





دانشکده منابع طبیعی

پایان نامه دکتری رشته منابع طبیعی گرایش علوم جنگل

شناسایی ژنتیکی سنجد پر خار (تلخ) (*Elaeagnus rhamnoides* (L.) A. Nelson)  
در رویشگاه‌های ایران، تکثیر و مقاومت سنجی آن به تنش خشکی

دانشجو: حمید آهنی

استاد راهنما: دکتر حمید جلیلود

اساتید مشاور:

دکتر جمیل واعظی

دکتر سید احسان ساداتی

بهمن 1393

تقدیم به

آرام جانم

## سپاسگزاری

حمد و ستایش خداوندی را سزااست که عشق به آموختن را در انسان به ودیعه نهد. با سپاس از لطف بی پایان الهی که انگیزه آموختن، توفیق یادگیری و فرصت آزمون را عطا فرمود و هدایت کرد درون را شوق بخشیدن بدیه نمود.

در ابتدا لازم می دانم از زحمات استاد راهنمای ارجمند و گرامی ام، جناب آقای دکتر حمید جلیوند که در تمام مراحل این پایان نامه از هیچ کوششی به جهت پربار شدن آن دریغ نکرده و همواره با راهنمایی های ارزشمند خود که گشای مسائل و مشکلات این پژوهش بودند تقدیر و تشکر می کنم. از استاد مشاور اول بزرگوارم آقای دکتر حمیل واعظی که مرا با علم سیستمیک مولکولی گیاهی آشنا نمود و ساعت های زیادی برای آموزش بنده وقت گذاشتند تشکر می کنم. از استاد مشاور دوم گرامی که در پیچ فیزیولوژی گیاهی را برای من گشود و راهنمایی های ارزنده ای داشتند قدر دانی می نمایم. تشکر بسیار ویژه از آقای دکتر ولی اله مظفریان به دلیل راهنمایی برای شناسایی رویه نگاه های این گونه در کشور، خانم دکتر میرزاده و آقای دکتر آقا حنفری موسسه تحقیقات جنگلها و مراتع کشور، از آقایان مهندس احمدی، مهندس باشتینی، دکتر اسکندری، خانم آناهید مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی خراسان رضوی و آقایان مهندس روزه، مهندس عسکری و خانم مهندس مظفری اداره کل منابع طبیعی و آبخیزداری قزوین سپاسگزاری می نمایم. آقایان مهندس مردی و مهندس حسینی، مهندس مهران آذربایجان شرقی، آقایان مهندس طالبی و حاجی یوسفی آذربایجان غربی، همکاران اداره کل منابع طبیعی و آبخیزداری استان خراسان رضوی آقایان مهندس باقری، به ویژه مهندس حسین سلطانی، مهندس قاضی، مهندس مرعانی، مهندس احسان کاویان، حاج حسام شاه محمدی، مهندس نوبخت، جلالی، اعلی، رحیمی، طاهری، عباس آبادی، جاهد، برومند، خانما دکتر مومنی مقدم و مهندس شایونی، از دانشگاه فردوسی خانم مهندس با میرشاهی، آقایان مهندس نوری، استاد دکتر مصداقی و استاد دکتر اجتهادی، از استان مازندران آقایان مهندس صابری، دکتر بریانی، مهندس کاظمی، همچنین آقای مهندس نجاری و مهندس مهدوی السبزی، تشکر ویژه از مهندس سید عبدالحسین طباطبائی که در مراحل اجرایی تولید نهال، بهکاری قابل توجهی داشتند، مهندس آریایی، مهندس ذبیحی، خانم ها اکبری و قزوینی و اساتید ارزنده دانشگاه علوم کشاورزی و منابع طبیعی ساری به ویژه آقای دکتر پورجمیدیان و آقای دکتر حسینی نصر که زحمات داور این رساله را به عهده داشتند، آقای دکتر حجتی، آقای دکتر فلاح که برای امور فرصت مطالعاتی به کشور چین مساعدت نمودند، آقای دکتر قربانی معاون دانشکده منابع طبیعی و آقای دکتر لطفعلیان مدیر گروه محترم قدر دانی می نمایم. از داور محترم خارجی رساله، آقای دکتر طبری استاد دانشگاه تربیت مدرس سپاسگزاری می نمایم. از نماینده تحصیلات تکمیلی آقای دکتر ترمناش قدر دانی می نمایم. از پر فور راکنسن لو عضو اتحادیه جهانی سنجیدگی به خاطر ارسال بذور راهنمایی های ارزنده تشکر می نمایم. از پر فور جیان کوآن لیو به خاطر حمایت مادی و معنوی در گروه اکولوژی مولکولی کشور چین قدر دانی می نمایم. بی شک حمایت، دلسوزی و نگرانی پر و ما در بزرگوار من و همسر من همچنین مساعدت حمید و عارفه در تدوین این پایان نامه نقش عمده ای را ایفا کرده است. در پایان بر خود لازم می دانم از همسر عزیزم که چه در فرصت مطالعاتی خارج و چه در ایران، برای نگهداری فرزندم رنج بسیاری را تحمل شد صمیمانه سپاسگزاری نمایم هر چند که قابل جبران نخواهد بود.

## چکیده:

این پژوهش برای اولین بار در ایران به منظور معرفی درختچه پیش‌آهنگ جنگلی و دارویی سنجد تلخ (پر خار)، شناسایی مولکولی زیرگونه‌های رویشگاه‌های کشور، تعیین اثرات تیمارهای مختلف بر جوانه‌زنی بذور و نهال‌های این گونه و در نهایت مقاومت‌سنجی نهال‌های یکساله آن در برابر تنش خشکی انجام گرفت. پس از استخراج DNA از برگ و بررسی سکونس بازهای نوکلئوتید، زیرگونه ایرانی به نام قفقازی شناسایی شد. بذور جمع‌آوری شده در ژرمناتور و بخشی در گلخانه و عرصه نهالستان تحت دو نوع آبیاری (شاهد و همراه با مکمل) و چهار تیمار خاک (شاهد، سوپر جاذب، ماسه و خاک‌برگ) قرار گرفت. تیمارهای مختلف بذور شامل شاهد، سرما، تناوب دمایی، آب داغ، آب‌آهک و جیبرلین در قالب طرح کاملاً تصادفی اعمال گردید. در پایان دوره شاخص‌های جوانه‌زنی محاسبه شد. برای ارزیابی تأثیر تنش خشکی روی مورفولوژی و فیزیولوژی نهال سنجد تلخ آزمایشی در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی در سه تکرار و چهار تیمار آبیاری انجام شد. پس از بررسی سکونس‌ها و مقایسه با بانک ژن، زیرگونه قزوین و آذربایجان شرقی در یک شاخه قرار گرفتند و شباهت ژنتیکی بیشتری به هم داشتند. زیرگونه آذربایجان غربی دو جهش بیشتر از سایر داشت. میانگین درصد جوانه‌زنی تیمارهای شاهد، سرما، تناوب دمایی، آب داغ، آب‌آهک و جیبرلین در بذور مبداء قزوین در ژرمناتور به ترتیب 33، 12، 41، 4 و 9 و 32 به‌دست آمد. بیشترین صفات درصد جوانه‌زنی، مجموع طول ریشه‌چه، تعداد ریشه‌چه و تعداد ساقه‌چه، قدرت جوانه‌زنی و شاخص بنیه بذر در تیمار تناوب دمایی مشاهده شد. در تیمار جیبرلین بیشترین مقدار صفات مربوط به مجموع طول ساقه‌چه، طول ساقه‌چه، طول ریشه‌چه، زمان جوانه‌زنی و سرعت جوانه‌زنی بود. کمترین میزان صفات مورد بررسی اکثراً در تیمار آب داغ و آب‌آهک به‌دست آمد. درصد جوانه‌زنی برای مبداء البرز، مازندران، آذربایجان شرقی، آذربایجان غربی و قزوین به ترتیب 90، 48، 95، 36 و 33 به‌دست آمد. شاخص بنیه بذر در بذور پرونانس البرز با 3/79 بیشترین و در پرونانس آذربایجان غربی با 1/27 کمترین مقدار بود. نسبت طول ریشه‌چه به ساقه‌چه در مبداء مازندران با 2/4 بیشترین و در مبداء قزوین با 0/95 کمترین مقدار را نشان داد. در گلخانه میانگین درصد جوانه‌زنی تیمارهای شاهد، سرما، تناوب دمایی، آب داغ، آب‌آهک و جیبرلین در آبیاری معمولی به ترتیب 3/75، 43/75، 17/5، 1/25، 15 و 37/5 و در آبیاری همراه با مکمل 8/75، 33/75، 27/5، 3/75، 11/25 و 37/5 به‌دست آمد. در عرصه نهالستان میانگین درصد جوانه‌زنی تیمارهای شاهد، سرما، تناوب دمایی، آب داغ، آب‌آهک و جیبرلین در آبیاری معمولی به ترتیب 7/5، 23/75، 21/25، 0، 15 و 42/5 بوده و 1/25، 43/75، 35، 1/25، 8/75 و 46/25 در آبیاری همراه با مکمل به‌دست آمد. میانگین بیشترین درصد جوانه‌زنی در ماسه مشاهده شد. درصد زنده‌مانی در تیمارهای 2 روز، 4 روز، 8 و 12 روز دور آبیاری به ترتیب 95، 95، 66 و 61 درصد بود. فتوسنتز، بیومس و شاخص تولید ویژه کلروفیل به تدریج با افزایش خشکی کاهش یافت. با افزایش تنش خشکی کارایی مصرف آب افزایش، پتانسیل آب برگ و محتوی نسبی آب کاهش پیدا کرد. تحقیق بیشتر روی این گونه با ارزش به دلیل مقاومت به خشکی، تثبیت‌کنندگی ازت و خاصیت دارویی کم نظیر آن توصیه می‌شود.

**کلمات کلیدی:** شباهت ژنتیکی، دارویی، سیستماتیک مولکولی، شاخص‌های جوانه‌زنی، فیزیولوژی

## فهرست مطالب

عنوان	شماره صفحه
فصل اول - مقدمه و کلیات.....	1
1-1- بیان مسأله.....	2
2-1- سؤالات پژوهش.....	2
3-1- فرضیه‌های پژوهش.....	3
4-1- اهداف پژوهش.....	3
5-1- کلیات.....	3
1-5-1- معرفی سنجد تلخ.....	3
1-1-5-1- گیاه‌شناسی و اهمیت گونه.....	3
2-1-5-1- ارزش دارویی.....	4
2-5-1- مطالعات مولکولی.....	5
1-2-5-1- مفاهیم ژنتیک مولکولی.....	5
2-2-5-1- تکنیک و روشهای تعیین توالی.....	9
3-5-1- مطالعات و برخی مفاهیم جوانه‌زنی و تولید نهال.....	9
4-5-1- مطالعات مکانیزم مقاومت گیاهان به تنش خشکی.....	10
فصل دوم - سابقه تحقیق.....	14
1-2- بخش مولکولی.....	15
2-2- بخش جوانه‌زنی و تولید نهال.....	17
3-2- بخش تنش خشکی.....	21
فصل سوم - مواد و روش‌ها.....	29
1-3- مواد.....	30
1-1-3- موقعیت جغرافیایی رویشگاه‌های مورد مطالعه.....	30
2-1-3- موقعیت جغرافیایی اجرای تحقیق.....	30
3-1-3- مواد مورد استفاده.....	32
1-3-1-3- مولکولی.....	32
2-3-1-3- جوانه‌زنی و تولید نهال.....	35
3-3-1-3- مقاومت به تنش خشکی.....	36
2-3- روش‌ها.....	38
1-2-3- مولکولی.....	38
1-1-2-3- استخراج DNA و واکنش زنجیره پلیمرز.....	38
2-1-2-3- استفاده از بانک ژن.....	42

42.....	2-2-3- آزمایش جوانه‌زنی و تولید نهال.....
42.....	1-2-2-3- جوانه‌زنی در آزمایشگاه.....
43.....	2-2-2-3- تولید نهال.....
44.....	3-2-3- آزمایش مقاومت به تنش خشکی.....
44.....	1-3-2-3- تعیین نقاط پتانسیلی مهم (ظرفیت زراعی و نقطه پژمردگی).....
46.....	2-3-2-3- صفات مورفولوژی.....
47.....	3-3-2-3- صفات فیزیولوژی.....
49.....	4-2-3- تجزیه و تحلیل داده ها.....
51.....	<b>فصل چهارم - نتایج.....</b>
52.....	1-4- مولکولی.....
55.....	2-4- جوانه‌زنی بذور و تولید نهال.....
55.....	1-2-4- جوانه‌زنی بذر با تیمار در آزمایشگاه.....
59.....	2-2-4- جوانه‌زنی بذور کل پرونانس‌ها در آزمایشگاه.....
64.....	3-2-4- جوانه‌زنی در گلخانه.....
67.....	4-2-4- جوانه‌زنی در نهالستان.....
70.....	3-4- مقاومت سنجی به تنش خشکی.....
70.....	1-3-4- ریخت شناسی.....
70.....	1-1-3-4- درصد زنده‌مانی.....
71.....	2-1-3-4- سایر صفات.....
73.....	2-3-4- فیزیولوژی.....
73.....	1-2-3-4- نرخ فتوسنتز خالص.....
75.....	2-2-3-4- روابط آب.....
78.....	<b>فصل پنجم - بحث، نتیجه‌گیری و پیشنهادات.....</b>
79.....	1-5- مولکولی.....
80.....	2-5- جوانه‌زنی و تولید نهال.....
86.....	3-5- مقاومت به خشکی.....
90.....	4-5- نتیجه‌گیری.....
90.....	5-5- پیشنهادهای.....
92.....	<b>منابع.....</b>

## فهرست شکل‌ها

### صفحه

- شکل 1-1- شاخه میوه دار، گل ماده، گل نر سنجد تلخ..... 5
- شکل 1-2- اهمیت سنجدتلخ از نظر دارویی، غذایی و اجتماعی..... 6
- شکل 1-3- رویشگاه‌های سنجد تلخ در نقشه طبقات ارتفاعی کشور..... 31
- شکل 2-3- دستگاه سانتریفیوژ..... 31
- شکل 3-3- ناحیه ITS1 و ITS2..... 33
- شکل 3-4- برنامه مورد استفاده برای تقویت ژن در دستگاه PCR..... 34
- شکل 3-5- گلدان‌ها در عرصه نهالستان و بذور جوانه زده داخل گلخانه..... 35
- شکل 3-6- کلیموگرام آمبرژه و برابری تقریبی اقلیم نمای مشهد و قزوین..... 36
- شکل 3-7- نحوه اندازه گیری پتانسیل آب برگ با دستگاه پرشر بمب در تیمارهای مختلف آبیاری..... 37
- شکل 3-8- نهالهای جدا شده از گلدان در تیمارهای مختلف آبیاری..... 37
- شکل 3-9- تصویر مرحله هموزئیزه کردن..... 41
- شکل 3-10- بذور قزوین، مازندران، آذربایجان شرقی، البرز، آذربایجان غربی..... 43
- شکل 3-11- شمارش جوانه‌زنی بذور داخل پتری دیش، میوه سنجدتلخ..... 44
- شکل 3-12- منحنی رطوبتی خاک مورد استفاده در این آزمایش..... 46
- شکل 3-13- اندازه‌گیری سطح برگ سنجد تلخ با کولیس و با دستگاه..... 47
- شکل 3-14- نحوه اندازه گیری شاخص غلظت کلروفیل و تبادلات گازی..... 48
- شکل 4-1- کلادوگرام زیرگونه های مورد مطالعه..... 53
- شکل 4-2- تصویر ژل نمونه‌های به دست آمده از پنج مبداء ایران..... 54
- شکل 3-3- شبکه زیرگونه‌های سنجد تلخ و موقعیت تعداد جهش‌های انجام شده..... 55
- شکل 4-4- درصد جوانه‌زنی تجمعی..... 57
- شکل 4-5- درصد تجمعی جوانه‌زنی در پروانسان‌های مورد مطالعه..... 60
- شکل 4-6- مقایسات مبداءها در آنالیز خوشه‌ای..... 61
- شکل 4-7- مقایسه شاخص‌های جوانه زنی بذر در مبداءهای مختلف..... 62
- شکل 4-8- مقایسه شاخص‌های ساقه‌چه و ریشه‌چه بذور جوانه زده در مبداءهای..... 63
- شکل 4-9- موقعیت رویشگاه‌ها و صفات جوانه‌زنی در مولفه‌ها اصلی..... 64
- شکل 4-10- درصد جوانه‌زنی تجمعی در آبیاری معمولی..... 66
- شکل 4-11- درصد جوانه‌زنی تجمعی در آبیاری با مکمل آبسار..... 66
- شکل 4-12- درصد جوانه‌زنی تجمعی در آبیاری معمولی..... 69
- شکل 4-13- درصد جوانه‌زنی تجمعی در آبیاری با مکمل..... 69
- شکل 4-14- درصد زنده مانی نهال‌ها پس از چهار ماه اعمال تیمارهای مختلف..... 71
- شکل 4-15- بررسی صفات کارایی مصرف آب (WUE)، محتوی آب نسبی (RWC)، پتانسیل آب برگ (WP) و کمبود آب اشباع (WSD) همراه با خطای استاندارد در تیمارهای مختلف آبیاری..... 77



## فهرست جدول‌ها

### صفحه

جدول 3-1- موقعیت جغرافیایی رویشگاه‌های مورد مطالعه.....	30
جدول 3-2- اطلاعات هواشناسی مشهد.....	31
جدول 3-3- مواد لازم برای تهیه محلول CTAB.....	32
جدول 3-4- فهرست نمونه‌های مورد استفاده در آنالیز نهایی مطالعات مولکولی.....	33
جدول 3-5- مواد لازم برای تهیه محلول PCR.....	34
جدول 3-6- برخی از ویژگیهای فیزیکی و شیمیایی خاک مورد استفاده.....	35
جدول 3-7- تیمارهای بکار رفته برای بذور در بخش جوانه زنی و تولید نهال.....	42
جدول 3-8- معادله محاسباتی صفات مورد مطالعه.....	43
جدول 3-9- مشخصات مورد نیاز برای تعیین وزن مرجع در ظرفیت زراعی کامل.....	45
جدول 4-1- موقعیت جهش‌های نوکلئوتیدی.....	52
جدول 4-2- نتایج تجزیه واریانس شاخص‌ها و صفات جوانه‌زنی سنجد تلخ.....	57
جدول 4-3- پارامترهای آماری صفات مورد بررسی در تیمارهای مختلف.....	58
جدول 4-4- نتایج همبستگی پیرسون بین صفات مورد بررسی.....	58
جدول 4-5- نتایج همبستگی پیرسون بین درصد جوانه‌زنی و سایر صفات مورد بررسی.....	59
جدول 4-6- میانگین و اشتباه معیار صفات مورد بررسی در مبداءهای مختلف.....	61
جدول 4-7- نتایج همبستگی پیرسون بین صفات مورد بررسی.....	64
جدول 4-8- نتایج کل تکرارهای پیش تیمارها برای تیمارهای خاک و آبیاری.....	65
جدول 4-9- متوسط پارامترهای آماری صفات مورد بررسی در کل تیمارها.....	65
جدول 4-10- گروه بندی در آزمون مقایسه میانگین.....	67
جدول 4-11- نتایج کل تکرارهای پیش تیمارها برای تیمارهای خاک و آبیاری.....	68
جدول 4-12- نتایج همبستگی پیرسون بین صفات مورد بررسی.....	68
جدول 4-13- گروه بندی در آزمون مقایسه میانگین.....	70
جدول 4-14- متوسط پارامترهای آماری صفات مورد بررسی.....	70
جدول 4-15- همبستگی بین مشخصه‌های رویشی گونه سنجد تلخ در پایان فصل.....	72
جدول 4-16- میانگین صفات و خطای معیار در چهار تیمار مورد بررسی.....	73
جدول 4-17- آنالیز واریانس صفات مورفولوژیکی.....	74
جدول 4-18- میانگین همراه با اشتباه معیار خصوصیات مورد مطالعه فیزیولوژی: فتوسنتز، شاخص غلظت کلروفیل و بخش تجزیه تولید ویژه.....	75
جدول 4-19- ضرایب همبستگی خصوصیات فیزیولوژی.....	76
جدول 4-20- میانگین صفات کارایی مصرف آب (WUE)، محتوی آب نسبی (RWC)، پتانسیل آب برگ (WP) و کمبود آب اشباع (WSD) همراه با خطای استاندارد در تیمارهای مختلف آبیاری.....	77

مخفف‌های کلیدی رساله (Abbreviation)

انگلیسی	مخفف	فارسی	ردیف
National Center for Biotechnology Information	NCBI	بانک ژن	1
Deoxyribonucleic Acid	DNA	دی ان ا	2
Ribonucleic Acid	RNA	آر ان ا	3
Internal Transcribed Spacer	ITS	فضاساز نسخه‌برداری شده درونی	4
Cetyl Trimethyl Ammonium Bromide	CTAB	نوعی روش استخراج دی ان ا	5
Polymerase Chain Reaction	PCR	واکنش زنجیره پلیمرز	6
Water Use Efficiency	WUE	کارایی مصرف آب	7
Relative Water Content	RWC	محتوی آب نسبی	8
Chlorophyll Concentration Index	CCI	شاخص غلظت کلروفیل	9
Special Products Analysis Division	SPAD	بخش تحلیل تولید ویژه	10
Photosynthesis (CO <sub>2</sub> Assimilation)	A	فتوسنتز یا جذب کربن	11
Field Capacity	FC	ظرفیت زراعی	12
Permanent Wilting Point	PWP	نقطه پژمردگی دائم	13
Water Potential	Ψ <sub>w</sub> (WP)	پتانسیل آب	14
Water Saturation Deficit	WSD	کمبود اشباع آب	15

# فصل اول

## مقدمه و کلیات

## 1-1- بیان مسأله:

به منظور یافتن گونه‌های سازگار با شرایط محیطی سخت و بر طرف نمودن مشکلات علمی و فنی سازمان جنگلها، مراتع و آبخیزداری، در این تحقیق ضمن شناسایی رویشگاه‌های یکی از گونه‌های مقاوم ناشناخته در کشور و تکثیر آن از طریق بذر، مقاومت سنجی با اعمال تنش خشکی انجام شد. علم کاربردی<sup>1</sup> در کنار علوم پایه و تحقیقات محض<sup>2</sup> می‌تواند در تولید انبوه و جلوگیری از هزینه‌های اضافی نهالستان‌های جنگلی نقش ارزنده‌ای را ایفا نماید.

در این تحقیق برای اولین بار در کشور گونه پیشتاز، دارویی و تثبیت کننده ازت به نام سنجد پر خار (تلخ) (*Elaeagnus rhamnoides* (L.) A.Nelson) برای توسعه جنگل‌کاری‌های چند منظوره مورد مطالعه قرار گرفت. اقدام اصلی این تحقیق شناسایی رویشگاه‌های سنجد تلخ در کشور است. با توجه به عدم معرفی زیرگونه ایرانی آن در منابع علمی و وجود چند زیرگونه در جهان پس از انجام آزمایشات مولکولی و مقایسه نتایج با داده‌های سایت NCBI<sup>3</sup> (بانک ژن) شناسایی زیرگونه که یکی از مسائل مهم در سیستماتیک گیاهی است، مطرح گردید. لذا در آینده ایران به اتحادیه جهانی سنجد پر خار خواهد پیوست.

به منظور تعیین روش‌های مناسب بهبود جوانه‌زنی بذر، تأثیر نوع خاک، مکان (گلخانه و عرصه نهالستان)، سرمادهی و سایر تیمارها بر جوانه‌زنی بذرهای جمع‌آوری شده در سه بخش آزمایشگاه، گلخانه و نهالستان، این پژوهش ضروری به نظر رسید. بررسی امکان استقرار نهال یک‌ساله این گونه در نهالستان طرق مشهد استان خراسان رضوی علاوه بر شناسایی ژنتیکی و تولید نهال، به عنوان گونه چندمنظوره برای طرح‌های جنگل‌کاری محدود (برای جلوگیری از احتمال مهاجم شدن آن در رویشگاه‌های طبیعی استان) با اعمال تنش خشکی، مطالعات فیزیولوژی و مورفولوژی گیاه از اهداف دیگر این تحقیق بود. هدف از اجرای این تحقیق علاوه بر معرفی این گونه با ارزش از نظر اقتصادی، دارویی، جنگل‌شناسی و غیره، معرفی رویشگاه‌های کشور و جهان، نام‌گذاری زیرگونه ایرانی، تولید نهال و بررسی مقاومت آن به تنش خشکی می‌باشد.

## 1-2- سؤالات پژوهش:

- 1- نام زیرگونه مورد مطالعه چیست؟
- 2- آیا زیرگونه سنجد تلخ آذربایجان شرقی و غربی با استان‌های البرز، مازندران و قزوین متفاوت است؟
- 3- چه پیش تیمارهایی بر جوانه‌زنی بذور سنجد تلخ مؤثرتر است؟
- 4- چه نوع بستری برای جوانه‌زنی این گونه بهتر است؟
- 5- آیا کاشت بذور سنجد پر خار در دو شرایط نهالستان و گلخانه تفاوت معنی‌داری دارد؟
- 6- آستانه مقاومت به خشکی نهال‌های گلدانی سنجد پر خار چقدر است؟

<sup>1</sup> Applied science

<sup>2</sup> Pure science

<sup>3</sup> National Center for Biotechnology Information

### 3-1- فرضیه‌های پژوهش:

- 1- زیرگونه *Elaeagnus rhamnoides subsp. caucasica* Rousi برای پروانسان آذربایجان شرقی و آذربایجان غربی به دلیل نزدیکی به ترکیه و زیرگونه *turkestanica* در مازندران، البرز و قزوین وجود دارد.
- 2- تیمار جیبرلین بهترین جواب را در شکستن خواب بذور سنجد پر خار دارد.
- 3- ماسه اثر معنی‌داری در جوانه‌زنی بذور در گلخانه و نهالستان دارد.
- 4- تفاوت معنی‌داری بین شاخص‌های جوانه‌زنی در گلخانه و عرصه نهالستان وجود دارد.
- 5- مقاومت سنجی نهال‌ها با تنش خشکی در چهار سطح اختلاف معنی‌داری دارد.

### 4-1- اهداف پژوهش:

به منظور شناسایی گونه با ارزش جنگلی و معرفی آن در قالب نوشتار علمی این تحقیق انجام شد. به دلیل عدم شناسایی زیرگونه سنجد تلخ ایران با بررسی توالی نوکلئوتیدی و انجام آزمایشات مولکولی زیرگونه‌های کشور تفکیک و با زیرگونه‌های موجود در جهان مقایسه می‌شود. به بیان دیگر هدف دیگر این تحقیق سیستماتیک مولکولی این درخت پیش‌آهنگ جنگلی می‌باشد. هدف از بررسی جوانه‌زنی تعیین بهترین پروانسان بذر در پنج رویشگاه کشور است. با اعمال تیمارهای مختلف در سه بخش آزمایشگاهی، گلخانه و نهالستان می‌توان با مقایسه شاخص‌های جوانه‌زنی بهترین تیمار را برای کارایی و افزایش بهره‌وری در تولید نهال این گونه با ارزش توصیه نمود. با بررسی صفات ریخت‌شناسی و فیزیولوژیکی پس از اعمال تنش خشکی روی نهال‌های یکساله، علاوه بر معرفی آستانه تحمل به تنش، بهترین تیمار آبیاری برای صرفه‌جویی در نهالستان معرفی شد. به طور خلاصه اهداف این رساله عبارتند از:

- 1- معرفی گونه جنگلی دارویی سنجد تلخ در قالب تحقیق علمی به دستگاه‌های تحقیقاتی و اجرایی
- 2- شناسایی ژنتیکی به منظور نام‌گذاری زیرگونه این گونه با ارزش در رویشگاه‌های ایران
- 3- تعیین بهترین روش تیمار بذور سنجد تلخ برای جوانه‌زنی بهینه
- 4- تعیین بهترین نوع خاک برای افزایش عملکرد تولید نهال این گونه
- 5- تعیین تفاوت‌های جوانه‌زنی در محیط‌های مختلف
- 6- مقاومت سنجی با اعمال تنش خشکی برای بررسی سازگاری نهال‌های یکساله این گونه

### 5-1- کلیات:

#### 1-5-1- معرفی سنجد تلخ

#### 1-1-5-1- گیاه‌شناسی و اهمیت گونه

سنجد پر خار (تلخ) با نام انگلیسی Sea buckthorn و نام پذیرفته شده (*Elaeagnus rhamnoides* (L.) A.Nelson) که در منابع با نام علمی (*Hippophae rhamnoides* (L.) Nelson) معرفی شده گیاهی دو پایه است (Theplantlist., 2014; Nelson, 1935). این گونه به دلیل تشابه نام فارسی با زیتون تلخ (*Melia azedarach* L.) حتی در مجلات گروه پزشکی اشتباه گرفته می‌شود (صادقی پورودسری و همکاران، 1385، دهقانی و همکاران، 1390). برای این گونه می‌توان نام سنجد زینتی (به دلیل زیبایی آن برای فضای شهری) و یا سنجد پر خار (به دلیل خاردار بودن بیش از حد نسبت به سنجد معمولی) را پیشنهاد داد. برای سنجدتلخ تا 10 زیرگونه معرفی شده است. منابع ژنتیکی جنس سنجدتلخ غنی است. این جنس مشتمل بر

15 گونه و زیرگونه است که در اروپا و آسیا گسترش یافته است (Lu & Ahani, 2013). جنس هیپوفی هفت گونه دارد. گل نر چهار تا شش بخشی (جداگلیبرگ) است ولی گل ماده تک گلیبرگ با یک مادگی است (Geetha & Asheesh, 2011). نمایی از شاخه، کل نر و گل ماده دیده می‌شود (شکل 1-1). این گونه در شرق آسیا، مرکز آسیا، آسیای صغیر، اروپا و در کشورهای چین، روسیه، مغولستان، پاکستان، رومانی، آلمان، فنلاند و ترکیه وجود دارد (Jia et al., 2012).

سنجد تلخ از خانواده *Eleagnaceae* از گونه‌های بومی ایران با رویشگاه‌های محدود و پراکنده در گچسار، هراز، ارسباران، خوی و الموت می‌باشد (جوانشیر، 1355، قهرمان، 1372، ثابتی، 1373، مظفریان، 1385). گونه ایران تورانی پیش‌آهنگ مناسب برای کاشت در مناطق خشک و نیمه خشک به نام سنجد تلخ مورد بررسی قرار می‌گیرد (مروی مهاجر، 1385). سنجد پر خار گونه‌ای مقاوم با دامنه تحمل دمایی از 40- تا 55 درجه سانتی‌گراد است که در اسیدیته خاک 5/8 تا 9/5 تحت شرایط خشک با حداقل بارندگی 250 میلی‌متر تحمل دارد (Lu, 1992; Rousi, 1971; Li et al., 2005). این گونه پیشرو برای جنگل‌کاری اولیه معرفی شده است (Li & Zhang, 2004). اضافه کردن سنجد تلخ در جنگل‌کاری‌های همراه با کاج و سرو خمره‌ای، در بهبود ویژگی‌های فیزیکی و حاصل‌خیزی خاک در چین اثر مثبتی داشته است. نیتروژن خاک 0/53 گرم بر کیلوگرم خاک قبل از جنگل‌کاری و بعد از جنگل‌کاری با سنجد تلخ 0/95 گرم بر کیلوگرم خاک شد. (Zhang & Chen, 2007). سنجد تلخ گونه‌ای درختچه‌ای و خزان‌کننده، مقاوم به سرما، خشکی و محیط‌های کم پوشش می‌باشد (Zhang et al., 2010). روغن بذور سنجد تلخ برای پوست آسیب دیده بکار می‌رود (Ito et al., 2014). تنها دو مارکر از 431 مارکر این گیاه دیپلوئید (2n=24) برای جنسیت ارتباط نشان داد (Jadhaw & Sharma, 2014).

#### 1-5-1-2- ارزش دارویی

برگ و پوست سنجد پر خار برای درمان اسهال نیز کاربرد دارد (Dharmananda, 2004). فلاونوئیدها از آنتی‌اکسیدان‌های طبیعی موجود در سنجد تلخ از تجمع پلاکت‌های خون جلوگیری می‌کند، گردش خون را بهبود می‌بخشد، التهاب را کاهش داده و جلوگیری از رشد و گسترش سلول‌های سرطانی می‌کند (Bestwick et al., 2007). میزان اسیدهای اسکوربیک، کوئینیک و مالیک حداکثر به ترتیب 1/66، 2/94 و 8/84 گرم در 100 میلی‌لیتر آب در میوه سنجد تلخ وجود دارد. با افزایش ارتفاع از سطح دریا و کاهش عرض جغرافیایی رویشگاه‌های این گونه قند موجود در میوه درختان کاهش می‌یابد و برعکس اسید اسکوربیک و اسید مالیک افزایش می‌یابد (Zheng et al., 2011) لذا این گونه برای استفاده در صنایع غذایی مناسب است. در بیماری‌های عصبی، استرس و دیرهضمی غذا، جراحات رباط و تاندون، تورم رحم و ایمنی کم بدن موثر است. ویتامین‌های متعدد حتی ویتامین B، K، اسید فولیک و ریبوفلاوین نیز دارد (Geetha & Asheesh, 2011). مواد فنلی ریشه و بذر بصورت معنی‌داری از ساقه و برگ بیشتر است. (Michel et al., 2012). سنجد پر خار برای بیماری‌های قلبی-عروقی، گوارشی و پوستی کاربرد دارد (Li et al., 2012). مواد اتانولیک مستخرجه از ریشه و بذر سنجد تلخ نسبت به ساقه و برگ بیشتر است. این گونه با همزیستی اکتینومیست نیتروژن را تثبیت می‌کند. همچنین در صنایع آرایشی، شکلات‌سازی، نوشیدنی و مرباسازی به کار می‌رود (Michel et al., 2012). ارزش این گیاه در کشورهای مختلف از نظر دارویی و صنایع غذایی مشخص شده است (شکل 1-2). استریوسکوپي رویشگاه‌های سنجد تلخ در فنلاند و

چین نشان داد که حرارت بالا و بارندگی کم باعث افزایش گلوکز و کاهش اسید اسکوربیک و مالیک میوه می‌شود. افزایش ارتفاع از سطح دریا بیش از 2000 متر نیز باعث افزایش اسید اسکوربیک و مالیک شد (Kortesniemi *et al.*, 2014). میوه این گیاه خاصیت ضد عفونی دارد (مظفریان، 1391).



شکل 1-1- شاخه میوه دار، گل ماده، گل نر سنجد تلخ (از راست به چپ)

## 1-5-2- مطالعات مولکولی:

### 1-5-2-1- مفاهیم ژنتیک مولکولی

کشف کروموزوم در سال 1875 و کشف داکسی ریبونوکلیک اسید<sup>1</sup> (DNA) در سال 1972 بوده است. علم سیستماتیک شیمیایی از سال 1950 آغاز گردید. DNA پلیمرهایی از واحدهای نوکلئوتیدی است که شامل گروه فسفات، باز نیتروژن دار و قند می‌باشد. ال: عبارتست از یک ژن که در روی کروموزوم جایگاه مشخص یا لوکوس خاصی را اشغال کرده است (مصدق، 1386).

ژنوم: هر گونه دارای اطلاعات ژنتیکی منحصر بفردی به نام ژنوم است. ژنوم در یک مجموعه ای هاپلوئید از کروموزومهای یک گونه وجود دارد.

ژن: واحد وراثتی که بخشی از DNA است که برای رونویسی<sup>2</sup> ریبونوکلیک اسید<sup>3</sup> (RNA) و ساخت پروتئین‌ها ضروری است.

در 260 نانومتر جذب نور پورین‌ها (دو حلقوی) یعنی آدنین و گوانین بیشتر است. ژل الکتروفورز در حضور رنگ درج کننده<sup>4</sup> نظیر اتیدیوم بروماید باعث باز شدن دو رشته دی ان ا شده و با کاهش تابیدگی (سوپرکویل) باعث تغییر در سرعت مولکول DNA حلقوی می‌شود. جفت شدن اشتباهی<sup>5</sup> و یا لغزش در DNA گاهی اتفاق می‌افتد..

<sup>1</sup>Deoxyribonucleic acid

<sup>2</sup>Transcription

<sup>3</sup>Ribonucleic acid

<sup>4</sup>Intercalate

<sup>5</sup>Mis match



شکل 1-2- اهمیت سنجدتلخ از نظر دارویی، غذایی (چین) و اجتماعی (تمبر مغولستان) ساخت پرایمر<sup>1</sup>: به وسیله پروتئین پرایماز و آنزیم RNase H<sup>2</sup> بخشی از RNA حذف شده و تکه باقی مانده به عنوان آغازگر در همانندسازی فعالیت می‌نماید.

ایراد<sup>3</sup> PCR: برای قطعات بزرگ DNA و قطعاتی که توالی آن را نمی‌دانیم کارایی آن کاهش می‌یابد. پیرایش<sup>4</sup>: ریبونوکلیک اسید برای حذف توالی‌های فاصله گذار<sup>1</sup> (اینترون) به کار رفته و ویرایش<sup>2</sup> ریبونوکلیک برای توانایی در ایجاد تغییر در کد نمودن اگزون و یا انتقال ژن بکار می‌رود

<sup>1</sup> Primer

<sup>2</sup> Ribonuclease

<sup>3</sup> Polymerase Chain Reaction

<sup>4</sup> Splicing



در واکنش زنجیره ای تکثیر به DNA الگو نیاز است. آنزیم تک پلیمرز DNA با وزن 94 کیلودالتون گرمادوست است و برای تکثیر فراورده های 2 تا 4 کیلو بازی مناسب است. برای تکثیر DNA حداقل به دو پرایمر برای مکان جداسازی و محل تکثیر نیاز دارد. DNA به دلیل گروه فسفات بار منفی دارد. موادی (سوبسترا) همچون  $dNTP^3$  و منیزیم نیاز است. برای چسبیدن پرایمر به الگو و بافر دوقطبی  $Tris-HCl^4$  کلیرید پتاسیم نیاز است. فراورده PCR دارای سر 5 پرایم مشخص ولی 3 پرایم تصادفی دارد. ژل آگارز نسبت به ژل پلی اکریل آمید تا 10 کیلو جفت باز را از هم جدا می کند.

بخشهای کد کننده در mRNA<sup>5</sup> را اگزون (قطعات با رمز) گویند. ریبونوکلوئیک پیام بر به سیتوپلاسم و سپس به ریبوزوم مهاجرت می نماید.

فیلوژنی یا انساب شناسی علمی برای بررسی و شبکه بندی گیاهان است. فنتیک: کوششی جهت ارزیابی کلی شباهت با بکارگیری صفات. کلادوژنریز یا کلادستیک حرکتی است در جهت تعیین الگوهای اشتقاق مقایسه برون گروه مورد اقبالترین روش در مورد گیاهان است و در این میان DNA کلروپلاست نقش ارزنده- ای دارد. در این روش چندین تاکسون توصیه می شود تا تاکسون نزدیک به تاکسون مورد مطالعه به راحتی شناسایی گردد. در گیاهان برون گشن مخصوصاً با باد یک جمعیت مشخص اغلب با دارا بودن الی های مشابه با بیشترین جایگاه های وراثتی تا حد زیادی به سایر جمعیتها شبیه است. لذا نمونه برداری وسیع برای برون گشن ضرورت ندارد. تنوع درون جمعیتهای دگرگشن ها از خودگشنها<sup>6</sup> بیشتر است.

همانندی ژنتیکی<sup>7</sup> بیشتر بر سیستماتیک تاکید دارد. اختلافات مورفولوژیک تاکسونهای فرد گونه ای بیشتر حاصل انعطاف پذیری ظاهری است تا تمایزات ژنتیکی و در این میان بازدانگان نسبت به نهاندانگان از یکسانی بالاتری برخوردارند. ردیف خوانی یا سکونسینگ با برش زدن DNA به قطعات 300-400 نوکلئوتیدی انجام می شود. rDNA<sup>8</sup> یا ریبوزوم هسته ای که به صورت دانه تسبیحی هستند به دلیل به ارث رسیدن دو والدی برای مطالعات شبکه ای و دو رگ گیری از DNA کلروپلاستی در گیاهان مفیدترند. البته تغییرات ساختاری در ژنوم کلروپلاستی نادر است (رحیمی نژاد، 1385). همه RNA ها ترانسکریپتوم نیستند. ترانسکریپتومها از روی ژنهای کد کننده پروتئینها رونویسی می شوند و توانایی ترجمه به پروتئین را دارند. DNA کلروپلاستی حدود 120 ژن دارد. ضریب رسوب پذیری در ریبوزوم برای گیاه در زیر واحد بزرگ (28 اس) و کوچک (18 اس) است (عبادی و همکاران، 1390). هیدرولیز شکسته شدن پیوند کوالانسی با اضافه

---

<sup>1</sup> Intron

<sup>2</sup> Editing

<sup>3</sup> deoxynucleotide triphosphates

<sup>4</sup>  $(HOCH_2)_3CNH_2$

<sup>5</sup> Messenger RNA

<sup>6</sup> self poination

<sup>7</sup> Genetic identity

<sup>8</sup> ribosomal DNA

شدن آب است. نیروی واندروالس دفع اتمها در اثر نزدیکی بیش از حد به هم می‌باشد. جهت حرکت در ترجمه از قند فسفات 5 پریم (پلی پپتید) به قند هیدروکسیل 3 پریم (کربوکسیل) است. کدون: ردیف سه نوکلئوتیدی DNA یا mRNA (پیک) که دستورالعمل ورود و ادغام یک اسید آمینه ویژه را به داخل زنجیره پلی پپتیدی معرفی می‌کند. اگزون: قطعه‌ای از ژن است که بصورت RNA رونویسی می‌شود و برای ردیف اسید آمینه بخشی از پروتئین رمز می‌شود (احسانی طباطبائی فریده، 1383).

پالیندرومیک: ردیفهای DNA که از دو طرف دو رشته باهم متقارن هستند. تقلیب (دنا توره): نوعی گرم شدن در واکنش زنجیره‌ای پلیمرز است که بافر از روی نیتروسولوز مکیده شده و DNA تک رشته‌ای می‌شود.

تراژن: گیاهی که چند ژن کلون شده در ژنوم آن وارد شده و این گیاه قادر است این ژنها را تا چند نسل انتقال دهد.

نردبان: در الکتروفورز DNA نشاندار شده به عنوان نشانگر یا مارکر<sup>1</sup> اندازه بکار می‌رود. DNA در الکتروفورز به سمت آند می‌رود چون بار DNA منفی است. دیپلوئید: سلولی که حاوی دو دسته از کروموزوم‌های هومولوگ است و از این رو دو کپی از هر ژن یا جایگاه ژنتیکی (لوکوس) است. هاپلوئید: سلولی که دارای فقط یک دسته از کروموزوم‌هاست مثل سلول جنسی نر یا باکتری (احسانی طباطبائی فریده، 1385).

DNA پلیمرز: این آنزیم موجب اتصال سر 5 پریم نوکلئوتید جدید به انتهای 3 پریم نوکلئوتید قدیمی با حذف دو گروه فسفات می‌شود. این آنزیم خاصیت پرایمری دارد. لذا عمل سنتز DNA در جهت 5' به 3' است. زیرا نوکلئوتید جدید به OH - انتهای 3 پریم اضافه می‌شود.

مینی ساتلایتها ناپایدارند ولی میکروساتلایتها در تمام ژنوم پخش هستند. پرایمرها برای شروع همانندسازی همچون RNA عمل می‌نمایند.

جابجایی<sup>2</sup>: یک قطعه از مولکول DNA از یک نقطه به نقطه دیگر انتقال می‌یابد. نوکلئوزوم: واحدهای تکراری تکراری کروموزومهای یوکاریوتها است. توپوایزومراز: آنزیمی برش دهنده که مانع چرخش DNA می‌شود. همانندسازی در سلولهای یوکاریوتی با سرعت 50 نوکلئوتید در ثانیه انجام می‌شود. یک کروموزوم یوکاریوتی 60 برابر پروکاریوتی DNA دارد. رپلیکون: به قطعاتی از DNA که همانندسازی آنها از یک مبدأ همانندسازی شروع می‌شود. سوپرکویل (ابرماپیچ منفی) در اثر واسرشته سازی DNA بوجود می‌آید.

sn-RNA<sup>3</sup>: در هسته سلول یوکاریوتها وظیفه حذف اینترونها را دارد (عباسی و همکاران، 1389).

DNA در محیط قلبیای واسرشت می‌شود. در یوکاریوتها کدون آغازین AUG (آدنین، یوراسیل و گوانین) است و بوسیله tRNA<sup>4</sup> (انتقال دهنده یا قابل حل) شناسایی می‌شود. در کل سنتز DNA: همانندسازی،

---

<sup>1</sup> Marker

<sup>2</sup> Translocation

<sup>3</sup> Small nuclear

<sup>4</sup> transfer

سنتز RNA: رونویسی، سنتز پلی پپتید از اسید آمینه: ترجمه و سنتز پروتئین: ترجمه نتایج رونویسی ژن می‌باشد.

عمل هلیکاز: آنزیمی که بتواند پیوندهای هیدروژنی مضاعف DNA را بشکند و متصل کردن دوباره دو رشته با آنزیم لیگاز انجام می‌شود. آنزیم توپوایزومراز مانع چرخش زیاد DNA در همانندسازی می‌شود. سانتی مورگان<sup>1</sup> (cM): فاصله بین ژنها که یک درصد نوترکیبی (زاده‌هایی که ترکیب غیر والدینی را نشان می‌دهند) ایجاد نمایند. پیریمیدین (سیتوزین و تیمین) بیشتر در هسته هستند ولی یوراسیل (به جای سیتوزین در RNA) به صورت تک رشته‌ای در سیتوپلاسم قرار دارند (عباسی و همکاران، 1389).

### 1-5-2-2- تکنیک و روش‌های تعیین توالی

تعیین توالی با استفاده از مواد فلورسانس به روش اتوماتیک انجام شده سپس با نگاهی به کروموزوم و با جایگاه برجسب خورده توالی DNA به جز توالی‌های تکراری یا نشانگر برجسب توالی بیان شده (EST<sup>2</sup>) از انتهای DNA تکمیل کننده توالی یابی انجام می‌شود (عبادی و همکاران، 1390). روشهای مرسوم برای تعیین توالی نوکلئوتید:

1- ماکسام و گیلبرت<sup>3</sup>

2- سانگر<sup>4</sup>

3- پیروسکونسیگ<sup>5</sup>

4- روش اتوماتیک<sup>6</sup>

5- روش توالی یابی همراه با پروتئین<sup>7</sup>

توالی یابی DNA واکنشی که ردیف یا ترتیب نوکلئوتیدها در DNA تعیین می‌شود (احسانی طباطبایی، 1385).

### 1-5-3- مطالعات و برخی مفاهیم جوانه‌زنی و تولید نهال:

تا اختلاف ارتفاع 300 متر از سطح دریا و تا 160 کیلومتر عرض جغرافیایی انتقال بذر مانعی ندارد. آلپاتریکی (جدایی جغرافیایی گونه) و جدایی اکولوژیکی در یک مکان (سمپاتریک) است (مصدق، 1386). شناسایی و تمایز گونه‌ها در دستیابی به هتروزیس (قدرت بذر هیبرید نسبت به والد) در فرایند انتخاب ضرورت دارد (اسدی و همکاران، 1383). دمای مناسب جوانه زنی بین 15 تا 30 درجه سانتیگراد است. پیش سرما به انضمام تاریکی با افزایش جوانه زنی همراه است. دمای تناوبی باعث افزایش جوانه زنی می‌شود. موادی همچون اتیلن، پراکسید هیدروژن تیو اوره، جیبرلین، نیترات پتاسیم باعث افزایش جوانه زنی می‌شود.

<sup>1</sup> centimorgan

<sup>2</sup> . Expressed sequence tag

<sup>3</sup> Chemical degradation sequencing Maxam- Gilbert

<sup>4</sup> Chain Termination sequencing of Sanger

<sup>5</sup> Pyrosequencing (Mostafa Ronaghi and Pål Nyrén)

<sup>6</sup> Fluorescence-based sequencing

<sup>7</sup> DNA chip technology (ChIP-seq)

آنیلین و کارمین قابل نفوذ به بخش زنده بذور جنگلی نیست لذا بافتهای مرده را آبی می کند. نمک سلیوم مثل تترازولیوم بر بافت زنده بذر اثر گذاشته و قرمز می شود. بذور آسیب دیده با کلرید آهن سیاه شده و با ایندوکسیل استات سبز ارغوانی می شوند (دهقان شعار و همکاران، 1384).

قدرت بذر: عبارتست از مجموعه ویژگی های بذر که سطح بالقوه فعالیت و کارایی بذر یا توده آن را به هنگام جوانه زنی و سبز شدن تعیین می نماید. وزن خشک بذر نسبت به جوانه زنی در یک گونه بالاتر باشد، نشان دهنده قدرت بالاتر بذر است. پیری و زوال بذر در رسیدگی فیزیولوژیک بذر (قبل از برداشت) رخ می دهد (دهقان شعار و همکاران، 1384).

ورنالیزاسیون یا بهاره کردن: بذور را در دمای پایین قرار می دهند تا جوانه بزند. پس رسی<sup>1</sup>: استراتیفاکسیون با انبار و تهویه مناسب باعث فراهم شدن شرایط برای جوانه زنی بذر است (لاهوئی و رحیم زادگان، 1371). پس رسی: تغییرات ایجاد شده در بذور در حال خواب پس از پراکنده شدن را پس رسی گویند. رنگ جنین و پوسته بذر آسیب دیده قهوه ای می شود. تولید تجاری بذور هیبرید گیاهان دگرگشن راحت تر از خودگشن است. الکتروفورز بهترین روش برای شناسایی ارقام گیاهی است. قرار دادن بذر در دمای پایین برای جوانه زنی را بهاره شدن<sup>2</sup> گویند (سرمدنیا، 1375).

#### 1-5-4- مطالعات مکانیزم مقاومت گیاهان به تنش خشکی:

آب یکی از حیاتی ترین منابع در قرن بیست و یکم است (Pandey *et al.*, 2012). خشکی به عنوان یک عامل مهم تنش زای محیطی محسوب می گردد. استرس ناشی از خشکی هنگامی روی می دهد که آب موجود در خاک کاهش یابد و شرایط جوی به دفع آب از طریق تعرق-تبخیر، کمک می کند (حکمت شعار، 1372). حدود چهار پنجم مساحت زمین های جهان در محدوده مناطق خشک و نیمه خشک قرار دارد، در این مناطق آب عامل اصلی محدود کننده تولیدات گیاهی است. این محدودیت باعث شده است که تولید خالص گیاه کاهش یابد (کوچکی، 1367). در مناطق خشک و نیمه خشک کمبود آب یکی از عوامل محدود کننده رشد و نمو گیاهان است و دستیابی به ارقامی که قادر به رشد و نمو محصول بالا در شرایط تنش خشکی باشد، بسیار مورد توجه است (رستگار، 1371). کاهش میزان آب قابل دسترس باعث تغییرات مورفولوژیکی نیز می شود. از مهمترین شاخص های مورد ارزیابی در خصوص اثرات تنش خشکی بر رفتارهای مورفولوژیکی گیاه، وزن خشک زیست توده شامل ریشه و اندام هوایی است. برخی آزمایش ها نشان دهنده تأثیر تنش خشکی بر کاهش وزن ریشه به همراه کاهش وزن اندام هوایی است (Abdalla & Khoshiban, 2007). تحمل به خشکی شامل حفاظت آب (برگهای کوچک، محدودیت سطح برگ و بسته شدن روزنه ها)، حفاظت آب موثر (گسترش، تراکم و عمق ریشه)، نگهداری آماس (سازگاری اسمزی و ضریب کشسانی) و سنتز مواد محافظ و آنزیمهای مقاوم به خشک شدگی اندامها (García-Sánchez *et al.*, 2010). در خاک بیشتر پتانسیل اسمزی و ماتریک بررسی می شود. برخی واژه ها به شرح زیر ارائه می شود: راندمان مصرف آب (WUE<sup>3</sup>): در برخی منابع ماده خشک تولید شده را به تبخیر و تعرق گویند.

<sup>1</sup> after ripening

<sup>2</sup> vernalisation

<sup>3</sup> Water Use Efficiency