

۱۶ / ۱۰ / ۱۳۷۸

۲ - ۹۷

دانشگاه ارومیه
دانشکده علوم
گروه زیست شناسی

پایان نامه

جهت اخذ درجه کارشناسی ارشد

موضوع :

**اثر تنش خشکی بر روی تغییرات پروتئین کل و قندهای محلول در رقم ۹ از
گونه عدس زراعی**

۷۴۷۰۲

استاد راهنما :

جناب آقای دکتر رضا حیدری

استاد مشاور :

جناب آقای دکتر مجید نوجوان

نگارش :

رضا شکسته بند

تابستان ۱۳۷۸

۲۷۵۵۳

تشکر و قدردانی

هر آنکس کلمه‌ای به من بیاموزد، برآستی مرا بنده خود ساخته است.

حضرت علی (ع)

با حمد و سپاس بیکران به درگاه ایزد منان بدین وسیله تشکر می‌نمایم از:

* استاد ارجمندم جناب آقای دکتر رضا حیدری که امر سرپرستی این پایان نامه را

بعهده داشته و همواره از راهنمایی‌های ارزنده ایشان بهره‌مند بوده‌ام.

* استاد مشاورم آقای دکتر مجید نوجوان بخاطر راهنمایی‌های علمی ایشان در

مراحل مختلف این کار تحقیقی.

* آقای دکتر مسعود خیامی مدیریت محترم گروه زیست‌شناسی و سایر اساتید بخاطر

مساعدتهای علمی آنان.

* هیئت محترم ممتحنه که داوری این پایان نامه را تقبل نموده و از ارائه نظرات خود

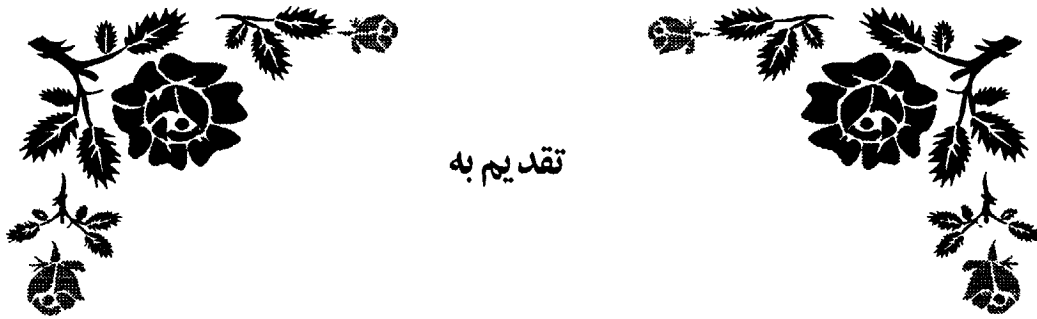
دریغ نداشته‌اند.

* جناب آقای دکتر صمد زارعی معاونت آموزشی دانشکده علوم و دوستان عزیز

جناب آقای رشید جامعی و مهرا ن خلیلی فر و امیر برجیان و حبیب مبادر ثانی و خانم

پورا کبر و سایر دوستان کارشناسی و کارشناسی ارشد که مساعدتها و همفکریهای آنان در

پیشرفت کار موثر بوده است.



تقدیم به

پدرم که صبر و استقامت

و

مادرم که ایثار و فداکاری

و

برادران و خواهرانم که راهنمایهای

آنان همواره روشنگر راهم بوده است.



عنوان: اثر تنش خشکی بر روی تغییرات پروتئین کل و قندهای محلول در رقم از گونه عدس زراعی

چکیده

این پژوهش شامل دو قسمت می باشد:

۱ - در قسمت اول اثر تنش خشکی بر روی برخی تغییرات بیوشیمیائی از جمله، تغییرات میزان پروتئین کل، الکتروفورز پروتئین ها و تغییرات قندهای محلول، در دانه های ۹ رقم از گونه عدس زراعی مورد بررسی و آنالیز آماری قرار گرفت. نتایج حاصل نشان داد که میزان پروتئین کل متناسب با افزایش سطح تنش کاهش یافته است. الکتروفورز پروتئین ها قبل و بعد از تنش نشان داد که غلظت چند نوع پلی پپتید با وزنهای ملکولی ۱۵-۶۰ کیلو دالتون بعد از اعمال تنش خشکی در همه ارقام کاهش یافته است و در دورقم *ILL 590* و *ILL 6212* یک پلی پپتید ۸۰ کیلو دالتونی بطور تازه سنتز شده است. از طرف دیگر میزان قندهای محلول در اثر تنش خشکی افزایش یافته که این افزایش متناسب با سطح تنش نبوده و در سطح چهارم استرس اندکی کاهش یافته است.

تغییرات میزان پروتئین کل و قندهای محلول در چهار رقم *ILL 975-ILL 707-ILL 590* و *ILL 6212* بالاتر از بقیه ارقام بود و با توجه به نتایج الکتروفورز احتمالاً این ارقام نسبت به بقیه ارقام مورد مطالعه در مقابل خشکی مقاومت بیشتری از خود نشان بدهند.

۲ - در قسمت دوم تفاوت های ۹ رقم مورد مطالعه با استفاده از الکتروفورز پروتئین کل و پروتئین محلول در نمک (گلوبولین ها) دانه های این ارقام مورد بررسی قرار گرفت. در هر دو حالت باندهای حاصل از پروتئین های ذخیره دانه ارقام مشابه بوده بنابر این نمیتوان از این دو روش برای شناسائی و گروه بندی این ارقام استفاده کرد.

فهرست مطالب

۳	فصل اول
۳	مقدمه و کلیات
۲	(۱-۱) مقدمه
۴	(۲-۱) کلیات
۴	(۱-۲-۱) رده بندی عدس <i>lens</i>
۶	(۲-۲-۱) خصوصیات سرده عدس
۷	(۳-۲-۱) خصوصیات ریخت شناختی گونه عدس
۷	(۴-۲-۱) خاستگاه گیاه عدس
۸	(۵-۲-۱) جمع آوری ژرم پلاسما عدس زراعی
۹	(۶-۲-۱) اهمیت اقتصادی عدس
۱۱	فصل دوم
۱۱	بررسی منابع
۱۲	(۱-۲) اثرات تنش خشکی
۱۲	(۱-۱-۲) اثرات تنش خشکی روی پروتئین کل
۱۳	(۲-۱-۲) اثرات تنش خشکی بر روی باندهای حاصل از الکتروفورز
۱۴	(۳-۱-۲) اثر تنش خشکی روی قندهای محلول
۱۵	(۲-۲) شیمیوتاکسونومی

۱۹	فصل سوم.....
۱۹	مواد و روشها.....
۲۰	- مواد و روشها:
۲۱	- وسایل لازم:
۲۳	۱-۳) اعمال تنش خشکی:
۲۳	۱-۱-۳) تهیه بذر و کشت گیاهان:
۲۳	- انجام آزمایش.....
۲۷	۲-۱-۳) اندازه گیری درصد پروتئین کل در نمونه های مورد آزمایش:
۲۸	روش کار:
۳۰	۳-۱-۳) الکتروفورز پروتئینها:
۳۰	- مقدمه:
۳۲	- روش الکتروفورز:
۴۰	۴-۱-۳) اندازه گیری قندهای محلول:
۴۲	۲-۳) شیمیوتاکسونومی:
۴۲	۱-۲-۳) استخراج پروتئینهای محلول در نمک:
۴۳	۲-۲-۳) استخراج پروتئین کل:
۴۴	فصل چهارم.....
۴۴	نتایج.....
۴۵	۱-۴) اعمال تنش خشکی:

۴۵ پروتئین کل : (۱-۱-۴)
۵۰ الکتروفورز پروتئینها : (۲-۱-۴)
۵۴ قندهای محلول : (۳-۱-۴)
۵۷ شیمیوتاکسونومی (۲-۴)
۵۷ الکتروفورز پروتئینهای کل : (۱-۲-۴)
۵۸ الکتروفورز پروتئینهای محلول در نمک : (۲-۲-۴)
۶۰ فصل پنجم
۶۰ بحث
۶۰ اعمال تنش خشکی : (۱-۵)
۶۰ پروتئین کل : (۱-۱-۵)
۶۱ الکتروفورز پروتئینها : (۲-۱-۵)
۶۴ قندهای محلول : (۳-۱-۵)
۶۴ شیمیوتاکسونومی (۲-۵)
۶۴ الکتروفورز پروتئینهای کل : (۱-۲-۵)
۶۴ الکتروفورز پروتئینهای محلول در نمک : (۲-۱-۵)
۶۸ فصل ششم
۶۸ ضمیمه
۷۴ <i>References</i> رفرانس

فصل اول

مقدمه و کلیات

(۱-۱) مقدمه :

تنش خشکی، عبارت است از اینکه گیاه در شرایط کمبود آب قرار گیرد. ۸۵ - ۹۰٪ وزن تر گیاه را آب تشکیل می‌دهد، عمده‌ترین اثر ناشی از کمبود آب محیط رشد، کاهش جذب آن از طریق ریشه و کاهش پتانسیل آب بافت‌های گیاهی و پتانسیل آب گیاه است که سبب به هم خوردن تعادل عوامل موثر در تنظیم و تطبیق اسمزی گردیده و تغییرات فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی مختلفی را همراه دارد. واکنش گیاه در برابر خشکی متفاوت است. بعضی از آنها قبل از دوره خشکی، رشد خود را به پایان می‌رسانند و در واقع با فرار از خشکی با آنها مقابله می‌کنند. (*Drought escape*)

عده دیگر از گیاهان با افزایش ضخامت کوتیکول، کاهش سطح برگ، کاهش تعداد روزنه‌ها و اندازه روزنه‌ها، پوشانیدن سطح برگ با کرک و غیره، با کاهش میزان تبخیر در مقابل اثرات ناشی از خشکی مقابله می‌کنند. (*Drought resistant*)

دسته سوم گیاهانی هستند که با وجود کاهش پتانسیل آب داخلی ناشی از تنش خشکی، می‌توانند زنده بمانند و به حیات خود ادامه دهند. این گونه گیاهان را متحمل به خشکی می‌نامند. (*Drought tolerant*) این گیاهان با تنظیم و تطبیق اسمزی خود در شرایط تنش به کمک تنظیم‌کننده‌های اسمزی (*Osmotic adjustment*) که در گیاهان مختلف متفاوتند و از تغییرات بیوشیمیایی ناشی از تنش حاصل می‌گردند اثرات تنش را کاهش می‌دهند و یا از بین می‌برند.

در واقع این گیاهان در برابر کاهش پتانسیل آب داخلی متحملند و یا از کاهش بیشتر پتانسیل آب داخلی جلوگیری می‌کنند. گیاهان در شرایط طبیعی در مراحل مختلف رشد ممکن است با

کمبود آب مواجه گردند و یا اینکه خشکی در شرایط آزمایشگاه برای انجام بعضی از تحقیقات و بررسی اثرات خشکی، بر گیاه اعمال گردد. مقاومت گیاه در برابر تنش خشکی در مراحل مختلف رشد متفاوت است یعنی ممکن است گیاه در مرحله‌ای از رشد به تنش خشکی حساس بوده و در مراحل دیگر رشد مقاوم باشد. برای مثال گیاه عدس زراعی در مرحله گل دهی و تشکیل میوه و دانه بندی بیشتر از بقیه مراحل رشد به خشکی حساس بوده و تحت تأثیر قرار می‌گیرد. (۴۹،۴۳ و ۲۵)

بطور کلی گیاهان از نظر واکنش در برابر خشکی به گیاهان نیمه حساس و حساس و مقاوم تقسیم می‌گردند. رقمهائی از گیاهان زراعی که دارای دوره رشد کوتاهتری هستند نسبت به خشکی مقاومت بیشتری دارند. اصل مهم این است که وجود آب برای رشد و ادامه طبیعی گیاه لازم می‌باشد و کاهش آن بخصوص اگر با دمای محیط همراه باشد، تغییرات بیولوژیکی و بیوشیمیائی متفاوت را به وجود می‌آورد، که بررسی کمی و کیفی این تغییرات و شناخت مکانیسم‌های مقاومتی ارقام مقاوم از اهداف مهم به زراعی، تولید و استفاده از ارقام مقاوم به خصوص در شرایط کشت دیم بوده است.

روشی که بوسیله آن بتوان، کلیه انواع مقاومت در مقابل استرس خشکی را اندازه‌گیری کرد، وجود ندارد در سال ۱۹۶۹ کرامر در این مورد نظرات نسبتاً قاطعی اظهار کرده بود. (۳)

به نظر وی شاخص هائی می‌توانند به استرس خشکی مربوط باشند که از اندازه‌گیری‌های انجام شده روی گیاهان بدست آمده باشند و پیشنهاد کرده است که در تعمیم هرگونه تستی، چهار ضابطه زیر لزوماً با هم در نظر گرفته شوند:

۱) لازم است یک رابطه منطقی و مطلوب بین شدت فرآیندهای فیزیولوژیکی و درجه شدت تنش آبی وجود داشته باشد.

۲) در شدت معین از تنش، تغییرات فیزیولوژیکی در تعداد زیادی از گیاهان باید مشابه هم باشد.

۳) واحدهای مورد استفاده و روشهای اندازه گیری را لزوماً بتوان برای تعداد زیادی از گیاهان به کار برد.

۴) تستهای مورد استفاده باید به حداقل بافت گیاهی نیاز داشته باشد. (۳)
البته بررسی ها در این موارد می توانند جنبه کمی و کیفی داشته باشد تا ضمن کسب اطلاعات علمی بیشتر با استفاده های عملی حاصل از نتایج و انتخاب ارقام مقاوم به شرایط محیط و کشت به موقع آنها با توجه به دما و رطوبت محیط و تنظیم میزان و دفعات آبیاری بتوان با توجه به نیاز روز افزون در تولید محصولات با کیفیت بیشتر و بهتر به موفقیت های چشمگیر نائل آمد.

(۱-۲) کلیات

۱-۲-۱) رده بندی عدس *lens*

در فارسی به نامهای عدس و مرجی (*marji*) نامیده می شود - نام انگلیسی آن :

Caltivated lentil , Lentil , Common Lentil می باشد. (۱۱)

رده بندی این گیاه بر اساس آنچه در سیستماتیک گیاهی قهرمان آمده است (۵) بدین ترتیب

می باشد:

رده دولپه‌ایها

زیر رده جدا گلبرگان

Rosales

راسته گل سرخ

Fabaceae (Legumino sae)

تیره حبوبات

Faboideae (Papi linoideae)

زیر تیره پروانه آسا

Vicieas

طایفه ویسیه

Lens miller

جنس عدس

این جنس در ایران سه گونه گیاه علفی یکساله دارد که گونه‌ای از آن به عنوان عدس، زراعت

L, Cyanea و *L, orientalis*

می‌گردد و دو گونه دیگر عبارتند از

این گونه‌ها علاوه بر ایران در جنوب شرقی اروپا، جنوب غربی آسیا و شمال سوریه و

جنوب روسیه نیز می‌رویند. (۱۱)

1) *Lens culinaris medicus*

۱) عدس زراعی

= *Ervum lens L.*

یا مرجی

= *Lens esculenta Moench*

2) *Lens cyanea (Boiss & Hohon) Alef*

۲) عدس آبی رنگ

= *Lens esculenta moench*

یا عدس دربند

= *Lens Pygmaea Grossh*

3) *Lens orientalis Boiss*

۳) عدس شرقی، عدس شیرازی

= *Lens Pygmaea Grossh*

= *Vicia orientalis*

Lens یک لغت لاتین است که دقیقاً توصیف کننده شکل یک لگوم زراعی است که در پی نام گذاری آن توسط مدیگوس (*Medicus*)، گیاه شناس و فیزیک دان آلمانی در سال ۱۷۸۷ امروزه گیاه شناسان آنرا *Lens culinaris* می نامند.

تورنفورت در قرن ۱۶ (شانزدهم) اولین کسی بود که این لغت را برای نام گذاری یک جنس خاص به کار برد. سپس مایلر نیز آنرا به عنوان یک جنس در نظر گرفت و بعدها توسط آدانسون که اختلاف بین جنسهای مختلف نامگذاری شده توسط تورنفورت (*...,Vicia,Ervum,lens*) را مشخص کرد و آنها را به تورنفورت نسبت داد. این نام توسط مدنخ نیز استفاده شده است. کنگره گیاه شناسی برای نام گذاری گیاهان در سال ۱۹۶۶ تصمیم گرفت که مایلر را به عنوان مؤسس این جنس معرفی کند و به این ترتیب *Lens miller* نامی است که برای آن در نظر گرفته شده و بر سایر نامهای قبلی تقدم دارد. (۱)

۱-۲-۲) خصوصیات سرده عدس:

گیاهانی یکساله با ساقه هائی ایستاده یا افتاده، برگهای مرکب با برگچه های نزدیک به هم هستند. کاسه گل دارای ۵ دندانه برابر یا نابرابر، خامه نازک و نخی، گاهی فشرده شامل حلقه ای از کرک در ناحیه نزدیک به انتها و در زیر کلاله است. گلها به تعداد ۱-۵ عدد، در خوشه های محوری مجتمع اند. نیام خطی، در انتها مدور و کند یا منتهی به منقاری کوچک است و به ندرت ممکن است به شکل تسبیح باشد. از این جنس در ایران سه گونه در نواحی جنوبی (بلوچستان و کرمان)، در آذربایجان و همچنین در غرب ایران (قصر شیرین) می رویند. (۵۱)

۱-۲-۳) خصوصیات ریخت شناختی گونه عدس:

عدس گیاهی است دارای شاخه‌های زیاد، کرکهای نرم، سبز روشن، علفی یکساله با ساقه کوتاه و منشعب، ارتفاع آن بین ۱۵-۱۷ cm است.

این گیاه دارای ریشه اصلی کوچک و تعدادی ریشه‌های فیبری جانبی است. ساقه عدس نازک، چهارگوش و نیز دارای زوایای برجسته است. بطور کلی ساقه آن علفی و ضعیف است. با پیشرفت رشد گیاه، بخش پایین ساقه چوبی می‌شود. درجه کرکی از کاملاً کرکی تا تقریباً صاف متفاوت است. همچنین ساقه اغلب دارای پیگمان رنگی آنتوسیانین می‌باشد. که در بعضی موارد وجود ندارد. و یا فقط در اندامهای پایینی وجود دارند.

برگهای عدس متناوب، مرکب و دارای ۱-۸ جفت برگچه است. دمبرگها کوتاه بوده و طول محور برگ بین ۱-۴/۵ سانتی متر (اکثر ۲/۵ تا ۳/۵ سانتیمتر) است. محور برگ به یک پیچک ساده منتهی می‌شود.

بذرهای عدس به شکل عدسی هستند. قطر دانه‌ها ۲-۹ میلیمتر است. پوست دانه قرمز روشن سبز یا قرمز متمایل به سبز، خاکستری، قهوه‌ای یا سیاه می‌باشد - و دارای لکه‌ها یا رگه‌های سیاه یا قهوه‌ای تیره می‌باشند. سطح بذر صاف و رنگ لپه‌ها ممکن است زرد، نارنجی یا سبز باشد. (۱ و ۵ و ۷)

۱-۲-۴) خاستگاه گیاه عدس:

نواحی از غرب ترکیه تا جنوب عراق (کردستان) نواحی هستند که علاوه بر وجود گونه‌های عدس وحشی، گونه، *L. montbretii* و همچنین *Vicia* به وفور در این نواحی یافت

می‌شود. این ناحیه می‌تواند به عنوان یک کاندیدای مهم برای مرکز پیدایش عدس تلقی شود. عدس در این نواحی از جمعیت‌های *L.orientalis* که *nigricans* نیز در آن مناطق موجود است، اهلی شده است. گونه‌های *L.culinaris* احتمالاً "فرمهای حد واسط *orientalis-nigricans* و جمعیت‌های مخلوطی از این گروه حاصل شده است.

۱-۲-۵) جمع آوری ژرم پلاسما عدس زراعی:

کلکسیون‌های شناخته شده ژرم پلاسما جهانی عدس به منظور اهداف اصلاح نباتات در هندوستان، سوریه و ایالات متحده آمریکا نگهداری می‌شود.

انستیتو تحقیقات کشاورزی هندوستان ⁽¹⁾ (*IARI*)، دهلی نو، بیش از ۳۳۰۰ نمونه عدس از کشورهای تولیدکننده عدس در آسیا، آفریقا، اروپا و آمریکا را نگهداری می‌کنند. ایستگاه معرفی گیاه در نواحی غرب ایالات متحده ⁽²⁾ (*WRRIS*) متعلق به وزارت کشاورزی واقع در پولمن واشینگتن، مجموعه‌ای متشکل از ۱۱۵۰ نمونه را نگهداری می‌کند - مرکز بین المللی تحقیقات کشاورزی در نواحی خشک ⁽³⁾ (*ICARDA*) در شهر حلب سوریه مجموعه‌ای را در حدود ۴۷۰۰ نمونه از ۴۷ کشور مختلف با پیش شماره ⁽⁴⁾ (*IU*) نگهداری می‌کند.

از ۴۷۰۰ نمونه موجود در کلکسیون ایکاردا، تعداد ۷۱۲ نمونه مربوط به ایران می‌باشد که

1) *Indian Agricultural Reseach Institute*

2) *Western Regional Plant Introduction station pullman , washington*

3) *International Center For Agricultural Roseach in Dry Area (Aleppo , Syria)*

4) *International lens legum.*