



دانشگاه تربیت معلم
دانشکده علوم - گروه زیست‌شناسی

پایان‌نامه جهت اخذ درجه کارشناسی ارشد
رشته زیست‌شناسی علوم گیاهی - گرایش سلولی تکوینی

موضوع پایان‌نامه:

اثرات تنش کم‌آبی بر مراحل رویشی و زایشی ارقام مختلف سویا (*Glycine max* L.Merr) و
جوانه‌زنی بذور حاصل از آنها

اساتید راهنما:

دکتر پریسا جنوبی

دکتر سعید آبریان

استاد مشاور:

دکتر احمد مجد

نگارش:

مهدی جمالی

شهریور ۱۳۸۹

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ



دانشگاه تربیت معلم
دانشکده علوم - گروه زیست‌شناسی

پایان‌نامه جهت اخذ مدرک کارشناسی ارشد
رشته زیست‌شناسی علوم گیاهی - گرایش سلولی تکوینی

موضوع پایان‌نامه:

اثرات تنش کم‌آبی بر مراحل رویشی و زایشی ارقام مختلف سویا (*Glycine max* L.Merr) و
جوانه‌زنی بذور حاصل از آنها

اساتید راهنما:

دکتر پریسا جنوبی

دکتر سعید آریان

استاد مشاور:

دکتر احمد مجد

نگارش:

مهدی جمالی

شهریور ۱۳۸۹

تقديم به

پدر سختکوش، مادر

صبور

.

و

همسر فریخته ام

تقدیر و سپاس

سپاس بیکران ایندمنان و پروردگار بزرگ را که توفیق به انجام رساندن اثر حاضر را به عنوان پایان نامه کارشناسی ارشد رشته زیست شناسی کرایش سلولی تکوینی گماهی به بنده ارزانی داشت.

در اینجا لازم می دانم از زحمات و محبت های بی شائبه خانواده عزیزم که مراد طول تمامی دوران تحصیلات یاری و همراهی کردند تشکر نمایم. با تمام وجود از پدر زحمتش و دلسوز، مادر صبور و کراتقدر، همسر فریخته و برادران مهربانم سپاسگزارم.

از راهنمایی ها و نظرات ارزنده اساتید محترم راهنما سرکار خانم دکتر پریریا جنوبی و آقای دکتر سعید آریان و استاد محترم مشاور پرورفور دکتر احمد محمد که زحمت هدایت این پایان نامه را قبول فرمودند و در طول انجام پژوهش با کمک -

های بی دریغ خود، مایه دلگرمی بنده بودند قدردانی می‌نمایم. در واقع بارها همیانی های مشتقانه و کارساز این اساتید بزرگوار، امکان نگرش و تدوین این پایان نامه فراهم گردید.

لازم است از آقای دکتر فرخ قهرمانی نژاد ناینده محترم تحصیلات تکمیلی در دانشکده و داور داخلی پایان نامه و نیز از سرکار خانم دکتر صدیقه اربابیان داور خارجی پایان نامه تشکر کنم. همچنین از کمک های آقای دکتر جهانفر و ائشان و دکتر محمد نبونی در انجام این پایان نامه صمیمانه سپاسگزارم. ضمناً از زحمات و محبت های اساتید گرانمایه دوره کارشناسی آقایان دکتر محمد رضازمانی، دکتر مصطفی مطلبی، دکتر نصراله رسنگار پویانی، دکتر علی امینی، دکتر مظفر شیرینی و دکتر سیروس قبادی حاضران تشکر می‌کنم.

از همکلاسی ها و هم دوره ایهای کارشناسی ارشد آقایان لسان اله عسکری مهر، علی شمری، علی باقری، فرهاد احمدی، مسعود آزادبخت و خانم فاطمه مهدیه نجف آبادی و حامده صولت و نیز از هم آتانی هایم آقایان حبیب زارعی و احسان فریدونی و دوستان عزیزم آقایان جواد رسولی، سیامک یاری، ارسطو خداپرست، میثم یزدانخواه، سید ابوزحیبه حسینی زاده، محمد ناجی و محمد رضا سرفراز قدردانی می‌نمایم. همچنین از خانم ها حقیقی، کرمی و باهنر که در آزمایشگاه زیست شناسی مریاری رسانند سپاسگزارم و در خاتمه، ضمن تقدیم مراتب سپاس و امتنان قلبی خویش به همه این عزیزان از درگاه خداوند متعال سلامتی و توفیق روز افزون ایشان را خواستارم.

غرض نقشی است که از ما بازماند
که هستی را نمی‌بینم

بتعالی

با احترام فراوان

شهریور ۱۳۸۹ - مهدی جمالی

چکیده

تنش خشکی یکی از مهمترین عواملی است که اثرات مختلفی بر روی رشد رویشی و زایشی، ترکیبات شیمیایی و فیزیولوژی گیاهان دارد و از مهمترین عامل محدودکننده تولید محصولات کشاورزی به حساب می‌آید. باتوجه به اهمیت سویا، به عنوان یک گیاه مهم روغنی، و به منظور شناسایی ارقام مقاوم به خشکی و همچنین ارزیابی اثرات تنش خشکی بر ویژگیهای تشریحی، ریخت‌شناسی، بیوشیمیایی و جوانه‌زنی چهار رقم سویا (کلارک، کلین، M_q و L_{۱۷})، سه آزمایش جداگانه در قالب طرح بلوک‌های کاملاً تصادفی اجرا گردید. در آزمایش اول در شرایط بهینه گیاهان بر اساس ۵۰ میلی‌متر تبخیر از زمان جوانه‌زنی تا پایان دوره رشد آبیاری شدند، درحالی‌که در آزمایش‌های دوم و سوم که در شرایط تنش کم‌آبی اجرا گردیدند آبیاری به ترتیب بر اساس ۱۰۰ (تنش متوسط) و ۱۵۰ (تنش شدید) میلی‌متر تبخیر از تشتک تبخیر صورت گرفت. نتایج آزمایش‌ها نشان داد که اثر تنش کم‌آبی بر روی ضخامت و تعداد لایه‌های پوست، ضخامت منطقه آوند آبکش، ضخامت منطقه آوند چوبی، قطر دهانه آوند چوبی، تعداد ردیفهای آوند چوبی، تعداد آوندها در ساقه، ضخامت مغز، ضخامت استوانه مرکزی، قطر ساقه و تعداد کرک معنی‌دار بوده است. در ارقام تحت تنش کم‌آبی به غیر از رقم کلارک، در سایر ارقام تسریع نسبی تکوین کیسه رویانی مشاهده شد.

در تیمارهای کم‌آبی در میان چهار رقم مورد بررسی شاخص‌های جوانه‌زنی نظیر وزن تر اپی‌کوتیل، وزن خشک اپی‌کوتیل، وزن تر هیپوکوتیل، وزن خشک هیپوکوتیل، وزن تر ریشه و وزن خشک ریشه در سطح احتمال ۱٪ و طول ریشه و وزن تر لپه در سطح احتمال ۵٪ معنی‌دار بود.

میزان پرولین و پروتئین کل تحت تأثیر تنش کم‌آبی در سطح احتمال ۱٪ افزایش نشان دادند. نیمرخ الکتروفورزی پروتئین کل، افزایش شدت رنگ باندهای ۱۰، ۲۷، ۴۰، ۵۴ و ۹۰ کیلودالتونی را در تمامی ارقام مورد بررسی نشان داد.

واژه‌های کلیدی: تنش کم‌آبی، سویا، پرولین، پروتئین کل، ویژگی‌های تشریحی، جوانه‌زنی

فهرست مطالب

صفحه

عنوان

۱ فصل اول: مقدمه
۲ ۱-۱- اهداف پژوهش
۴ ۲-۱- گیاه‌شناسی سویا
۴ ۱-۲-۱- مشخصات
۵ ۲-۲-۱- جوانه‌زنی
۶ ۳-۱- تاریخچه سویا
۷ ۴-۱- مصارف گیاه سویا
۹ ۵-۱- تنش
۹ ۶-۱- تنش خشکی
۱۰ ۱-۶-۱- پروتئین‌های LEA
۱۲ ۲-۶-۱- پاسخ روزنه‌ها به شرایط خشکی
۱۲ ۳-۶-۱- نقش هورمون‌ها در تنش خشکی
۱۳ ۴-۶-۱- اثر خشکی بر روی ماشین فتوسنتزی
۱۳ ۵-۶-۱- مقاومت گیاه در برابر ROS ناشی از تنش خشکی
۱۴ ۶-۶-۱- دهیدراسیون سلولی
۱۴ ۷-۶-۱- نقش قندها در پاسخ به تنش خشکی
۱۵ ۸-۶-۱- نقش اسمولیت‌ها در پاسخ به تنش خشکی
۱۶ ۱-۸-۶-۱- نقش پرولین در پاسخ به تنش خشکی
۱۶ ۹-۶-۱- اثرات ریخت‌شناسی و تشریحی تنش خشکی
۱۸ ۱۰-۶-۱- اثر تنش خشکی بر روی جوانه‌زنی بذر
۱۹ ۱۱-۶-۱- سایر اثرات تنش خشکی

۲۰ فصل دوم : مواد و روشها
۲۱ ۱-۲- مکان و مشخصات اجرای طرح
۲۱ ۲-۲- مطالعات سلولی - بافت شناختی
۲۱ ۱-۲-۲- برداشت و تثبیت نمونه‌ها
۲۲ ۲-۲-۲- برش‌های دستی
۲۴ ۳-۲-۲- رورش تهیه رنگ‌های مورد نیاز برای برش‌های دستی
۲۴ ۱-۳-۲-۲- رنگ آبی متیل
۲۴ ۲-۳-۲-۲- رنگ کارمن زاجی
۲۴ ۴-۲-۲- برش‌های میکروتومی
۲۹ ۱-۴-۲-۲- روش تهیه هماتوکسیلین
۲۹ ۲-۴-۲-۲- روش تهیه ائوزین الکلی
۲۹ ۳-۲- آزمون جوانه‌زنی
۳۰ ۴-۲- آنالیزهای بیوشیمیایی
۳۱ ۱-۴-۲- سنجش غلظت پرولین
۳۲ ۱-۴-۲- روش تهیه محلول‌های مورد نیاز برای سنجش غلظت پرولین
۳۲ ۲-۴-۲- استخراج پروتئین
۳۳ ۳-۴-۲- سنجش پروتئین
۳۴ ۴-۴-۲- الکتروفورز به روش SDS-PAGE در سیستم بافری ناپیوسته
۳۵ ۱-۴-۴-۲- طرز تهیه بافرها و محلول‌های لازم
۳۶ ۲-۴-۴-۲- طرز تهیه ژل زیرین و رویی
۴۰ ۳-۴-۴-۲- تثبیت پروتئین
۴۱ ۴-۴-۴-۲- رنگ آمیزی ژل با کماسی بلو
۴۱ ۵-۴-۴-۲- رنگبری ژل
۴۱ ۶-۴-۴-۲- تجزیه و تحلیل نوارهای پروتئینی روی ژل
۴۲ ۵-۲- محاسبات آماری

۴۳ فصل سوم: نتایج
۴۴ ۱-۳- بررسی های تشریحی
۴۴ ۱-۱-۳- تأثیر تنش کم آبی بر روی بخش رویشی ارقام سویا
۵۳ ۱-۱-۱-۳- ضخامت پوست و نسبت پوست به ساقه
۵۴ ۲-۱-۱-۳- تعداد لایه های پوست
۵۶ ۳-۱-۱-۳- ضخامت منطقه آوند آبکش و نسبت منطقه آبکش به ساقه
 ۴-۱-۱-۳- ضخامت منطقه آوند چوبی، نسبت منطقه آوند چوبی به ساقه و
۵۸ نسبت منطقه آوند چوبی به منطقه آوند آبکش
۶۰ ۵-۱-۱-۳- قطر دهانه آوند چوبی
۶۱ ۶-۱-۱-۳- تعداد ردیف های آوند چوبی
۶۲ ۷-۱-۱-۳- تعداد کل آوندهای چوبی در ساقه
۶۴ ۸-۱-۱-۳- ضخامت پارانشیم مغز و نسبت پارانشیم مغز به ساقه
۶۵ ۹-۱-۱-۳- ضخامت استوانه مرکزی و نسبت استوانه مرکزی به ساقه
۶۷ ۱۰-۱-۱-۳- قطر ساقه
۶۹ ۱۱-۱-۱-۳- تعداد کرک
۷۴ ۲-۱-۳- تأثیر تنش کم آبی بر تکوین اندام های زایشی ارقام سویا
۸۲ ۲-۳- آزمون جوانه زنی
۹۷ ۳-۳- آنالیزهای بیوشیمیایی
۹۸ ۱-۳-۳- غلظت پرولین
۹۹ ۲-۳-۳- پروتئین کل
۱۰۲ فصل چهارم : بحث و تفسیر
۱۰۳ ۴- بحث
۱۰۳ ۱-۴- نتایج حاصل از بررسی های تشریحی
۱۰۹ ۲-۴- آزمون جوانه زنی بذور ارقام سویا تحت تنش کم آبی
۱۱۸ ۳-۴- غلظت پرولین

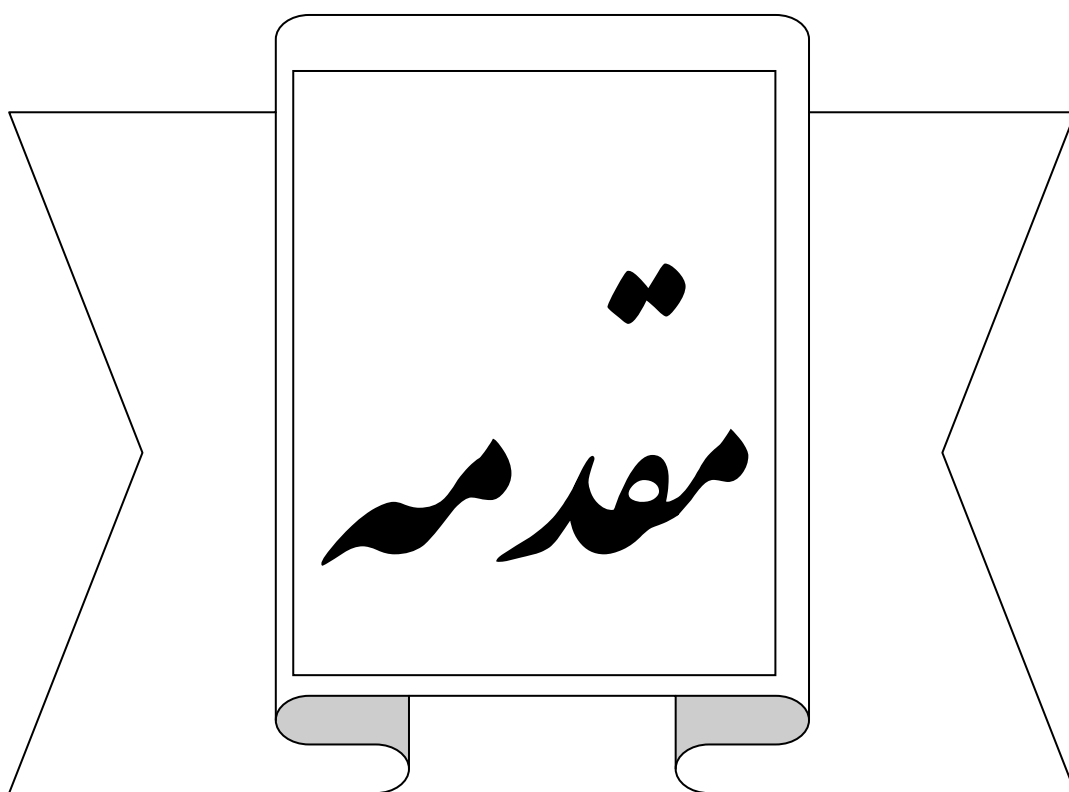
۱۲۰ ۴-۴- پروتئین کل

۱۲۶ فصل پنجم : منابع

۱۲۷ منابع فارسی

۱۳۰ منابع انگلیسی

فصل اول



۱-۱- اهداف پژوهش

یکی از عمده‌ترین محصولات غذایی که تأمین نیاز داخلی آن از اهمیت زیادی برخوردار است، روغن‌های خوراکی می‌باشد. هم‌اکنون از ۲۴ محصول کشاورزی روغن گرفته می‌شود که از میان آنها ۵ محصول عمده‌ترین منابع تهیه روغن هستند؛ این ۵ محصول عبارتند از: سویا، خرما، کلزا، آفتابگردان و پنبه‌دانه (www.rkhorasan.agri-eng.com). عرضه سویا تولیدات دانه روغنی را تحت تأثیر قرار داده است. از سال ۱۹۷۰ تولیدات سویا تقریباً دو برابر هر دانه روغنی دیگر شده است (FAO, ۲۰۱۰). میزان روغن دانه سویا ۱۸ تا ۲۴ درصد و میزان پروتئین آن ۳۲ تا ۳۷ درصد است. درصد پروتئین در کنجاله ۴۳ تا ۴۴ درصد است. کاه سویا دارای ارزش غذایی مشابه یونجه خشک است. صنایع تبدیلی مشتقات سویا بیش از ۱۵۰ محصول را تشکیل می‌دهد که از جمله می‌توان به شیر و گوشت سویا اشاره کرد (شکاری و همکاران، ۱۳۸۲).

حدود یک سوم اراضی جهان با کمبود بارندگی مواجهند و نیمی از این اراضی دارای بارندگی سالیانه کمتر از ۲۵۰ میلی‌متر می‌باشند. به طور کلی مناطق خشک و نیمه خشک جهان وسعتی در حدود ۴۴/۷ میلیون کیلومتر مربع را شامل می‌شوند که حدود ۳۹ درصد از این مساحت جزء مناطق خشک محسوب شده و قسمت عمده آن برای کشاورزی مناسب نیست (کوچکی و همکاران، ۱۳۷۴). از آنجا که ایران جزء مناطقی است که به علت فقدان بارندگی و رطوبت کافی، آبیاری در مراحل حساس نمو گیاهان امری اجتناب‌ناپذیر است و از سوی دیگر به علت محدودیت منابع آبیاری، شناسایی ژنوتیپ‌های مقاوم و متحمل به شرایط خشک و کم‌آب به میزان قابل توجهی از کاهش محصول جلوگیری می‌کند. گیاه سویا حساسیت زیادی

به تنش کم آبی دارد و با توجه به این نکته که این گیاه بومی ایران نمی باشد شناخت دقیق از صفات و خصوصیات مختلف سویا به ویژه در رابطه با تنش خشکی و شناسایی ارقام مقاوم به تنش خشکی از اهمیت بالایی برخوردار است (شاهمرادی و همکاران، ۱۳۸۶).

با آن که برخی از ارقام سویا به عنوان ارقام مقاوم شناخته شده اند، اما بسیاری از ارقام و لاین ها از نظر واکنش به تنش خشکی در مراحل مختلف نمو ناشناخته اند و شناسایی ارقامی که هم از نظر سازگاری با شرایط منطقه ای و عملکرد و هم از نظر مقاومت به تنش خشکی از موقعیت خوبی برخوردار باشند، اهمیت فراوانی دارد.

بنابراین اهداف اجرای این پژوهش عبارتند از:

- ۱- مطالعه تغییرات تشریحی ۴ رقم سویا تحت تأثیر تنش کم آبی.
- ۲- بررسی برخی تغییرات بیوشیمیایی ۴ رقم سویا شامل تغییرات میزان پرولین و پروتئین در گیاهان شاهد و گیاهان تحت تنش کم آبی.
- ۳- بررسی نیمرخ الکتروفورزی گیاهان شاهد و گیاهان تحت تنش کم آبی.
- ۴- بررسی اثر تنش کم آبی بر روی جوانه زنی بذرها حاصل از گیاهان شاهد و گیاهان تنش یافته.

با استفاده از مجموع نتایج حاصل از اهداف فوق شاید بتوان به انتخاب رقم یا ارقامی مناسبتر دست یافت و به تأمین نیازهای کشور به توسعه کشت نمونه های مناسبی از گیاهان دارای دانه های روغنی کمک کرد.

۱-۲- گیاه‌شناسی سویا

رده‌بندی علمی سویا به صورت زیر است:

Kingdom: Plantae

Phylum: Magnoliophyta

Class: Magnoliopsida

Order: Fabales

Family: Fabaceae

Subfamily: Faboideae

Genus: *Glycine*

Species: *G. max*

جنس *Glycine* به دو زیرجنس تقسیم می‌شود، *Glycine* و *Soja*. زیرجنس *Soja*

شامل سویای زراعی، *Glycine max* (L.) Merr، و سویای وحشی، *Glycine soja* Sieb. and

Zucc است (۲۰۱۰، <http://en.wikipedia.org>).

۱-۲-۱- مشخصات

سویا (*Glycine max* L.) گیاهی است یکساله، علفی، دولپه با ساقه‌ای راست که بیش

از ۲ متر رشد می‌کند غلاف، ساقه و برگهای آن از کرکهای قهوه‌ای یا خاکستری پوشیده شده

است. سیستم ریشه‌ای سویا از یک ریشه اصلی تشکیل می‌شود که ریشه‌های افقی حدود ۴۰

تا ۵۰ سانتی‌متری موازی سطح خاک رشد کرده و سپس به عمق خاک تا حد ۱۸۰ سانتی‌متری

نفوذ می‌کند. ساقه اصلی سویا عمودی بوده و از آن ساقه‌های کوچکتر فرعی منشعب می‌گردد.

بوته کامل سویا دارای ۱۵ تا ۲۴ گره می‌باشد. برگهای سویا را به چهار دسته تقسیم می‌کنند که

عبارتند از: ۱- برگهای بذری (لپه‌ها)، ۲- دو برگ اولیه ساده یا تک‌برگچه‌ای، ۳- برگهای

مرکب سه‌برگچه‌ای ۴- برگهای کوچک، واقع در پایه شاخه‌های جانبی فاقد برگ. گلها کوچک و به اندازه ۶ تا ۷ میلی‌متر به حسب رقم سفید یا صورتی و یا بنفش کم‌رنگ می‌باشند. گلها به صورت مجتمع به تعداد ۵ تا ۸ عدد در محل اتصال برگ به ساقه یا در محل اتصال شاخه‌های فرعی به ساقه اصلی با آرایش خوشه‌ای کوچک ظاهر می‌شود.

گل دارای ۱۰ پرچم است که میله‌های ۹ پرچم آن به یکدیگر چسبیده‌اند. مادگی گل یک برچه‌ای، کوتاه و دارای ۴-۱ تخمک می‌باشد. گل‌های سویا خودگشن بوده و پس از لقاح گل، تخمک و تخمدان تبدیل به دانه و نیامک می‌شوند. میوه سویا به صورت یک نیامک یا نیام کوتاه می‌باشد که دارای کرک و رنگ قهوه‌ای روشن یا طلایی است. هر نیامک دارای ۲ تا ۵ عدد دانه می‌باشد که معمولاً اکثریت با نیامک‌های ۲ و ۳ دانه‌ای است. دانه‌ها به رنگ زرد، سبز، قهوه‌ای و سیاه‌رنگ دیده می‌شوند (احمدی و یوسفی، ۱۳۷۳).

۱-۲-۲- جوانه‌زنی

جذب رطوبت اولین قدم در جوانه‌زنی بذر است. وزن آب مورد نیاز بذر جهت تندش به حسب وزن بذر حدود ۵۰ درصد وزن خشک اولیه بذر سویا می‌باشد. کمی بعد از ظهور ریشه اولیه، محور زیرلپه^۱ شروع به طویل شدن به طرف سطح خاک می‌کند. سبز شدن بذر سویا از نوع اپی‌جیل^۲ بوده و لپه‌ها همراه با رشد محور زیرلپه از خاک خارج می‌گردند. مواد غذایی ذخیره شده در لپه‌ها احتیاجات گیاه جوان را در طی ظهور محور روی لپه و برای حدود ۷ تا ۱۰ روز پس از آن فراهم می‌کند. در طی این مدت لپه‌ها ۷۰ درصد از وزن خشک خود را

۱- Hypocotyl

۲- Epigeal

از دست می‌دهند. ظهور محور روی لپه بسته به شرایط محیطی یک تا دو هفته پس از کاشت صورت می‌گیرد که با رطوبت خاک، حرارت خاک و عمق کاشت ارتباط دارد (اردکانی و قلاوند، ۱۳۷۴).

۱-۳- تاریخچه سویا

سویا گیاهی است بومی آسیا به ویژه چین و ژاپن قدمت آن به حدود ۴۷۰۰ سال قبل در چین بازمی‌گردد. در حدود قرن اول میلادی به کشورهای ژاپن، هندوستان، فیلیپین، ویتنام، تایلند، مالزی، برمه، نپال گسترش یافت. در پایان قرن نوزدهم به آفریقا و برای اولین بار در سال ۱۷۰۰ به اروپا وارد شد. در منابع آمریکایی از سال ۱۸۰۴ به عنوان سال ورود سویا به آمریکا یاد شده است. در حال حاضر برزیل، آرژانتین و پاراگوئه به عنوان صادرکننده عمده سویا محسوب می‌شوند. سویا در ابتدا بیشتر به عنوان علوفه مصرف می‌شد اما در سال ۱۹۱۵ برای اولین بار روغن از آن استخراج گردید.

در ایران سویا یا اولین بار در یک بروشور مربوط به اداره کل فلاحه مورد بررسی قرار گرفت. این گیاه در سال ۱۳۴۲ توسط گروه صنعتی بهشهر به مازندران وارد و کشت گردید ولی عملکرد آن چندان موفق نبود. از سال ۱۳۴۶ به عنوان دانه روغنی در بخش‌های مهمی از کشور مورد توجه کشاورزان قرار گرفت. مناطق کشت فعلی سویا استان‌های گلستان، مازندران، لرستان، آذربایجان غربی، کرمانشاه و منطقه مغان می‌باشد. (شکاری و همکاران، ۱۳۸۲).