Kharazmi University

Faculty of Science - Department of Biology

Thesis Submitted for Degree of Master of Science in Biology

Plant Physiology

Title

Effect of selenium antioxidative activity in sunflower (*Helianthus annuus* L.) under salt stress

Supervisor

Dr. Farzaneh Najafi

Advisor

Dr.Ramazan Ali Khavari-Nejad

By

Mahtab Rashidi

2012

دانشگاه خوارزمی تهران

دانشکده علوم پایه – گروه زیست شناسی

پایان نامه جهت اخذ درجه کارشناسی ارشد زیست شناسی– علوم گیاهی

گرایش فیزیولوژی گیاهی

عنوان

اثر سلنیوم بر فعالیت آنتی اکسیدانی گیاه آفتابگردان (*Helianthus annuus* L.) تحت تنش شوری

استاد راهنما

خانم دکتر فرزانه نجفی

استاد مشاور

آقای دکتر رمضانعلی خاوری نژاد

دانشجو

مهتاب رشیدی

بهمن ۹۰

بسم الله

الرحمن

الرحيم

چکیده

رشد گیاه به وسیله عوامل نامساعد محیطی مختلفی محدود می شود و شوری یکی از مهمترین مسایل کشاورزی می باشد. شوری باعث تنش اسمزی و عدم تراز یونی در سلول های گیاه، ایجاد تنش اکسیداتیو وکاهش رشد گیاه می شود. سلنیوم بعنوان یک آنتی اکسیدان در گیاهان، جانوران و تغذیه انسان مطرح است. سلنیوم در غلظت های کم توانایی به دام اندازی رادیکال های آزاد را افزایش می دهد و مانع پراکسیداسیون لیپید ها می شود. دراین پژوهش تاثیر کاربرد سلنات سدیم بر شوری در گیاه آفتابگردان مورد بررسی قرار گرفت .گیاهان تحت تیمارهای مختلف سلنات سدیم در غلظت های ۰، ۱۰ و ۲۰ میکرو مولار وکلرید سدیم در غلظت های ۰، ۲۵، ۵۰ و ۷۵ میلی مولار قرارگرفتند. نتایج نشان داد در گیاهانی که در معرض کلرید سدیم قرار داشتند، در مقایسه با گیاهان شاهد، با افزایش غلظت کلرید سدیم، محتوای رنگیزه های فتوسنتزی و پروتئین کاهش یافت اماگیاهانی که در معرض همزمان کلرید سدیم وسلنات سدیم قرارداشتند، در مقایسه با گیاهانی که تنها در معرض تنش شوری بودند، در غلظت های یکسان کلرید سدیم، مقدار رنگیز ه های فتوسنتزی و پروتئین بیشتری را نشان دادند. فعالیت آنتی‌اکسیدان های آنزیمی شامل کاتالاز، پراکسیداز، آسکوربات پراکسیداز، سوپراکسیددیسموتاز و آنتی اکسیدان های غیرآنزیمی شامل ترکیبات فنلی، آنتوسیانین ها و پرولین تحت تیمار با کلرید سدیم افزایش یافتند. فعالیت بالای آنتی‌اکسیدان های نامبرده منجر به افزایش ظرفیت آنتی اکسیدانی (DPPH) شد. گیاهانی که در معرض همزمان کلرید سدیم وسلنات سدیم قرارداشتند، فعالیت آنتی اکسیدانی بیشتری نشان دادند. با افزایش غلظت کلرید سدیم میزان پراکسیداسیون لیپیدها افزایش معنی داری نسبت به گیاه کنترل یافت اما با افزودن سلنات سدیم محتوی مالون دی آلدهید (MDA) کاهش قابل توجهی داشت. این نتایج نشان می دهند که سلنات سدیم به عنوان یک آنتی اکسیدان سبب افزایش بردباری به تنش شوری و کاهش اثرات مضر کلرید سدیم در گیاه آفتابگردان شده است.

واژه های کلیدی : کلرید سدیم، سلنیوم، پرولین، مالون دی آلدهید، رنگیز ه های فتوسنتزی، پروتئین، آنزیم های آنتی اکسیدان و DPPH .

Abstract:

Plant growth is limited by different unfavorable environmental conditions amongst which salt stress is considered to be one of the most important worldwide agircuitural problems. High salinity can cause hyperosmotic stress and ion disequilibrium in plant cells, producing oxidative stress and reducing plant growth. Selenium (Se) is regarded as an antioxidant in plants , animals and human nutrition. Selenium, at low concentrations decreased the ability of scavenging of ROS and it inhibited lipid peroxidation. In this research, the effects of selenium on salt stressed in sunflower plants were investigated. The Plants were treated with NaCl (0, 25, 50 and 75mM) and Na_2SeO_4 (0, 10 and 20µM) in nutrient solutions. The results showed that in plants only treated with sodium chloride, with increasing of sodium chloride concentration, photosynthetic pigments and protein contents decreased ascompared with those of control plants. In plants exposed to sodium chloride and Na_2SeO_4, photosynthetic pigments and protein contents were higher than of plants only exposed to sodium chloride. Antioxidant enzymes activities including CAT, POX, APX and SOD and non-enzymatic antioxidants including phenolic compounds, anthocyanins and proline increased in plant exposed to sodium chloride. High activity of antioxidants, resulted to increase antioxidant potential (DPPH). Sodium chloride and Na_2SeO_4 treatments increased antioxidant activity in sunflower plants. With increasing NaCl concentration, lipid peroxidation increased, however with addition of Na_2SeO_4 to NaCl , MDA content decreased. These results suggest that selenium improves the tolerance of the plants to NaCl.

Key words: sodium chloride, selenium, proline , MDA, photosynthetic pigments, protein and DPPH.

فهرست مطالب:

عنوان صفحه..

فصل اول : مقدمه

۱-۱-خصوصیات گیاه شناسی آفتابگردان ۲

۱-۲-اهمیت اقتصادی ۳

۱-۳- اهداف پژوهش ۴

۱-۴- تنش شوری..... ۵

۱-۴-۱-آثار مخرب تنش شوری در گیاهان ۶

۱-۴-۲- اثر تنش شوری بر روی فتوسنتز ۷

۱-٤-۳- مکانیسمهای سلولی مقاومت به شوری ۷

۱-٤-٤- همئوستازی یون و عوامل موثر بر انتقال و تنظیمات آنها..... ۸

۱-٤-٥- سیستم های انتقال یون

Na^+..... ۹

۱-٤-٥-۱- پمپ های H^+ ۹

۱-٤-٥-۲- ورود وخروج Na^+ از عرض غشا پلاسمایی..... ۹

۱-٤-٥-۳-کده بندی واکوئلی سدیم ۱۰

۱-٤-٥-٤- پیام رسانی Ca^{2+} و مسیر انتقال SOS .....

۱۰

۱-۴-۶-پیام رسانی Ca^{2+} در طول دهیدراسیون و تنش شوری .....

۱۰

۱- ۴-۷- پاسخ آنتی اکسیداتیو در تنش شوری..... .....

۱۱

۱-۴-۸-پرولین..... ۱۳

۱-۴-۹- پروتئین های حفاظتی درگیر در سازگاری به تنش های محیطی..... ۱۴

۱-۴-۹-۱-پروتئین های LEA ۱۴

۱-۴-۹-۲-پروتئین های شوک حرارتی.....۱۴

۱-۵- پیشینه

سلنیوم.....۱۴

۱-۵-۱- سلنیوم در محیط خاک.....۱۴

۱-۵-۲- سلنیوم در آب.....۱۵

۱-۵-۳- سلنو پروتئین ها.....۱۵

۱-۵-۴- نقش سلنیوم در رشد و فیزیولوژی گیاه.....۱۶

۱-۵-۵- جذب سلنیوم و متابولیسم آن در گیاهان.....۱۷

۱-۵-۵-۱- جذب و انتقال سلنات.....۱۸

۱-۵-۵-۲- جذب سلنیت و ترکیبات سلنیومی آلی.....۱۹

۱-۵-۵-۳-متابولیسم سلنیوم در گیاه.....۲۰

۱-۵-۵-۴- انواع مهم سلنیوم.....۲۱

۱-۵-۶- اثر سلنیوم در تنش های غیر زنده.....۲۱

۱-۵-۷- اثرات نامطلوب سلنیوم در گیاهان.....۲۱

۱-۵-۸- اثرات نامطلوب سلنیوم در انسان و جانوران.....۲۳

فصل دوم : مواد و روش ها.....۲۴

۲-۱- دستگاه های مورد نیاز ۲۶

۲-۲- وسایل و مواد مورد نیاز برای آزمایش ۲۶

۲-۳- روش کاشت و نگهداری گیاه ۲۸

۲-٤- مراقبت بعد از کاشت.....۲۹

۲-۵- سنجش رنگیزه های فتوسنتزی .....

۳۲

۲-۵-۱- سنجش کلروفیل ها.....۳۲

۲-۵-۲- سنجش کاروتنوئیدها.....۳۳

۲-۶- سنجش پروتئین کل.....۳۴

۲-۶-۱- روش تهیه معرف برای استخراج پروتئین کل .....
۳۴
۲-۶-۲- روش تهیه سرم آلبومن گاوی
(BSA).....۳۴
۲-۷- سنجش میزان آنتی اکسیدان های غیر آنزیمی .....
۳۵
۲-۷-۱ سنجش میزان آنتوسیانین ها و ترکیبات فنلی.....
۳۵
۲-۷-۱-۱ سنجش
آنتوسیانین.....۳۵
۲-۷-۱-۲- سنجش ترکیبات فنلی.....۳۶
۲-۷-۲- سنجش پرولین.....۳۷
۲-۷-۲-۱ روش تهیه نین
هیدرین.....۳۷
۲-۸- سنجش میزان آنتی اکسیدان های آنزیمی .....
۳۸
۲-۸-۱- سنجش فعالیت آنزیم کاتالاز.....۳۸
۲-۸-۲- سنجش فعالیت آنزیم گایاکول پراکسیداز ۳۸
۲-۸-۳- سنجش فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز ۳۸
۲-۸-۴- سنجش فعالیت آنزیم سوپراکسید
دیسموتاز.....۳۹
۲-۹- سنجش میزان فعالیت آنتی اکسیدانی(DPPH) .....
۳۹
۲-۹-۱- ساخت محلول استاندارد .....
۴۰

۲-۱۰- سنجش میزان پراکسیداسیون لیپید (مالون دی آلدهید) .....
۴۰
۲-۱۱- محاسبات آماری ۴۰
فصل سوم :نتایج.....۴۲
۳-۱- نتایج مربوط به مقایسه اثر تیمار های مختلف کلرید سدیم و سلنات سدیم بر رشد گیاه.۴۳
۳-۲- نتایج مربوط به سنجش میزان رنگیزه های فتوسنتزی .....
۴۴
۳-۲-۱-کلروفیلa.....۴۴
۳-۲-۲-کلروفیلb.....۴۶
۳-۲-۳-کلروفیل کل (a+b) ۴۸
۳-۲-٤-کاروتنوئیدها ۵۰
۳-۳- نتایج مربوط به سنجش میزان پروتئین کل برگ .....
۵۲
۳-٤- نتایج مربوط به سنجش آنتی اکسیدان های غیر آنزیمی .....
۵۴
۳-۴-۱- نتایج مربوط به سنجش میزان
فنول.....۵۴
۳-۴-۲- نتایج مربوط به سنجش میزان
آنتوسیانین.....۵۶
۳-۴-۳- نتایج مربوط به سنجش میزان پرولین برگ .....
۵۷
۳-۵- نتایج مربوط به سنجش آنتی اکسیدان های آنزیمی
.....۵۹
۳-۵-۱- نتایج مربوط به سنجش میزان فعالیت آنزیم کاتالاز برگ .....
۵۹

۳-۵-۲- نتایج مربوط به سنجش میزان فعالیت آنزیم گایاکول پراکسیدازبرگ.....۶۱

۳-۵-۳- نتایج مربوط به سنجش میزان فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز برگ ۶۳

۳-۵-۴- نتایج مربوط به سنجش میزان فعالیت آنزیم سوپراکسیددیسموتاز برگ.....۶۵

۳-۶- نتایج مربوط به سنجش میزان فعالیت آنتی اکسیدانی با روش DPPH. .....

۶۷

۳-۷- نتایج مربوط به سنجش میزان پراکسیداسیون لیپید

ریشه ۶۹

فصل چهارم :بحث و تفسیر.....۷۱

٤-۱- اثر تیمار های مختلف کلرید سدیم و سلنات سدیم بر رشد گیاه.....۷۲

٤-۲- اثرتیمار های مختلف کلریدسدیم و سلنات سدیم برمیزان رنگیزه های فتوسنتزی گیاه

۷۵

٤-۳- اثر تیمار های مختلف کلرید سدیم و سلنات سدیم بر میزان پروتئین کل گیاه.....۷۷

٤-٤-اثر تیمار های مختلف کلرید سدیم و سلنات سدیم بر میزان فنل و آنتوسیانین

۷۸

٤-۵- اثر تیمار های مختلف شوری و سلنات سدیم بر میزان پراکسیداسیون لیپیدها در گیاه

۷۹

٤-٦- اثر تیمار های مختلف کلرید سدیم و سلنات سدیم بر میزان فعالیت آنتی

اکسیدانی(DPPH) در گیاه..... ۸۰ ٤-۷- اثر

تیمار های مختلف کلرید سدیم و سلنات سدیم بر میزان فعالیت آنزیم های آنتی اکسیدانت

گیاه.....۸۱

٤-۸-اثر تیمار های مختلف کلرید سدیم و سلنات سدیم بر میزان پرولین در گیاه... .. .. ۸۳

منابع.....۸۶

منابع فارسی.....۸۷

منابع انگلیسی.....۸۷

فصل اول

مقدمه

۱- ۱- خصوصیات گیاه شناسی آفتابگردان

Kingdom: Plantae
Phylum: Magnoliophyta
Class: Magnoliopsidae
Order: Asterales
Familly: Asteraceae
Subfamilly: Asteroideae
Genus: *Helianthus*
Species: *Helianthus annuus*

آفتابگردان با نام علمی *Helianthus annuus* L. گیاهی است یکساله از خانواده Asteraceae که شامل ۷۶ گونه می باشد و بصورت بوته ای استوار رشد می کند. طول دوره رشد آفتابگردان بسته به رقم و کلیه عوامل محیطی از ۹۰ تا ۱۵۰ روزمتغیر می باشد.

پهنک برگهایی که در معرض نور هستند همراه باحرکت خورشید تغییر جهت داده و همواره به حالت تقریباً عمود بر اشعه آفتاب قرار می گیرند. آفتابگردان ریشه مستقیم و توسعه یافته ای دارد. گل آذین آفتابگردان مطبق یا کپه ای است. لقاح به دلیل بلوغ زود رس پرچمها غالباً از نوع دگرگشنی است. میوه آفتابگردان نوعی فندقه است که در اینجا با دانه مترادف گرفته می شود. رنگ دانه از سفید تا سیاه با خاکستری خط دار و بسته به رقم تغییر می کند. هر چه درصد وزنی پوسته دانه کمتر باشد درصد وزنی روغن آن بیشتر خواهد بود (Reagon and Snow, 2006).

آفتابگردان از نظر عکس العمل نسبت به طول روز از گروه گیاهان بی تفاوت به شمار می رود ولی به نور فراوان نیاز دارد . آفتابگردان ریشه توسعه یافته ای دارد که گیاه را به خشکی مقاوم می سازد، مشروط بر آن که خاک عمیق بوده و تراکم و ساختمان خاک محدود کننده رشد ریشه نباشد. آفتابگردان به شوری خاک نسبتاً مقاوم است و در خاک خنثی رشد خوبی دارد (Robinson and Smith, 1979).

۱-۲- اهمیت اقتصادی

آفتابگردان پنجمین منبع مهم روغن خوراکی پس از سویا، کلزا،کتان و بادام زمینی می باشد (Poverene and Cantamuto, 2007). تولید دانه آفتابگردان در جهان ۳۲ میلیون تن تخمین زده می شود که بخش عمده آن برای روغن کشی بکار می رود. دانه آن ۲۵ درصد پروتئین دارد که برای تغذیه دام منبع مناسبی می باشد (Hu *et al.*, 2010). آفتابگردان یکی از دانه های روغنی است که مورد توجه جمعیتها است زیرا یک محصول زود بازده می باشد. میزان روغن دانه آفتابگردان از ۴۰ تا ۴۵ درصد متفاوتست و بستگی به کیفیت دانه آن دارد (Noreen and Ashraf, 2010). این محصول دارای ۸۵ تا ۹۵ درصد اسیدهای چرب غیر اشباع می باشد، سرشار از اسیدهای اولئیک و لینولئیک است ولی کلسترول کمی دارد (Francois, 1996). آفتابگردان به عنوان یک گیاه نیمه مقاوم به شوری در نظر گرفته می شود (Richards, 1992; Flowers and Lauchli,1983; Maas, 1986). با این حال وقتی شوری آب آبیاری افزایش می یابد طول گیاه، قطر ساقه و قطر طبق آفتابگردان کاهش قابل ملاحظه ای می یابد (Farah *et al.*, 1984). با افزایش میزان نمک در آب آبیاری به مقدار یک گرم در لیتر کاهش چشمگیری در مقدار روغن دانه آفتابگردان و محصول روغن مشاهده می شود (Raju and Ranganayakulu, 1978). ترکیب اسیدهای چرب هم شدیدا تحت تاثیر شوری قرار دارد، بطوری که تحت شرایط شوری اسید اولئیک افزایش واسید لینولئیک کاهش می یابد (Flagella *et al.*, 2004).

انواع آجیلی آن دانه ی درشت تری نسبت به انواع روغنی داشته و حدود ۲۰ تا ۲۵ در صد روغن دارد. میزان پروتئین دانه در آفتابگردان حدود ۱۷ درصد است. ظاهراً هر چه دوران رسیدگی دانه با هوای خنک تری روبرو گردد بر درصد اسید چرب اشباع لینولئیک در روغن اضافه می شود و بر ارزش غذایی آن افزوده می گردد. ساقه آفتابگردان فیبر زیادی داشته و در صنعت کاغذ سازی و تهیه سلولز مصرف دارد . ساقه از نظر ازت، کلسیم و پتاسیم نیز غنی است و اضافه کردن آن به خاک موجب افزایش ماده آلی و حاصلخیزی خاک میگردد (Killi and Altunbay, 2005). دانه آفتابگردان علاوه بر صنایع غذایی، در صابون سازی و تولید رنگ پلاستیک مورد استفاده قرار می گیرد (Karaaslan

(Paniego *et al.*, 2010). روغن این گیاه پتانسیل بالایی برای تولید سوخت بیودیزل دارا می باشد (Paniego *et al.*, 2007).

۱-۳- هدف از پژوهش

حفظ قدرت تولید گیاهان زراعی تابعی از تنشهای محیطی گوناگون مثل دمای بالا، سرما ، خشکی ، شوری وعوامل زیستی (Kumar *et al.*, 2009) و وضعیت حاصلخیزی خاک می باشد (Sogbedi *et al.*, 2006). شوری یک تنش غیر زیستی است که اثرات مضری بر رشد ونمو محصولات زراعی دارد و تاثیرات نامطلوبی بر تامین غذا در تمام دنیا را به دنبال دارد. شوری بالا یکی از شدیدترین تنش های محیطی است که تولیدات زراعی در ۲۰ درصد زمینهای کشاورزی تحت آبیاری را محدود می کند. به علاوه افزایش شوری در مناطق خشک منجر به از دست رفتن بیش از نیمی از زمینهای کشاورزی تا اواسط قرن بیست ویکم خواهد گردید (Mahajan and Tuteja, 2005). رشد جمعیت جهان و افزایش تقاضا برای تولیدات گیاهی منجر به زیر کشت رفتن خاکهای شور می شود. پاسخ گیاهان به تنش شوری نیازمند چندین مرحله است تا گیاه بتواند فشار اسمزی بالا وعدم توازن یونی در سلول را تعدیل کرده و از شدت آن بکاهد (Yokoi *et al.*, 2002). در سالهای اخیر بررسیهای زیادی روی پاسخهای بیوشیمیایی گیاهان در واکنش به تنش شوری انجام شده است. به علت پیچیده بودن این پدیده و طیف وسیع پاسخهای گیاه نسبت به آن، شناخت تحمل شوری آسان نمی باشد. یک مرحله مهم مقدماتی برای طراحی کشت در زمینهای شور، انتخاب گونه های زراعی با تحمل زیاد نسبت به شوری است که بتوانند در این زمینها رشد کنند. یکی از مشکلات گیاه شناسان کاوش برای پیدا کردن گیاهان مناسب و یا روش هایی است که بتواند تنش را کاهش دهد.

چندین گزارش وجود دارد که نشان می دهد سیاستهای مختلفی برای مبارزه با اثرات شوری اتخاذ شده است (Ashraf, 2009)، اما گزارشات معدودی در مورد وضعیت مواد معدنی و تحمل شوری موجود میباشد (Choi *et al.*, 2004; Al-Harbi *et al.*, 2008; Khan *et al.*, 2009,2010; Khorshidi *et al.*, 2009).

اغلب این مطالعات روی عناصز پر مصرف مانند کلسیم (Khavari-Nejad and Chaparzadeh, 1998; Tuna *et al.*, 2007)، پتاسیم (Elkhatib *et al.*, 2004;Kaja *et al.*, 2002)، فسفر (Kaja *et al.*, 2002) و گوگرد (Nazar *et al.*, 2011) انجام شده است. برخی پژوهشگران گزارش کرده اند که سلنیوم نه تنها رشد و نمو گیاهان را موجب می شود بلکه سبب مقاومت به تنشهای غیر زیستی معینی مانند شوری(Hawrylak-Nowak, 2009; Djanaguiraman *et al.*, 2005)،خشکی (Yao *et al.*, 2009)، سرما (Hawrylak-Nowak *et al.*, 2010)، فلزات سمی (Filek *et al.*, 2008; Dziubinska *et al.*, 2010) و تابش اشعه ماوراء بنفش (Yao *et al.*, 2010) می گردد. سلنیوم اثرات مفید بر رشد وتحمل گیاهان در مقابل تنش ها را با بالا بردن ظرفیت آنتی اکسیدانی گیاهان انجام می دهد (Hasanuzzaman *et al.*, 2010; Djanaguiraman *et al.*, 2005; Rios *et al.*, 2009).

۱-٤- تنش شوری

تنش شوری یکی از تهدید های جدی محیطی بر علیه مزارع کشاورزی است و باعث تبدیل مزارع سرسبز به زمینهای خشک وغیر قابل کشت گردیده و رشدگیاه و محصولات گیاهی را کاهش می دهد(Khan *et al.*, 2010). بیش از ۸۰۰ میلیون هکتاراز زمینها (FAO, 2008) تحت تاثیر شوری قرار دارند (Seckin *et al.*, 2010) که این مقدار بالغ بر ۶ درصد کل خاک های دنیا می باشد (Munns and Tester, 2008). شوری سبب تغییر فرایندهای فیزیولوژیکی در گیاهان می گردد و موجب سمیت یونی، تنش اسمزی و کمبود مواد غذایی در سلول های گیاهی می شود (Munns and Tester, 2008; Frary *et al.*, 2010). گیاهان برای کاهش تنش شوری سیستم دفاع آنتی اکسیدانی وحذف ROS را به راه می اندازد. آنها دارای سطوح بالایی از آنتی اکسیدان ها می باشند که می توانند به سم زدایی ROS بپردازند. بنابراین آنتی اکسیدان ها برای افزایش تحمل نمک وارد عمل می شوند(Demiral and Turkan, 2005; Garratt *et al.*, 2002). افزایش بیان ترکیبات آنتی اکسیدانی

به عنوان معیار گزینش موثری برای اصلاح نباتات سازگار با شوری در محصولات زراعی مختلف به کار می رود (Ashraf, 2009).

۱-٤-۱- آثار مخرب تنش شوری در گیاهان

تنش شوری و تنش خشکی سبب کاهش پتانسیل آب و تنش اسمزی در گیاهان می گردد (Bartels and Sunkar, 2005). تغییرات القا شده توسط شوری بیشتر یونی هستند تا اسمزی. بر طبق گزارش Roshandel و Flowers خسارت وارد شده به گیاه در اثر شوری تنها در اثر فشار اسمزی نیست بلکه اثر غلظت بالای یون های سمی Cl^- و Na^+ و ورود آنها به درون سلول و تخریب غیرقابل برگشت سلول ها نیز در این پدیده دخالت دارد. این نتایج از مطالعات مولکولی حاصل گردید و مشاهده شد که تغییر در بیان ژن های پروتئین های غنی از پرولین، پروتئین های مربوط به پیری و پروتئین های شوک حرارتی، به اثرات یونی بیشتر از اثرات اسمزی ناشی از شوری در گیاه برنج پاسخ می دهند (Roshandel and Flowers, 2009).

محدودیت تثبیت CO_2 در اثر تنش شوری سبب کاهش میزان کربن احیا کننده در سیکل کالوین و همچنین کاهش میزان NADPH به عنوان پذیرنده الکترون در فتوسنتز می شود. زمانی که میزان فردوکسین در طول زنجیره انتقال الکترون به شدت پایین می آید، الکترون ممکن است از PSI به اکسیژن انتقال پیدا کند و آن را به فرم رادیکال سوپراکسید ($O_2^{\cdot}$) طی فرایند Mehler تبدیل کند (Hsu and Kao, 2003). افزایش رادیکال اکسیژن سبب آسیب ساختارهای غشایی گیاه می گردد. از آنجا که ROS در طول فرایند متابولیکی در میتوکندری ها و پراکسیزوم‌ها تولید می شود، می تواند به متابولیسم لیپیدها، پروتئین ها و نوکلئیک اسیدها خسارت اکسیداتیو وارد کند و همچنین سبب پراکسیداسیون لیپید می گردد که ازاثرات نامطلوب رادیکال های آزاد القا شده برغشا سیتوپلاسمی است (Halliwell, 1987).

اثر سمیت تنش شوری در گیاه به دلیل ایجاد تنش اکسیداتیو موجب تولید بالای ROS می گردد (Zhu *et al.*, 2007). با اینکه ماهیت تنش ها متفاوت است ولی افزایش تولید ROS تحت همه انواع تنش ها رخ می دهد (Li *et al.*, 2009). وجود غلظت های بالای ROS می تواند پیگمان های فتوسنتزی، پروتئین ها، لیپیدها و نوکلئیک اسیدها را به وسیله اکسیداسیون تخریب کند (Halliwell and Gutteridge,1985). نشان داده شده که کنترل تولید و حذف ROS در کلروپلاست برای تحمل شوری در کلم تراریخته و در رقمهای بردباربه شوری ضروری می باشد (Tseng *et al.*, 2007). علاوه بر اینکه ROS بسیار مخرب است، نقش یک مولکول پیام رسان تنش را ایفا می کند و به این وسیله مکانیسم‌های دفاع ویا تحمل را فعال کرده و تنش اکسیداتیو حاصل از شوری را خنثی می نماید (Miller *et al.*, 2010; Frary *et al.*, 2010).

۱-٤-۲- اثر تنش شوری بر روی فتوسنتز

فتوسنتز شامل زنجیره ای از مکانیسم ها، آنزیم ها و فراورده های حد واسط می باشد که توسط عوامل متعدد درون سلولی و محیطی تنظیم می شود. کارایی فتوسنتز به مجموعه ای از رویدادهای متابولیک، مانند فرایندهای فتوشیمیایی، آنزیمی، تثبیت کربن و ساختار دستگاه فتوسنتزی بستگی دارد. فعالیت فتوسنتزی به طور معمول با کاهش پتانسیل آب برگ ها کاهش می‌یابد. در نتیجه بسته شدن روزنه به علت شوری، محدودیت CO_2 قابل دسترس، کاهش هدایت روزنه ای، کاهش فعالیت کربوکسیلازها و کاهش میزان کلروفیل و کلروپلاست، سبب می شود که فتوسنتز کاهش یابد و با کاهش میزان فتوسنتز خالص، کاهش رشد ظاهر می شود(Turan *et al.*, 2009) .

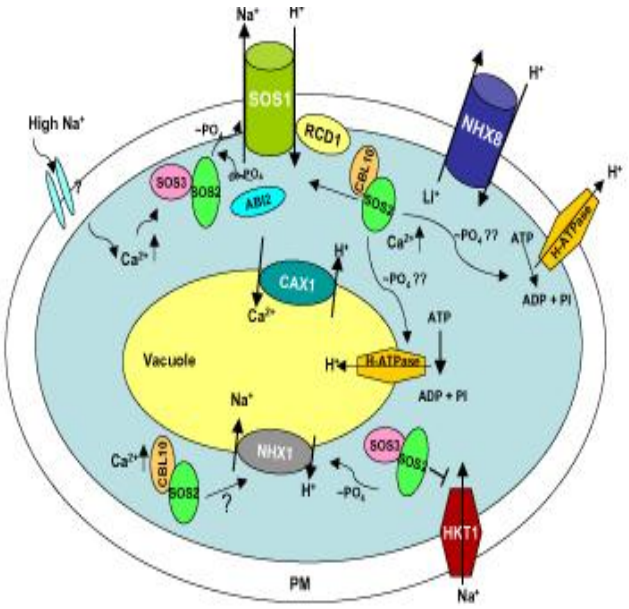
۱-٤-۳- مکانیسمهای سلولی مقاومت به شوری

اولین پاسخ ها به تنش شوری و آبی کاهش فتوسنتز یا مسیرهای هورمونی مانند افزایش سطح هورمون ABA در گیاه، تجمع ترکیبات سازگار و پروتئین های حفاظتی، افزایش سطح آنتی‌اکسیدان ها و توقف فرآیند مصرف انرژی است (Bartels and Sunkar,2005). مکانیسم‌های مقاومت به

نمک تنش اسمزی را به حداقل می رساند و عدم تعادل یونی و اثرات ثانویه ناشی از آن را از بین می برد. پتانسیل شیمیایی محلول نمک ابتدا سبب عدم تعادل پتانسیل آب بین آپوپلاست و سیمپلاست می شود که منجر به کاهش فشار تورگر می گردد و اگر کاهش تورگر به اندازه کافی باشد سبب کاهش رشد می شود. تنظیم اسمزی به وسیله انباشته شدن اسمولیت های سازگار صورت می گیرد (Bohnert *et al.*, 1995). برای جلوگیری از اثرات سمی یونهای Cl^- و Na^+ سلول آنها را در واکوئل های خود کده بندی می کند. با توجه به اینکه رشد سلول گیاهی رابطه مستقیم با افزایش حجم واکوئل دارد، کده‌بندی Cl^- و Na^+ سبب تنظیم فشار اسمزی می گردد که برای رشد سلول گیاهی لازم می باشد. حرکت یون ها از آپوپلاست به درون واکوئل می تواند از طریق وزیکول های غشاء صورت گیرد و یا طی فرایند سلولی غشاء پلاسمایی و تونوپلاست پهلوی هم قرار بگیرند (Hasegawa *et al.*, 2000). این امر سبب می شود که سیتوسل در معرض سمیت یون ها قرار نگیرد. مسیر علامتی SOS (Salt- Overly- Setive) تنظیم کننده اصلی سیستم های انتقال لازم برای همئوستازی یون و مقاومت شوری است (Mahajan *et al.*, 2008).

۱-٤-٤- همئوستازی یون و عوامل موثر بر انتقال و تنظیمات آنها

از آنجایی که NaCl مهمترین عامل شوری خاک است پژوهش های زیادی در مورد سیستم ها انتقال و استفاده از Na^+ به عنوان محلول اسمزی صورت گرفته است (Hasegawa *et al.*, 2000). سدیم با پتاسیم برای جذب از طریق سیستم انتقالی با هم رقابت می کنند. کلسیم نسبت K^+/Na^+ درون سلولی را که در اثر شوری پایین آمده بود، افزایش می دهد. مسیر سیگنالیSOS یک تنظیم کننده کلیدی در همئوستازی یونی و مقاومت به شوری است (Hasegawa *et al.*, 2000). در شکل(۱ – ۱) انتقال دهنده های مربوطه و مسیر پیام رسانی تنش وابسته به کلسیم که همئوستازی یون سدیم را انجام می دهد نشان داده شده است.



شکل۱- ۱- انتقال دهنده های مربوطه و مسیر پیام رسانی تنش وابسته به کلسیم که همئوستازی یون سدیم را انجام می دهد. تنش شوری سبب القای پیام رسانی وابسته به کلسیم می شود که همئوستازی یونی و مقاومت به شوری را در پی دارد. SOS۱ :آنتی پورتر H^+ و Na^+ غشاء پلاسمایی، SOS۲ : سرین/ ترئونین کیناز، SOS۳ :پروتئین متصل به کلسیم، AKt1: کانال درون شارشی پتاسیم. NSCC :کانال غیر انتخابی کاتیونی، CAX1/2 :کانال آنتی پورتر H^+ / Ca^{2+}، CBF: پروتئین کلسی کورین B مانند و NHX1: آنتی پورتر H^+ / Na^+ درون غشایی می باشند(Mahajan *et al.*, 2008).

۱-٤-٥ سیستم های انتقال یون که تعادل Na^+ را تنظیم می کنند

۱-٤-٥-۱ پمپ های H^+

این پمپ ها در غشاء پلاسمایی و تونوپلاست قرار دارند و با مصرف انرژی ایجاد شیب پتانسیل می کنند. با افزایش شوری انتقال H^+ در غشاء پلاسمایی افزایش می یابد که ممکن است هم به فعالیت پمپ و هم به افزایش رونویسی پمپ مرتبط باشد (Hasegawa *et al.*, 2000) .

۱-٤-٥-۲ ورود وخروج Na^+ از عرض غشا پلاسمایی

Na^+ با جذب K^+ از طریق یک کانال یک طرفه درون شارشی پتاسیم مانند AKT1 رقابت می کند. کانال برون شارشی K^+ ورود Na^+ را به درون سلول تسهیل می کند (Schachtman , 2000) انرژی

Na^+ از غشا پلاسمایی از طریق آنتی پورتر Na^+/H^+SOS1 تامین می شود. ژن تنظیم کننده SOS1 با تنش شوری بیان می شود.

۱-٤-٥-۳- کده بندی واکوئلی Na^+

آنتی پورتر H^+ / Na^+ تونوپلاستی کده بندی را در واکوئل تسهیل می کند.

۱-٤-٥-٤- پیام رسانی Ca^{2+} و مسیر انتقال SOS

$Ca^{۲+}$ به SOS3 متصل می شود و سبب برهمکنش آن با SOS2 و در نهایت فعال شدن کیناز می شود. همچنین آنتی پورتر Na^+ / H^+ غشاء پلاسمایی SOS1 از طریق مسیر انتقالی SOS کنترل می شود(Guo *et al.*, 2001). گیاهان به طور خاصی با افزایش غلظت Ca^{2+} سیتوسولی ظرف مدت چند ثانیه به Na^+ پاسخ نشان می دهند(Munns and Tester,2008). یکی از بهترین ویژگیهای مسیرهای پیام رسانی مخصوص به شوری، احساس کلسیم بوسیله پروتئین کلسی کورین B مانند CBL4/SOS3(CBL) و پروتئین کیناز تداخل کننده اش CIPK24/SOS2 می باشد (Zhu *et al.*, 2007; Munns and Tester, 2008). کمپلکس SOS2/SOS3 القا شده توسط تنش NaClغشاء پلاسمایی را هدف قرار داده فسفر یلاسیون و فعالیت پادبر Na^+/H^+ متصل به غشاء پلاسمایی، SOS1 را فراهم می سازد(Munns and Tester,2008). در *آرابیدوپسیس* بیان بالایSOS1 تحمل شوری را افزایش می دهد(Shi *et al.*, 2003).

۱-٤-٦- پیام رسانی $Ca^{۲+}$ در طول دهیدراسیون و تنش شوری

در سلول گیاهی، کلسیم به عنوان پیام رسان ثانویه عمل می کند (Snedden and Fromm ,2001). NaCl سبب افزایش سریع کلسیم سیتوزولی از طریق واکوئل شده (Knigh *et al.*, 1997)، این امر مسیرهای پیام رسانی بعدی مانند فعالیت آنزیمی، فعالیت کانال یونی و بیان ژن را به راه می اندازد (Snedden and Fromm , 2001) و سبب سازگاری به شوری می گردند (Liu and Zhu , 1998). با افزایش غلظت کلسیم پروتئین های متصل شونده به کلسیم مانند کالمادولین فعال شده و سبب القای