بسم الله الرحمن الرحيم

پردیس بین المللی ارس

گروه به‌نژادی و بیوتکنولوژی گیاهی

پایان نامه کارشناسی ارشد در رشته بیوتکنولوژی کشاورزی

عنوان

تجزیه پروتئوم بذر کلزا تحت تنش شوری

استاد راهنما

دکتر علی بنده حق

استاد مشاور

دکتر محمود تورچی

پژوهشگر

شیدا علیپور قربانی

شهریورماه ۱۳۹۳

نام خانوادگی : **علی پور قربانی** نام : **شیدا**

عنوان پایان نامه : تجریه پروتئوم بذر کلزا تحت تنش شوری

استاد راهنما : **دکتر علی بنده حق**

استاد مشاور : **دکتر محمود تورچی**

مقطع تحصیلی : **کارشناسی ارشد** رشته : **مهندسی کشاورزی** گرایش : **بیوتکنولوژی کشاورزی**

دانشگاه: **تبریز** تاریخ فارغ التحصیلی : ۹۳/۶/۱۹ تعداد صفحه : ۹۵

کلید واژه ها : **الکتروفورز دوبعدی، تنش شوری، کلزا، بذر**

چکیده

تنش‌های غیر زیستی مانند شوری و خشکی از مهمترین عوامل محدود کننده رشد و نمو گیاهی می باشند. مطالعه فرایند پاسخ به تنش و مکانیسم‌های مقاومت لازمه موفقیت مطالعات مربوطه است. پروتئین‌ها به عنوان محصول نهایی ژن (ها) مسئول تمام فرایندهای سلولی هستند و به همین دلیل مطالعه آنها از اهمیت ویژه‌ای برخوردار است. گرچه بذر نقشی در مقوله مقاومت یا حساسیت ندارد، ولی به شدت تحت تاثیر تنش‌ها قرار می گیرد و ترکیب پروتئینی آن تغییر می یابد. در این پژوهش هدف شناسایی پروتئین‌های بذری بود که تحت تنش شوری در بذر تغییر می‌یابند. بدین منظور بذور رقم ***Sarigol*** در سیستم هیدروپونیک مورد کشت قرار گرفته و بعد از جوانه‌زنی تنش شوری در سه سطح (صفر، ۱۷۵، ۳۵۰ میلی مولار نمک کلرید سدیم) اعمال شد. در طی دوره رشد صفاتی مانند تر و خشک اندام‌های هوایی و ریشه و ارتفاع بوته و پرولین مورد اندازه گیری قرار گرفت و در پایان آزمایش عملکرد دانه و وزن یک صد دانه نیز مورد ارزیابی قرار گرفت. تنش بر همه صفات به جز وزن خشک ریشه اثر معنی داری داشت که نشان دهنده اثر شوری بر بوته‌های کلزا می‌باشد. پروتئوم بذور کلزای رقم ***Sarigol***(رقم حساس به شوری) که تحت تنش شوری ۳۵۰ میلی مولار کلرید سدیم و شرایط عادی تولید شده بود، مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت. استخراج پروتئین‌های بذور حاصل از بوته‌های تحت تنش و شاهد انجام گرفته و پروتئین‌ها توسط الکتروفورز دو بعدی مورد تفکیک قرار گرفتند. پس از تصویر برداری از ژل‌های حاصل از تجزیه آنها به کمک نرم افزار Melani انجام گرفت. تجزیه ژل‌ها منجر به شناسایی ۵۳۲ لکه پروتئینی تکراردار شد. از این تعداد ۵۸ لکه پروتئینی متاثر از تنش شوری بود و از این ۵۸ لکه تعداد ۲۹ لکه پروتئینی تغییر بیان قابل قبول داشتند، به طوری که ۱۹ پروتئین دارای کاهش بیان و بقیه دارای افزایش بیان بودند. سهم عمده پروتئین‌های شناسایی شده متعلق به گروه پروتئین‌های درگیر در متابولیسم و همچنین درگیر در دفاع/ سم زدایی بود. از گروه پروتئین‌های ذخیره ای و فتوسنتز دو پروتئین، درگیر در سنتز / تجزیه سه پروتئین و از گروه پروتئین‌های مربوط به متابولیسم نیتروژن یک پروتئین مورد شناسایی قرار گرفت که تحت تنش شوری کاهش بیان داشت. در میزان پروتئین‌های ذخیره‌ای کاهش بیان وجود نداشت و بیشترین تعداد لکه‌های دارای افزایش بیان مربوط به گروه متابولیسم کربن بود. به نظر می‌رسد که با توجه به افزایش بیان در پروتئین‌های ذخیره‌ای، تنش شوری موجب افزایش کیفیت بذر کلزا می‌شود.

فهرست مطالب

عنوان **صفحه**

مقدمه..... ۱

فصل اول: بررسی منابع

۱-۱- تاریخچه و خاستگاه کلزا..... ۳

۱-۲- اهمیت و جایگاه کلزا در ایران و جهان..... ۳

۱-۳- اهمیت تنش شوری..... ٤

۱-٤- اثرات تنش شوری روی گیاه..... ٥

۱-٤-۱- جوانه زنی و رشد گیاهچه..... ٥

۱-٤-۲- گیاه بالغ..... ٦

۱-٤-۲-۱- صفات زراعی..... ٦

۱-٤-۲-۲- روابط آبی..... ۹

۱-٤-۲-۳- روابط یونی- عدم تعادل عناصر غذایی..... ۱۰

۱-٤-۲-٤- مواد آلی محلول..... ۱۲

۱-٥- تنش اکسیداتیو..... ۱۳

۱-٦- مکانیسم های تحمل به شوری..... ۱٥

۱-۷- پروتئومیک..... ۱٦

۱-۸- روش های تفکیک پروتئین ها..... ۱۷

۱-۹- الکتروفورز دو بعدی و دلایل استفاده از آن..... ۱۸

۱-۱۰- محدودیت های الکتروفورز دو بعدی..... ۲۰

۱-۱۱- پروتئومیک و مطالعات مرتبط با تنش شوری..... ۲۱

۱-۱۲- اثرات تنش شوری بر القای پروتئین ها و الگوی پروتئین..... ۲۳

۱-۱۳- پروتئومیک و مطالعه ی پروتئوم بذر..... ۲۵

۱-۱٤- اهداف تحقیق..... ۲۷

فصل دوم: مواد و روش‌ها

۲-۱- مواد گیاهی و روش آزمایش..... ۲۸

۲-۲- صفات مورد اندازه‌گیری..... ۲۸

۲-۲-۱- وزن تر و خشک بوته‌ها..... ۲۸

۲-۲-۲- ارتفاع بوته..... ۲۸

۲-۲-۳- عملکرد و وزن یکصد دانه..... ۲۸

۲-۲-٤- میزان پرولین آزاد..... ۲۹

۲-۳- تجزیه پروتئوم..... ۲۹

۲-۳-۱- استخراج پروتئین..... ۲۹

۲-۳-۲- تعیین غلظت پروتئین..... ۳۰

۲-۳-۳- الکتروفورز بعد اول..... ۳۰

۲-۳-٤- متعادل سازی نوارها (حد فاصل دو بعد)..... ۳۲

۲-۳-۵- الکتروفورز بعد دوم..... ۳۳

۲-۳-٦- ظاهر سازی پروتئین ها..... ۳٤

۲-۳-۷- تجزیه کمی ژل ها..... ۳٤

۲-۳-۸- تجزیه های آماری..... ۳۵

۲-۳-۹- شناسایی پروتئین ها و جستجوی بانک های اطلاعاتی..... ۳۵

فصل سوم: نتایج و بحث

۳-۱- تجزیه واریانس صفات مورد مطالعه..... ۳۶

۳-۱-۱- اثر تنش بر ارتفاع ۳۶

۳-۱-۲- اثر تنش بر وزن تر و خشک بوته ها..... ۳۷

۳-۱-۳- عملکرد و وزن یکصد دانه..... ٤۰

۳-۱-٤- پرولین آزاد..... ٤۱

۳-۲- تجزیه پروتئوم..... ٤۳

۳-۲-۱- پروتئین های شناسایی شده تحت تنش شوری..... ٤٤

۳-۲-۱-۱- پروتئین های درگیر در متابولیسم کربن..... ۵۰

۳-۲-۱-۲- پروتئین های درگیر در دفاع/ سم زدایی..... ۵۳

۳-۲-۱-۳- پروتئین های ذخیره ای..... ۵٦

۳-۲-۱-٤- پروتئین های دخیل در فتوسنتز ۵۷

۳-۲-۱-۵- پروتئین های دخیل در متابولیسم نیتروژن..... ۵۸

۳-۲-۱-٦- پروتئین های درگیر در سنتز/ تجزیه..... ۵۹

نتیجه گیری کلی..... ٦۲

پیشنهادات..... ٦۳

منابع مورد استفاده..... ٦٤

فهرست جداول

عنوان **صفحه**

جدول ۲-۱ : برنامه فوکوسینگ مورد اجرا در بعد اول.....۳۲

جدول ۲-۲ : برنامه فوکوسینگ مورد اجرا در دستگاه PROTEAN IEF Cell برای تهیه ژل تجزیه.....۳٤

جدول ۳-۱: تجزیه واریانس صفات مورد مطالعه در رقم Sarigol تحت تنش.....۳۸

جدول ۳-۲: مشخصات پروتئین های تغییرات بیان در بذر کلزا رقم ***Sarigol*** تحت تنش شوری.....٤۸

فهرست اشکال

عنوان **صفحه**

شکل ۳-۱: میانگین ارتفاع گیاه گیاه کلزا رقم ***Sarigol*** تحت تنش شوری..... ۳۷

شکل ۳-۲: میانگین وزن تر گیاه کلزا رقم ***Sarigol*** تحت تنش شوری..... ۳۹

شکل ۳-۳: میانگین وزن خشک بخش هوایی گیاه کلزا رقم ***Sarigol*** تحت تنش شوری..... ٤٠

شکل ۳-٤ : میانگین وزن صد دانه در گیاه کلزا رقم ***Sarigol*** تحت تنش شوری..... ٤١

شکل ۳-۵ : میانگین عملکرد دانه در گیاه کلزا رقم ***Sarigol*** تحت تنش شوری..... ٤١

شکل ۳-٦ : میانگین غلظت پرولین در برگ گیاه کلزا رقم ***Sarigol*** تحت تنش شوری..... ٤٣

شکل ۳-۷ : فاکتور القای پروتئین‌های دارای تغییرات بیان در بذر کلزا رقم ***Sarigol*** تحت تنش شوری..... ٤۵

شکل ۳-۸ : الگوی پروتئوم بذر کلزا رقم ***Sarigol*** در شرایط عادی (شاهد)..... ٤۵

شکل ۳-۹ : الگوی پروتئوم بذر کلزا رقم ***Sarigol*** در شرایط تنش ۳۵۰ مولار کلرید سدیم..... ٤٦

شکل ۳-۱۰ : گروه بندی پروتئین‌ها بر اساس گروه های عملکردی در پروتئوم بذر کلزا رقم ***Sarigol*** تحت تنش شور.... ٤٦

مقدمه

طبق آمار منتشر شده، میزان روغن حاصل از دانه‌های روغنی تولید داخل حدود هشت درصد نیاز کشور را تامین می‌کند (وزارت جهاد کشاورزی، ۱۳۹۰) . از این رو، توسعه کشت دانه‌های روغنی از جمله کلزا به دلیل صفات مطلوب آن از جمله تحمل شوری مورد توجه قرار گرفته است. در ایران کشت کلزا عمدتا به مناطق نیمه خشک اختصاص یافته که دارای خاکهای سدیمی و شور هستند و این موضوع پتانسیل تولید گیاه را محدود ساخته است (آلیاری و همکاران، ۱۳۷۹) . اگر چه پژوهش‌های به نژادی کلاسیک در زمینه تحمل به شوری در گیاهان زراعی انجام شده است ولی موفقیت در این زمینه ناچیز بوده است. دلایل اصلی آن پیچیدگی تنش شوری و مکانیسم‌های متعدد کنترل‌کننده تحمل شوری، چند ژنی بودن ژنتیک تحمل و اثر متقابل آن با محیط است (پاریدا و داس، ۲۰۰۵) . اگرچه کلزا جزء گیاهان نیمه متحمل به شوری طبقه بندی می‌شود، لیکن انجام کارهای اصلاحی جهت افزایش تحمل به ویژه در مرحله استقرار گیاهچه، ضروری به نظر می‌رسد. سازوکارهای تحمل به شوری در کلزا مانند اکثر گیاهان زراعی بطور کامل معلوم نبوده و مطالعات در مورد ژن‌ها و پروتئین‌های موثر در ایجاد تحمل ادامه دارد.

بطور کلی برای مطالعه مکانیسم‌های تحمل تنش شوری، شناسایی عوامل، مسیرها و ترکیبات دخیل در فرایند تحمل و شناسایی و تعیین مکان، نوع عمل و توالی ژن‌های مربوطه و انتقال این ژن‌ها به ارقام مورد نظر، لازم است که مطالعات مولکولی در دو جهت ژنومیک ساختاری و عملکردی در گیاه کلزا و تحت تنش شوری انجام گیرد (حسینی سالکده و کوماتسو، ۲۰۰۷) . مطالعه پروتئین‌ها از جمله پروتئین‌های بذر بعنوان محصول نهایی ژن‌ها از اهمیت خاصی برخوردار است زیرا، پروتئین‌ها مسئول تمام فرآیندهای سلولی هستند. اطلاعات حاصل از رهیافت ژنومیکس ساختاری اگرچه برای شناسایی ژن رهیافت مناسبی است ولی برای پیش‌بینی و تعیین ساختار و عمل پروتئین‌ها کافی نمی‌باشد، زیرا تغییرات پس از ترجمه لازمه فعال شدن بسیاری از پروتئین‌ها است (جنسن، ۲۰۰٤) . بیشتر این تغییرات را نمی‌توان از روی توالی

DNA و یا mRNA پیش بینی کرد. بسیاری از فعالیت‌های سلول از اثر متقابل بین پروتئین‌ها و عکس‌العمل آن‌ها به علایم داخلی و خارجی از جمله تنش‌ها ناشی می‌شود و از این‌رو، مطالعه پروتئین‌ها فقط در سطح پروتئوم امکان‌پذیر است. رهیافت پروتئومیک امکان مطالعه بیان ژن‌های پاسخ دهنده به تنش شوری و شناسایی مسیرهای مولکولی یا انتقال پیام را فراهم می‌کند (حسینی سالکده و کوماتسو، ۲۰۰۷) . با وجود اینکه پروتئین‌های شناسایی شده در مطالعات پروتئوم بذر کاندیداهایی برای افزایش تحمل گیاه به تنش شوری نمی‌باشند اما، این پروتئین‌ها نشان دهنده اثر تنش شوری بر ترکیب کمی و کیفی پروتئین بذر خواهد بود (وانگ و همکاران، ۲۰۱۲) . پروتئین‌های بذر طی چند دهه مورد مطالعه قرار گرفته است و تاکنون بسیاری از جنبه‌های پیچیده آن به خوبی درک شده است (ماژول و همکاران، ۲۰۰٤) . متاسفانه این نوع مطالعات تحت تنش‌های غیر زیستی کمتر انجام گرفته است و اطلاعات کمی از تغییرات القا شده در پروتئوم بذور تحت شرایط تنش‌های غیر زیستی در دست است. پروتئوم بذر به طور مستقیم متاثر از تنش شوری نیست ولی بازتابی از پاسخ سایر اندام‌ها همانند برگ و ریشه در فرایند تنش و تحمل آن است که در نهایت بر ترکیب پروتئینی بذر اثر می‌گذارد.

فصل اول:

بررسی منابع

۱-۱- تاریخچه و خاستگاه کلزا

کلزا یک گونه نسبتا جوان است که از یک ناحیه ژئو گرافیکی محدود و از طریق دورگ‌گیری خود بخودی بین شلغم روغنی (*Brassica compestris*) و کلم (*B. Oleraceae*) حاصل شده است. در پی این دورگ‌گیری یک ژنوم آمفی‌دیپلوئید که دربر گیرنده تمامی کروموزوم‌های اجداد می‌باشد، حاصل شده است (کیمبر و مک گریگور، ۱۹۹۵) تا به حال هیچ حالت وحشی از نوع *B. napus* شناخته نشده است و باور بر این است که این گونه نسبتا جدید در منطقه مدیترانه و در جنوب شرقی اروپا به وجود آمده است (کروز و همکاران، ۲۰۰۷) به نظر می رسد *B. compestris* یا *B. rapa* قدیمی‌ترین گونه و بیشترین پراکنش را دارند. این گونه‌ها دیپلوئید بوده و ابتدا نوع دو ساله و بعد ها نوع یکساله ار آن‌ها منشعب شده‌اند. این گونه‌ها به صورت وحشی در جلگه های مرتفع منطقه ایران- توران که منطقه سردسیر است یافت می‌شوند. علاوه بر آن ممکن است آسیای مرکزی، افغانستان و هند مراکز پراکنش دیگری برای آن به حساب آیند (داونی و ریمر، ۱۹۹٤).

کلزا به دو زیر گونه تقسیم می‌شود، *B. napus ssp. napobrassica* و *B. napus ssp. napus* که زیر گونه دومی شامل انواع پاییزه و بهاره است (اسنودون و همکاران، ۲۰۰٦) کلزا بطور غالب به عنوان نوع پاییزه در اروپا و آسیا کشت می‌شود. درحالی که نوع بهاره آن بیشتر در شرایط آب و هوایی شمال اروپا، کانادا و استرالیا کشت می‌گردد (فریدت و همکاران، ۲۰۰۷).

۱-۲- اهمیت و جایگاه کلزا در ایران و جهان

گونه‌های روغنی متعلق به سرده *Brassica* رتبه سوم در بین دانه‌های روغنی را به خود اختصاص داده‌اند. دانه‌های روغنی بعد از غلات و حبوبات جایگاه سوم را در تامین غذای بشر دارند (اشرف و مک نیلی، ۲۰۰٤)، از طرفی گونه‌های روغنی متعلق به جنس براسیکا، رتبه سوم را در بین دانه‌های روغنی به خود اختصاص داده‌اند. در این میان بذور کلزا (*Brassica napus L*) از اهمیت خاصی در تولید روغن

برخوردار است. با توجه به آمارهای موجود، تولید جهانی روغن کلزا در دهه‌ی اخیر در مقایسه با دیگر روغن‌های گیاهی بعد از روغن نخل خرما در مقام دوازدهم قرار گرفته و میزان آن بیش از ٤٢ میلیون تن است (فائو، ۲۰۱۳) روغن کلزا در ارقام اصلاح شده فعلی (روغن کانولا) در مقایسه با روغن‌هایی نظیر آفتابگردان، سویا و ذرت، به دلیل وجود اسیدهای چرب اشباع نشده و عدم وجود کلسترول از اهمیت بیشتری برخوردار است (صادقی نژاد و همکاران، ۱۳۸۹).

زراعت کلزا در ایران تقریبا تازه است. نظر به این که بیش از ۹۰ درصد روغن خوراکی مصرفی کشور از طریق واردات تامین می‌شود، توجه به این دانه روغنی بعد از تشکیل شرکت کشت و توسعه دانه‌های روغنی افزایش یافته است. در سالهای اخیر به دلیل توجه بیشتر به توسعه و ترویج کشت کلزا سطح زیر کشت آن افزایش قابل ملاحظه ای پیدا کرده است (بی نام، ۱۳۸۲).

۱-۳- اهمیت تنش شوری

شور شدن آب و خاک یکی از مهمترین عوامل محیطی محدود کننده برای تولید محصول بخصوص در نواحی خشک و نیمه خشک جهان می‌باشد. اگرچه اصلاح خاک از طریق آبیاری و زهکشی برای مقابله با شوری خاک بکار برده می‌شوند، اما این روش‌ها معمولا مقرون به صرفه یا عملی نیستند و راهکارهای دیگری بایستی توسعه یافته و بکار برده شوند، یکی از این راهکارها اصلاح ارقام برای تحمل به شوری می‌باشد. مدت‌های مدیدی است که وجود اختلاف در تحمل ارقام گیاهان زراعی به شوری و سایر شرایط نامساعد خاکی شناخته شده است، لیکن تنها در دهه‌های اخیر تلاش‌های جدی برای بهره برداری از پتانسیل ژنتیکی ارقام گیاهان زراعی در شرایط شور از طریق برنامه‌های مختلف به نژادی آغاز شده است (ابرول و همکاران، ۱۹۸۸) با وجود این، تعریف تحمل به شوری به خاطر طبیعت پیچیده‌ی تنش‌شوری و گستردگی طیف پاسخ گیاهان مشکل می‌باشد. شاید یک تعریف کلی به این صورت باشد که

تحمل به شوری صفتی چند ژنی است که به گیاه امکان رشد و تولید اقتصادی را در حضور مقادیر بالا و تقریبا ثابت نمک بخصوص NaCl در خاک فراهم می‌نماید (هورکمان، ۱۹۹۳).

۱-٤- اثرات تنش‌شوری روی گیاه

۱-٤-۱- جوانه‌زنی و رشد گیاهچه

تنش کمبود آب می‌تواند به طور معنی‌دار بر عملکرد و بقای گیاهان از طریق تغییرات در صفات مورفولوژیکی و فیزیولوژیکی تاثیر گذارد (تورنر، ۱۹۸٦). میر و بویر (۱۹۸۱) نشان دادند که کمبود آب سبب کاهش رشد در گیاهان عالی می‌گردد. سانچز بلانکو و همکاران (۲۰۰٦) نیز گزارش کردند که مهمترین تاثیر تنش کمبود آب کاهش نسبت رشد است. مطالعات مختلف در رابطه با اثرهای تنش‌شوری (حاصل از انواع نمک‌ها به صورت ترکیبی و نیز جداگانه) بر جوانه‌زنی بذور سرده براسیکا نشان داده است که مانند اکثر گونه‌های گیاهی، فرایند جوانه‌زنی از ابعاد مختلف، مانند درصد جوانه‌زنی، سرعت جوانه‌زنی و غیره به شدت تحت تاثیر قرار گرفته و حتی در شوری‌های بالاتر جوانه‌زنی متوقف می‌شود (بوئم و لاوادو، ۱۹۹٦؛ مر و همکاران، ۲۰۰۰). رایت و مورگان (۱۹۹۸) در سه آزمایش روی میزان رشد، عملکرد و روابط آبی کلزا و خردل در شرایط کمبودهای متفاوت آب نشان دادند که خردل وزن خشک و عملکرد دانه بیشتری نسبت به کلزا دارد. ضمن اینکه فشار آماس برگ کلزا کمتر از خردل بود. بنابراین آنها، نتیجه گرفتند که خردل در مقایسه با کلزا سازگاری بیشتری به تنش کمبود دارد. عملکرد دانه و روغن خردل بیش از دو برابر کلزا تحت شرایط کمبود آب بدست آمد. علت عمده برتری خردل ناشی از ظرفیت بالای خردل برای تنظیم اسمزی ذکر شد. براساس گزارش درکر و همکاران (۲۰۰۳) در کلزا وزن خشک بوته‌هایی که تحت تنش آبی قرار گرفتند کاهش نشان دادند. بنا به گزارش هانگ و ردمن (۱۹۹۵) از بین گونه‌های جنس براسیکا، خردل وحشی در مقایسه با کلزا در هنگام جوانه زدن و رشد اولیه گیاهچه، مقاومت بالاتری نسبت به کلیه محلول‌های اسمزی نشان می‌دهد. با توجه به ارتباط نزدیک تولید بیوماس و مقدار آب در جنس

براسیکا، تنش اسمزی باعث کاهش و تاخیر جوانه‌زنی، ظهور گیاهچه و در نتیجه کاهش عملکرد دانه در کلزا می‌شود (تانکور و همکاران، ۱۹۹۷).

جوانه‌زنی یکی از مهمترین و حساس‌ترین مراحل در کشت گیاهان از جمله کلزا در شرایط شوری می‌باشد. در خاک‌های شور جوانه‌زنی بذور تحت تاثیر غلظت‌های زیاد یون‌های سمی و پتانسیل آب کم محلول خارجی قرار می‌گیرد و سبب کاهش درصد سرعت جوانه‌زنی می‌شود با وجود این، به دلیل مواجه شدن جوانه‌زنی با ابتدای فصل زراعی و پایین بودن غلظت نمک در محلول خاک نسبت به آخر فصل زراعی، این مرحله از چرخه زندگی گیاه چندان تحت تاثیر تنش قرار نمی‌گیرد (پوپالا و همکاران، ۱۹۹۹). اطلاعات از پروتئین‌های دخیل در تحمل تنش هنوز کامل نیست در گیاهان، از ۱۰۰ رونوشت متاثر از تنش‌شوری تنها چند ژن شناسایی شده است (کوشمن و بوهنرت، ۲۰۰۰).

اثر دیگر شوری روی کلزا در خاک‌های شور از نوع سدیمی علاوه بر اثرهای مستقیم، سله بتنی خاک زراعی است که درصد سبز کردن ارقام را کاهش می‌دهد. کلزا بیشتر از سایر گیاهان از سله بتن خاک متاثر می‌شود (بوئم و لاوادو، ۱۹۹٦) بنابراین، باید این قضیه نیز در گزینش ارقام مدنظر قرار گیرد. در نهایت می‌توان گفت که شوری اثرهای مخربی روی جوانه‌زنی و مرحله گیاهچه ای دارد و همچنین تحمل در مراحل اولیه رشد این گیاه ارتباطی با تحمل در مراحل بعدی رشد نشان نداده است (اشرف و مک نیلی، ۲۰۰٤).

۱-٤-۲- گیاه بالغ

۱-٤-۲-۱- صفات زراعی

از سایر اثرات تنش‌شوری می‌توان به تاثیر شوری بر روی صفات زراعی گیاه بالغ اشاره نمود. بسیاری از محققان بر این باورند که معیار نسبت تغییرات وزن خشک در شرایط تنش به وزن خشک در

شرایط عادی (بدون تنش) می‌تواند به عنوان مهمترین معیار گزینش و طبقه‌بندی ژنوتیپ‌های حساس و متحمل مورد استفاده قرار گیرد (مرو و همکاران، ۲۰۰۰ ؛ اشرف، ۲۰۰۱).

در آزمایش گلدانی کلزا، با خاک شور شده توسط NaCl گزارش گردید که شوری بالاتر از ٦ دسی زیمنس بر متر موجب کاهش معنی‌دار در خروج گیاهچه‌ها گردید. در بالاتر از این مقدار تاخیر در ظهور برگها و اولین میانگره رخ داد. افزایش شوری موجب به تعویق افتادن دوره تشکیل خورجین و پر شدن دانه گردید. کاهش ارتفاع، تعداد خورجین در گیاه و تعداد دانه در گیاه از علائم بارز شوری بود. با این حال رقم کلزای بکار رفته با افزایش وزن دانه، کاهش تعداد دانه‌ها را جبران نموده و در نهایت تغییری در عملکرد دانه مشاهده نگردید. محتوی روغن و پروتئین دانه تحت تاثیر شوری قرار نگرفت. در فراتر از ٦ دسی زیمنس بر متر شبه غده‌های کوچکی روی ریشه‌ها ظاهر شدند که ممکن است سازوکار سازگاری کلزا نسبت به تنش‌شوری باشد (گوتیزر و همکاران، ١٩٩٤).

افزایش شوری موجب کاهش معنی‌دار ظهور گیاهچه، سرعت ظهور و همچنین کاهش سطح برگ، بیوماس ساقه و ریشه، کاهش تبخیر و تعرق در دو رقم کلزای ارزیابی شده در گلدان و خاک شور گردید (ردمان و بلیک، ١٩٩٤). در مطالعه اثر شوری روی ٦ رقم از خردل هندی (*B. juncea*) مشاهده شد که جوانه‌زنی بذر و عملکرد دانه در کرت به طور خطی با افزایش سطح شوری کاهش می‌یابد. در مقابل عملکرد دانه در هر بوته تا یک حد مشخص افزایش و سپس کاهش یافت (کومار ، ١٩٩٤).

تحقیقات اشرف و همکاران (١٩٩٤) روی کلزای علوفه‌ای *Brassica napus* در غلظت ٢٠٠ مول بر متر مکعب نمک طعام (NaCl) وراثت پذیری خصوصی صفت تحمل به شوری را ٧٤ درصد نشان داده است. آزمایشات روی یونجه نیز وراثت پذیری تحمل شوری را ٤١ درصد نشان داده است. مطالعه شوری با نمک کلرورسدیم، با غلظت‌های ١٠٠ و ٢٠٠ مول بر متر مکعب روی تغییرات وزن تر، وزن خشک مطلق و نسبی گونه‌های مختلف براسیکا نشان داده است که حتی در داخل گونه‌ها نیز برای تحمل شوری تنوع

وجود دارد. برای گونه *Brassica nigra* ، شوری ۲۰۰ مول بر متر مکعب کشنده ولی این مقدار برای *B. napus* کشنده نبوده است (اشرف ، ۲۰۰۱). تحمل شوری دارای کنترل چند ژنی بوده و تعدادی از ژن‌های گروه بندی در طبقه‌بندی‌های مختلف ژنی با کد کردن پروتئین‌های مربوط به تنش شوری، تحمل شوری را القا می‌کنند (پاریدا و داس، ۲۰۰۵).

فرانکویس (۱۹۹٤) و کشتا و همکاران (۱۹۹۹) بر عدم تاثیر پذیری درصد روغن دانه از تنش‌شوری اشاره نموده‌اند. بنابراین این نوع تنش تنها موجب کاهش عملکرد دانه‌ای خواهد شد. مطالعات انجام یافته در ارتباط با اثر تنش‌شوری بر خصوصیات زراعی گیاهان، حاکی از اثر منفی و کاهنده‌ی شوری بر وزن تر و خشک بخش هوایی و سیستم ریشه گیاهان تحت تنش است (اشرف ، ۲۰۰۱). سازوکارهای متعددی در تحمل درجاتی از شوری نقش دارند. از تغییرات مورفولوژیک در راستای افزایش تحمل شوری می‌توان به سیستم ریشه طویل و گسترده اشاره نمود. سیستم ریشه‌ی عمیق علاوه بر اینکه می‌تواند پاسخگوی تقاضای تبخیر و تعرق بالا باشد، می‌تواند حتی با گسترش در بخش‌های مختلف خاک از اثرات سوء نمک در امان بماند (محمود زاده و نائینی، ۲۰۰۷).

بطور کلی می‌توان اظهار داشت عمده ترین اثر مضر شوری در براسیکاسه، کاهش اندازه گیاه و کیفیت محصول بوده است (کومار، ۱۹۹۵؛ اشرف و مک نیلی، ۲۰۰٤). محققان همچنین نشان دادند که اثر شوری روی وزن هزار دانه بستگی به زمان بروز تنش و همچنین شدت آن دارد. شوری در ابتدا نمو گیاه را مختل می‌کند و سپس اثر کمی وزن هزار دانه دارد. به هر حال تاثیرات منفی شوری در خلال نمو گیاه به طور مشخص تعداد دانه در خوشه را کاهش می‌دهد و وزن هزار دانه را نیز تغییر می‌دهد.

۱-٤-۲-۲- روابط آبی

بررسی‌های متعدد نشان دهنده‌ی وجود رابطه غیر مستقیم بین سطوح شوری و پتانسیل‌های آبی و اسمزی است. توان تنظیم اسمزی[۱] در پاسخ به تنش‌شوری از طریق تجمع یکسری مواد تنظیم کننده در سلول انجام می‌پذیرد. به طوری که با جذب آب به داخل سلول، تورژسانس سلولی حفظ می‌شود (نیار، ۲۰۰۳). این سازوکار در تنظیم کار غشاهای سلولی موثر است و کمبود آب ناشی از تنش‌شوری را تا حدی جبران می‌نماید (مونز و همکاران، ۱۹۹۵).

کاهش پتانسیل اسمزی می‌تواند به دلیل کاهش مقدار آب نسبی برگ (RWC) [۲] باشد و این کاهش ممکن است از کاهش در هدایت آبی ریشه‌ها و جریان آب به سمت اندام‌های هوایی ناشی شود (چاپارزاده و همکاران، ۲۰۰۳). افزایش بیش از حد غلظت یک نمک در محلول خاک تغییر نسبت‌های یونی به سود یکی از آنها، سمیت یونی و یا عدم تعادل تغذیه‌ای، رشد گیاه را به صورتی مضاعف محدود می‌نماید. اما از آنجاییکه محلول خاک‌های شور حاوی انواع مختلف نمک است، سمیت یونی نسبت به تنش اسمزی سهم کمتری در کاهش رشد گیاه دارد (همائی و فدس، ۲۰۰۲) از دست دادن تورژسانس سلولی در اثر کاهش پتانسیل اسمزی موجب بسته شدن روزنه‌ها و در نتیجه کاهش میزان فتوسنتز می‌گردد، و از طرفی این تورژسانس اثر منفی بر تقسیم سلولی و طویل شدن سلول‌ها دارد (شانون، ۱۹۹۸). در خردل هندی وزن خشک و عملکرد دانه بالا تحت تنش شوری، به تجمع قابل توجه مواد تنظیم کننده اسمزی نسبت داده شده است (آگبوما و همکاران، ۱۹۹۷). در یک بررسی در بین ٦ گونه تیره براسیکا، با وجود کاهش پتانسیل آبی، برگ‌های گونه *B. napus* کمترین و *B. campestris* بیشترین کاهش را نشان دادند و این روند در غلظت‌های ۱۰۰ و ۲۰۰ میلی مولار نمک کلرورسدیم یکسان بود (اشرف، ۲۰۰۱).

۱ - Osmotic adjustment (OA)
۲ - Realative Water Content

۱-٤-۲-۳- روابط یونی- عدم تعادل عناصر غذایی

افزودن بر اثر اسمزی و سمیت یونی، شوری خاک موجب بروز عدم تعادل تغذیه‌ای در گیاه می‌گردد، که شدت و ضعف آن نسبت به نوع گیاه و حتی گونه‌های مختلف یک گیاه متفاوت است. دامنه‌ی بهینه‌ی هر عنصر غذایی در محلول خاک به عوامل مختلفی از جمله ترکیب شیمیایی املاح و غلظت آن‌ها بستگی دارد. زیرا شوری خاک " فعالیت یونی[۱] " عناصر غذایی موجود در خاک را تحت تاثیر قرار داده و در نتیجه توازن آنها را برهم می‌زند. مثلا چنانچه نسبت‌های Na^+/K^+ و Na^+/Ca^+ افزایش یابد، گیاه دچار اختلال تغذیه‌ای می‌گردد. بطور کلی شوری خاک، تعادل تغذیه‌ای را از راههای زیر بر هم می‌زند:

۱- مختل کردن " قابلیت دسترسی[۲] " به عناصر غذایی خاک

۲- مختل کردن جذب و یا توزیع عناصر غذایی در درون گیاه (همائی ، ۱۳۸۱).

کلر یکی از آنیون‌های غالب در خاک‌های شور می‌باشد و حضور آن به مقدار فراوان نه تنها به طور مستقیم موجب بروز سمیت در گیاه می‌گردد، بلکه باعث برهم خوردن تعادل (نسبت) میان عناصر غذایی موجود در محلول خاک و گیاه می‌شود. سمیت ناشی از کلر معمولا به صورت سوزاندن برگ‌ها ظاهر می‌گردد. این پدیده از نوک برگ‌های مسن‌تر شروع شده و در امتداد رگبرگ اصلی گسترش می‌یابد و در بسیاری از گیاهان خشبی نیز منجر به ریزش برگ‌ها می‌گردد (موناس، ۲۰۰۲) برخی اثرات نامطلوب Na^+ زیاد در خاک نتیجه کمبود دیگر مواد غذایی و یا در اثر متقابل با دیگر فاکتورهای محیطی مثل خشکی است که اثرات سمیت Na^+ را تشدید می‌کند (سیلبربوش و بن اشر، ۲۰۰۱) ضمن اینکه کمبود دیگر عناصر غذایی خود باعث بالا رفتن میزان Na^+ و جلوگیری از جذب عناصر می‌شود. این مشکل از طرق:

۱- گسیختن برخی مواد غذایی مثل یون K^+ و انتقال به غشاء پلاسمایی ریشه

۲- ممانعت از رشد ریشه بوسیله اثرات اسمزی Na^+

---

۱ - Ionic Activity

۲ - Availability

ایجاد می‌شود (وایلد، ۱۹۹۸) برگ‌ها نسبت به Na^+ بسیار آسیب پذیرتر از ریشه می‌باشند و میزان خسارت Na^+ و Cl^- در غلظت‌های بالا در اندام‌های هوایی نسبت به ریشه بیشتر است. ریشه‌ها تمایل به حفظ سطوح ثابت NaCl دارند و می توانند میزان NaCl را از طریق دفع آن به خاک یا ارسال به اندام‌های هوایی تنظیم کنند.

مطالعات نشان می‌دهد که در انواع گونه‌های وحشی برخی از گیاهان قادر به تحمل محیط‌های شور با توانایی منع تجمع Na^+ در اندام‌های هوایی هستند و قادر می‌باشند همزمان نسبت بالای K^+ را نیز حفظ کنند (گورهام، ۱۹۹۰؛ اسچاچتمان و همکاران، ۱۹۹۲؛ کومار، ۱۹۹۵؛ موناس و همکاران، ۲۰۰۰؛ زو و همکاران، ۲۰۰۱) وجود غلظت بالای یون سدیم تعادل غذایی را برهم می‌زند و سمیت یونی و اختلال در سازگاری اسمزی را نیز بوجود می آورد. تجمع و انباشته شدن ترجیهی یون سدیم یا کلر و یا هر دوی آنها به عنوان تحمل گیاه به شوری شناخته می‌شود (اشرف و مک نیلی، ۲۰۰٤).

غلظت بالای کاتیون‌ها در بافت‌های گیاهی واکنش های بیوشیمیایی را مختل و یا حتی از انجام آن‌ها ممانعت می‌کند و در نتیجه سنتز پروتئین‌های لازم در چنین شرایطی دستخوش تغییرات کمی و کیفی می‌گردد. این عدم تعادل در عناصر غذایی معدنی و به عبارتی در مواد مغذی گیاهی، باعث اختلال در فرایند رشد می‌شود (مر و همکاران، ۲۰۰۰). فرانکویس (۱۹۹٤) در مطالعه اثر آبیاری با آب شور توسط نمک‌های کلرورسدیم و کلرورکلسیم به نسبت وزنی ۱:۱روی دو رقم کانولای *B.napus cv (Wester)*و*(B. napus cv Tobin)* مشاهده نمود که هر دو رقم تمایل به انباشتن Na^+ در برگ‌های خود را دارند (*سازوکار* تحمل) در آزمایش دیگری (اشرف و مک نیلی، ۱۹۹۰) که تنش‌شوری در محیط کشت ماسه‌ای (هیدروپونیک) و با نمک کلرورسدیم اعمال شده بود، غلظت کمتر Na^+ در ریشه‌ها و همچنین در بخش هوایی ارقام گونه *B. napus* و *B. carinata* نسبت به گونه‌های *B. campestris* و *B. juncea* با میزان محصول بیشتر در دو گونه‌های اول همراه بوده است. این امر نشان می‌دهد که گیاهان مزوفیت با دفع