بسم الله الرحمن الرحيم

دانشکده کشاورزی

بخش مهندسی بیوتکنولوژی

پایان‌نامه برای دریافت درجه‌کارشناسی ارشد رشته مهندسی بیوتکنولوژی

جداسازی بخشی از ژن SOS_1 از گیاه کالارگراس (*Leotochloa fusca*) و بررسی برخی معیارهای فیزیولوژیکی آن در پاسخ به تنش شوری

مؤلف:

بنفشه طاهری نیا

استاد راهنما:

دکتر حمیدرضا کاوسی

بهمن ماه ۱۳۹۱

این پایان نامه به عنوان یکی از شرایط درجه کارشناسی ارشد به

بخش بیوتکنولوژی

دانشکده کشاورزی

دانشگاه شهید باهنر کرمان

تسلیم شده است و هیچگونه مدرکی به عنوان فراغت از تحصیل دوره مزبور شناخته نمی‌شود.

دانشجو: بنفشه طاهری نیا

استاد راهنمای اول: دکتر حمیدرضا کاوسی

داور ۱ : دکتر جعفر ذوالعلی

داور ۲ : دکتر شهرام پورسیدی

نماینده تحصیلات تکمیلی دانشکده: دکتر مهدیه اسدی

معاون آموزشی و پژوهشی دانشکده: دکتر مجید رحیم پور

حق چاپ محفوظ و مخصوص به دانشگاه شهید باهنر کرمان است.

تقدیم به پدر و مادرم

خدای را بسی شاکرم که از روی کرم، پدر و مادری فداکار نصیبم ساخته تا در سایه درخت پربار وجودشان بیاسایم و از ریشه آنها شاخ و برگ گیرم و از سایه وجودشان در راه کسب علم و دانش تلاش نمایم. والدینی که بودنشان تاج افتخاری است بر سرم و نامشان دلیلی است بر بودنم، چرا که این دو وجود، پس از پروردگار، مایه هستی‌ام بوده‌اند، دستم را گرفتند و راه رفتن در این وادی زندگی پر از فراز و نشیب را به من آموختند. آموزگارانی که برایم زندگی، بودن و انسان بودن را معنا کردند.

تشکر و قدردانی:

پروردگارا

تو را سپاس، به خاطر آنچه که به نام هستی به ما دادی

تو را سپاس، که دوست داشتن و عاطفه را در قلبمان به وسعت دریا نهاده‌ای

خداوندا، تو را شاکریم که گنجینه عقل و قدرت تفکر و تدبر را دادی تا به واسطه‌ی آن آدمی، انسان شود و در دریای عشق به تو پروردگارم، خود را به امواج خروشان هستی بسپارد و جاوید گردد.

بر خود واجب می‌دانم که از آقای دکتر کاوسی در خصوص انجام این پایان‌نامه تقدیر و تشکر نمایم.

از اساتید محترم جناب آقای دکتر ذوالعلی و جناب آقای دکتر پورسیدی که زحمت مطالعه و داوری این رساله را بر عهده داشتند، سپاس‌گزارم. آشنایی با این بزرگواران در طی این مدت، مایه خرسندی و افتخار اینجانب می‌باشد.

با تقدیر و درود فراوان خدمت پدر و مادر بسیار عزیز، دلسوز و فداکارم که پیوسته جرعه‌نوش جام تعیلم و تربیت، فضیلت و انسانیت آنها بوده‌ام و همواره چراغ وجودشان روشنگر راه من در سختی‌ها و مشکلات بوده است. و سپاس بیکران بر همدلی و همراهی و همگامی برادر دلسوزم که مرا صمیمانه و مشفقانه یاری داده‌اند. و با تشکر خالصانه خدمت دوستان گران‌مایه و همه کسانی که به نوعی مرا در به انجام رساندن این مهم یاری نموده‌اند.

چکیده:

تنش شوری از مهمتری‌ن تنش‌های غی‌رزی‌ستی است که اثرات زی‌ان‌باری بر عملکرد گی‌اه و کی‌فی‌ت محصول دارد،هالوفیت‌ها که حدود ۱٪ پوشش گیاهی جهان را تشکیل می‌دهند، گیاهانی هستند که برای تولیدمثل در شرایط محیطی در جایی که غلظت‌شوری در حدود دویست میلی‌مولار نمک و یا بیشتر می‌باشد، سازگاری پیدا کرده‌اند. کالارگراس گی‌اهی هالوفی‌ت با نام علمی *Leptochloa fusc*a (L.) Kunth متعلق به خانواده Poaceae ی‌ا Graminaceae می‌باشدکه نمک اضافی را از طری‌ق غددنمکی سطح برگ دفع می‌کند. مکانیسم‌های تحمل به تنش شوری در هالوفیت‌ها شامل:

جای‌گذاری نمک، غدد نمکی، شادابی، تولی‌د اسمولی‌ت، انتقال انتخابی، تنظیم انتقال سدیم به اندام هوایی ، پاسخ‌های جوانه زنی، پاسخ‌های آنزی‌می، سازش اسمزی و ترشح نمک می‌باشد. مسیر SOS یکی از مسیرهای مهم دفاعی گیاهی در برابر تنش شوری محسوب می‌شود، ی‌کی از ژن‌های مهم در ای‌ن مسی‌ر ژن SOS_1 می‌باشد که ای‌ن ژن کدکننده یک آنتی‌پورتر Na^+/H^+ است که سبب انتقال ی‌ون سدی‌م از سی‌توپلاسم به فضای خارج سلولی می‌شود. در این مطالعه جداسازی بخشی از ژن کدکننده آنتی‌پورتر Na^+/H^+ غشاء پلاسما از گی‌اه کالارگراس و بررسی برخی از پارامترهای بی‌وشی‌می‌ائی در پاسخ به تنش شوری انجام شد، بر اساس مشاهدات بدست آمده از اندازه‌گی‌ری پارامترهای بی‌وشی‌می‌ای‌ی می‌توان نتی‌جه گرفت که گی‌اه کالارگراس می‌زان نمک بی‌ش از ۳۰۰ می‌لی‌مولار را نمی‌تواند تحمل کند.

کلمات کلیدی: SOS_1، تنش شوری، میزان نمک، فعالیت‌های آنزیمی و غیرآنزیمی.

فهرست مطالب

عنوان **صفحه**

فصل اول: مقدمه

۱-۱ مقدمه ۲

فصل دوم: مروری بر منابع

۲-۱- مقدمه‌ای بر معرفی گیاه کالارگراس ۶

۲-۲- تعریف تنش و دسته بندی تنش‌ها ۸

۲-۳- تنش شوری و شوری خاک ۸

۲-۴- مبانی اصلی برای سمیت Na^+ ۱۶

۲-۵- هالوفیت‌ها ۱۷

۲-۶- کشت گیاهان هالوفیت در شرایط تنش شوری ۱۸

۲-۷- مکانیسم‌های تحمل به تنش شوری هالوفیت‌ها ۱۹

۲-۷-۱- ترشح نمک ۲۰

۲-۷-۲- ریزش ۲۰

۲-۷-۳- شادابی ۲۱

۲-۷-۴- سنتز محلول‌های سازگار(اسمولیت‌ها) ۲۱

۲-۷-۴-۱- پرولین ۲۱

۲-۷-۴-۲- گلایسین بتائین ۲۲

۲-۷-۵- پاسخ‌های جوانه‌زنی ۲۲

۲-۷-۶- غددنمکی ۲۳
۲-۷-۶-۱- ساختار غددنمکی و ورود نمک به غدد ۲۳
۲-۷-۷- جایگذاری داخل سلولی ۲۴
۲-۷-۸- تنظیم انتقال Na^+ به اندام‌هوایی ۲۴
۲-۷-۹- خروج Na^+ از ریشه ۲۵
۲-۸- مکانیسم دفع نمک در خانواده گرامینه ۲۵
۲-۹- مکانی‌سم فی‌زی‌ولوژی‌کی ترشح نمک در کالارگراس ۲۷
۲-۱۰- مسیر SOS ۲۷
۲-۱۱- تحقیقات انجام شده ۲۹
۲-۱۲- پاسخ‌های دفاعی در برابر تنش اکسیداتیو ۳۱
۲-۱۲-۱- کاتالاز ۳۱
۲-۱۲-۲- پراکسیدازها ۳۲
۲-۱۳- مکانیسم‌های غیرآنزیمی ۳۲
۲-۱۳-۱- کاروتنوئیدها ۳۲

فصل سوم: مواد و روش‌ها

۳-۱- مواد گیاهی ۳۵
۳-۲- جداسازی قطعه داخلی ژن SOS_1 ..... ۳۵
۳-۲-۱- استخراج RNA ۳۵
۳-۲-۱-۱- بررسی کمی و کیفی RNA استخراج شده ۳۵
۳-۲-۱-۲- ساخت DNA مکمل (cDNA) ۳۵
۳-۳- واکنش PCR ۳۶

۳-۴- طراحی آغازگر ۳۸
۳-۵- آماده سازی نمونه‌ها جهت تعیین توالی نوکلئوتید ۳۸
۳-۶- اندازه‌گیری مقدار رنگیزه‌های گیاهی و آنزیم‌ها ۳۸
۳-۶-۱- سنجش مقدار کلروفیل و کاروتنوئید ۳۸
۳-۶-۲- سنجش فعالیت آنزیم کاتالاز ۳۹
۳-۶-۳- سنجش فعالیت آنزیم پراکسیداز ۳۹

فصل چهارم: نتایج و بحث

۴-۱- تعیین توالی قطعه داخلی ژن SOS_1 جداسازی شده از کالارگراس ۴۱
۴-۲- توالی نوکلئوتیدی ژن SOS_1 ..... ۴۲
۴-۳- توالی اسیدآمینه ژن SOS_1 ..... ۴۳
۴-۴- تعیین کیفیت و کمیت RNA استخراج شده ۴۳
۴-۵- نتیجه هم‌ردی‌فی چندگانه ۴۳
۴-۶-اندازه‌گیری میزان کلروفیل a، کلروفیل b،کلروفیل کل: ۴۶
۴-۷- بررسی اثرات متقابل تیمارهای زمان و شوری بر میزان کلروفیل a ، b و کلروفیل کل ۴۷
۴-۸- اندازه‌گیری میزان کاروتنوئید و بررسی اثر متقابل زمان و شوری بر میزان کاروتنوئید ۵۲
۴-۹- میزان فعالیت کاتالاز و پراکسیداز طی اعمال تنش در گیاه کالارگراس ۵۵
۴-۱۰- بررسی اثر متقابل تیمارهای زمان و شوری بر میزان آنزیم کاتالاز و پراکسیداز ۵۱
پیشنهادات ۵۷
منابع ۵۸

فصل اول

مقدمه

۱-۱- مقدمه:

جمعیت ساکن کره زمین در حال حاضر ۶ میلیارد نفر می‌باشد که با رشد ۱/۷٪ در حال افزایش است. برای تأمین غذای مورد نیاز جمعیت رو به رشد کره زمین، بایستی سطح زیر کشت در واحد سطح را بالا برد و از ضایعات و تلفات محصولات کشاورزی نیز جلوگیری بعمل آورد. گیاهان در طول دوره رشد با انواع مختلفی از تنش‌ها مواجه می‌باشند که تنش‌شوری یکی از گسترده‌ترین تنش‌های خسارت‌زای مناطق خشک و نیمه‌خشک بوده، ولی در مناطق نیمه‌مرطوب نیز وجود دارد. بیش از ۸۰۰ میلیون هکتار از خشکی‌های سرتاسر دنیا تحت تأثیر نمک قرار دارند، هم به صورت شوری (۳۹۷ میلیون هکتار) یا شرایط متأثر از شوری (۴۳۴ میلیون هکتار) (فائو[1]،۲۰۰۵). این میزان بیش از ٪۶ کل مساحت خشکی‌های دنیا را شامل می‌شود.

اغلب خاک‌های شور و قلیا، طبیعی هستند، ولی بخش عمده‌ای از زمین‌های کشاورزی مورد کشت بواسطه تسطیح اراضی یا آبیاری شور شده‌اند. بر اساس آخرین آمار منتشر شده نزدیک به ٪۵۰ از کل سطح زیر کشت موجود در کشور ما به درجات مختلف با مشکل شوری، قلیایی بودن و غرقابی بودن روبرو است و پیش‌بینی می‌شود که در آینده این میزان تا ٪۷۵ کل اراضی پیشروی کند. (پریدا و داس[2]، ۲۰۰۵؛ پروایز و ساتیاواتی[3]، ۲۰۰۸). شوری هرساله خسارت‌های زیادی به گیاهان زراعی در جهان به ویژه ایران وارد می‌نماید. اکثر گیاهان زراعی به تنش شوری حساس هستند و نمی‌توانند در شرایط شوری بسیار حاد، زنده بمانند و در صورت زنده ماندن، میزان عملکرد آن‌ها، کاهش پیدا می‌کند.

اثرات مخرب شوری ممکن است شامل خشکی فیزیولوژیکی، عدم توازن تغذیه‌ای، سمیت بیش از اندازه یون‌های Na^+ و Cl^- به سمت سلول و ترکیبی از این فاکتورها باشد (داس[4] و همکاران، ۱۹۹۲؛ میسرا[5] و همکاران، ۲۰۰۶؛ اولین[6] و همکاران، ۲۰۰۹). این اثرات زیان‌آور، تنش‌های ثانویه‌ای مثل تنش اکسیداتیو را ایجاد کرده که منجر به تولید اشکال فعال اکسیژن (ROS)[7]، مثل هیدروژن پراکسید (H_2O_2)، رادیکال‌های هیدروکسیل (OH^-) و یون‌های سوپرپراکسید (O_2^-) می‌گردد. این اشکال فعال اکسیژن از طریق خسارت اکسیداتیو چربی‌ها،

[1] Food and Agricalture Organization
[2] Parida and Das
[3] Parvaiz and Satyawati
[4] Das
[5] Misra
[6] Evelin
[7] Reactive Oxygen Species (ROS)

پروتئین‌ها و اسیدهای نوکلئیک می‌توانند متابولیسم طبیعی را تخریب کنند (تانک-ازدمیر[1] و همکاران، ۲۰۰۹).

اصلاح خاک، زهکشی و کنترل آب اگرچه قادر به تقلیل میزان و گسترش خاک‌های شور است با این حال هزینه‌های مهندسی آن بالاست. یکی دیگر از راه‌ها، ایجاد گیاهان متحمل به شوری از طریق روش‌های مرسوم اصلاح نباتات است. بهبود صفات متحمل به شوری، به این دلیل که این نوع صفات کمی هستند و توسط تعداد زیادی ژن کنترل می‌شوند، از طریق اصلاح نباتات کلاسیک با مشکلاتی همراه است که بخشی از این مشکلات با بکارگیری روش‌های نوین بیوتکنولوژی و مهندسی ژنتیک مرتفع می‌شود .

در زمینه بیوتکنولوژی شناخت ژن‌های دخیل در تحمل به شوری از منابع مناسب یکی از رویکردهای ابتدایی در زمینه تولید گیاهان متحمل به شوری است.

هالوفیت‌ها که حدود ٪۱ پوشش گیاهی جهان را تشکیل می‌دهند، گیاهانی هستند که برای تولیدمثل در شرایط محیطی در جایی که غلظت شوری در حدود دویست میلی مولار نمک و یا بیشتر می‌باشد، سازگاری پیدا کرده‌اند. این گیاهان به دلیل یکسری مزیت‌های ژنتیکی و مورفولوژیکی، بهترین منبع برای ژن‌های متحمل به شوری هستند (فلوورس و کولمر[2]، ۲۰۰۸).

از جمله گیاهان هالوفیت، گیاه کالارگراس می‌باشد که از گیاهان مقاوم به تنش شوری است که در این تحقیق مورد بررسی قرار خواهد گرفت. این گیاه بومی پاکستان است و رشد این گیاه نه تنها فراهم کننده بیوماس جهت استفاده بعنوان علوفه می‌باشد بلکه شرایط فیزیکی خاک را بهبود بخشیده و تصفیه و شستشوی نمک را تسریع می‌بخشد.

بطور کلی مکانیسم‌های به حداقل رساندن خسارت ناشی از شوری در گیاهان بالا شامل: ۱- کاهش ورود اولیه (به حداقل رساندن ورود) ۲- افزایش میزان خروج ۳- به حداقل رساندن بارگیری در آوند چوب یا به حداکثر رساندن بازیابی قبل از رسیدن به شاخه‌ها ۴- به حداکثر رساندن گردش دوباره از شاخه به آوند آبکش ۵- به حداکثر رساندن جایگذاری یا تخصیص درون سلولی به بخش‌های خاص از اندام هوایی (مثلا سلولهای مغز و یا برگ‌های پیر)و ۶- ترشح نمک به سطح برگ می باشد، در تمام این مکانیسم‌ها آنتی پورترهایی از قبیل: NHX ، HKT_1 ، AKT_1 و SOS_1 و ... نقش دارند .

تنظیم هموستازی یون در درون سلول یکی از جنبه‌های مهم در مقاومت به تنش شوری است. یکی از پاسخ‌های اولیه سلول‌های گیاهی به تنش شوری، افزایش غلظت یون کلسیم در سیتوسول

[1]Tunc-Ozdemir
[2]Colmer

و متعاقب آن فعال‌سازی سنسورهای پروتئینی یون کلسیم است. شناسایی سیستم SOS (حساسیت بسیار زیاد به شوری[1]) توضیح مناسبی از سیستم پیام‌رسانی سلول در پاسخ به تنش یونی و دخالت یون کلسیم در این فرآیند می‌باشد. آنالیز مولکولی منجر به شناسایی ۳ پروتئین درگیر در این سیستم به نام‌های SOS_1 ، SOS_2 و SOS_3 شده است که یک پیام کلسیم القا شده بوسیله تنش یونی را به هموستازی یونی متصل می‌کند. پروتئین SOS_3 یک سنسور یون کلسیم و یک عنصر ضروری در دریافت یون کلسیمی است که توسط تنش شوری القا شده است. ژن SOS_3 یک پروتئین متصل شونده به یون کلسیم را کد می‌کند. پروتئین SOS_2 یک سرین/ترئونین پروتئین کیناز است که دارای یک دومین کاتالیز کننده و یک دومین تنظیم کننده می‌باشد. پروتئین SOS_3 از طریق دومین تنظیم کننده با SOS_2 وارد واکنش می‌شود که ارتباط بین SOS_3 و SOS_2 به گونه‌ای است که دومین کاتالیزکننده پروتئین SOS_2 فعال می‌شود و سبب می‌شود که برای سوبسترا که همان SOS1 می‌باشد (بر روی غشاء پلاسمایی قرار دارد) قابل دسترس شود. نهایتاً SOS_1 نیز فعال می‌شود. ژن SOS1 که کدکننده یک آنتی‌پورتر Na^+/H^+ غشاءپلاسما است، باعث خروج یون سدیم از سیتوسول به فضای آپوپلاست می‌شود.

هدف از این تحقیق جداسازی بخشی از ژن SOS_1 از گیاه هالوفیت کالارگراس *Leptochloa fuscaa*، به منظور معرفی آن در ایجاد سازواره‌های ژنی برای تولید گیاه تراریخت متحمل به شوری می‌باشد ، همچنین برخی از پارامترهای فیزیولوژیکی نظیر کلروفیلa، کلروفیلb، کلروفیل کل، کاروتنوئید، پروتئین، فعالیت آنزیم کاتالاز، پراکسیداز گیاه کالارگراس نیز در پاسخ به تنش شوری بررسی خواهد شد.

[1]Salt Overly Sensitive

فصل دوم

مروری بر منابع

۲-۱- مقدمه‌ای بر معرفی گیاه کالارگراس:

ای‌ن گی‌اه با نام علمی *Leptochloa fusc*a (L.) Kunth دارای ۲x=۲n=۲۰ کروموزوم و متعلق به خانواده Poaceae ی‌ا Graminaceae می‌باشد. ی‌ک گراس C_4 می‌باشد و برای فتوسنتز بهینه به دمای بالا نی‌از دارد (کوروشی و همکاران،۱۹۸۲).

مقاومت ای‌ن گی‌اه به شوری برای اولی‌ن بار به وسی‌له کوروشی و همکاران گزارش شده است. مقاومت کالارگراس به شوری به دلی‌ل توانای‌ی ای‌ن گی‌اه در کنترل غلظت سدی‌م و کلری‌د داخل برگ‌ها می‌باشد. ساندهو[1] و همکاران اشاره کردند که در شرای‌ط شوری ای‌ن گی‌اه به صورت انتخابی سدی‌م و کلری‌د را از برگ‌ها به بی‌رون دفع می‌کند در حالی که محتوی پتاسی‌م در اندام‌های هوای‌ی به صورت ثابت باقی می‌ماند. مکانی‌سم غالب در ای‌ن گی‌اه در واقع ترشح نمک از طری‌ق غده‌های نمکی سطح برگ و عمدتا به صورت اسی‌دهای آلی می‌باشد (جوشی[2] و همکاران،۱۹۸۳). مدت‌ها بعد مشخص گردی‌د که ترشح از طری‌ق ری‌شه به همان اندازه اندام هوای‌ی اهمی‌ت دارد. هر چند در رابطه با مکانی‌سم مقاومت ای‌ن گی‌اه به شوری تحقی‌قاتی صورت گرفته ولی با توجه به تحمل می‌زان بالای شوری از ی‌ک طرف و نی‌ز مکانیسم‌های تثبی‌ت نیتروژن در شرای‌ط شوری از طرف دی‌گر، انجام تحقی‌قات فی‌زی‌ولوژی‌کی و مولکولی جهت پی‌بردن به مکانی‌سم‌های مقاومت لازم به نظر می رسد. گی‌اه کالارگراس به عنوان ی‌ک گی‌اه تطبی‌ق پذی‌ر و هالوفی‌تی‌ک که تکثی‌ر آن به آسانی صورت می پذی‌رد، دارای پتانسی‌ل بالای تولی‌د بی‌وماس بوده و می تواند در شرای‌ط محی‌طی خاک‌های شور، زمی‌ن‌های مرتفع و غی‌رمرتفع به خوبی رشد کند (ظفر[3] و مالیک،۱۹۸۴).

در طبی‌عت ی‌ک گی‌اه دوساله ی‌ا چندساله است. تکثی‌ر ای‌ن گی‌اه از طری‌ق بذر، قلمه ساقه، ری‌زوم ی‌ا قطعه‌ای از ری‌شه است. رشد ای‌ن گراس در آب و هوای داغ و فصل باران‌های موسمی می‌باشد (ی‌ک گی‌اه ترموفی‌ل محسوب می‌شود). در خاک‌های شور سدی‌می دارای سیستم ریشه گسترده و فیبری می‌باشد (جوشی و همکاران،۱۹۸۱). رشد ای‌ن گراس در خاک نرمال بهتر از خاک شور است ولی در خاک‌های طبی‌عی و نرمال ای‌ن گی‌اه نمی‌تواند با دی‌گر گونه‌ها رقابت کند و بواسطه رشد روی‌شی دی‌گر گی‌اهان بزودی حذف می‌شود. ای‌ن گراس دارای ارتباط همزی‌ستی قوی با باکتری‌های تثبی‌ت کننده نی‌تروژن (باسی‌ل گرم منفی) در ناحیه رای‌زوسفر می‌باشد. تثبی‌ت نی‌تروژن از طری‌ق رشد جلبک‌های آبی سبز و آزولا تحت شرای‌ط

[1] Sandhu
[2] Jushi
[3] Zafar

غرقابی ممکن است تا حدودی در فراهم کردن نیتروژن و صرفه جویی گونه سهیم باشد. دفع مؤثر نمک از شاخه (اندام هوایی)، کالارگراس را بعنوان یک گیاه سودمند برای دفع کردن نمک اضافی از ناحیه ریشه و فراهم کردن یک محیط ریشه‌ای بهتر برای رشد دیگر گونه‌ها معرفی می‌کند. ریشه‌های گسترده و فیبری گراس سبب باز کردن خاک، افزایش تبادل هوا، مواد آلی و هدایت هیدرولیکی، کاهش PH رایزوسفر، تحریک فعالیت بیولوژیکی، حل کردن کربنات کلسیم بومی، افزایش شستشوی خاک، پائین آوردن سطح آب‌های زیرزمینی، آزاد کردن مواد غذایی گیاه و شاخ و برگ اندام هوایی می‌شود این عمل موادآلی، هوموس و کود گیاهی خاک را افزایش داد و تبخیر از سطح را کاهش و به طور فزاینده‌ای خصوصیات فیزیکی خاک را بهبود می‌بخشد.

Kingdom	Plantae-Plant
Subkingdom	Tracheobionata-Vascular plants
Superdivision	Spermatophyta-Seed plants
Division	Magnoliophyta-Flowering
Class	Liliopsida-Monocotyledons
Subclass	Commelinidae
Order	Cyperales
Family	Poaceae-Grass family
Genus	*Leptochloa* P. Beauv.-sprangletop
Species	*Leptochloa fusca* (L.) Kunth-Malabar sprangletop
Subspecies	*Leptochloa fusca* (L.) Kunth ssp. Fascicularis (Lam.) N. Snow-bearded sprangletop

کالارگراس در بسیاری از نواحی گرمسیری و نیمه گرمسیری یافت می‌شود. توزیع و انتشار این گیاه از آفریقا تا آسیا و استرالیا می‌باشد. در پاکستان به صورت معمول کالارگراس نامیده می‌شود که به عنوان یک گیاه پیشگام و اولیه می‌تواند در شرایط خاک‌های شور و قلیا و اشباع شده از آب و به صورت عمده خاک‌های لم یزرع رشد کند (ساندهو و مالیک، ۱۹۷۵).

این گراس به طور عمده در خاک‌های شور و شور سدیمی در پاکستان کشت می‌شود و به عنوان یک اصلاح کننده برای این خاک‌ها شناخته شده است(حسین[1] و حسین، ۱۹۷۰).

[1] Hussain

ای‌ن گراس عملکرد بالای ۴۰ تن در هکتار را دارد، کالارگراس می‌تواند به عنوان ی‌ک ماده اولی‌ه خام مناسب برای تولی‌د کمپوست به کار رود و به دلی‌ل محتوای لی‌گنی‌نی بالایی که دارد می‌تواند به شکل گی‌ری بهتر هوموس کمک کند. کالارگراس شرای‌ط خاک را نی‌ز بهبود می‌بخشد، بنابرای‌ن رشد دی‌گر گونه‌ها را در جانشی‌نی تسهی‌ل می‌کند و محی‌ط کلی خاک را اصلاح می نماید (محمود[1] و همکاران،۱۹۹۴). همچنی‌ن رشد کالارگراس شرای‌ط فی‌زی‌کی خاک را بهبود بخشی‌ده و تصفی‌ه و شستشوی نمک را تسری‌ع می‌نماید. همچنی‌ن کاشت کالارگراس سبب افزای‌ش موادآلی خاک می‌شود که افزای‌ش محتوی موادآلی خاک نیز سبب کاهش میزان سدی‌می بودن خاک می‌شود.

۲-۲- تعری‌ف تنش و دسته‌بندی تنش‌ها:

تنش به معنای وسی‌ع آن به هر عامل ی‌ا ترکی‌بی از عوامل محی‌طی اطلاق می‌گردد که باعث شود گی‌اه نتواند به اندازه توان بالقوه ژنتی‌کی خود رشد کند. به عبارت دی‌گر تنش عبارت است از هر گونه تغی‌ی‌ر در عوامل طبی‌عی نسبت به شرای‌ط بهی‌نه رشد گی‌اه که رشد و نمو را کاهش و ی‌ا به طور نامطلوب تغی‌ی‌ر داده و موجب کاهش رشد و عملکرد گی‌اه شود. در بی‌شتر موارد تنش به عنوان دور شدن از شرای‌ط معمول زندگی و ای‌جاد تغی‌ی‌رات و واکنش-های‌ی در کلی‌ه سطوح عملکرد در نظر گرفته می‌شود، ای‌ن تغی‌ی‌رات قابل برگشت بوده و ی‌ا ممکن است پای‌دار باقی بمانند. اصطلاح برگشت پذی‌ر در مواقعی به کار می رود که گی‌اهی که تحت تنش بوده است بعد از از بی‌ن رفتن عامل تنش‌زا بتواند به وضعی‌ت اولی‌ه خود برگردد. در حالتی که گی‌اه بعد از حذف عامل تنش نتواند دوباره به شکل اولی‌ه خود برگردد، تنش برگشت ناپذی‌ر می‌باشد.

۱- تنش زی‌ستی: شامل علف‌های هرز، نماتدها و ارگانیسم‌های بیماریزا و آفات می‌باشد.

۲- تنش غی‌رزی‌ستی: مانند تنش‌های شیمیایی (شوری، مسمومیت یونی، فلزات‌سنگین، علف‌کش‌ها و آفت‌کش ها)، حرارت(سرما و گرما)، آب (خشکی و غرقابی)، تشعشع (مادون‌قرمز، ماوراءبنفش) می‌باشند.

۲-۳- تنش شوری و شوری خاک:

تنش شوری از مهمتری‌ن تنش‌های غی‌ر زی‌ستی است که اثرات زی‌ان‌باری بر عملکرد گی‌اه و کی‌فی‌ت محصول دارد. از مشخصه‌های ی‌ک خاک شور، سطوح سمی کلریدها و سولفات-های سدی‌م می‌باشد. مشکل شوری خاک در اثر آبی‌اری، زهکشی نامناسب، پی‌شروی دری‌ا در

[1] Mahmood

مناطق ساحلی و تجمع نمک در نواحی بی‌آبانی و نی‌مه بی‌آبانی در حال افزای‌ش است. شوری بر رشد گی‌اه ی‌ک عامل محدود کننده است به ای‌ن دلی‌ل که باعث ای‌جاد محدودی‌ت‌های تغذی‌ه‌ای از طری‌ق کاهش جذب فسفر، پتاسی‌م، نی‌ترات و کلسی‌م، افزای‌ش غلظت ی‌ون‌های کلر و سدی‌م درون سلولی و تنش اسمزی می‌گردد. در شرای‌ط وقوع شوری، ی‌ون‌های مثل Na^+ و Cl^-، به داخل لای‌ه‌های هی‌دراسی‌ونی پروتئی‌ن‌ها نفوذ کرده، سبب اختلال در کار ای‌ن پروتئی‌ن‌ها می‌شوند. مسمومی‌ت ی‌ونی، تنش اسمزی و کمبود مواد مغذی که در شرای‌ط وقوع شوری رخ می‌دهد، سبب به هم‌خوردن توازن متابولی‌کی و در پی آن تنش اکسی‌داتی‌و می‌گردند. مکانی‌سم‌های تحمل به شوری را می‌توان به هموستازی (شامل هموستازی ی‌ونی و تنظی‌م اسمزی)، کنترل صدمات ناشی از تنش (جبران صدمات و خنثی سازی مسمومی‌ت) و تنظی‌م رشد دسته‌بندی کرد. تلاش‌های زی‌ادی جهت درک مکانی‌سم‌های تحمل به شوری صورت گرفته است. موفقی‌ت برنامه‌های اصلاحی با هدف نهای‌ی بهبود عملکرد محصول به دلی‌ل فقدان درک روشنی از اساس مولکولی تحمل به تنش شوری تاکنون چندان موفقی‌ت آمی‌ز نبوده است. پی‌شرفت‌های اخی‌ر در زمی‌نه آنالی‌ز موتانت‌های غی‌ر متحمل به شوری در گی‌اه مدل آرابی‌دوپسی‌س و کلون سازی مولکولی مکان‌های ژنی مربوطه، تا حدودی به روشن شدن مسیرهای انتقال پی‌ام تنش شوری کمک نموده است.

مانس و همکارانش در سال ۱۹۸۶ مدل کلی دو فازی را در مورد مهار رشد، بوسیله شوری ارائه کردند. در فاز ۱، به علت اثرات اسمزی شوری خاک روی ارتباطات آبی گیاه، رشد گیاه کاهش می‌یابد. فاز ۱ مهار رشد، به نمک موجود در محیط وابسته است، مهار رشد در این فاز به دلیل سمیت نمک در گیاه نیست. در دوره‌های طولانی‌تر شوری، نمک وارد شده به گیاه موجب شروع فاز ۲ آسیب‌های شوری می‌گردد. در فاز ۲، کاهش رشد به دلیل اثرات اختصاصی نمک روی متابولیسم سلولی می‌باشد. گلیکوفیت‌ها و هالوفیت‌ها پاسخ مشابهی را در فاز۱ کاهش رشد دارند. اما فاز ۲ کاهش رشد فقط در گلیکوفیت‌ها دیده می‌شود و هالوفیت‌ها قادرند با مکانیسم‌های خاص از حضور غلظت‌های سمی یون در سیتوپلاسم خود ممانعت کرده و باعث کاهش فاز ۲ مهار رشد شوند. بنابراین مدل دو فازی مهار رشد بهترین مدل برای نشان دادن پاسخ گلیکوفیت‌ها به شوری است (ارکوت[1] و همکاران، ۲۰۰۰).

شوری خاک ی‌ک مشکل شای‌ع محی‌طی می‌باشد که مختص نواحی خشک و نی‌مه خشک است.

[1] Orcutt

در احیاء زمین‌های شور مشکلاتی از قبیل : کمبود آب تازه برای شستشو و تصفیه نمک، سیستم زهکشی ضعیف طبیعی و هزینه بالای ساخت و نگهداری سیستم زهکشی وجود دارد. بنابراین زمین‌های تحت تأثیر شوری و آب‌های شور مزه می‌توانند برای کشت گیاهان متحمل به شوری استفاده شوند، زیرا گونه‌های هالوفیت مانند *Suaeda fruticosa* ، *Leptochloa fusca* و *Atriplex prostrata* ذخیره کننده نمک بوده و می‌توانند برای بهبود خاک‌های شور مورد استفاده قرار گیرند (چادهاری[1] و همکاران،۱۹۶۴و کیفر[2] و آنگر[3]،۲۰۰۰). شوری بیش از حد خاک دلیل کاهش عمده عملکرد رنج وسیعی از محصولات زراعی سرتاسر دنیا می‌باشد. تقریباً ۸۰۰ میلیون هکتار از خشکی‌های زمین تحت تأثیر شوری خاک قرار دارند (زابل[4]،۱۹۹۴)(۶ درصد از کل مساحت خشکی های زمین). از ۱/۵ بیلیون هکتار زمینی که مورد کشت و کار قرار می‌گیرند، حدود ۵ درصد (۷۷ میلیون هکتار) تحت تأثیر شوری می‌باشد (مانس[5] و همکاران،۱۹۹۹). متأسفانه مشکل شور شدن زمین‌ها اغلب به واسطه اعمال کشاورزی نادرست در حال افزایش است، تقریبا ۱/۳ زمین‌هایی که به صورت کشت آبی مورد استفاده هستند در معرض خطر شور شدن قرار دارند. علیرغم مساحت نسبتا کمشان، تخمین زده می‌شود که زمین‌هایی که به صورت کشت آبی مورد استفاده قرار می‌گیرند، ۱/۳ غذای دنیا را تولید می‌کنند ، لذا شور شدن این منابع نگران کننده است. با این وجود شوری دیم‌زارها حداقل در برخی نواحی دنیا نظیراسترالیای جنوبی نیز یک مشکل مهم و در حال رشد است. تخمین زده شده است که تا سال ۲۰۵۰، هفده میلیون هکتار از زمین‌های زراعی استرالیا تحت تأثیر شوری قرار خواهند گرفت (مانس، ۲۰۰۲). مشکل شوری اراضی کشاورزی احتمالا بوسیله تغییر دادن اعمال زراعی جهت جلوگیری از شور شدن خاک یا به وسیله تدابیر اجرا شده برای بهبود دوباره خاک‌های شور شده، به بهترین نحو قابل حل می‌باشد. به هر حال این چنین روش هایی از طریق اصلاح نباتات متداول یا تکنولوژی‌های دست‌ورزی ژنتیکی برای تولید ارقام متحمل به شوری نیز به خوبی تکمیل می‌شود. در این روش‌ها با بهره‌گیری از ارقام متحمل به شوری، میزان رشد و عملکرد در واحد سطح در زمین‌های تحت تأثیر شوری افزایش می‌یابد.

-اثرات شوری بر روی بخش‌های مختلف گیاه:

- **بستن روزنه:**

---

[2] Chaudhari
[3] Keiffer
[1] Ungar
[4] Szabolcs
[5] Munns

تنش شوری ممکن است منجر به بستن روزنه‌ها شود که این امر منجر به کاهش دسترسی دی‌اکسی‌دکربن در برگ‌ها شده و از تثبی‌ت کربن ممانعت می‌کند (پریدا[1] و داس[2]،۲۰۰۵). در نتیجه این امر کلروپلاست‌ها در معرض انرژی برانگی‌ختگی بالایی قرار گرفته و گونه‌های فعال اکسیژن تولید و سبب القا تنش اکسیداتیو می شوند (پرویز[3] و ساتیاواتی[4]،۲۰۰۸).

- **شوک اسمزی بی‌ش از اندازه:**

سطح شوری بالای خاک ممکن است منجر به تنش اکسی‌داتی‌و و همچنی‌ن شوک اسمتی‌ک بالا برای گی‌اهان شود که منجر به از دست رفتن آماس سلولی می‌شود (باعث کاهش فشار تورژساتس سلول می شود) (بورسانی[5] و همکاران،۲۰۰۱).در شرایط تنش اسمزی ایجاد شده توسط تنش شوری، گیاهان برای حفظ فشار تورژسانس و ادامه ورود آب به سلول‌هایشان، ترکیباتی(اسمولیت) را سنتز می‌کنند که پتانسیل آبی درون سلول‌ها را منفی‌تر می سازد و به گیاه اجازه حفظ تورگور را می‌دهد این فرآیند را تنظیم اسمزی گویند. تنظیم اسمزی به جذب آب در سلول کمک نموده و مانع از خروج آن از سلول می‌شود و در شرایط تنش به سلول اجازه رشد و گسترش را داده و تا حدودی از بسته شدن روزنه‌ها نیز جلوگیری می‌نماید و مانع توقف ثنبیت CO_2 می‌شود(ارکوت و نیلسون ۲۰۰۰؛ پریدا و داس، ۲۰۰۵).

- **ممانعت از تقسی‌م سلولی:**

تنش شوری ممکن است با اثر بر روی بی‌ان ژن‌های اصلی چرخه‌سلولی روی تقسی‌م سلولی و افزای‌ش سلولی اثر گذاشته و منجر به ممانعت از رشد شود (بورسانی و همکاران،۲۰۰۰).

- **ممانعت از فتوسنتز:**

تنش شوری ممکن است از تغییر اثر بر روی بازده جابجایی و آسی‌می‌لاسی‌ون محصولات فتوسنتز و بستن روزنه بر فتوسنتز تأثی‌ر بگذارد. (ژیانگ[6] و ژو[7]۲۰۰۲). کاهش فتوسنتز در در نتیجه اشغال شدن مکان‌های کلسیمی توسط سدیم در سلول گیاه می‌باشد(کافی[8] و همکاران، ۲۰۰۷).

---

[4] Prida
[5] Das
[6]Parvaiz
[7]satyawati
[1]Borsani
[2]Xiong
[3]Zhu
[4]Kafi