۸۷/۱/۱۰۶۷۳۲
۸۷/۱۲/۲۶

۱۱۰۷۲۷

۸۷/۱۲/۲۷
۸۷/۱/۱۰۶۷۳۴

اثرات تنش شوری روی برخی تغییرات فیزیولوژیکی وبیوشیمیایی در دو رقم جو

(*Hordeum vulgare* L. Afzal and *Hordeum vulgare* L. EMB82-12)

فریبا خسروی نژاد

دانشکده علوم

گروه زیست شناسی

زمستان ۱۳۸٦

پایان نامه برای دریافت درجه کارشناسی ارشد

۱۳۸۷ /۱۲/ ۲۱

اساتید راهنما:

دکتر رضا حیدری

دکتر طیبه فربود نیا

(حق طبع، نشر و هرگونه استفاده از محتویات این پایان نامه در انحصار دانشگاه ارومیه می باشد)

۱۱۰۷۲۷

پایان نامه فریبا حسروی نژاد به تاریخ ۸۶/۱۱/۲۸ شماره ۸۳۰-۲ مورد پذیرش هیات محترم داوران با رتبه عالی و نمره ۲۰ قرار گرفت.

1 – استاد راهنما و رئیس هیئت داوران : دکتر رضا میری دکتر علیرضا فریبا

2 – استاد مشاور :

3 – داور خارجی : دکتر مسعود خاکی

4 – داور داخلی : دکتر خلیل هادا

5 – نماینده تحصیلات تکمیلی : دکتر لفرت میری

انتشارات حاصل از این کار تحقیقاتی

1.Antioxidant response of two barley varieties to saline stress.Research journal of biological sciences 3(5)486-490,2008.

2.Effects of salinity on photosynthetic pigments, respiration, and water content in two barley varieties.Pakistan journal of biological sciences,525,2008.

3.Effects of NaCl stress on some of biochemical factors in barley plant.The 5th national biotechnology congress of Iran.

4.The effect of NaCl-salinity on the growth and inorganic solute accumulation in shoot and root of two varieties of barley.The 1th national payamenoor university congress of Iran.

5. The effect of saline stress (NaCl) on the a and b chlorophyll and carotenoids in two varieties of barley.The 1th national payamenoor university congress of Iran.

6.The effect of salinity on soe of physiological and biochemical parameters in two barley varieties. The 1th national marand azad university congress of Iran.

تقدیم به:

پدر و مادر عزیزم

که اسطوره های عشق و ایثارند.

برادر و خواهران مهربانم

که گرمای وجودشان همواره گرما بخش

زندگیم بوده و هست.

و همه اساتید زندگیم

که آموختنی ها را به من آموختند.

تقدیر و تشکر

سپاس بی دریغ آن حقیقتی را که مرا از گودال عمیق نیستی به ورطه بی نهایت هستی کشاند، حقیقتی که زیبایی های وصف ناپذیرش همچون جاذبه های حسی اغواگر در برخورد با رد پاهای بر جامانده بر یک راه غریب، مرا بسوی دانستن و بیشتر فهمیدن وسوسه کرده، می کند و خواهد کرد. خوب می دانم مراتب سپاسگزاری من از او، آن تنها آموزگار هستی ، با چند کلمه و ذهن ناقص من ، تلاشی هست بیهوده همچون چلپ و چلوپی بی حاصل در وسط یک گودال پر از آب. پس سکوت می کنم، باشد که این سکوت بتواند چه بسا ملموس تر ،بیانگر احساس درونی من نسبت به او باشد.

در پیشبرد و به اتمام رساندن این پایان نامه افراد زیادی مرا یاری داده اند که وظیفه خود می دانم از این عزیزان قدر دانی کنم:

۱-از پدر، مادر،برادر و خواهران عزیزم که همواره یاریگر من در لحظه لحظه زندگی و در تمام مراحل تحصیلم بوده و هستند

۲-از اساتید ارجمندم :

جناب آقای دکتر رضا حیدری که پدرانه زحمات مرا به دوش کشیده و همواره از حمایت های بی دریغ ایشان برخوردار بوده ام .

سرکار خانم دکتر طیبه فربودنیا که مادرانه مرا راهنمایی کرده و همواره از راهنمایی های ارزنده ایشان برخوردار بوده ام .

۳-از تمامی اساتید گروه زیست شناسی دانشگاه ارومیه بالاخص :

سرکار خانم دکتر لطیفه پور اکبر که همواره در کارهای آزمایشگاهی راهنمای من بوده اند .

جناب آقای دکتر خارا که راهنمایی هایشان را در هیچ زمینه ای از من دریغ نکرده اند و همواره جوابگوی تمامی پرسش های علمی من بوده اند .

٤-از جناب آقای مهندس رضا رسولی که در ویرایش انتشارات حاصل از این کار تحقیقاتی مرا یاری داده اند .

٥-و از همه دوستان وعزیزانی که به هر نحوی مرا حمایت کرده اند .

فریبا خسروی نژاد

زمستان ۱۳۸٦

فهرست مطالب

چکیده ۱

فصل اول:مقدمه

۱-۱تنش شوری ۲

۱-۲اثرات شوری ۲

۱-۳تحمل شوری ٤

۱-٤مکانیزم های مقاومت به شوری ٥

۱-٤-۱کنترل نمک در سطح کل گیاه ٥

۱-٤-۲کنترل نمک در سطح سلول ٥

۱-٤-۳مقاومت به شوری در سطح مولکولی ۸

۱-٥نقش پرولین در مقاومت به شوری ۸

۱-٦نقش آنزیم های آنتی اکسیدان در مقاومت به شوری ۹

۱-٦-۱آنزیم های آنتی اکسیدان ۱۰

۱-٦-۲آنزیم پراکسیداز(POD) ۱۱

۱-٦-۳آنزیم آسکوربات پراکسیداز(APX) ۱۳

۱-٦-٤آنزیم کاتالاز(CAT) ۱۳

۱-۷اصلاح برای مقاومت به شوری ۱٤

۱-۸ کلیاتی در باره گیاه جو(*Hordeum vulgare* L.) ۱٥

فصل دوم:موادوروشها

۲-۱شرایط رشد گیاهان ۱۷

۲-۲اندازه گیری طول اندام هوایی و ریشه ۱۷

۲-۳ اندازه گیری وزن تر و خشک اندام هوایی و ریشه ۱۷

۲-٤ اندازه گیری محتوای نسبی آب (RWC) ۱۷
۲-٥اندازه گیری کلروفیل و کارتنوئید ۱۸
۲-٦ اندازه گیری محتوای قند های محلول ۱۸
۲-۷اندازه گیری پرولین ۱۸
۲-۸اندازه گیری پروتئین های محلول ۱۹
۲-۹بررسی واکنش هیل ۲۰
۲-۱۰اندازه گیری میزان سدیم و پتاسیم ۲۰
۲-۱۱ اندازه گیری محتوای مالون دی آلدئید (MDA) ۲۱
۲-۱۲اندازه گیری میزان نشت الکترولیت ها ۲۱
۲-۱۳ طرز تهیه عصاره گیاهی جهت اندازه گیری فعالیت آنزیم ها ۲۲
۲-۱۳-۱ اندازه گیری فعالیت آنزیم گایاکول پر اکسیداز (GUPX) ۲۲
۲-۱۳-۲ اندازه گیری فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز (APX) ۲۲
۲-۱۳-۲ اندازه گیری فعالیت آنزیم کاتالاز (CAT) ۲۳
۲-۱٤اندازه گیری میزان تنفس ۲۳
۲-۱٥ آنالیز آماری ۲۳

فصل سوم:نتایج

۳-۱ اثر تنش شوری بر رشد طولی اندام هوایی و ریشه ۲٤
۳-۲ اثر تنش شوری بر وزن تر اندام هوایی و ریشه ۲٥
۳-۳ اثر تنش شوری بر وزن خشک اندام هوایی و ریشه ۲٦
۳-٤ اثر تنش شوری بر محتوای نسبی آب اندام هوایی و ریشه ۲۷
۳-٥ اثر تنش شوری بر محتوای کلروفیل a , b و کارتنوئید ۲۸
۳-٦ اثر تنش شوری بر محتوای قندهای محلول در اندام هوایی و ریشه ۳۰

۳-۷ اثر تنش شوری بر محتوای پرولین در اندام هوایی و ریشه ۳۱
۳-۸ اثر تنش شوری بر محتوای پروتئین محلول اندام هوایی و ریشه ۳۲
۳-۹ اثر تنش شوری بر تغییرات سرعت واکنش هیل ۳۳
۳-۱۰ اثر تنش شوری بر محتوای سدیم وپتاسیم ۳٤
۳-۱۱ اثر تنش شوری بر محتوای مالون دی آلدئید اندام هوایی و ریشه ۳٦
۳-۱۲ اثر تنش شوری بر میزان نشت الکترولیت ها در اندام هوایی و ریشه ۳۷
۳-۱۳ اثر تنش شوری بر فعالیت آنزیم گایاکول پراکسیداز اندام هوایی و ریشه ۳۸
۳-۱٤ اثر تنش شوری بر فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز اندام هوایی وریشه ۳۹
۳-۱۵ اثر تنش شوری بر فعالیت آنزیم کاتالاز اندام هوایی وریشه ٤۰
۳-۱٦ اثر تنش شوری بر میزان تنفس ٤۱

فصل چهارم:بحث

٤-۱تنش شوری و اثر آن روی رشد طولی اندام هوایی وریشه ٤۳
٤- ۲تنش شوری و اثر آن روی وزن تر و خشک اندام هوایی و ریشه ٤۳
٤-۳تنش شوری و اثر آن روی محتوای نسبی آب اندام هوایی وریشه ٤٤
٤-٤تنش شوری و اثر آن روی محتوای کلروفیل a ، b و کاروتنوئید ٤٤
٤-۵تنش شوری و اثر آن روی محتوای قندهای محلول در اندام هوایی و ریشه ٤۵
٤-٦تنش شوری و اثر آن روی محتوای پرولین در اندام هوایی و ریشه ٤٦
٤-۷تنش شوری و اثر آن روی محتوای پروتئین محلول اندام هوایی و ریشه ٤٦
٤-۸تنش شوری و اثر آن روی تغییرات سرعت واکنش هیل ٤۷
٤-۹تنش شوری و اثر آن روی محتوای سدیم وپتاسیم ٤۸
٤-۱۰تنش شوری و اثر آن روی محتوای مالون دی آلدئید اندام هوایی و ریشه ٤۸
٤-۱۱تنش شوری و اثر آن روی میزان نشت الکترولیت ها در اندام هوایی و ریشه ٤۹
٤-۱۲تنش شوری و اثر آن روی فعالیت آنزیم های آنتی اکسیدانت ٤۹

٤-١٣تنش شوری و اثر آن روی میزان تنفس ٥٠

پیشنهادات و تحقیقات آتی ٥١

فصل پنجم:پیوست ها ٥٢

فصل ششم:مراجع ٥٥

چکیده انگلیسی ٦٤

فهرست جداول ، نمودارها و اشکال

شکل۱-۱: مکانیسم انتقال سدیم در گیاهان عالی ۸

شکل۳-۱: تغییرات طول اندام هوایی وریشه در دو واریته گیاه جو تحت غلظتهای مختلف NaCl..... ۲٤

شکل۳-۲: تغییرات وزن تر اندام هوایی وریشه در دو واریته گیاه جو تحت غلظتهای مختلف NaCl..... ۲۵

شکل۳-۳: تغییرات وزن خشک اندام هوایی وریشه در دو واریته گیاه جو تحت غلظتهای مختلف NaCl..... ۲٦

شکل۳-٤: تغییرات محتوای نسبی آب اندام هوایی وریشه در دو واریته گیاه جو تحت غلظتهای

مختلف NaCl..... ۲۷

شکل۳-۵: تغییرات میزان کلروفیلa ,b،کل وکارتنوئید اندام هوایی در دو واریته گیاه جو تحت غلظتهای
مختلف NaCl....۲۹

شکل۳-٦: تغییرات محتوای قندهای محلول اندام هوایی و ریشه در دو واریته گیـــاه جو تحت غلظتهای

مختلفNaCl..... ۳۰

شکل۳-۷: تغییرات محتوای پرولین اندام هوایی وریشه در دو واریته گیاه جو تحت غلظتهای مختلف NaCl..... ۳۱

شکل۳-۸: تغییرات محتوای پروتئین محلول اندام هوایی وریشه در دو واریته گیاه جو تحت غلظتهای

مختلف NaCl..... ۳۲

شکل۳-۹: تغییرات سرعت واکنش هیل اندام هوایی در دو واریته گیاه جو تحت غلظتهای مختلف NaCl..... ۳۳

شکل۳-۱۰: تغییرات محتوای سدیم و پتاسیم اندام هوایی وریشه در دو واریته گیاه جو تحت غلظتهای

مختلف NaCl..... ۳۵

شکل۳-۱۱: تغییرات محتوای مالون دی آلدهید اندام هوایی وریشه در دو واریته گیاه جو تحت غلظتهای

مختلف NaCl..... ۳٦

شکل۳-۱۲: تغییرات میزان نشت الکترولیتهای اندام هوایی وریشه در دو واریته گیاه جو تحت غلظتهای

مختلف NaCl..... ۳۷

شکل۳-۱۳: تغییرات فعالیت آنزیم گایاکول پراکسیداز اندام هوایی وریشه در دو واریته گیاه جو تحت غلظتهای مختلف NaCl ۳۸

شکل۳-۱٤: تغییرات فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز اندام هوایی وریشه در دو واریته گیاه جو تحت غلظتهای مختلف NaCl ۳۹

شکل۳-۱۵: تغییرات فعالیت آنزیم کاتالاز اندام هوایی وریشه در دو واریته گیاه جو تحت غلظتهای مختلف NaCl..... ٤۰

شکل۳-۱٦: تغییرات میزان تنفس اندام هوایی وریشه در دو واریته گیاه جو تحت غلظتهای مختلف NaCl..... ٤۲

جدول ۱-۱: سیستمهای آنزیمی آنتی اکسیدان در گیاهان عالی ۱۱

چکیده

در این تحقیق، تنش شوری با افزودن NaCl در غلظت های ۵۰،۱۰۰،۲۰۰،۳۰۰و۴۰۰ میلی مولاربه محیط ریشه ایجاد شد. پس از گذشت ۷۲ ساعت از اعمال تنش ، برخی فاکتورهای فیزیولوژیکی و بیو شیمیایی در دو رقم جو (*Hordeum vulgare* L.)- افضل و EMB82-12- در غلظت های مختلف NaCl اندازه گیری شدند.

طول، وزن تر و خشک ریشه ها و اندام هوایی در هر دو رقم کاهش یافت. RWC با افزایش غلظت ها ی NaCl کاهش یافت.کاهش RWC باعث کاهش رشد گردید. کاهش محتوای نسبی آب در رقم EMB82-12 بیشتر از رقم افضل بود .

میزان کلروفیل a و b به طور چشمگیری کاهش یافت ، اما میزان کارتنوئیدها با افزایش تنش شوری افزایش یافت. کاهش میزان کلروفیل دررقم EMB82-12 بیشتر از رقم افضل و میزان کارتنوئیدها در رقم افضل بیشتر از رقم EMB82-12 بود.

تجمع مواد محلول دو رقم جو بعد از تنش شوری اندازه گیری شد. با افزایش تنش، میزان پرولین نسبت به گیاهان شاهد افزایش یافت و این افزایش در رقم EMB82-12 بیشتر از رقم افضل بود. میزان قند های محلول در ریشه ها و اندام هوایی دو رقم افزایش یافت، اما میزان قند های محلول در ریشه ها بیشتر از اندام هوایی بود.

بعد از ۷۲ ساعت تیمار با NaCl ، میزان پروتئین در ریشه و اندام هوایی دو رقم کاهش یافت. کاهش میزان پروتئین در رقم EMB82-12 بیشتر از افضل بود.

سرعت واکنش هیل در اندام هوایی در پاسخ به شوری به طور معنی داری کاهش یافت و این کاهش در رقم EMB82-12 بیشتر از رقم افضل بود.

جذب سدیم در ریشه و اندام هوایی هر دو رقم جو بعد از اعمال تنش افزایش یافت و این افزایش در رقم EMB82-12 بیشتر از رقم افضل بود. محتوای پتاسیم طی تنش شوری با افزایش غلظت NaCl کاهش یافته و کاهش در رقم EMB82-12 بیشتر از رقم افضل بود.

اندازه گیری پاسخ سیستم دفاعی آنتی اکسیداتیو به تنش شوری در دو رقم جو نشان داد که بعد از ۷۲ ساعت تیمار با NaCl ، میزان فعالیت آنزیم ها ی حفاظتی ، محتوای MDA و نشت الکترولیت ها افزایش یافت . تحت تنش شوری فعالیت آنزیم های حفاظتی (CAT , APX , GPX) در ریشه و اندام هوایی به شدت افزایش یافت که این افزایش در رقم EMB82-12 بیشتر از وا ریته افضل بود. میزان مالون دی آلدهید با افزایش شدت تنش شوری افزایش یافت. نشت الکترولیت ها نیز در تنش شوری به شدت افزایش یافت. افزایش میزان MDA و نشت الکترولیت ها در رقم EMB82-12 بیشتر از رقم افضل بود.

تنفس ریشه ها و اندام هوایی دو رقم جو در غلظت های مختلف NaCl سنجش شد. میزان جذب اکسیژن و درصد مصرف اکسیژن در ریشه ها و اندام هوایی با افزایش تنش شوری کاهش یافت و این کاهش در ریشه ها و اندام هوایی رقم EMB82-12 بیشتر از رقم افضل بود.

فصل اول :مقدمه

۱-۱تنش شوری

تنش شوری باید در واحدهای انرژی مانند پتانسیل شیمیایی، فعالیت یا هدایتِ الکتریکی اندازه گیری شود. بیشتر تنش های شوری در طبیعت مربوط به نمک های سدیم بویژه سدیم کلرید (NaCl) است[٦٧]. پاسخ گیاهان به شوری به عنوان یک عامل اکولوژیکی مهم ، یکی از فراوانترین موضوعات بررسی شده در فیزیولوژی گیاهی می باشد و بعد از فتوسنتز دومین موضوع بررسی شده است و معرف یکی از جدی ترین عوامل محیطی محدود کننده رشد گیاه می باشد[۷۷]. پاسخ های گیاهان به شوری مکانیزم های پیچیده متعددی را در بر می گیرند. حدود ۳۳درصد زمین های تحت آبیاری دنیا متأثر از تنش شوری می باشند [٦۲] بنابراین شوری خاک یا ناشی از فرایند های طبیعی و یا حاصل آبیاری با آب شور است .

کاهش پتانسیل آبی نتیجه معروف تنش شوری و خشکی است، یعنی تحت تأثیر این دو تنش غیر زیستی پتانسیل آب درونی گیاه کاهش می یابد که نتیجه انباشتن یون های معدنی و یا سنتز و انباشتگی برخی مواد آلی است. در تنش شوری عامل یون های معدنی و در تنش خشکی انباشتگی مواد آلی سنتز شده اهمیت بیشتری دارند[۱۰۹]. به منظور بهبود تولید گیاه در شرایط شور، لازم است که فرایندهای فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی که در اثرشوری مختل و یا تحریک می شوند به خوبی شناسایی گردند، که این اثرات بطور وسیعی بر روی گیاهان مختلف مورد مطالعه قرار گرفته است.

۱-۲ اثرات شوری

شوری در مراحل مختلف رشد از جوانه زنی گرفته تا گل دهی بر گیاهان مؤثر است. اثرات شوری بر گیاهان را می توان در مرحله جوانه زنی ، رویشی و زایشی بررسی نمود.

تنش شوری در مرحله جوانه زنی عموماً باعث تأخیر در جوانه زنی، کاهش درصد جوانی زنی، کاهش سرعت جوانه زنی و کاهش رشد گیاهچه می شود [۲]. گیاهان مختلف از نظر تأثیر پذیری در مرحله جوانه زنی نسبت به شوری متفاوت می باشند.

ریشه اولین و تنها اندامی از گیاه می باشد که در تماس مستقیم با محیط شور است لذا تغییرات آناتومیک و سازگاری های این اندام می تواند نقش مهمی در تعیین مقاومت به شوری بر عهده داشته باشد. ریشه می تواند نقش تنظیم کننده در ورود یون ها به داخل سیستم آوندی ایفا کند و به عنوان اولین مانع سد راه ورود یون ها به داخل گیاه شود. بدین ترتیب غلظت یونی اندام های هوایی با میزان آن در محیط بیرون کاملاً تفاوت می کند.

یکی از اثرات تنش بر روی ریشه رسوب مواد لیگنینی بر روی عناصر آوندی می باشد. چنین تأثیری با افزایش یا سنتز پروتئین های مؤثر در این مسیر حتی به هنگام تنش خشکی نیز دیده شده است. در برخی گیاهان مانند گندم مشاهده شده که به هنگام تنش شوری میزان لیگنینی شدن دیواره سلولی سلول های ریشه افزایش می یابد [۵۳]. این امر در رقم های مقاوم نسبت به حساس نمود بیشتری پیدا می کند.

شوری می تواند بربسیاری از فرایند های رشد زایشی گیاه تأثیر گذارد [۳۰] و بدین ترتیب عملکرد دانه را تحت تأثیر قرار دهد. به طور کلی آثار تنش شوری بر مرحله رشد زایشی گیاه عبارتند از تسریع نمو جوانه انتهایی، کاهش تعداد کل خوشه چه ها و تعداد دانه در هر خوشه، کاهش قدرت زنده ماندن دانه گرده، کاهش جوانه زنی دانه گرده، باروری و پر شدن دانه.

اثرات فیزیولوژیک تنش شوری

برنشتاین [۱۳] اثرات فیزیولوژیک ناشی از تنش شوری را به سه دسته اثرات اسمزی، تغذیه ای و سمی طبقه بندی نموده است. معمولاً دو اثر اول جز اثرات ثانویه شوری محسوب شده و اثرات سمی تنش را جز اثرات اولیه در نظر می گیرند.

وجود نمک و املاح مختلف در خاک های شور و آب باعث کاهش پتانسیل اسمزی آن می شود. هر دو عامل پتانسیل اسمزی پایین خاک و پتانسیل پایین ماتریک در نتیجه کاهش آب موجود در خاک باعث ایجاد پتانسیل کم آب در گیاهان می شود و گیاه را در معرض یک تنش ثانویه اسمزی قرار می دهند که یک نوع خشکی فیزیولوژیک است. در شرایط شوری (پتانسیل اسمزی پایین خاک) گیاهان بایستی قادر باشند بر پتانسیل آب و همچنین پتانسیل اسمزی حاصل از نمک غلبه نموده و آب جذب نمایند. برای این منظور آن ها مجبورند پتانسیل اسمزی داخل سلولی خود را در سطح پایین تری نگه دارند در غیر این صورت به علت اختلاف پتانسیل اسمزی، آب سلول از سلول های گیاهی به طرف خاک منتقل می شود.

شوری توانایی گیاهان برای جذب آب را کاهش می دهد و این مسأله موجب کاهش در سرعت رشد گیاه می شود که با یک سری تغییرات متابولیک دنبال می شود که دقیقاً شبیه آن است که توسط استرس خشکی روی می دهد. در حقیقت بین تنش های شوری و خشکی وابستگی مستقیم و غیر قابل تفکیکی وجود دارد.

اثرات صریح و واضح اسمزی تنها تا زمانی ادامه دارد که نمک نتوانسته است به داخل سلول نفوذ کند. این مسأله بایستی در مورد سلکسیون برای مقاومت به شوری مد نظر قرار گیرد. لذا به منظور درک فرایند هایی که به مقاومت به شوری منجر می شود و به جهت تمایز از مقاومت به تنش اسموتیک و همچنین جهت تشخیص ژن هایی که نمک را از خلال غشا ها عبور می دهند بایستی آزمایشات به گونه ای طراحی شوند که بین تحمل به شوری و تحمل خشکی (که یک جنبه از تنش شوری می باشد) تفاوت قائل شویم [۷۷].

یکی از اثرات شوری که جز اثرات ثانویه آن به شمار می آید تأثیر نمک بر جذب سایر عناصر غذایی است که منجر به عدم توازن غذایی در گیاه تحت تنش می شود. عدم توازن غذایی می تواند در گیاهانی که تحت تنش شوری هستند به چند طریق رخ نماید. اختلالات تغذیه ای ممکن است ناشی از تأثیر شوری بر میزان در دسترس بودن عناصر غذایی، رقابت در جذب، انتقال و یا پخش عناصر در گیاه باشد و یا ممکن است که به وسیله غیر فعال شدن فیزیولوژیکی عناصر غذایی در نتیجه افزایش احتیاجات درونی گیاه برای عناصر ضروری باشد [٤٠].

عمده اثر Na^+ کاهش جذب سایر عناصر غذایی است. زیرا که جذب سایر عناصر در رقابت با Na^+ کاهش می یابد [٦٧]. شوری که به وسیله نمک های Na^+ القا می شود نه تنها میزان دسترسی Ca^{2+} را کاهش می دهد بلکه از انتقال و تحرک Ca^{2+} به اندام های در حال رشد می کاهد و بدین ترتیب کیفیت ارگان های رویشی و زایشی را تحت تأثیر قرار می دهد [٤٦].

شوری می تواند مستقیماً بر جذب عناصر غذایی تأثیر بگذارد مثلا Na^+ جذب K^+ را کاهش می دهد و یا Cl^- از جذب NO^-_3 می کاهد. همچنین شوری می تواند موجب میانکنش های پیچیده ای شود که متابولیسم گیاه را تحت تأثیر قرار داده و بدین ترتیب موجب حساسیت گیاه به صدمات و یا احتیاجات درونی گردد [٤٦]. بر خلاف اثرات ثانویه شوری که ناشی از تأثیر اسمزی یا کمبود مواد غذایی است اثرات اولیه و اصلی تنش مربوط به سمیت نمک می باشد. این اثرات می تواند خارج از غشا پلاسمایی باشد و یا پس از عبور نمک از غشا و ورود به سیتوپلاسم روی دهد. به بیان دیگر وقتی که با صدمات اسمزی ناشی از تنش با جذب نمک مقابله می شود، صدمات اولیه افزایش می یابد .

سمیت نمک ناشی از غلظت بالای درون سلولی Cl^- و Na^+ است که برای سیستم های درون سلولی مضر می باشد. غلظت های بالای نمک (بیش از M ٠/٤) از فعالیت بیشتر آنزیم ها به دلیل از دست رفتن توازن هیدروفوبیک – الکترواستاتیک بین نیروهای نگه دارنده ساختمان پروتئین ها، جلوگیری می کند [٤٦]. با این وجود اثرات سمی نمک روی سلول ها در غلظت های پایین تری (تقریباً m ٠/١) اتفاق می افتد [٩٦].

یون Cl^- توسط گیاهان از محلول های NaCl سریع تر از Na^+ جذب می شود و لذا صدمه ناشی از Cl^- زودتر نمایان می شود و از صدمه ناشی از Na^+ شدیدتر است [٦٧]. یون Cl^- ممکن است که در سایت های غیر یونی که در اتصال به RNA نقش دارند، دخالت نماید و یا با متابولیت هایی همچون بیکر بنات ، کربوکسیلات و قند فسفات واکنش بدهد. از طرف دیگر Na^+ می تواند از فعالیت سایت های کاتیونی که در اتصال به پتاسیم، کلسیم و یا منیزیم نقش دارند جلوگیری کند [٦٧].

١-٣ تحمل شوری

کشف زود هنگام عدم وجود تفاوت بین آنزیم های گیاهان هالوفیت و گلیکو فیت در مقاومت بر علیه غلظت های بالای NaCl، اساس تمام مکانیز م ها و ساز و کار های شناخته شده مقاومت به شوری را تشکیل می دهد[٧٧].

هالو باکتری ها تنها موجوداتی هستند که در سطح مولکولی مقاوم به شوری می باشند [١١٢]. دیگر باکتری ها، تمام گیاهان و کلیه جانوران با توسل به نگهداری شرایطی مشخص و معین در سیتوپلاسم نیاز به مقاومت را به ماکرو مولکول های خود بر طرف می کنند. به عبارت دیگر در این جانداران مقاومت به شوری وابسته به پروتئین و آنزیم های مقاوم به شوری نیست بلکه حفظ یک میکروکلیمای کوچک در سیتوپلاسم که به واسطه کمیت و کیفیت یون های غیر آلی و آلی تنظیم می شود نقش اصلی را در مقاومت آن ها به تنش شوری بر عهده دارد [١١٢].

معمولاً اصطلاح مقاومت به شوری تنها در مورد سیستم های بیولوژیکی که مقاومت به تنش را در سطح مولکولی نهادینه ساخته و از آنزیم های مقاوم به غلظت های بالای نمک برخوردارند به کار می رود. نکته جالب توجه در مورد آنزیم های مذکور این است که این آنزیم ها جهت کسب ساختمان فعال بیولوژیکی به محیطی با غلظت های بالای یون های Na^+ و Cl^- نیازمندند و در صورت فراهم نشدن چنین محیطی قادر به انجام وظیفه خود نمی باشند.

سایر جانداران که از چنین آنزیم هایی برخوردار نیستند روش های دیگری در پیش گرفته اند که کارآیی آن ها چندان کمتر از آنزیم های مقاوم هالوباکتری ها نیست. این مکانیزم ها که به شدت های مختلف از هالوفیت های ساکن مرداب های شور گرفته تا گیاهان گلیکوفیت حساس به نمک وجود دارد، مبتنی بر دفع نمک، دور نگه داشتن آن از آنزیم ها و ماکرو

مولکول های درون سلول است. چنین مکانیزم هایی در حقیقت به صورت مدارا با نمک و تحمل آن ظاهر می شود و کاربرد اصطلاح تحمل شوری در مورد چنین مکانیزم هایی در منابع معمول تر است.

۱-٤ مکانیزم های مقاومت به شوری

مکانیزم های مقاومت به شوری در گیاه در سه سطح می تواند روی دهد : کل گیاه، در سطح سلولی و در سطح مولکولی [۷۷]. در سطح سلولی تصویر نسبتاً روشن تری از ساز و کار مقاومت وجود دارد اما در سطح گیاه کامل نحوه مقابله پیکر گیاه با پدیده شوری هنوز به طور کامل مفهوم نیست [۲].

۱-٤-۱کنترل نمک در سطح کل گیاه

تحمل نمک بستگی به توانایی گیاه برای کنترل انتقال نمک در ۵ نقطه از گیاه دارد :

۱- انتخاب در جذب توسط سلول های ریشه ؛ هنوز روشن نیست که چه نوع سلول هایی انتخاب پذیری یون ها از محلول خاک را کنترل می کنند. جذب ابتدایی Na^+ و Cl^- می تواند در اپیدرم ، اگزودرم ، و یا در صورت جریان یافتن محلول خاک در عرض کورتکس این کنترل می تواند در سلول های آندو درم انجام شود .

۲- بارگیری در آوند های چوبی ؛ شواهدی مبنی بر ترجیح بارگیری K^+ نسبت به Na^+ توسط سلول های استوانه مرکزی وجود دارد.

۳- حذف نمک از آوند چوبی در قسمت های بالای ریشه ، استوانه مرکزی دمبرگ یا غلاف ؛ در بسیاری از گونه ها Na^+ در قسمت های بالایی سیستم ریشه و در قسمت های پایینی ساقه نگهداری می شود که بیانگر تعویض K^+ برای Na^+ توسط سلول های استوانه مرکزی ریشه یا غلاف آوندی در استوانه مرکزی یا دمبرگ می باشد.

٤- بار گیری در آوند های آبکشی ؛ انتقال اندکی از Na^+ یا Cl^- در آوند های آبکشی مخصوصاً در گونه های مقاوم وجود دارد. این مسأله تأکید می کند که نمک به بافت های در حال رشد ساقه حمل نمی شود.

۵- دور ریختن و دفع نمک به غده ها یا خار های نمکی ؛ که تنها هالوفیت ها دارای این سلول های تخصصی می باشند.

تمامی هالوفیت ها به خوبی مکانیزم هایی را جهت کنترل، جذب، انتقال و دفع نمک توسعه داده اند. گلیکوفیت ها تنها به سه مکانیزم اول مسلح هستند و این مکانیزم ها را به درجات مختلف بیان می کنند [۷۷].

۱-٤-۲کنترل نمک در سطح سلول

شواهدی برای سازگاری آنزیم ها در حضور نمک وجود ندارد [۷۷] لذا مکانیزم هایی که برای تحمل در سطح سلولی وجود دارد شامل دور نگه داشتن نمک از سیتو پلاسم و انتقال آن به واکوئل های سلول می شود. وظیفه مکانیزم دفع نمک، کاهش سرعت تجمع نمک در اندام های تعرق کننده است. با این وجود برگ ها به طور نا محدود نمی توانند در محیط شور در امان بما نند. نمکی که در سیستم تعرقی گیاه حمل می شود زمانی که آب تبخیر می گردد در برگ ها جمع می شود و بدین ترتیب غلظت نمک در طی زمان در برگ ها افزایش می یابد. بنابراین غلظت نمک در یک مقطع زمانی خاص در برگ های پیر نسبت به برگ های جوان بیشتر خواهد شد و نهایتاً منجر به مرگ سلول ها خواهد گردید.

مکانیزم های تحمل شوری در سطح سلولی دارای دو شکل اصلی است [۷۷]. آن هایی که از میزان ورود سدیم می کاهند(هموستازی یونی) و آن هایی که غلظت سدیم را در سیتو پلاسم کاهش می دهند(جا سازی یونی). هالوفیت ها از هر دو مکانیزم برخوردارند. این گیاهان به خوبی نمک را دفع می کنند و نیز به طور مؤثری نمک وارد شده را در درون واکوئل ها جا می دهند. این امر به آن ها اجازه می دهد تا مدت مدیدی در خاک های شور رشد کنند. برخی گلیکوفیت ها نیز نمک را به خوبی دفع می کنند اما قادر به جا دادن نمک اضافه جذب شده در واکوئل ها به خوبی هالوفیت ها نیستند [۷۷]. شکل ۱ – ۱ مکانیزم انتقال Na^+ به واکوئل و نحوه هموستازی آن را در سلول نمایش می دهد .

جا دادن یون ها در واکوئل

یون های سدیم و کلر بایستی به خوبی در واکوئل های سلول ذخیره شوند تا از بقیه محیط سلولی جدا گردند. این مسأله در بیشتر گونه های گیاهی اتفاق می افتد چرا که مشاهده شده در برگ هایی که از غلظت بالایی از نمک دارند، آنزیم ها هنوز فعال هستند در حالی که همین غلظت ها در محیط های آزمایشگاهی به شدت از فعالیت آنزیم ها جلوگیری می کند. اگر که بنا باشد سدیم و کلر به واکوئل های سلول وارد شوند ، K^+ و دیگر محلول ها بایستی جهت حفظ فشار اسمزی در سیتو پلاسم جمع شوند.

ماشین سیتوزولی و اندامک های گلیکوفیت ها و هالوفیت ها به یک نسبت به Na^+ و Cl^- حساس هستند. لذا در این بخش ها تنظیمات اسموتیک به وسیله تجمع اسمولیت ها و اسمو پروتکتان ها انجام می شود. برخی از اسمولیت های سازگار ، یون های ضروری همچون K^+ هستند اما اکثر آن ها جزء محلول های آلی می باشند. تجمع محلول ها در پاسخ به تنش اسمزی فرایندی فراگیر در تمامی موجودات از باکتری ها گرفته تا جانوران است. با این حال نوع این مواد در بین جانداران و حتی بین گیاهان تفاوت می کند.

گروه اصلی محلول های اسموتیک از قند های ساده (بیشتر فروکتوز و گلوکز) ، قند های مرکب (تروهالوز ، رافینوز و فروکتان ها) تشکیل می شود [۱۱٦]. گروه های دیگر شامل مشتقات چهار واحدی اسید های آمینه (پرولین ، گلایسین بتائین ، بتا آلانین بتائین ، پرولین بتائین)، آمین های سه تایی (۱ ، ٤ ، ٥ ، ٦ – تتراهیدرو – ۲ – متیل – ٤ – کربوکسیل پیرمیدین) و ترکیبات سولفونیم (کولین – ۱ – سولفات – دی متیل سولفونیوم پروپیونات) می شوند [۱٦]. تصور می شود که بسیاری از اسمولیت های آلی اسموپروتکتانت باشند چرا که سطوح تجمع آن ها برای تنظیمات اسمزی ناکافی به نظر می رسد. علاوه بر این بسیاری از اسموپروتکتانت ها تحمل به تنش را در گیاهان ترا ریخته افزایش می دهند [۱٦]. وظیفه بیوشیمیایی اسمو پروتکتانت ها زدودن گونه های فعال اکسیژن که در نتیجه استرس های یونی و اسمزی تولید می شوند و موجب از کار افتادن غشا و مرگ سلول هستند ، می باشد [۷۸].

هموستازی یون

تنش شوری موجب گسیختگی در هموستازی پتانسیل آب و توزیع یونی می گردد. این گسیختگی در هموستازی در هر دو سطح سلولی و کل گیاه روی می دهد. تغییرات وسیع در هموستازی یون و آب موجب صدمات مولکولی، توقف رشد و حتی مرگ گیاه می گردد [۱۱٤].

برقراری هموستازی در محیط استرس زای جدید، استراتژی مناسبی جهت رسیدن به مقاومت بیشتر برای گیاهان است. بنابراین هر دو هموستازی یونی و آبی بایستی به گیاه بازگردانده شود. انتقال دهنده های یونی مختلف تعیین کننده نهایی

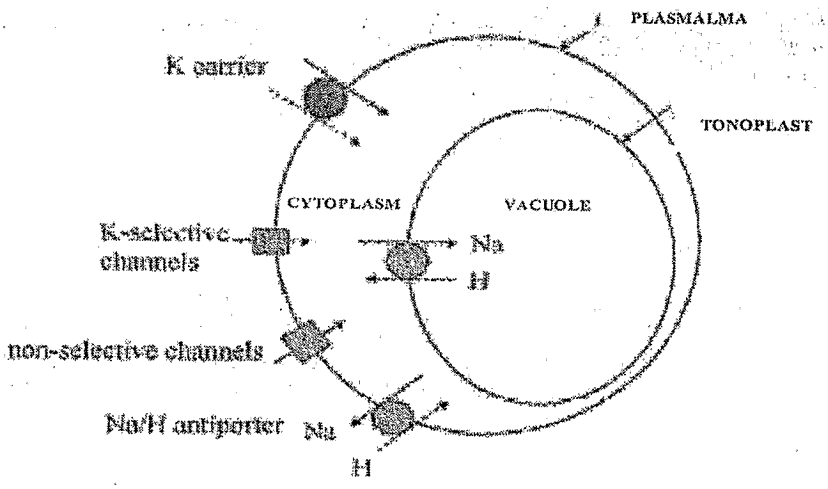
هموستازی یونی می باشند. به این دلیل که Na^+ از فعالیت بسیاری از آنزیم ها جلوگیری می کند، ممانعت از تجمع بیش از حد آن در سیتو پلاسم یا ارگانل های سلولی غیر از واکوئل مهم به نظر می رسد. جهت نیل بدین مقصود از ورود Na^+ بایستی جلوگیری به عمل آید و یا کاسته شود.

یکی از اهداف مهم مطالعاتی که در زمینه مقاومت به شوری انجام می شود، تعیین انتقال دهنده هایی است که در ورود سدیم به گیاه سهیم هستند، تا بتوان راهی پیدا کرد که با مسدود نمودن آن ها از جریان سدیم به داخل گیاه جلوگیری نمود. انتشار سدیم به خارج و جادهی آن در واکوئل در نگهداری غلظت پایین سدیم در سیتو پلاسم بسیار مؤثر است.

برخلاف سلول جانوری که دارای Na^+ / K^+ ATPase هستند و یا قارچ ها و یا شاید برخی جلبک های سلولی که دارای Na^+ ATPase برای بیرون راندن سدیم هستند، گیاهان دارای آنتی پورتر های H^+ / Na^+ در وزیکول های غشایی غشای پلاسمایی می باشند [۱۱٦]. دیگر کاندیدی که جذب Na^+ را تسهیل می کند عضوی از خانواده HKT از ناقل های پتاسیم است که فعالیت انتقال دهندگی متفاوتی را برای Na^+ بیان می کند [۹٦].

غشای واکوئل ها (تونو پلاست) نیز دارای آنتی پورتر های H^+ / Na^+ هستند که با آنتی پورتر های غشای پلاسمایی سلول تفاوت هایی از نظر نحوه عمل و ویژگی های شیمیایی دارند. آنتی پورتر تونوپلاست (NHX 1) با تعویض H^+ در برابر Na^+، سدیم را وارد واکوئل می کند بدین ترتیب موجب افزایش گرادیان pH در دو سوی تونوپلاست می گردد. آنتی پورتر H^+ / Na^+ غشای پلاسمایی (SOSI) نیز با وارد کردن یون H^+ در برابر خارج ساختن یون Na^+ موجب دفع سدیم از سیتو پلاسم و کاهش pH درون سلول می گردند. پروتئین های SOSI،NHX1 متعلق به خانواده ای از آنتی پورتر های Na^+ / H^+ هستند که قبلاً در جانوران (آنتی پورتر های NHE با فعالیت Na^+ / H^+)، باکتری ها (آنتی پورترهای NHA) و قارچ ها (آنتی پورتر های SOD / NHA،NHX) شناخته شده بودند [۹٦].

جنبه مهم آنتی پورتر های گیاهی نحوه توزیع آن ها در بافت ها است. بیان SOSI در سلول هایی که آوند های آبکشی را احاطه کرده اند شدیدتر است واحتمالاً در بارگیری آوند های چوبی نیز نقش دارند [۹٦]. در طی تنش شوری ، Na^+ با K^+ در جذب شدن توسط سیستم های انتقال مشترک رقابت می کند [۱۱٤] و از آن جا که Na^+ در محیط های شور به میزان چشمگیری بیشتر از K^+ است این رقابت به نفع Na^+ موجب ورود میزان زیادی سدیم به داخل سلول می شود. سدیم وارد شده بایستی از غشا پلاسمایی دفع شده و نیز در واکوئل جاسازی شود. این مسأله نیازمند تشدید فعالیت آنتی پورتر های Na^+ غشا پلاسمایی و تونوپلاست می باشد.



شکل ۱-۱: مکانیزم انتقال Na^+ در گیاهان عالی : تنظیم جذب سدیم توسط پلاسمالما ناشی از اعمال محدودیت در جذب ناقلین انتخابی کاتیونی و کانالها همراه با دفع سدیم توسط آنتی پورترها است. آنتی پورتر های واقع در تونوپلاست ، سدیم را از سیتوپلاسم زدوده و وارد واکوئل می کنند.

۱-٤-۳ مقاومت به شوری در سطح مولکولی

در سال های اخیر استفاده از تکنیک های مولکولی انقلابی در تحقیقات کشاورزی ایجاد کرده است. از دهه ۱۹۸۰ بدین سوی علاوه بر شناسایی برخی ژن ها و مکانیزم های پاسخ دهنده به تنش، با استفاده از تکنولوژی DNA نوترکیب، ژن های متعددی به گیاهان وارد شده است. در سال های بعد، تکنیک های آنالیز پروتئین، تشخیص، جدا سازی و کلونینگ و تعیین خصوصیت ژن ها، آنالیز پروموتور ها، ترانسفورماسیون و تحقیقات جدید در زمینه ژنومیکس و پروتئومیکس سهم عمده ای در پیشرفت بیولوژی مولکولی داشته است. این پیشرفت ها منجر به تولید گیاهان تراریخت با صفات متنوع شده است. امروزه موضوع تولید گیاهان مقاوم به تنش های غیر زنده که مقاومت پایداری نسبت به سطوح بالای تنش داشته باشند از طریق مهندسی ژنتیک توجه زیادی را به خود معطوف داشته است.

اطلاعات فراوانی در مورد پروتئین های پاسخ دهنده به تنش که به طور اختصاصی در پاسخ به استرس های غیر زنده القا می شوند، به دست آمده است. کتابخانه های غنی برای کلون های cDNA مربوط به تنش در مورد چندین گونه، شناخته شده است. دسترسی به کلون های ژن های مربوط به تنش کمک به تشخیص توالی های پروموتور آن ها نموده است. با در دست داشتن کلون از c DNA هایی که بیش از دقیقه ای عمر نمی کنند و در کتابخانه های ژنی جمع شده اند، تشخیص ژن های کد کننده فاکتور های رونویسی و پروتئین های مؤثر در سیگنال دهی تنش ممکن گشته است.

۱-۵ نقش پرولین در مقاومت به شوری

عکس‌العملهای سازگاری نسبت به شوری و خشکی در بین گیاهان آوندی، جلبک ها، قارچ ها، باکتری ها، پروتوزوآ، بی‌مهرگان دریایی و سخت پوستان با انباشتن متابولیت هایی که شامل ترکیبات ازت دار (پرولین، آمینو اسیدها، پلی آمین ها) و ترکیبات هیدروکسیل‌دار (ساکاروز، اولیگو ساکاریدها و پلی اوزها) می‌باشند، انجام می‌گیرد [٤٨]. از آنجا که این متابولیت