بسم الله الرحمن الرحيم

دانشگاه اصفهان

دانشکده علوم

گروه زیست شناسی

پایان نامه کارشناسی ارشد رشته زیست شناسی- علوم گیاهی گرایش فیزیولوژی گیاهی

بررسی اثر بتاکاروتن بر تحمل به شوری گیاه گوجه فرنگی (*Lycopersicon esculentum*) در شرایط کشت در شیشه

استاد راهنما:

دکتر علی اکبر احسان پور

پژوهشگر:

هدی اسکندری

آبان ماه ۱۳۹۱

کلیه حقوق مادی مترتب بر نتایج مطالعات، ابتکارات

و نوآوری‌های ناشی از تحقیق موضوع این پایان نامه

متعلق به دانشگاه اصفهان است.

دانشگاه اصفهان

دانشکده علوم

گروه زیست شناسی

شیوه نگارش پایان نامه رعایت شده است.

پایان نامه کارشناسی ارشد رشته ی زیست شناسی-علوم گیاهی

گرایش فیزیولوژی گیاهی

خانم هدی اسکندری تحت عنوان

بررسی اثر بتاکاروتن بر تحمل به شوری گیاه گوجه فرنگی (*Lycopersicum esculentum Mill.*) در شرایط کشت در شیشه

در تاریخ ۹۱/۸/۳۰ توسط هیئت داوران زیر بررسی و با درجه عالی به تصویب نهایی رسید.

استاد راهنمای پایان نامه	دکتر علی اکبر احسانپور	با مرتبه علمی استاد	امضا
استاد داور داخل گروه	دکترمنصور شریعتی	با مرتبه علمی استاد	امضا
استاد داور خارج از گروه	دکتر رویا رضوی‌زاده	با مرتبه علمی استادیار	امضا

امضای مدیر گروه

قد و پاس:

پاس دا را ق تا ش بالا از د تا ان ا ت و ت ش وق ا د ، ار ان، تلا ان از ادا ش وما د و ا ار ، د ، ش د ت ا د وژرف ان ق ذا ش ر د. دا ع م وا ان را و ذات ما آ ت وا باب ذو ض ع وم و قا ق را ا ود. دا ، حال اه ما ت.

س از آن ما ن ا ودرا قدم ام تاد اقدرم ناب آ د را ساور با وا ع شان ا رسا دن ان ق ما ا دد. واره ارو ذ شان را و وش ار دم. از اسا د داور ناب آ د ر و ارخام د رر و زاده خا ول داور ن رسا و ان ات رزده ت ود ت آن ما ام. از ناب آ د را دا ل و ر اشان ول ان دوره ا ل ف و ق ا ار ه د ز دو ، خلا و ع اشان را دا ، م، و ه دارم. از د رو ما م، آ ن آ رزو شان را دا م خلا ود د، و ودم اشان ، ر ج ود و و ودشان ا م ، ، واشان ر وا م م ما ام. از وا ان د وزو با م و ا ا م ع ، واره د ش زد م د واز ما لا ود وتان م رن و رن ن خا ات را ا م رم زد د ل را دارم.

د دا شار

درو ما م

آ ن آ وزگاران ا د د م ود د...

چکیده:

تنش شوری یکی از مهم‌ترین تنش‌های محیطیست که موجب کاهش رشد گیاهان و محصولات زراعی در سراسر جهان می‌شود. از عوامل آسیب رسانی تنش شوری به گیاه، تولید گونه‌های اکسیژن فعال (ROS) می‌باشد. بتاکاروتن یک آنتی-اکسیدان سرکوب کننده ROS می باشد، از این‌رو انتظار می‌رود با افزودن بتاکاروتن خارجی به محیط کشت، تحمل به شوری گیاه بالا رود. هدف از مطالعه حاضر بررسی اثر بتاکاروتن بر تحمل به شوری گیاه گوجه فرنگی در شرایط کشت در شیشه می-باشد. برای نیل به این هدف، بذور گوجه فرنگی در محیط کشت MS کشت داده شدند و سپس گیاهچه‌های حاصل از آن به محیط کشت حاوی ۰، ۶۰ و ۱۲۰ میلی مولار نمک تحت تیمار ۰، ۶ و ۱۶ میلی‌گرم در لیتر بتاکاروتن انتقال داده شدند. پس از گذشت سه هفته ، وزن تر و خشک ساقه و ریشه، طول و تعداد ریشه، میزان کلروفیل نسبی و کل، میزان بتاکاروتن، سدیم و پتاسیم ساقه و ریشه، میزان پرولین، فعالیت انزیم‌های کاتالاز، آسکوربات پراکسیداز، سوپراکسید دیسموتاز و میزان پروتئین‌های محلول اندازه‌گیری شد. همچنین به منظور بررسی الگوی پروتئینی گیاه تحت تنش شوری و تیمار با بتاکاروتن، الکتروفورز به روش SDS_PAGE صورت گرفت. بر اساس نتایج حاصل از آنالیزهای فوق می‌توان گفت افزودن بتاکاروتن موجب افزایش وزن تر و خشک ساقه و ریشه و افزایش طول و تعداد ریشه تحت تنش شوری گردید که افزایش ریشه‌دهی احتمالا به علت ارتباط میان تجمع بتاکاروتن و آبسزیک اسید و نقش این هورمون در افزایش ریشه دهی می باشد. می‌زان کلروفیل کل و میزان پروتئین‌های محلول تحت تنش شوری ۶۰ و ۱۲۰ میلی مولار نمک در اثر تیمار با بتاکاروتن افزایش یافت. اما میزان فعالیت آنزیم‌های کاتالاز، سوپراکسید دیسموتاز و APX بعلت نقش آنتی اکسی‌دانی بتاکاروتن در تنش کاهش یافت. بیان دو پروتئین حدود ۱۱۶ و ۲۵ کیلودالتونی نیز در اثر تیمار با بتاکاروتن تحت تنش شوری افزایش یافت. در غلظت ۶۰ میلی مولار نمک بتاکاروتن توانست میزان ورود سدیم به ریشه را کاهش دهد اما در میزان ورود سدیم به بخش هوایی و میزان پرولین گیاه تغییری ایجاد نکرد. همچنین میزان بتاکاروتن داخل گیاه با افزودن بتاکاروتن خارجی بالا نرفت. در این مطالعه از عصاره هویج به عنوان یک منبع سرشار از کاروتنوئید خصوصا بتاکاروتن برای بررسی تحمل به شوری گیاه استفاده شد. به این منظور به محیط کشت MS ، عصاره هویج به میزان ۱۰٪ و ۱۵٪ افزوده شد. وزن تر و خشک ساقه و ریشه، طول و تعداد ریشه ، پرولین و میزان سدیم و پتاسیم در بخش هوایی و ریشه اندازه‌گیری شد که مشابه با نتایج به دست آمده از افزودن بتاکاروتن به محیط کشت حاوی نمک، وزن تر و خشک، طول و تعداد ریشه با افزودن عصاره به محیط حاوی ۱۲۰ میلی مولار نمک افزایش یافت. اما عصاره هویج میزان ورود سدیم به ریشه و ساقه را کاهش نداد. همچنین عصاره هویج به عنوان منبعی سرشار از انتی اکسیدان‌های مختلف مانند کاروتنوئیدها از جمله بتاکاروتن وآلفاکاروتن و ویتامین‌ها از جمله ویتامین B_1، B_2، C و E ، میزان پرولین را تحت تنش شوری به طور چشمگیری نسبت به نمونه فاقد عصاره افزایش داد.

کلید واژها: بتاکاروتن، تنش شوری، ROS

کوتاه نوشت‌ها:

ABA: Abscic acid

ANOVA: Analysis of variance

APS: Amunium persulphate

APX: Ascorbate peroxidase

CAT: Catalase

EC: Enzyme code

PBS: Phosphate baffer salin

PVP: Poly vinyl pirrolidon

SDS-PAGE: Sodium dodecyl sulfate -poly acrilamid gel electrophorsis

SOD: Super oxide dismutase

TEMED: Tetramethyl ethelene diamine

WA: Water agar

فهرست مطالب

عنوان **صفحه**

فصل اول: مقدمه و بررسی منابع

۱-۱ معرفی گیاه گوجه فرنگی و خانواده Solanaceae ۱

۱- ۲ تنش شوری و ایجاد مقاومت در گیاهان ۲

۱-۳ مکانیسم‌های مقاومت نسبت به شوری در گیاهان ۲

۱-۳-۱ دفع نمک ۲

۱-۳-۲ رقیق کردن ۳

۱-۳-۳ جلوگیری از ورود یون‌ها ۳

۱-۴ تنظیم اسمزی ۳

۱-۴-۱ نقش پرولین در مقاومت به تنش شوری در گیاهان ۳

۱-۵ نقش پروتئین‌ها در مقاومت نسبت به شوری گیاهان ۵

۱-۶ مکانیسم‌های آنزیمی و غیر آنزیمی موثر در تحمل به شوری گیاهان ۵

۱-۶-۱ عملکرد و بیوسنتز کاروتنوئیدها(بتاکاروتن) در گیاهان ۶

۱-۶-۲ رابطه میان تجمع بتاکاروتن و تولید آبسیزیک اسید در گیاهان ۸

۱-۶-۳ چگونگی سرکوب ROS ها توسط کاروتنوئیدها ۱۰

۱-۷ شوری و آنزیم‌های آنتی‌کسیدان ۱۰

۱-۷-۱ فعالیت سیستم آنزیمی آنتی اکسیدانی و مقابله با رادیکال‌های آزاد ۱۰

۱-۷-۲ فعالیت آنزیم‌های کاتالاز، سوپراکسید دیسموتاز و آسکوربات پراکسیداز ۱۰

۱-۸ عصاره هویج و مواد تشکیل دهنده آن ۱۱

۱-۱-۸-۱ آنتی اکسیدان‌های موجود در عصاره هویج ۱۱

۱-۸-۱-۱ بتاکاروتن موجود در عصاره هویج ۱۲

۱-۹ اهداف ۱۳

عنوان **صفحه**

فصل دوم: مواد و روشها

۲-۱ آزمون جوانه زنی ۱۴

۲-۲ کشت بذر و رشد گیاه گوجه فرنگی بر روی محیط کشت آب آگار(WA) ۱٤

۲-۲-۱ انتقال گیاهچه‌های گوجه فرنگی به محیط‌های کشت حاوی نمک و بتاکاروتن ۱۵

۲-۳ اندازه‌گیری وزن تر ۱۵

۲-۴ اندازه‌گیری وزن خشک ۱۵

۲-۵ اندازه‌گیری طول و تعداد ریشه ۱۵

۲-۶ اندازه‌گیری سدیم و پتاسیم ۱٦

۲-۷ اندازه‌گیری پرولین ۱۶

۲-۸ سنجش رنگیزه‌های فتوسنتزی ۱۸

۲-۸-۱ سنجش کلروفیل‌ها و بتاکاروتن ۱۸

۲-۹ مطالعه فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدان تحت تنش شوری ۱۹

۲-۹-۱ استخراج عصاره آنزیمی ۱۹

۲-۹-۲ اندازه‌گیری فعالیت آنزیم کاتالاز ۲۰

۲-۹-۳ اندازه‌گیری فعالیت آنزیم اسکوربات پراکسیداز ۲۰

۲-۹-۴ اندازه‌گیری فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز ۲۱

۲-۱۰ سنجش و اندازه‌گیری پروتئین کل ۲۲

۲-۱۰-۱ آماده سازی محلول استوک برادفورد و بافر کار برادفوورد ۲۲

۲-۱۱ استخراج پروتئین‌ها به منظور الکتروفورز به روش SDS-PAGE ۲۳

۲-۱۱-۱ تهیه ژل SDS-PAGE ۲۳

۲-۱۱-۳ رنگ آمیزی ژل با کوماسی بلو ۲۵

۲-۱۲ بررسی اثر عصاره هویج بر وزن تر، وزن خشک، طول و تعداد ریشه، پرولین و میزان سدیم و پتاسیم گیاهچه‌های گوجه فرنگی تحت تنش شوری ۲۵

عنوان صفحه

۲-۱۳ بررسی میزان کاروتنوئیدها و بتاکاروتن در عصاره هویج ۲۶

فصل سوم: نتایج

۳-۱ بررسی آزمون جوانه زنی ۲۷

۳-۲ کشت بذر *Lycopersicon esculentum* Mill. و تکثیر گیاه گوجه فرنگی در شرایط کشت در شیشه ۲۸

۳-۳ اثر بتاکاروتن بر وزن تر گیاه تحت تنش شوری ۲۹

۳-۴ اثر بتاکاروتن بر وزن خشک گیاه تحت تنش شوری ۳۱

۳-۵ اثر بتاکاروتن بر تعداد ریشه تحت تنش شوری ۳۳

۳-۶ اثر بتاکاروتن بر میانگین طول ریشه تحت تنش شوری ۳۴

۳-۷ اثر بتاکاروتن بر میزان سدیم و پتاسیم تحت تنش شوری ۳۵

۳-۸ بررسی مقدار پرولین ۳۹

۳- ۹ اثر بتاکاروتن بر میزان کلروفیل تحت تنش شوری ۴۰

۳-۱۰ بررسی میزان بتاکاروتن بخش هوایی گیاه تحت تنش شوری و تیمار با بتاکاروتن ۴۲

۳-۱۱ اثر بتاکاروتن بر میزان فعالیت آنزیمهای کاتالازو آسکوربات پراکسیداز تحت تنش شوری ۴۳

۳-۱۲ اثر بتاکاروتن بر فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز تحت تنش شوری ۴۵

۳-۱۳ اثر بتاکاروتن بر میزان پروتئین‌های محلول ۴۶

۳-۱۴ نتایج حاصل از الکتروفورز (SDS-PAGE) در گیاهچه های رشد یافته در محیط حاوی بتاکاروتن تحت تنش شوری ۴۷

۳-۱۵ اثر عصاره هویج بر میزان ریشه دهی گیاهان گوجه فرنگی تحت تنش شوری ۴۹

۳-۱۶ بررسی اثر عصاره هویج بر میزان پرولین گیاهچه‌های گوجه فرنگی تحت تنش شوری ۵۱

۳ -۱۷ اثر عصاره هویج بر وزن تر ساقه و ریشه گیاهچه‌های گوجه فرنگی تحت تنش شوری ۵۲

-۱۸ اثر عصاره هویج بر وزن خشک ساقه و ریشه گیاهچه های گوجه فرنگی تحت تنش شوری ۵۳

۳-۱۹ اثر عصاره هویج بر میزان طول و تعداد ریشه گیاهچه‌های گوجه فرنگی تحت تنش شوری ۵۴

۳-۲۰ اثر عصاره هویج برمیزان سدیم و پتاسیم ساقه و ریشه گیاهچه‌های گوجه فرنگی تحت تنش شوری ۵۵

فصل چهارم: بحث

۴-۱ ارتباط بتاکاروتن با افزایش ریشه دهی تحت تنش شوری ۵۹

۴-۲ بررسی تحمل به شوری گیاهان گوجه فرنگی در اثر تیمار بابتاکاروتن ٦۰

۴-۳ بررسی اثر بتاکاروتن بر تغییرات سدیم و پتاسیم تحت تنش شوری ٦۰

۴-۴ تغییرات پرولین تحت تنش شوری و تیمار با بتاکاروتن ٦۱

۴-۵ تغییرات کلروفیل و بتاکاروتن تحت تنش شوری و تیمار با بتاکاروتن ٦۲

۴-۶ اثر تنش شوری بر میزان فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی ٦٤

۴-۷ بررسی اثر بتاکاروتن بر تغییرات پروتئین‌های محلول ٦۵

۴-۸ تغییرات پروتئین‌ها در SDS_PAGE ٦٦

۴-۹ بررسی اثر عصاره هویج بر تحمل به شوری گیاه گوجه فرنگی ٦۷

۴-۱۰ جمع بندی ۶۹

۴-۱۱ پیشنهادات ۷۰

۴-۱۲ پیوست‌ها ۷۱

منابع و مآخذ **۷۸**

فهرست شکل ها

عنوان **صفحه**

شکل ۱-۱ مسیر بیوسنتز کاروتنوئیدها(بتاکاروتن) در گیاهان ۷

شکل ۱-۲: ساختار بیوشیمیایی بتاکاروتن و آلفاکاروتن ۷

شکل۱-۳ :مسیر بیوسنتز آبسزیک اسید از کاروتنوئیدها..... ۹

شکل ۱-۴ : نحوه سرکوب ROS ها توسط انزیم‌های آنتی اکسیدان..... ۱۱

شکل ۳-۱: کشت گیاهچه‌های گوجه فرنگی در محیط کشت MS ۲۸

شکل ۳-۲ : اثر بتاکاروتن بر وزن تر ساقه و ریشه گیاه گوجه فرنگی تحت تنش شوری ۳۰

شکل ۳-۳: اثر بتاکاروتن بر وزن خشک ساقه و ریشه گیاهان گوجه فرنگی تحت تنش شوری ۳۲

شکل ۳-۴: اثر بتاکاروتن بر تعداد ریشه گیاهان گوجه فرنگی تحت تنش شوری ۳۳

شکل ۳-۵: اثر بتاکاروتن بر میانگین طول ریشه گیاهان گوجه فرنگی تحت تنش شوری.. ..... ۳۴

شکل ۳-۹: اثر بتاکاروتن بر میزان سدیم و پتاسیم و نسبت پتاسیم به سدیم ساقه گیاه تحت تنش شوری ۳۷

شکل ۳-۱۰: اثر بتاکاروتن بر میزان سدیم و پتاسیم و نسبت پتاسیم به سدیم ریشه گیاهان تحت تنش شوری.. ۳۸

شکل ۳-۱۱: اثر بتاکاروتن بر میزان پرولین بخش هوایی گیاهان گوجه فرنگی تحت تنش شوری ۳۹

شکل ۳-۱۲: اثر بتاکاروتن بر میزان کلروفیلa، کلروفیل b وکلروفیل کل بخش هوایی گیاه تحت تنش شوری .. ۴۱

شکل۳-۱۳: بررسی میزان بتاکاروتن بخش هوایی گیاه تحت تنش شوری و تیمار با بتاکاروتن ۴۲

شکل۳-۱۴ اثر بتاکاروتن بر روی فعالیت آنزیم کاتالاز و آسکوربات پراکسیداز بخش هوایی گیاه تحت تنش شوری و تیمار با بتاکاروتن ۴۴

شکل۳-۱۵ اثر بتاکاروتن بر روی فعالیت آنزیم سوپر اکسید دیسموتاز بخش هوایی گیاه تحت تنش شوری ۴۵

شکل۳-۱۶ اثر بتاکاروتن بر روی میزان پروتئین محلول گیاه تحت تنش شوری و تیمار با بتاکاروتن..... ۴۶

شکل۳-۱۷ الگوی الکتروفورزی SDS-PAGE پروتئین های برگ گیاه گوجه فرنگی در غلظت‌های مختلف نمک و بتاکاروتن ۴۸

عنوان **صفحه**

شکل۳-۱۸ تراکم نسبی باندهای پروتئینی در غلظت های مختلف نمک و بتاکاروتن در برگ گیاهان گوجه فرنگی ۴۸

شکل۳-۱۹ اثر عصاره هویج بر ریشه دهی گیاه گوجه فرنگی تحت تنش شوری..... ۴۹

شکل۳-۲۰ اثر عصاره هویج بر روی میزان پرولین گیاهچه‌های گوجه فرنگی تحت تنش شوری.....۵۱

شکل ۳- ۲۱ اثر عصاره هویج بر وزن تر ساقه وریشه گیاهچه‌های گوجه فرنگی تحت تنش شوری. ۵۲

شکل ۳-۲۲ اثر عصاره هویج بر وزن خشک ساقه و ریشه گیاهچه های گوجه فرنگی تحت تنش شوری.....۵۳

شکل ۳-۲۳ اثر عصاره هویج بر تعداد (A)وطول ریشه (B)گیاهچه های گوجه فرنگی تحت تنش شوری.....۵۴

شکل ۳-۲۴ اثر عصاره هویج بر میزان سدیم ، پتاسیم و نسبت پتاسیم به سدیم ساقه در گیاهچه های گوجه فرنگی تحت تنش شوری.....۵۶

شکل ۳-۲۵ اثر عصاره هویج بر میزان سدیم ، پتاسیم و نسبت پتاسیم به سدیم ریشه در گیاهچه های گوجه فرنگی تحت تنش شوری.....۵۷

فهرست جدول

عنوان **صفحه**

جدول ۲-۱ : مواد مورد نیاز برای عصاره گیری آنزیمی..... ۱۹
جدول ۲-۲ ترکیبات مورد استفاده در ژل الکتروفورز SDS-PAGE..... ۲۴

فصل اول

مقدمه

۱-۱ معرفی گیاه گوجه فرنگی و خانواده Solanaceae

گیاه گوجه فرنگی (*Lycopersicon esculentum* Mill.) یکی از گیاهان باارزش است که طی قرن گذشته مورد توجه زیادی قرار گرفته است. این گیاه تقریبا در همه کشورهای جهان، در مزرعه یا گلخانه رشد می‌کند. امروزه گوجه فرنگی در مساحتی در حدود ۳/۹ میلیون هکتار در جهان کشت می‌شود و در سال ۲۰۰۲ تولید سالیانه آن ۱۰۸ میلیون تن گزارش شده است.گیاه گوجه فرنگی غنی از ویتامین A، C و فیبر است و همچنین عاری از کلسترول می-باشد. یک میوه گیاه گوجه فرنگی دارای ۲۵ تا ۵۰ میلی‌گرم لیکوپن در هر یک صد گرم میوه می‌باشد (Kalloo, 1991). لیکوپن یکی از اعضای خانواده رنگدانه‌هایی به نام کاروتنوئیدهاست که جزء ترکیبات طبیعی می‌باشند و رنگ برخی میوه‌ها و سبزیجات را تشکیل می‌دهند. لیکوپن یکی از مهمترین آنتی اکسیدان‌ها در گروه کاروتنوئیدهاست و سلول را از رادیکال‌های آزاد که به بسیاری از بخش‌های آن آسیب می رسانند حافظت می‌کند. همچنین مشخص شده که لیکوپن از سرطان در انسان جلوگیری می‌کند (Gerster, 1997; Rao and Agarwal, 2000). امروزه از این گیاه در کشورهای توسعه یافته به میزان بیشتری نسبت به کشورهای در حال توسعه استفاده می-گردد. گیاه گوجه فرنگی متعلق به خانواده Solanaceae می‌باشد. نام علمی آن *Lycopersicon esculentum* Mill. است. این گیاه دیپلوئید و با 2n=24 کروموزوم می‌باشد. گیاهان خودروی این گیاه در طبیعت چند ساله هستند ولی ارقام زراعی آن به صورت یکساله می‌باشند (Bhatia et al., 2004). میوه نارس گوجه فرنگی دارای مقدار زیادی

سولانین است که ماده‌ای سمیست و بتدریج که گوجه فرنگی می‌رسد این ماده از بین می‌رود، بنابراین در خوردن گوجه فرنگی نارس بویژه بصورت خام باید احتیاط نمود (دانشور، ۱۳۸۲).

۱- ۲ تنش شوری و ایجاد مقاومت در گیاهان

شوری آب یا خاک یکی از تنش‌های اصلی می‌باشد که به خصوص در مناطق خشک و نیمه خشک می‌تواند اثر منفی بر تولید محصول بگذارد. آثار شوری بر رشد گیاهان با کاهش پتانسیل اسمزی محلول خاک (تنش آبی)، عدم توازن مواد غذایی، اثر مخصوص یونی (تنش نمکی) و یا ترکیبی از این عوامل همراه است (حکمت شعار، ۱۳۷۲). بنظر می‌رسد که گیاهان با مکانیسم‌های پیچیده‌ای که در آن‌ها بیان بسیاری از ژن‌ها و مکانیسم‌های فیزیولوژیکی دخالت دارند، به تنش شوری پاسخ می‌دهند (Chaubey and Senadhira, 1994; Richards, 1996). در دهه‌های اخیر پیشرفت‌های زیادی در رابطه با شناسایی اساس ژنتیکی مقاومت نسبت به شوری در گیاه گوجه فرنگی صورت گرفته است. یکی از اطلاعات مهم به دست آمده این است که در گیاه گوجه فرنگی مقاومت نسبت به شوری در هر مرحله از رشد و نمو بطور خاصی تنظیم می‌گردد.(Foolad and Lin, 1997; Foolad, 1999) و مقاومت در یک مرحله نموی گیاه اغلب با مقاومت در سایر مراحل نموی به یکدیگر مربوط نمی‌شود. این یافته‌ها در سایر گونه‌های گیاهی نیز توسط محققین مختلف گزارش شده‌است (Ashraf and Mcneilly ,2008; Johnson et al., 1992). چنین پاسخی در مورد گیاهان جو[1]، ذرت[2]، برنج[3] و گندم نیز گزارش گردیده‌است (Maas, 1986).

۱-۳ مکانیسم‌های مقاومت نسبت به شوری در گیاهان

۱-۳-۱ دفع نمک

دفع نمک مکانیسمی است که بیشتر در هالوفیت‌ها گزارش شده است. این گیاهان دارای سلول‌های اختصاصی هستند که نمک در این سلول‌ها متراکم شده و به خارج از گیاه فرستاده می‌شود. این سلول‌های اختصاصی در گیاهانی نظیر اسپارتینا[4]،کرسا[5] و گلوکس[6] دیده می شود. گزارش‌هایی مبنی بر استفاده بعضی از گلیکوفیت‌ها از این مکانیسم

[1] Hordeum spp.
[2] Zea mays L.
[3] Triticum spp.
[4] Spartina
[5] Cressa
[6] Glaux

وجود دارد. به عنوان مثال ذرت و سورگوم با استفاده از این مکانیسم مقدار پتاسیم موجود در سلول‌های خود را بالا نگه می‌دارند (لاهوتی و رحیم زاده، ۱۳۶۷).

۱-۳-۲ رقیق کردن

گروهی از گیاهان همزمان با رشد خود مقدار زیادی آب جذب می‌کنند تا اینکه نمک در آن‌ها در حد پایینی نگه داشته شود. به این عمل رقیق کردن شیره سلول همراه با رشد گفته می‌شود که در بعضی از گلیکوفیت‌هایی که نسبت به شوری مقاومت نسبتا خوبی دارند، مشاهده گردیده است. در هالوفیت‌ها عمل رقیق کردن با گوشتی شدن بافت‌ها همراه است. این مکانیسم به ویژه در گیاه آتریپلکس از کارایی بالایی برخوردار است. گوشتی شدن و افزایش آب برگ سبب کاهش اثر سمی یون‌ها می گردد (Balibrea et al., 1997).

۱-۳-۳ جلوگیری از ورود یونها

جلوگیری از ورود سدیم و کلر به بافت‌های ساقه که از نظر متابولیکی فعال هستند یکی از مکانیسم‌های مقاومت نسبت به شوری در تعدادی از گونه‌های حساس به نمک شناخته شده است. این روش تنظیم نمک یکی از مهمترین روش‌ها برای مقابله با تنش شوری در گلیکوفیت‌ها به شمار می‌رود. به عنوان مثال :گیاه سورگوم از انتقال سدیم به برگ‌ها جلوگیری می‌کند و در نتیجه غلظت یون سدیم در برگ‌ها پایین نگه داشته می‌شود. در چنین شرایطی یون پتاسیم تنظیم اسمزی را در گیاه به عهده می‌گیرد (Walker et al., 2000).

۱-۴ تنظیم اسمزی

گیاهان با جذب یون‌ها می توانند تا حدودی خود را نسبت به پتانسیل اسمزی محیط بیرون توسط تنظیم اسمزی درون سلول پاسخ دهند. گیاهان با استفاده از ترکیبات آلی و غیرآلی پتانسیل اسمزی درون سلول را تنظیم می‌کنند بطوریکه پتانسیل آب گیاه منفی‌تر از پتانسیل آب محیط بیرون می‌شود و بدین ترتیب جریان آب به داخل گیاه هدایت می‌گردد (Wilson and Shanon, 1995).

۱-۴-۱ نقش پرولین در مقاومت به تنش شوری در گیاهان

در بسیاری از گزارش‌ها به وجود ارتباط مثبت بین تجمع پرولین و تحمل استرس یا سازگاری به استرس شده‌است ولی در برخی دیگر این ارتباط دیده نمی‌شود. این مطلب می تواند دلالت به این امر داشته باشد که در برخی از

گیاهان مکانیسم‌های تحمل تنش ممکن است به صورت دیگری عمل نمایند ویا علاوه بر تعادل اسمزی مکانیسم‌های دیگری نیز درگیر باشند. در بعضی از گونه‌های گیاهی مثل سیب زمینی، پرولین نقش اصلی را در تنظیم اسمزی ایفا می‌کند (Bussis and Heinke, 1998)، در حالیکه در سایر گونه‌ها مثل گیاه گوجه فرنگی، پرولین فقط بخش کمی از تنظیم اسمزی را که سایر مواد محلول مسئول آن می‌باشند به عهده دارد. بنابراین توزیع آن در گیاه برای تنظیم اسمولاریته و مقاومت گیاهان در معرض شرایط نامساعد محیطی هنوز مبهم می‌باشد.(Hare et al., 1999) به هر حال رشد سلول با افزودن پرولین به محیط کشت افزایش می‌یابد. لذا پرولین می‌تواند در سازگاری سلول‌های کشت شده نسبت به تنش اسمزی نقش مفیدی داشته باشد .(Rhodes et al., 1986; Handa et al., 1983) در برخی گزارش‌ها به وجود ارتباط مثبت بین تجمع پرولین با تحمل به سازگاری به تنش اشاره شده است. در برخی موارد مشاهده شده-است که با افزایش پرولین خارجی رشد سلول‌ها در محیط کشت افزایش می‌یابد. بنظر می رسد پرولین می‌تواند نقش مفیدی را در سازگاری سلول‌های کشت شده به تنش اسمزی داشته باشد (Ehsanpour and Fatahian, 2003). در مورد نقش پرولین تجمع یافته در گیاهان تحت تنش اسمزی به نقل از رضوی زاده، ۱۳۸۸ نظرات مختلفی وجود دارد که عبارتند از:

۱- حفظ متابولیسم و سنتز پروتئین (Trotel-Aziz et al., 2000)

۲- ایجاد تعادل اسمزی داخل سلولی بین سیتوپلاسم و واکوئل (Santos, 2004)

۳- محافظ آنزیم‌های سلولی (Solomon et al., 1994)

۴- محافظ ساختارهای داخل سلولی (Lyer and Caplam, 1998)

۵- به عنوان یک ترکیب ذخیره‌ای از کربن و نیتروژن که بعد از حذف تنش برای برگشت به وضعیت عادی مورد استفاده گیاه قرار می‌گیرد (Stewart and Lee, 1974).

تقریبا همه گیاهان در شرایط تنش‌های زیستی و غیر زیستی پرولین را در بافت‌های خود ذخیره می‌کنند ولی مقدار آن بسته به گونه گیاهی و شدت تنش ممکن است بین ۲ تا ۱۰۰ برابر باشد (kishor et al., 2005). بعد از حذف تنش پرولین برای بازگشت به وضعیت عادی تجزیه شده و به عنوان ذخیره کربن و نیتروژن به مصرف گیاه می‌رسد. بنابراین

تنظیم اسمزی بصورت تجمع برخی از مواد محلول در بافت‌ها و در پاسخ به تنش خشکی و شوری در برخی گونه‌های گیاهان زراعی مشاهده می گردد. در تنظیم اسمزی مواد آلی از قبیل قندها و آمینواسیدها در سلول‌ها انباشته می‌شوند و باعث حفظ حالت تورژسانس می‌گردند(Yeo and Flowers, 1994).

۱-۵ نقش پروتئین‌ها در مقاومت نسبت به شوری گیاهان

تاکنون چندین پروتئین در ارتباط با تنش شوری در گونه‌های گیاهی شناسایی شده‌اند. این پروتئین‌ها در دو گروه مجزا طبقه بندی می‌گردند:

۱- پروتئین‌های تنش شوری که فقط به علت تنش شوری تجمع می یابند.

۲- پروتئین‌های همراهی‌کننده تنش که در پاسخ به تنش‌های حرارتی، سرما، خشکی و کاهش یا افزایش مواد غذایی نیز همراهند.

پروتئین‌هایی که در گیاهان تحت تنش شوری تجمع می یابند، ممکن است یک فرم ذخیره‌ای نیتروژن را تولید نمایند که در زمان اتمام تنش این ماده می تواند مصرف شود و همچنین ممکن است نقشی را در تنظیم اسمزی ایفا نمایند (Singh et al., 1987). در پاسخ نسبت به تنش شوری ممکن است پروتئین‌های جدید سنتز شوند و یا ممکن است پروتئین‌هایی که از قبل در غلظت‌های کم وجود داشته‌اند همزمان با وقتی که گیاه در تنش شوری قرار می‌گیرد، میزان آن‌ها افزایش یابد (Sue et al., 2002). HSPs(Heat Shock Proteins) و مولکول‌های چپرون مثل خانواده پروتئینی LEA(Late embryogenesis abundant) نیز در مقاومت گیاهان نسبت به تنش‌های غیر زیستی درگیرند(Singh et al., 1987). تنش‌های درجه حرارت بالا ، شوری و خشکی می‌توانند سبب تجزیه و غیرفعال شدن بسیاری از پروتئین‌ها گردند. بنابراین حدس زده می‌شود که پروتئین‌های HSPs و LEA از سلول‌های گیاهی در مقابله با این تنش‌ها کمک می‌کنند. این کمک به صورت کنترل Folding و سازش هر دو نوع پروتئین‌های ساختاری مثل پروتئین‌های غشا پلاسمایی و عملکردی مثل آنزیمهاست. ارتباط مستقیم بین میزان چندین نوع HSPs و مقاومت نسبت به تنش‌ها گزارش گردیده است (Sue et al., 2002).