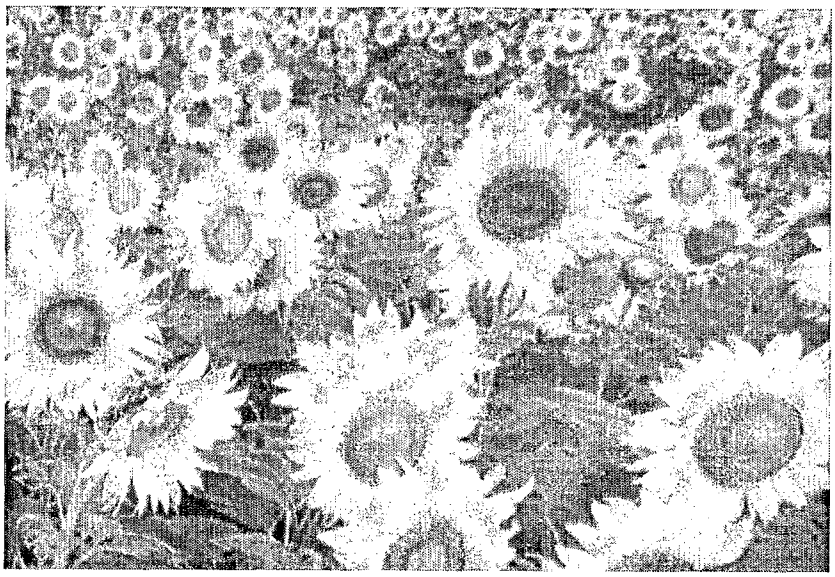
پروتئین های جدید سنتز شده در پاسخ به تنش خشکی دهیدرین (القا کننده دهیدراسیون) نامیده می شوند و متعلق به گروه II پروتئین های LEA هستند (80). پروتئین های دهیدرین در پاسخ به تنش های محیطی دیگر مثل شوری و سرما نیز تولید می شوند و هیدروفیلیک، مقاوم در برابر گرما، عاری از سیستئین و تریپتوفان و غنی از لیزین هستند و خصوصیاتی مشابه اسمولیت های سازگار دارند. پروتئین های دهیدرین با سایر پروتئین های LEA در پاسخ به یک تنش بخصوص انباشته می شوند و پیشنهاد شده که نقش مهمی در استحکام پروتئین های غشا و تنظیم اسمزی بازی می کنند (80). این مشاهدات پیشنهاد می کنند که دهیدرین ها به علاوه سایر پروتئین های LEA نقش مهمی در اکتساب تحمل خشکی در دانه ها بازی می کنند (39).

سنتز مواد جدید برای دیواره سلولی یک مشخصه رشد پایدار است. همزمان با سنتز دیواره سلولی، سنتز پروتئین ها یکی از نیازهای ضروری است و کمبود آب مانع از ساخته شدن پروتئین ها از اسیدهای آمینه شده و سنتز دیواره متوقف می شود. سنتز پروتئین ها در اثر تنش خشکی کاهش می یابد. در واقع سنتز پروتئین ها در شرایط خشکی ملایم، کند شده و در صورت تشدید خشکی ممکن است کاملا متوقف شود. بافت های بالغ چون حاوی تعداد کمتری پلی ریبوزوم هستند، کاهش کمتری در سنتز پروتئین از خود نشان می دهند. ولی در بافت های در حال رشد به خاطر تعداد زیاد ریبوزوم ها کاهش سنتز پروتئین ها نیز آشکار می گردد (28).

دسته ای دیگر از پروتئین های همبسته با مقاومت به خشکی HSPها (پروتئین های شوک گرمایی) هستند. اما شواهد تجربی مستقیمی برای نقش اختصاصی آن ها در مقاومت به خشکی وجود ندارد (80).

حرکت آب از ریشه به اتمسفر به وسیله قابلیت هدایت ترکیبات مسیر آب کنترل می شود. هدایت روزنه ای و هدایت ریشه ای به عنوان فاکتورهای اصلی کنترل کننده جریان آب در گیاهان شناخته شده اند. با این وجود، کارایی سیستم انتقال آب (آوندهای چوبی در نهاندانگان) نیز می تواند به طور قابل توجهی حرکت آب را به وسیله تحمیل محدودیت قابلیت هدایت و شاید با تنظیم توزیع سیگنال های شیمیایی ریشه به برگ ها، تحت تاثیر قرار دهد. قابلیت هدایت آوند چوبی به وسیله ساختار و اندازه آوندها و نیز با کارایی آن ها تعیین می شود. گزارش شده است که تنش آبی، قابلیت هدایت را در آوندهای چوبی ساقه و ریشه گیاهان، با کاهش قطر گزیلم و در نتیجه با افزایش آمبولیسم، کاهش می دهد (48).

1-4. گیاه شناسی آفتابگردان



جایگاه آفتابگردان در طبقه بندی سلسله گیاهی به صورت زیر می باشد:

Domain.....Eukaryota
Kingdom.....Plantae
Class.....Magnoliopsida
Order.....Asterales
Family.....Asteraceae
Genus.....Helianthus
Species.....*Helianthus annuus* L.

آفتابگردان زراعی (*Helianthus annuus* L.) گیاهی است که وطن اصلی آن آمریکای شمالی و مرکزی است و از آنجا به سایر نقاط جهان گسترش یافته است. این گیاه در مجموع گرماپسند محسوب می شود و به صورت یک ساله مورد کشت و کار قرار می گیرد. جنس Helianthus بیش از 60 گونه دارد که گونه *H.annuus* در مقایسه با سایر گونه ها، بیشترین سطح زیر

کشت را در دنیا به خود اختصاص داده است. نام جنس آفتابگردان از کلمه یونانی Helios به معنی آفتاب و anthos به معنی گل گرفته شده است. این نام را لینه برای این گیاه انتخاب نمود(2).

این گیاه به صورت بوته استوار رشد می کند. برگ های آفتابگردان قلبی شکل بوده و ساقه خشن و پوشیده از کرک دارد که نسبتا زبر می باشند. ارتفاع ساقه در ارقام مختلف آفتابگردان بین یک تا شش متر متفاوت است. این گیاه می تواند در بسیاری از خاک ها عمل بیاید. اما رشد مطلوب آن در خاک هایی است که دارای PH خنثی باشند. آفتابگردان ریشه مستقیم و توسعه یافته ای دارد که پتانسیل نفوذ آن در خاک به 3 متر می رسد، به همین دلیل چندان از نوع خاک و مواد غذایی آن توقعی ندارد و همین ریشه های عمیق باعث شده نسبت به گیاهان زراعی دیگر نسبت به خشکی و کم آبی مقاومت زیادی نشان دهد مشروط بر این که خاک عمیق بوده و تراکم و ساختمان خاک محدود کننده رشد ریشه نباشد. گل آذین آن به صورت کپه ای است که به آن "طبق" گفته می شود. در روی طبق، گل ها به صورت حلقوی قرار می گیرند.

چون پرچم زودتر از مادگی می رسد، میزان "دگرگرده افشانی" در آفتابگردان زیاد است و وجود حشراتی از قبیل زنبور عسل می تواند در تلقیح دانه ها موثر باشد. یکی دیگر از خصوصیات این گیاه این است که نسبت به طول روز بی تفاوت است و اندام های گیاه تمایل به نوردارند. به طوری که پهنک برگ ها همراه با خورشید تغییر جهت داده و همواره تقریبا عمود بر اشعه آفتاب قرار می گیرد، یعنی با طلوع آفتاب اندام های گیاه از قبیل برگ ها و گل ها حالت شرق گرایی دارد و در بعد از ظهر وضعیت معکوس پیدا می کنند.

میوه آفتابگردان از نوع فندقه است (یعنی در داخل پوسته قرار دارد) که در اینجا با دانه مترادف می شود و طول آن ها در ارقام مختلف بین 1 تا 1.5 سانتی متر متنوع است و به ندرت طول دانه آن بیش از 2 سانتی متر می شود. رنگ دانه از سفید تا سیاه یا خاکستری خط دار و بسته به رقم تغییر می کند. دانه ها دارای مقادیر بالایی روغن هستند. میزان روغن دانه بستگی به پوسته دانه دارد. هرچه پوسته ضخیم تر باشد درصد روغن کمتر است و برعکس. طول دوره رشد آفتابگردان بسته به رقم و کلیه عوامل محیطی از 90 تا 150 روز می باشد.