٤٦٠٦٥

دانشگاه تربیت مدرس

دانشکده کشاورزی

رساله برای دریافت درجه دکتری (PhD)

رشته علوم باغبانی (گرایش میوه کاری)

عنوان:

سیانوژنز و تنش خشکی در ژنوتیپهای تلخ و شیرین بادام (*Prunus dulcis* Mill)

۱۳۸۷ /۲/ ۲۱

استاد راهنما:

دکتر کاظم ارزانی

استادان مشاور:

دکتر علی عبادی

دکتر میشل ویرتنسن

نگارش:

عباس یداللهی

پائیز ۱۳۸۶

دانشگاه تربیت مدرس

بسمه تعالی

تاییدیه اعضای هیات داوران حاضر در جلسه دفاع دکتری

آقای عباس یداللهی رساله واحدی خود را با عنوان سیانوژنز وتنش خشکی در ژنوتیپهای تلخ و شیرین بادام (*Prunus dulcis* Mill.) در تاریخ ۱۱ /۷/ ۱۳۸۶ ارائه کردند.
اعضای هیات داوران نسخه نهایی این رساله را از نظر فرم و محتوا تایید کرده است و پذیرش آن را برای درجه دکتری پیشنهاد می کنند.

اعضای هیات داوران	نام و نام خانوادگی	رتبه علمی	امضاء
استاد راهنما	دکتر کاظم ارزانی	دانشیار	۸۶/۷/۱
استاد مشاور اول	دکتر علی عبادی	دانشیار	
استاد مشاور دوم	دکتر میشل ویرتنسون	استادیار	
استاد ناظر	دکتر رضا امید بیگی	استاد	
استاد ناظر	دکتر علی سروش زاده	دانشیار	۸۶/۷/۱
استاد ناظر	دکتر مصطفی مصطفوی	استاد	۸۶/۷/۱
استاد ناظر	دکتر محمدرضا نقوی	دانشیار	۸۶/۷/۱
نماینده تحصیلات تکمیلی	دکتر رضا امید بیگی	استاد	

بسمه تعالی

آیین نامهٔ چاپ پایان نامه(رساله)های دانشجویان دانشگاه تربیت مدرس

نظر به اینکه چاپ و انتشار پایان نامه (رساله) های تحصیلی دانشجویان دانشگاه تربیت مدرس، مبیّن بخشی از فعالیتهای علمی-پژوهشی دانشگاه است بنابراین به منظور آگاهی و رعایت حقوق دانشگاه، دانش آموختگان این دانشگاه نسبت به رعایت موارد ذیل متعهد می شوند:

مادّه ۱ در صورت اقدام به چاپ پایان نامه (رساله)ی خود، مراتب را قبلاً به طور کتبی به **دفتر نشر آثار علمی** دانشگاه اطلاع دهد.

مادّه ۲ در صفحه سوم کتاب (پس از برگ شناسنامه)، عبارت ذیل را چاپ کند:

" کتاب حاضر، حاصل رسالهٔ دکتری نگارنده در رشته علوم باغبانی است که در سال ۱۳۸۶ در دانشکدهٔ کشاورزی دانشگاه تربیت مدرّس به راهنمایی جناب آقای دکترکاظم ارزانی، مشاوره جناب آقای دکتر علی عبادی و مشاورهٔ سرکار خانم دکتر میشل ویرتنسن از آن دفاع شده است"

مادّه ۳ به منظور جبران بخشی از هزینه های انتشارات دانشگاه، تعداد یک درصد شمارگان کتاب (در هر نوبت چاپ) را به **دفتر نشر آثار علمی** دانشگاه اهدا کند. دانشگاه می تواند مازاد نیاز خود را به نفع مرکز نشر در معرض فروش قرار دهد.

مادّه ۴ در صورت عدم رعایت مادّه ۳، ۵۰٪ بهای شمارگان چاپ شده را به عنوان خسارت به دانشگاه تربیت مدرس، تأدیه کند.

مادّه ۵ دانشجو تعهد و قبول می کند در صورت خودداری از پرداخت بهای خسارت، دانشگاه می تواند خسارت مذکور را از طریق مراجع قضایی مطالبه و وصول کند، به علاوه به دانشگاه حق می دهد به منظور استیفای حقوق خود، از طریق دادگاه، معادل وجه مذکور در مادّه ۴ را از محلّ توقیف کتابهای عرضه شدهٔ نگارنده برای فروش، تأمین نماید.

مادّه ۶ اینجانب عباس یداللهی دانشجوی رشته علوم باغبانی مقطع دکتری تعهد فوق و ضمانت اجرایی آن را قبول کرده، به آن ملتزم می شوم.

نام و نام خانوادگی: عباس یداللهی

تاریخ و امضاء: ۱۳۸۶/۷/۱

۱۳۸۷ /۲/ ۲۱

دستورالعمل حق مالکیت مادی و معنوی در مورد نتایج پژوهش های علمی دانشگاه تربیت مدرس

مقدمه: با عنایت به سیاست های پژوهشی دانشگاه در راستای تحقق عدالت و کرامت انسان ها که لازمه شکوفایی علمی و فنی است و رعایت حقوق مادی و معنوی دانشگاه و پژوهشگران، لازم است اعضای هیات علمی، دانشجویان، دانش آموختگان و دیگر همکاران طرح در مورد نتایج پژوهش های علمی که تحت عناوین پایان نامه، رساله و طرح های تحقیقاتی با هماهنگی دانشگاه انجام شده است، موارد ذیل را رعایت نمایند:

ماده۱- حقوق مادی و معنوی پایان نامه ها، رساله های مصوب دانشگاه متعلق به دانشگاه است و هر گونه بهره برداری از آن باید با ذکر نام دانشگاه و رعایت آیین نامه ها و دستورالعمل های مصوب دانشگاه باشد.

ماده۲- انتشار مقاله یا مقالات مستخرج از پایان نامه/رساله به صورت چاپ در نشریات علمی و یا ارائه در مجامع علمی می باید به نام دانشگاه بوده و استاد راهنما نویسنده مسئول مقاله باشند.

تبصره: در مقالاتی که پس از دانش آموختگی به صورت ترکیبی از اطلاعات جدید و نتایج حاصل از پایان نامه و رساله منتشر می شود نیز باید نام دانشگاه درج شود.

ماده۳- انتشار کتاب حاصل از نتایج پایان نامه، رساله و تمامی طرح های تحقیقاتی دانشگاه باید با مجوز کتبی صادره از طریق حوزه پژوهشی دانشگاه و بر اساس آیین نامه های مصوب انجام شود.

ماده ٤- ثبت اختراع و تدوین دانش فنی و یا ارائه در جشنواره های ملی، منطقه ای و بین المللی که حاصل نتایج مستخرج از پایان نامه، رساله و تمامی طرح های تحقیقاتی دانشگاه باید با هماهنگی استاد راهنما یا مجری طرح از طریق حوزه پژوهشی دانشگاه انجام گیرد.

ماده۵- این دستورالعمل در ۵ ماده و یک تبصره در تاریخ ۱۳۸٤/٤/۲۵ در شورای پژوهشی دانشگاه به تصویب رسیده و از تاریخ تصویب لازم الاجرا است و هرگونه تخلف از مفاد این دستورالعمل از طریق مراجع قانونی قابل پیگیری خواهد بود.

تقدیم به:

روح بلند استاد بزرگوار

شهید حاج دکتر علی وزوائی

تقدیر و تشکر

پروردگاری را می پرستم که مرا آفرید و مسیر زندگی ام را به احسن تقدیر در تحقیق رقم زد. و اکنون که نتایج پژوهش سیانوژنز و تنش خشکی در ژنوتیپهای تلخ و شیرین بادام *Prunus dulcis* (Mill) تقدیم می گردد، برخود لازم می دانم پس از ستایش یزدان، به رسم ادب و نص کتاب، صمیمانه از مساعدت، همکاری و زحمات دلسوزانه استاد راهنمای خویش جناب آقای دکترکاظم ارزانی در امر هدایت رساله و ارائه شیوه پژوهش، از جناب آقای دکتر علی عبادی و سرکار خانم دکتر میشل ویرتنسن در سمت استادان مشاور و به جهت ارائه پیشنهادات سازنده، از پروفسور توماس مایکل گردزیل به جهت در اختیار گذاشتن برخی مواد گیاهی و ارائه نظرات ارزنده، از سرکار خانم دکتر تریشیا فرانکس و جناب آقای دکتر کریستوفر فورد به خاطر حمایت های علمی و عملی در آزمایشگاه بیوشیمی و بیوتکنولوژی دانشگاه آدلاید استرالیا در دوره فرصت مطالعاتی، از جناب آقای دکتر رضا امیدبیگی به سبب حمایت های معنوی در زمان اجرای پژوهش و مطالعه رساله، از جناب آقای دکتر علی سروش زاده، جناب آقای دکتر مصطفی مصطفوی و جناب آقای دکترمحمدرضا نقوی به جهت مطالعه این رساله و ارائه پیشنهادات بسیار مفید، ازآقای مهندس علی توکلی و آقای مهندس ایرج توسلیان و آقای معرفت اسماعیل زاده به جهت کمکهای آزمایشگاهی، از جناب آقای مهندس محمود دانایی و آقای مهندس فریبرز زارع نهندی به خاطر مساعدت در تجزیه و تحلیل آماری داده ها، از پدر، مادر و خانواده گرامی و ارجمندم که همواره در راه تحصیل مشوق من بوده اند و از همسر گرامی و صبورم که در این مسیر همراه و همیار من بوده اند نهایت تشکر و سپاسگزاری را دارم.

چکیده

سه سطح آبیاری شامل آبیاری کامل (Ψs = -/۳۳MPa)، تنش خشکی ملایم (Ψs =-۱/۲MPa) و تنش خشکی شدید (Ψs =-۱/۸MPa) در یک آزمایش فاکتوریل با ۲ فاکتور (آبیاری۳ سطح و ۶ ژنوتیپ) و در قالب بلوکهای کامل تصادفی بر روی شش رقم بادام با ژنوتیپ مشخص (از نظرتلخی وشیرینی) مطالعه شد. ژنوتیپ ها شامل هموزیگوت شیرین (بیوت) هموزیگوت تلخ (ژنوتیپ تلخ) و هتروزیگوت شیرین (شاهرود ۱۸، شاهرود ۱۲، شاهرود ۲۱ و سفید) بودند. صفات مورفولوژیک و فیزیولوژیک مانند روند پتانسیل آب برگ (Ψw)، روند مقدار نسبی آب برگ(RWC) ، روند فلورسنس کلروفیل، تراکم و اندازه روزنه ها، سطح و اندازه برگها، وزن خشک اندامها، روند سبزینگی برگها، مقدار نیتروژن گیاه و مقدار ترکیبات سیانوژنیک در برگ و ریشه اندازه گیری شد.

نتایج نشان داد که تمامی ژنوتیپها توانایی تحمل تنش ملایم و شدید را داشتند ولی درجه مقاومت به خشکی در بین ژنوتیپها متفاوت بود. ژنوتیپ های مختلف استراتژی های متفاوتی را در مواجه با تنش خشکی و پاسخ سریع یا با تاخیر به آن به کار می برند که این پاسخها حاکی از جبران سریع اثر تنش ملایم در همه ژنوتیپها بود. برگهای بادام توانایی تحمل Ψw بین ۳- و ۴- را داشتند. در تیمار تنش شدید ژنوتیپ تلخ، شاهرود۱۲ و شاهرود ۱۸ همزمان کاهش تاخیری را در Fv/Fm و RWC نشان دادند ؛ شاهرود ۲۱ و سفید کاهشی در در پایان دوره تنش در نسبت Fv/Fm نداشته و با توجه به Ψw و RWC برگ به تنش سازگار شدند؛ ژنوتیپ بیوت در ابتدا و انتهای دوره تنش در این صفات کاهش معنی داری داشت و نتوانست اثر تنش شدید را جبران کند. ژنوتیپ تلخ در مواجه با تنش خشکی نسبت به سایر ژنوتیپها برتری نداشت. در دانهالهای بادام صفات مورفولوژیک برگ نسبت به صفات ریشه و شاخه با تنش خشکی همبستگی بهتری داشتند. نسبت وزن خشک ریشه به سطح برگ در ژنوتیپ سفید نسبت به بقیه ژنوتیپها بالاتر بود در حالیکه این ژنوتیپ نسبت به تنش خشکی مقاومت بیشتری از بقیه نشان داد. سطح ویژه برگ واندازه روزنه ها در ژنوتیپ بیوت از بقیه کمتر بود در حالیکه این ژنوتیپ نسبت به تنش خشکی حساسیت بیشتری داشت بنابراین این مشخصه ها احتمالا می توانند به عنوان نشانگرهای مورفولوژیک در ارتباط با پیش غربالگری ارقام بادام مورد استفاده قرار گیرند. در بافتهای رویشی آمیگدالین یافت نشد و میزان پرونازین در ریشه ها در اثر تنش خشکی کاهش یافت. علیرغم شناخته شدن مکانیسم توارث تلخی و نیز سیانوژنز در جنس پرنوس که منجر به تولید ترکیبات سیانوژنیک گلیکوزیدی مانند ماده تک قندی پرونازین و دو قندی آمیگدالین می شود، چرخه بیوسنتز ترکیبات سیانوژنیک در ژنوتیپهای مختلف بادام ناشناخته است. بنابراین در آزمایشی دیگر به منظور بررسی دقیق سیانوژنز در ژنوتیپهای مختلف بادام با مطالعه پروتئین ها، نمونه های میوه از ژنوتیپ های تلخ و شیرین بادام انتخاب و پروتئین های محلول آنها استخراج شد. پروتئین های محلول با استفاده از مندلونیتریل گلوکوزیل ترانسفراز و آنتی بادی پلی کلونال تهیه شده برای آن، با روش ایمیونولوژیک وسترن و محصولات حاصل از این پروتئین با استفاده از کروماتوگرافی مایع با کارایی بالا (HPLC) مطالعه شدند. نتایج نشان داد که آنزیم در بذر همه ژنوتیپ های تلخ و شیرین وجود داشته و در مراحل اولیه نمو بذر

شروع به بیان شدن می کند و بیان آن در همه ژنوتیپ ها تا اواسط مراحل نموی قابل ردیابی است. در ژنوتیپ های شیرین با وجود افزایش غلظت پروتئینهای محلول بذر، سنتز این پروتئین در ۲۶-۲۵ هفته بعد از گلدهی متوقف شده و تنها ژنوتیپ های تلخ همچنان به سنتز این پروتئین ادامه می دهند. همزمان با افزایش بیان این پروتئین نتایج تجزیه متابولیت ها با HPLC نشان داد که از مقدار پرونازین کاسته شده و آمیگدالین در بذرها تجمع می یابد. بنابراین تنها ژنوتیپ های تلخ قادر به حفظ سطح بالایی از بیان پروتئین تا پایان نمو بذر هستند که نهایتا باعث تبدیل پرونازین به آمیگدالین در بذر و ایجاد مزه تلخی می شود. آمیگدالین از بافت های میوه به بذر انتقال نمی یابد بلکه در خود بذر ساخته می شود، توانایی تولید امیگدالین وابسته به توانایی تولید آنزیم گلوکوزیل ترانسفراز نیست بلکه به استمرار تولید این آنزیم بستگی دارد زیرا ژنوتیپهای شیرین نیز توانایی تولید این آنزیم را داشتند.

واژه های کلیدی: آمیگدالین، آنتی بادی پلی کلونال، بیان پروتئین، پتانسیل آب برگ، پرونازین، فلورسنس کلروفیل، روزنه، سیانوژنز، نشانگرهای مورفولوژیک، *Prunus dulcis* Mill.

فهرست عناوین

عنوان	صفحه
چکیده	
فصل اول	
۱-۱- مقدمه	۲
۱-۲- اهداف	۳
۱-۳- فرضیات	۴
فصل دوم	
۲-۱- ویژگی های بادام و مناطق قابل کشت	۷
۲-۲- فیزیولوژی مقاومت به تنش	۱۱
۲-۲-۱- مفهوم و ماهیت تنش	۱۱
۲-۲-۲- محرکهای مختلف تنش	۱۲
۲-۲-۳- مسیرهای انتقال پیام تنش	۱۲
۲-۳- تنش خشکی	۱۵
۲-۳-۱- اثرات تنش خشکی	۱۶
۲-۳-۲- واکنش روزنه ها به شرایط خشکی	۱۷
۲-۳-۳- تغییر وضعیت آبی گیاه	۱۹
۲-۳-۴- اثر خشکی بر دستگاه فتوسنتزی	۲۰
۲-۳-۵-اثرات تنش خشکی در فلورسنس کلروفیل	۲۲
۲-۳-۶- مکانیسم های مقاومت به خشکی	۲۴
۲-۳-۶-۱- اجتناب از خشکی	۲۴
۲-۳-۶-۲- تحمل به خشکی	۲۴
۲-۳-۶-۳- نقش قندها و گلیکوزید های دیگر در واکنش به تنش خشکی	۲۶
۲-۳-۶-۴- تنش خشکی و ترکیبات سیانوژنیک	۲۷
۲-۴- سیانوژنز	۳۰
۲-۴-۱- بیوسنتز ترکیبات سیانوژنیک	۳۱
۲-۴-۲- انتقال و ذخیره گلیکوزیدهای سیانوژنیک	۳۳
۲-۴-۳- منحنی رشد میوه و الگوی سنتز مواد سیانوژنیک در بادامهای تلخ	۳۷
۲-۴-۴- چرخه تجزیه آنزیمی سیانوژنیک و تأثیر آن در مزه بادام	۳۹
۲-۵- دلایل سنتز مواد سیانوژنیک در گیاهان	۴۱
۲-۶- توارث تلخی در مغز بادام	۴۲
۲-۷- کروماتوگرافی مایع با کارایی بالا (HPLC)	۴۵

۲-۸- تجزیه شیمیایی ترکیبات تشکیل دهنده طعم در مغز بادام ۴۵
فصل سوم
۳-۱- آزمایش اول: اثر تنش خشکی ملایم و شدید بر روی ژنوتیپ های مختلف بادام ۴۸
۳-۱-۱- محل و زمان اجرای تحقیق ۴۸
۳-۱-۲- مشخصات مواد گیاهی ۴۸
۳-۱-۳- خصوصیات خاک مورد استفاده ۴۹
۳-۱-۴- نحوه انجام آزمایش و طرح آزمایشی ۵۰
۳-۱-۵- صفتهای مورفولوژیک ثبت شده ۵۱
۳-۱-۵-۱- رشد گیاه ۵۱
۳-۱-۵-۲- صفات مربوط به روزنه ها ۵۲
۳-۱-۶- صفات فیزیولوژیک ۵۲
۳-۱-۶-۱- فلورسنس کلروفیل ۵۲
۳-۱-۶-۲- سبزینگی برگها ۵۳
۳-۱-۶-۳- روابط آبی گیاه ۵۳
۳-۱-۶-۳-۱- پتانسیل آب برگ ۵۳
۳-۱-۶-۳-۲- آب نسبی برگ ۵۳
۳-۱-۶-۳-۳- تجزیه نیتروژن ریشه، بذر و برگها ۵۴
۳-۱-۶-۳-۴- تجزیه متابولیت ها ۵۵
۳-۲- آزمایش دوم مطالعه بیوسنتز ترکیبات سیانوژنیک با استفاده از مطالعه پروتئین ها ۵۵
۳-۲-۱- زمان و محل اجرای تحقیق و نمونه های گیاهی ۵۵
۳-۲-۲- استخراج پروتئینها ۵۵
۳-۲-۲-۱- پروتئینهای محلول ۵۵
۳-۲-۲-۲- تمامی پروتئین ها ۵۶
۳-۲-۳- جداسازی پروتئین ها ۵۶
۳-۲-۳-۱- الکتروفورز پروتئین ها ۵۶
۳-۲-۳-۱-۱ مواد لازم برای الکتروفورز پروتئین با روش SDS-PAGE ۵۷
۳-۲-۳-۱-۲- وسایل لازم برای الکتروفورز پروتئین با روش SDS-PAGE ۵۷
۳-۲-۳-۱-۳- محلولهای لازم برای الکتروفورز پروتئین با روش SDS-PAGE ۵۷
۳-۲-۴- رنگ آمیزی ژل ها ۵۹
۳-۲-۴-۱— محلول رنگ آمیزی کوماسی بریلیانت بلو ۵۹
۳-۲-۴-۲— محلول رنگبر ۵۹
۳-۲-۵- تعیین وزن مولکولی باندها با استفاده از مارکر پروتئینی ۶۰

۳-۲-۶- آنالیز وسترن ۶۰
۳-۲-۷- استخراج متابولیت ها ۶۱
HPLC -۳-۲-۸ ۶۱
۳-۳-تجزیه و تحلیل آماری داده ها ۶۳
فصل چهارم
۴-۱- نتایج آزمایش اول ۶۶
۴-۱-۱- وضعیت آبی گیاه ۶۶
۴-۱-۱-۱- پتانسیل آب برگ ۶۶
۴-۱-۱-۲- مقدار آب نسبی برگ ۶۸
۴-۱-۲- رشد گیاه ۷۰
۴-۱-۲-۱- صفات مربوط به برگ ۷۰
۴-۱-۲-۱-۱- سطح برگ ۷۰
۴-۱-۲-۱-۲- اندازه برگ ۷۱
۴-۱-۲-۱-۳- سطح ویژه برگ ۷۳
۴-۱-۲-۱-۴- وزن خشک برگها ۷۳
۴-۱-۲-۱-۵- ریزش برگها ۷۴
۴-۱-۲-۱-۶- مشخصات روزنه ها ۷۴
۴-۱-۲-۱-۷- سبزینگی برگها ۷۶
۴-۱-۲-۲- صفات مربوط به شاخه و ریشه ۷۸
۴-۱-۲-۲-۱- رشد شاخه ها ۷۸
۴-۱-۲-۲-۲- وزن خشک شاخه ها ۷۸
۴-۱-۲-۲-۳- وزن خشک ریشه ها ۷۹
۴-۱-۲-۲-۴- نسبت وزن خشک ریشه به وزن خشک شاخساره ۸۰
۴-۱-۲-۲-۵- نسبت وزن خشک ریشه به سطح برگ ۸۱
۴-۱-۲-۲-۶- نسبت وزن خشک ریشه به اندازه برگ ۸۱
۴-۱-۳- محتوای نیتروژن گیاه: ۸۲
۴-۱-۳-۱- نیتروژن برگها: ۸۲
۴-۱-۳-۲- محتوای نیتروژن ریشه ها: ۸۳
۴-۱-۳-۳- نیتروژن بذرها: ۸۴
۴-۱-۴- جوانه زنی بذرها ۸۴
۴-۱-۵- فلورسنس کلروفیل ۸۵
۴-۱-۵-۱- Fm (حداکثر فلورسنس حاصله از مرکز واکنش چرخه‌ای فتوسنتز) ۸۵

۴-۱-۵-۲- فلورسنس متغییر ۸۶
۴-۱-۵-۳- نصف زمان رسیدن به فلورسنس بیشینه کلروفیل ۸۷
۴-۱-۵-۴- فلورسنس اولیه کلروفیل ۸۸
۴-۱-۵-۵-ماکزیمم بازده کوانتومی فتوسیستمII ۸۹
۴-۱-۶- تجزیه متابولیت ها ۹۳
۴-۱-۷- همبستگی بین صفات و ضرایب همبستگی ۹۵
۴-۲- نتایج آزمایش مطالعه بیوسنتز ترکیبات سیانوژنیک با استفاده از مطالعه پروتئین ها ۹۶
۴-۲-۱- استخراج پروتئینها ۹۶
۴-۲-۲- آنالیز وسترن ۹۷
۴-۲-۳-تجزیه متابولیتها ۱۰۱
۴-۳-بحث ۱۰۳
۴-۳-۱- وضعیت آبی گیاه ۱۰۳
۴-۳-۲- رشد گیاه ۱۰۶
۴-۳-۲-۱- صفات مربوط به برگ ۱۰۷
۴-۳-۲-۱-۱- مشخصات روزنه ها ۱۰۸
۴-۳-۲-۱-۲- سبزینگی برگها ۱۰۹
۴-۳-۲-۲- صفات مربوط به شاخه و ریشه ۱۱۰
۴-۳-۳- محتوای نیتروژن گیاه ۱۱۲
۴-۳-۴- جوانه زنی بذرها ۱۱۲
۴-۳-۵- فلورسنس کلروفیل ۱۱۳
۴-۳-۵- تجزیه متابولیت ها ۱۱۵
۴-۴- نتایج آزمایش مطالعه بیوسنتز ترکیبات سیانوژنیک با استفاده از مطالعه پروتئین ها ۱۱۶
۴-۵- نتیجه گیری ۱۱۹
۴-۶- پیشنهادها ۱۲۱

منابع: ۱۲۳
ضمائم ۱۳۷

فهرست نمودارها

عنوان	صفحه
فصل دوم	
نمودار ۲-۱ عوامل موثر بر وضعیت آب گیاه	۱۰
فصل سوم	
نمودار ۳-۱- منحنی رطوبتی خاک	۵۰
نمودار ۳-۲- منحنی استاندارد آمیگدالین	۶۲
نمودار ۳-۳- منحنی استاندارد پرونازین	۶۳
فصل چهارم	
نمودار ۴-۱- روند تغییرات پتانسیل آب نیمروزی برگ (Ψw) در ۶ ژنوتیپ مختلف بادام در ۵ هفته مطالعه اثر تنش خشکی	۶۷
نمودار ۴-۲- روند تغییرات آب نسبی نیمروزی برگ(RWC) در ۶ ژنوتیپ مختلف بادام در ۵ هفته مطالعه اثر تنش خشکی	۶۹
نمودار ۴-۳- مقایسه میانگینهای مربوط به سطح برگ	۷۱
نمودار ۴-۴- مقایسه میانگینهای مربوط به اندازه برگ در مطالعه اثر تنش خشکی ملایم و شدید	۷۲
نمودار ۴-۵- مقایسه میانگینهای مربوط به سطح ویژه برگ در مطالعه اثر تنش خشکی ملایم و شدید	۷۲
نمودار ۴-۶- مقایسه میانگینهای مربوط به وزن خشک برگها در مطالعه اثر تنش خشکی ملایم و شدید	۷۳
نمودار ۴-۷- تغییرات سبزینگی برگها(SPAD)	۷۷
نمودار ۴-۸- مقایسه میانگینهای مربوط به رشد رویشی شاخه ها در مطالعه اثر تنش خشکی ملایم و شدید	۷۸
نمودار ۴-۹- مقایسه میانگینهای مربوط به وزن خشک شاخه ها در مطالعه اثر تنش خشکی ملایم و شدید	۷۹
نمودار ۴-۱۰- مقایسه میانگینهای مربوط به وزن خشک ریشه ها در مطالعه اثر تنش خشکی ملایم و شدید	۷۹
نمودار ۴-۱۱- مقایسه میانگینهای مربوط به نسبت وزن خشک ریشه به شاخه در مطالعه اثر تنش خشکی ملایم و شدید	۸۰
نمودار ۴-۱۲- مقایسه میانگینهای مربوط به نسبت وزن خشک ریشه به سطح برگها در مطالعه اثر تنش خشکی ملایم و شدید	۸۱
نمودار ۴-۱۳- مقایسه میانگین های مربوط به شاخص نسبت وزن خشک ریشه به اندازه برگ در مطالعه اثر تنش خشکی ملایم و شدید	۸۲
نمودار ۴-۱۴- مقایسه میانگینهای مربوط به محتوای نیتروژن برگها در مطالعه اثر تنش خشکی ملایم و شدید	۸۳

نمودار ۴-۱۵- مقایسه میانگینهای مربوط به محتوای نیتروژن ریشه ها در مطالعه اثر تنش خشکی ملایم و شدید ۸۳
نمودار ۴-۱۶- مقدار نیتروژن بذر ژنوتیپهای بادام شاهرود۱۲، ۱۸،۲۱ بیوت، تلخ و سفید، در آزمایشات تنش خشکی ۸۴
نمودار ۴-۱۷- جوانه زنی بذر ۶ ژنوتیپ ژنوتیپهای بادام شاهرود۱۲، ۱۸،۲۱ بیوت، تلخ و سفید، در شرایط گلخانه ۸۵
نمودار ۴-۱۸- مقایسه میانگینهای مربوط به فلورسنس بیشینه کلروفیل (Fm) در مطالعه اثر تنش خشکی ملایم و شدید ۸۶
نمودار ۴-۱۹- مقایسه میانگینهای مربوط به فلورسنس متغییر (Fv) در مطالعه اثر تنش خشکی ملایم و شدید ۸۷
نمودار ۴-۲۰- مقایسه میانگینهای نصف مدت زمان رسیدن به حداکثر فلورسنس کلروفیل(T1/T2) در مطالعه اثر تنش خشکی ملایم و شدید ۸۷
نمودار ۴-۲۱- مقایسه میانگینهای فلورسنس حاصله در زمان صفر، بلافاصله پس از تابش نور(F0) در مطالعه اثر تنش خشکی ملایم و شدید ۸۸
نمودار ۴-۲۲- روند تغییرات ماکزیمم بازده کوانتومی فتوسیستم II (Fv/Fm) در ژنوتیپ تلخ درمطالعه اثر تنش خشکی ۸۹
نمودار ۴-۲۳- روند تغییرات ماکزیمم بازده کوانتومی فتوسیستم II (Fv/Fm) در ژنوتیپ بیوت درمطالعه اثر تنش خشکی ۸۹
نمودار ۴-۲۴- روند تغییرات ماکزیمم بازده کوانتومی فتوسیستم II (Fv/Fm) در ژنوتیپ شاهرود۱۸ درمطالعه اثر تنش خشکی ۹۰
نمودار ۴-۲۵- روند تغییرات ماکزیمم بازده کوانتومی فتوسیستم II (Fv/Fm) در ژنوتیپ شاهرود ۱۲ درمطالعه اثر تنش خشکی ۹۱
نمودار ۴-۲۶- روند تغییرات ماکزیمم بازده کوانتومی فتوسیستم II (Fv/Fm) در ژنوتیپ شاهرود ۲۱ درمطالعه اثر تنش خشکی ۹۱
نمودار ۴-۲۷- روند تغییرات ماکزیمم بازده کوانتومی فتوسیستم II (Fv/Fm) در ژنوتیپ سفید درمطالعه اثر تنش خشکی ۹۲
نمودار ۴-۲۸- مقایسه میانگینهای مربوط به میزان پرونازین برگها در مطالعه اثر تنش خشکی ملایم و شدید ۹۴
نمودار ۴-۲۹- مقایسه میانگینهای مربوط به میزان پرونازین ریشه ها در مطالعه اثر تنش خشکی ملایم و شدید ۹۴
نمودار ۴-۳۰- غلظت متابولیتهای موجود توسط HPLC در مغز بادام های تلخ (۳ ژنوتیپ) و شیرین(۴ ژنوتیپ) ۲۶ هفته بعد از گلدهی ۱۰۱

فهرست شکل‌ها

عنوان **صفحه**

فصل دوم

شکل۲-۱- مسیر کلی انتقال پیام و نیز بیان ژنهای زود القاء و دیر القاء در واکنش به علائم تنش غیرزنده ۱۴

شکل ۲-۲- واکنشهای اصلی فتوسنتز در گیاهان C_3 ۲۳

شکل ۲- ۳- مسیر بیو سنتز و متابولیسم آمیگدالین و اسید سیانیدریک در بذرهای *P. serotina* ۳۲

شکل ۲-۴-مسیر بیوسنتز کلی گلیکوزیدهای سیانوژنیک ۳۳

شکل ۲-۵- روند تغییرات مقادیر گلیکوزیدهای سیانوژنیک ۳۵

شکل ۲-۶- سطوح آمیگدالین هیدرولاز(AH)، پرونازین هیدرولاز(PH)، و مندلو نیتریل(MDL) در بذرهای در حال نمو گیاه *P. serotina* ۳۷

شکل۲-۷- منحنی نمو میوه و تجمع مواد سیانوژنیک در بادام تلخ ۳۸

شکل۲-۸- تجزیه آنزیمی آمیگدالین ۴۰

فصل چهارم

شکل۴-۱- اندازه روزنه ها و تراکم آنها در بزرگنمایی ۴۰۰۰ و ۷۵ و ۱۵۰تهیه شده توسط میکروسکوپ الکترونی ۷۵

شکل۴-۴-استخراج پروتئینهای محلول، و SDS-PAGE با رنگ آمیزی ژل با کوماسی آبی ۹۶

شکل۴-۵-استخراج مجموع پروتئینها و SDS-PAGE با رنگ آمیزی ژل با کوماسی آبی ۹۶

شکل۴-۶- SDS-PAGE با رنگ آمیزی ژل با کوماسی آبی و آنالیز وسترن ژل مشابه با استفاده از آنتی بادی پلی کلونال برای تشخیص وجود پروتئین UGT85A19 ۹۷

شکل۴-۷- SDS-PAGE با رنگ آمیزی ژل با کوماسی آبی و آنالیز وسترن ژل مشابه با استفاده از آنتی بادی پلی کلونال برای تشخیص وجود پروتئین UGT85A19 ۹۸

شکل۴-۸- SDS-PAGE با رنگ آمیزی ژل با کوماسی آبی و آنالیز وسترن ژل مشابه با استفاده از با آنتی‌بادی پلی کلونال برای تشخیص وجود پروتئینUGT85A19 ۹۹

شکل۴-۹- SDS-PAGE با رنگ آمیزی ژل با کوماسی آبی و آنالیز وسترن ژل مشابه با استفاده از با آنتی بادی پلی کلونال برای تشخیص وجود پروتئینUGT85A19 ۱۰۰

شکل ۴-۱۰- کروماتوگرام عصاره بادام ژنوتیپ شیرین در ۲۶ هفته بعد از گل‌دهی با استفاده از ستون C18 ۱۰۱

شکل ۴-۱۱- کروماتوگرام عصاره بادام ژنوتیپ تلخ در ۲۶ هفته بعد از گل‌دهی با استفاده از ستون C18 ۱۰۲

فهرست جدول‌ها

عنوان	صفحه
فصل دوم	
جدول۲-۱- برخی از ترکیبات سیانوژنیک و منابع آنها	۳۰
فصل سوم	
جدول ۳- ۱- نتایج آزمایش تجزیه خاک	۴۹

فصل اول

مقدمه

۱-۱- مقدمه

وجعلنا من الماء کل شی حی (قرآن کریم، سوره انبیاء آیه ۳۰) .

بادام (*Prunus dulcis* Mill) یگ گونه مقاوم به خشکی است (Isaakidis *et al.*, 2004, Alarcón *et al.*, 2002, De Herralde *et al.*, 2003 ; Faust, 1988) و کارایی بالایی در مصرف آب و تولید میوه دارد (Kester and Westwood, 1993). ایران به عنوان مرکز پیدایش اولیه این گیاه گزارش شده است (Gradziel, 1997). توسعه کاشت این محصول علاوه بر استفاده بهینه از اراضی کشاورزی، به دلیل کارامد بودن این گیاه در مصرف آب و با توجه به محدودیت منابع آب، به پیشرفت صنعت باغبانی کشورکمک شایانی می کند.

برخی تفاوتها در بین ارقام مختلف بادام در ارتباط با توانایی آنها برای سازش و تولید مواد فتوسنتزی تحت شرایط تنش مشاهده شده است. بدین معنی که سازگاری همه ارقام بادام به تنش خشکی یکسان نیست و گونه های مقاوم یا حساس به تنش خشکی در بین آنها وجود دارد. روحی و همکاران[1] (۲۰۰۷) گزارش کردند که مکانیسم مقابله با خشکی در *P.dulcis* با گونه های وحشی بادام تفاوت دارد. همچنین مطالعات دیگر نشان می دهد که حتی ارقام کشت شده نیز از مکانیسم های مختلفی برای مقابله با تنش خشکی استفاده می کنند (Torrecilas *et al.*,1996).

دلیل مقاومت به خشکی در بادام ممکن است به علت وجود مکانیسم های سازگار کننده در برگها ویا ریشه های گیاه ویا هر دو باشد. تطابق اسمزی از طریق سنتز ترکیبات سازگار کننده، ریزش برگ ها، کاهش اندازه برگ و سطح فتوسنتزی، کاهش تعرق روزنه ای و تغییر نسبت ریشه به شاخه ها برخی از مکانیسم هایی هستند که ممکن است در مواجه با تنش خشکی مورد استفاده گیاه قرار گیرند (Isaakidis *et al.*, 2004). اعمال تنش خشکی در دوره های کوتاه چند هفته ای بر روی گیاهان نونهال امکان مطالعه تغییرات فیزیولوژیک و مورفولوژیک گیاه مانند تراکم و اندازه روزنه ها و متعاقبا هدایت روزنه ای، شاخص های فتوسنتزی و روابط آبی را فراهم می کند. در دوره تنش غلظت عناصر غذایی و فشار اسمزی خاک افزایش یافته و در نتیجه قدرت جذب عناصر غذایی مانند نیتروژن کاهش می یابد و بنابراین قدرت جذب عناصر غذایی بیشتر در شرایط تنش می تواند به عنوان یک نشانگر مرتبط با مقاومت به خشکی در گیاه مورد محاسبه قرار گیرد (Holevas *et al.*, 1985). همچنین گزارش شده است که مقدار سطح ویژه برگ[2] (SLA) می تواند به عنوان یک نشانگر مورفولوژیک برای ارزیابی گونه های مقاوم به خشکی مورد محاسبه قرار گیرد. همچنین نسبت وزن خشک ریشه بر سطح برگ و نیز طول ریشه بر واحد سطح برگ همبستگی بالایی با میزان مقاومت به خشکی نشان داده است (Ranney *et al.*, 1991; Rieger and

1- Rouhi *et al.*, 2007
2- Specific Leaf Area

Dummel, 1992). گزارشهایی نیز در خصوص نقش ترکیبات سیانوژنیک مانند پرونازین و آمیگدالین در برخی گیاهان مانند اکالیپوس در افزایش مقاومت به تنش خشکی در دسترس است (Woodrow *et al.*, 2002) که این ترکیبات در بادام نیز حضور دارند (Dicenta *et al.*, 2002).

پایه های مورد استفاده در بادام عمدتا پایه های بذری بادام (مانند بادام تلخ و سنگی) هلوی نماگارد، هلوی لاول، آلوی ماریانا و هیبریدهای هلو – بادام می باشند که از نظر مقاومت به خشکی پایه های بذری بادام نسبت به سایر پایه ها در اولویت هستند (Hartman *et al.*, 2002) در اکثر کشورهای تولید کننده بادام پایه های مورد استفاده برای بادام کاملا شناخته شده هستند. مثلا در امریکا و استرالیا پایه GF677، در اسپانیا پایه گاریگوس[1] به کار می رود، ولی به طور سنتی در ایران بذر بادام تلخ به عنوان پایه استفاده می شود، زیرا این پایه نسبت به حمله جوندگان (مانند خرگوش) و نماتد مقاومت بیشتری دارد. از طرفی عقیده عمومی بر این است که این پایه ها مقاومت بالاتری نسبت به تنش خشکی دارند، هرچند این فرضیه مورد تحقیق قرار نگرفته است.

۱-۲- اهداف

۱- مطالعه پاسخ ژنوتیپهای واجد ترکیبات سیانوژنیک (تلخ) و فاقد این ترکیبات (شیرین) به سطوح مختلف تنش خشکی.

۲- بررسی امکان تفاوت در میزان مقاومت به خشکی در بادام های تلخ و شیرین.

۳- شناسایی نشانگرهای مورفولوژیک مرتبط با مقاومت به تنش خشکی برای استفاده آسان در پیش غربالگری ژنوتیپ های بادام.

۴- تعیین مقاومترین ژنوتیپ به تنش خشکی برای استفاده در شرایط کم آبیاری و احتمالا دیم و مناسب ترین ژنوتیپ به عنوان پایه در شرایط آبیاری.

۵- مطالعات مولکولی در سطح پروتئین ها و بهینه سازی روش استخراج پروتئین از ژنوتیپهای مختلف بادام.

۵- مطالعه دقیق مکانیسم بیوسنتز ترکیبات سیانوژنیک در ژنوتیپ های تلخ و شیرین با استفاده از روشهای پروتئومیکس به منظور گسترش برنامه های اصلاحی پایه های درختان میوه.

1- Garriguois