分类号 密级：

华中农业大学

HUAZHONG AGRICULTURAL UNIVERSITY

جامعة وسط الصين الزراعية

博 士 学 位 论 文

Ph D DISSERTATION

رسالة دكتوراه

甘蓝型油菜幼苗耐盐生理机制及褪黑素应用效应研究

PHYSIOLOGICAL MECHANISMS OF SALT TOLERANCE IN THE EARLY SEEDLING STAGE OF RAPESEED AND A SPECIAL PROFILE OF THE EFFECTS USING MELATONIN

الآليات الفسيولوجية لتحمل الاجهاد الملحى في مرحلة الشتلات لنباتات الكانولا ولمحة خاصة عن تأثيرات استخدام الميلاتونين

إسم الطالب ابراهيم عبدالخالق عبدالمولى محمد

المشرف PROF. ZHOU GUANGSHENG

القسم زراعة المحاصيل ونظم الزراعة

التخصص نبات زراعى

كلية علوم وتكنولوجيا النبات

جامعة وسط الصين الزراعية

ووهان ، الصين

ديسمبر ,2021

الملخص العربي

إن معدل بقاء الشتلات تحت ظروف إجهاد الملوحة ، والنمو الخضري ، والمحصول ، وجودة محصول نبات الكانولا (*Brassica napus* L)ترتبط ارتباطًا وثيقًا بإنبات البذور وأداء النمو المبكر. في هذه الدراسة ، تم فحص الصفات المورفولوجية ، والفسيولوجية ، والاستجابات الكيميائية الحيوية ، والتغيرات التشريحية لأصناف مختلفة من الكانولا تحت مستويات مختلفة من الاجهاد الملحى (كلوريد الصوديوم) لتقييم واختيار أهم الصفات المرتبطة بتحمل الملح في نباتات الكانولا في مرحلتي الإنبات والشتلات. أشارت النتائج إلى وجود فرق كبير بين المرحلتين فيما يتعلق بتحمل الملح لأصناف الكانولا. لذلك ، نظرًا لأهمية مرحلة الإنبات ، أجري تحليلاً للتعبير الجينى باستخدام الصنف الأكثر تحملاً للملح ووالصنف الأكثر حساسية للملح في مرحلة الإنبات لتحديد الجينات المحتمل مشاركتها في استجابات تحمل إجهاد الملح. علاوة على ذلك ، فإن إمكانية تطبيق الميلاتونين (Melatonin) (٠ ، ٢٥ ، ٥٠ ، أو ١٠٠ ميكرومول) كعاملة نقع البذور ودورها في توازن Na^+/K^+ وتخفيف الضرر التأكسدي الناتج عن الإجهاد الملحى ، و تثبيط التمثيل الضوئي ، والتغيرات التشريحية ، ايضا تمت دراسة تحسين المحصول والجودة من خلال المعاملة الخارجية بالميلاتونين. وبالتالي ، فإن دراسة الاستجابات المورفولوجية والفسيولوجية والكيميائية الحيوية والتشريحية والجزيئية للإجهاد الملحي يمكن أن تكون مفيدة لتطوير تحمل الاجهاد الملحى وتطوير الأنماط الجينية التي تتمتع بأداء جيد تحت ظروف الملوحة.

وأهم النتائج المتحصل عليها:

١) تقييم الصفات المورفولوجية والفسيولوجية والكيميائية الحيوية والتشريحية لتقييم تحمل الملح في أصناف الكانولا

في هذه الدراسة ، تم فحص تحمل كلوريد الصوديوم في مرحلة الشتلات بين ١٠ أصناف من الكانولا بناءً على قيم Membership function value (MFV) عن طريق تعريض الشتلات إلى ٠ ، ١٠٠ ، أو ٢٠٠ ملي مول كلوريد الصوديوم. أدت سمية كلوريد الصوديوم إلى انخفاض معنوي ($p < 0.05$) في النمو ، والكتلة الحيوية ، ومستويات K^+ الداخلية ، ومحتوى الماء النسبي ، وزيادة تسرب الإلكتروليت ، ومستويات السكر الذائب ، ومستويات البرولين ، وأنشطة إنزيمات مضادات الأكسدة. كانت قيم الـ SPAD متغيرة للغاية بين أصناف الكانولا. تم تقسيم الأصناف العشرة الى ثلاث مجموعات متباينة (متحملة ، معتدلة التحمل ، وحساسة للملح). ووجد أن الأصناف ذات القيم MFV الأعلى (Hua6919 و Yunyoushuang2 ؛ ٠,٩٠ و ٠,٨٤ على التوالي) صنفت على أنها أكثر الأصناف مقاومة للملح. في المقابل ، تم تصنيف الأصناف ذات قيم MFV المنخفضة (Yangyou9 و Zhongshuang11 ؛ ٠,١٧ و ٠,١٤ على التوالي) كأصناف حساسة للملح في مرحلة نمو الشتلات. خضعت أصناف الكانولا كذلك إلى تحليل قياسات البناء الضوئى والسمات التشريحية. من بين قياسات البناء الضوئى والسمات التشريحية كان قياس فتحة الثغر هي الأكثر ارتباطًا معناويا ($P < 0.01$) مع تحمل الملوحة في أصناف الكانولا ، وبالتالي كانت مهمة للدراسات المستقبلية التي تهدف إلى تحسين تحمل الملوحة في الكانولا.

في التجربة الثانية ، تم تقييم أداء أصناف الكانولا ضد الإجهاد الملحي باستخدام MFV لصفات الإنبات لاصناف الكانولا، بما في ذلك معدل الإنبات ، مؤشر قوة الانبات، بالإضافة إلى الأطوال والأوزان الطازجة والأوزان الجافة للساق والجذر في مرحلة الإنبات.بناءً على قيم MFV لصفات الإنبات ، تم حساب معامل تحمل الملح بين أصناف الكانولا. تم العثور على فرق كبير في تحمل الملح في أصناف الكانولا بين الإنبات ومرحلة الشتلات. ومن المثير للاهتمام ، أن نتائج مرحلة

الإنبات أظهرت أن Yangyou9 (YY9) حقق أعلى قيمة لـ MFV ، بينما حقق Zhongshuang11 (ZS11) أقل قيمة ، وبالتالي تم اختيارهما على أنهما الصنف الأكثر مقاومة للملوحة والصنف الأكثر حساسية للملوحة في مرحلة الإنبات ، على التوالي. لذلك ، تم اختيار YY9 و ZS11 في مرحلة الإنبات لتحديد الآليات المحتملة المشاركة في تحمل الملح باستخدام تحليل التعبير الجيني .

٢) التعبير الجيني النسبي المقارن لمراحل إنبات البذور في صنفين من الكانولا المتباينان في تحمل الملوحة

في هذه الدراسة ، أشارت نتائج المحتوى الرطوبي إلى أن النقاط الزمنية الأربع (٠ ، ١٢ ، ٢٤ ، ٤٨)ساعة أظهرت فرقًا مظهريًا معنويًا بين الصنف الأكثر تحملاً للملح والصنف الأكثر حساسية للملح. علاوة على ذلك ، فإن اختبار القياس الكمي للمؤشرات الكيميائية الحيوية بما في ذلك تراكم بيروكسيد الهيدروجين (H_2O_2) ، إلى جانب الكتلايز (CAT) ، وسوبرأكسيد بيروكسيد (SOD) ، وأنشطة الأسكوربات بيروكسيداز (APX) تشير إلى وجود فرق كبير (p <0.05) بين كلا الصنفين تحت ظروف الإجهاد الملحى في النقاط الزمنية المحددة. لذلك ، تم إجراء تحليل النسخ الديناميكي في النقاط الأربع المحددة لإنبات البذور في الصنفين المختارين من بذور الكانولا تحت ظروف عدم الإجهاد وظروف الإجهاد. كانت الجينات المحددة المعبر عنها تفاضليًا (DEGs) بين الصنفين ٥٣٢٥ و ٦٩٤١ و ٥٨٣٥ و ٩١١٤ خاضعة للتنظيم السفلي و ٤٤٦٣ و ٤٧١٠ و ٥٤٣١ و ١٠٩٩٧ في Yangyou9_Salt الإجهاد Zhongshuang11_Salt / (YY9_SS) الإجهاد (ZS11_SS) عند ٠ ، ١٢ و ٢٤ و ٤٨ ساعة على التوالي. علاوة على ذلك ، في كل مرحلة إنبات ، حددنا ملفات تعريف التعبير والمسارات الرئيسية. بالنسبة لعملية إنبات البذور ، تم تحفيز عدد كبير من DEGs ، بما في ذلك تلك المتورطة في "مسار فوسفات البنتوز" و "معالجة البروتين في الشبكة الإندوبلازمية" و "استقلاب البيروفات" و "تحلل السكر / استحداث السكر" بشكل خاص وعابر في الـ ١٢ ساعة الاولى من الانبات. في مقارنة تحمل الملوحة بين كلا الصنفين ، تم إثراء "مسار إشارات MAPK" ، و "نقل إشارات هرمونات النبات" ، والمسارات المرتبطة بعملية التمثيل الغذائي للكربوهيدرات.

وجدنا العديد من الـ DEGs المتعلقة بمسارات starch/sucrose ، glycolysis/gluconeogenesis ، fermentation ، tricarboxylic cycle (TCA) بين الأصناف المتحملة والحساسة للاجهاد الملحى . بشكل أكثر تحديدًا ، في مسار تحويل الهرمونات النباتية ، الجينات المرتبطة بنقل إشارة auxin (AUX) ، أي Auxin1 (AUX1) ، واستجابات مثبط النقل ١ (TIR1) ، و Gretchen Hagen 3 (GH3) ، و Auxin-Upregulated RNA (SAUR)) عرضت زيادة كبيرة في التنظيم في العينات المتحملة لتنظيم تضخم الخلايا وتنشيط عملية الإنبات. الجينات المتعلقة بالسيتوكينين (Arabidopsis Histidine Phosphotransfer (AHP) و Type-A Arabidopsis Respes Regulator (A-ARR))، gibberellin (GA ،Phytochrome-Interacting Factor (PIF)) BRI1-Associated receptor ،brassinosteroids (BRI1-Associated receptor Kinase1 (BAK1) Xyloglucan: xyloglucosyl transferase (TCH4) ،BSK)) ١ -إشارة كيناز (Kinase1 (BAK1، Brassinazole المقاوم ٢/١ ((2 / BZR1، Cyclin-D3 (CYCD3)) ، وحمض الساليسيليك (غير المعبر عن الجينات المرتبطة بالإمراض (NPR1) تم أيضًا تنظيم نقل إشارات الجينات ذات الصلة (PR1) و TGACG- BINDING FACTOR (TGA)) في العينات التي تتحمل الملح. بينما الجينات المتعلقة بحمض الأبسيسيك (بروتين

فوسفاتيز ٢C (PP2C) وعنصر مستجيب لـ ABA (ABRE) - عامل ربط (ABF)) ، وعامل استجابة الإيثيلين ٢/١ (ERF1 / 2)) والإيثيلين (ETHYLENE INSENSITIVE3 (EIN3)) مما يشير إلى ارتفاع كبير في التنظيم نسبيًا في البذور الجافة وتحت ضغط الملح للصنف الحساس. لذلك ، يمكن أن تشارك هذه الجينات في حساسية الملح وسكون البذور في نبات الكانولا.

٣) يعزز الميلاتونين تحمل الملح وجودة محصول نباتات الكانولا من خلال تحسين نظام مضادات الأكسدة ، والتوازن الأيوني ، وأنشطة التمثيل الضوئي ، والتغيرات التشريحية

وجدت الدراسة أن تطبيق ٥٠ ميكرومولمن الميلاتونين يضفي تأثيرًا بارزًا جدًا على النمو ، ونشاط مضادات الأكسدة ، والتمثيل الضوئي ، والمكونات الأسموزية ، والمكونات الميتابولزمية الثانوية ، والمحصول ، وتكوين الأحماض الدهنية. انخفض عدد الأيام اللازمة لظهور الزهرة الأولى و ٥٠٪ من التزهير معناويا ($P<0.05$) بتطبيق الميلاتونين. قللت المعاملة الخارجية بالميلاتونين بشكل فعال من الضرر التأكسدي عن طريق التراجع الكبير عن توليد ROS وبيروكسيد الهيدروجين في الظروف الملحية وغير المالحة ، كما انعكس في انخفاض بيروكسيد الدهون ، وزيادة ثبات الغشاء ، والتنظيم الأفضل للإنزيمات المضادة للأكسدة (CAT ، و SOD ، و APX). علاوة على ذلك ، عزز تطبيق الميلاتونين محتوى الكلوروفيل ، ومعدل التمثيل الضوئي ، ومحتوى الماء النسبي (RWC) ، واستتباب البوتاسيوم / الصوديوم ، والسكريات القابلة للذوبان ، ومحتوى البرولين. علاوة على ذلك ، من الواضح أن تطبيق الميلاتونين أدى إلى تحسين جودة الزيت في أصناف الكانولا عن طريق تقليل الجلوكوزينات والأحماض الدهنية المشبعة (palmitic and arachidic acids) ، وتعزيز الأحماض الدهنية غير المشبعة (linolenic and oleic acids except erucic acid was reduced). تم تحسين الصفات المتعلقة بالمحصول مثل صفات القرن ، وإنتاجية البذور لكل نبات ، ووزن الـ ١٠٠٠ بذرة ، ومحتوى زيت البذور ، وصفات الكتلة الحيوية المحصولية عن طريق تطبيق الميلاتونين. أظهر التحليل التشريحي للأوراق والساق أن صفات الأوعية الخشبية والثغور مرتبطة بتحمل كلوريد الصوديوم ، والمحصول ، وتكوين الأحماض الدهنية للبذور. تشير هذه النتائج إلى الدور الداعم للميلاتونين في جودة وكمية محصول زيت الكانولا.

الكلمات المفتاحية: *Brassica napus* L ، إجهاد الملوحة ، الثغور ، الميلاتونين ، الجينات المعبر عنها تفاضليًا