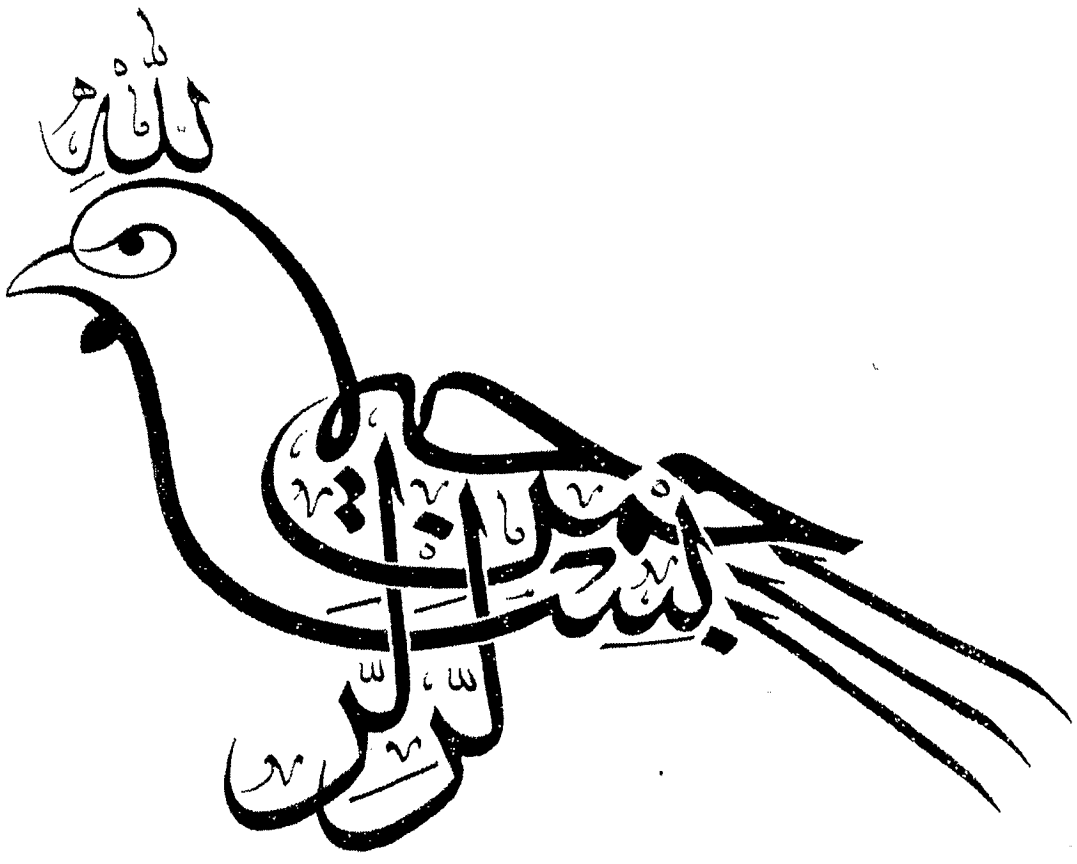


١١٦١٤٥

دانشگاه زنجان
دانشکده کشاورزی
گروه زراعت و اصلاح نباتات

پایان نامه جهت اخذ درجه کارشناسی ارشد در رشته اصلاح نباتات

**عنوان:**

# همسانه سازی کامل و بررسی الگوی بیان ژن *asr6* جداسازی شده تحت تنش شوری از گیاه آلوروپوس لگوپوییدس

**اساتید راهنما:**
**دکتر خدیجه رضوی**
**دکتر بهرام ملکی زنجانی**

**استاد مشاور:**
**دکتر محمد علی ملبوبی**

**تحقیق و پژوهش:**
**عطیه کاشانی نیا**

مهر ۸۷

۱۳۸۸/۶/۱۱
مرکز اطلاعات مدارک علمی پزشکی
قسمت مدارک

۱۱۶۱۴۵

تقدیم به مهربانی و صبر مادرم و پدرم

بر خود لازم می دانم از عزیزانی که در تمامی مراحل انجام این پایان نامه مشوق و همراه من بوده اند، به ویژه سرکار خانم دکتر رضوی و جناب آقای دکتر ملبوبی که با شکیبایی همواره مرا با راهنماییهای خود یاری نموده اند و نیزآقای دکتر ملکی جهت همکاری فراوان ایشان کمال تشکر و سپاس را داشته باشم.

از دوستان عزیزم خانم ها هدایتی ، روشنی و علیزاده عالی ترین سپاس را دارم . از همکاران و اساتید آزمایشگاه گیاهی به ویژه گروه دکتر ملبوبی و خانم دکتر لهراسبی و خانم شجاعی قدردانی منمایم.

دانشگاه زنجان

باسمه تعالی

شماره : ۱۵۹۲
تاریخ : ۸۷/۷/۲۰

# صورتجلسه دفاع از پایان نامه کارشناسی ارشد

با تأییدات خداوند متعال و با استعانت از حضرت ولی عصر (عج) جلسه دفاع از پایان نامه کارشناسی ارشد آقای/خانم **عطیه کاشانی نیا** رشته **اصلاح نباتات**

تحت عنوان" **همسانه سازی ژن کامل *asr6* و بررسی الگوی بیان آن، جداسازی شده تحت تنش شوری از آلوروپوس لگوپوییدس** " در تاریخ **۱۳۸۷/۷/۱۷** با حضور هیأت محترم داوران در دانشگاه زنجان برگزار گردید و نظر هیأت داوران بشرح زیر می باشد :

☑ قبول (با درجه : عالی امتیاز : ۱۹/۱۵) ☐ دفاع مجدد ☐ مردود

۱- عالی (۲۰-۱۸)

۲- بسیار خوب (۱۷/۹۹-۱۶)

۳- خوب (۱۵/۹۹-۱۴)

۴- قابل قبول (۱۳/۹۹-۱۲)

| عضو هیأت داوران | نام و نام خانوادگی | رتبه علمی | امضاء |
|---|---|---|---|
| ۱- استاد راهنما | دکتر بهرام ملکی زنجانی | استادیار | |
| ۲- استاد راهنما | دکتر خدیجه رضوی | استادیار | |
| ۳- استاد مشاور | دکتر محمد علی ملبوبی | دانشیار | |
| ۴- استاد ممتحن | دکتر رضا فتوت | استادیار | |
| ۵- استاد ممتحن | دکتر جلال صبا | استادیار | |
| ۶- نماینده تحصیلات تکمیلی | دکتر احمد گلجین | دانشیار | |

دکتر محمد حسین شهیر
معاون آموزشی و تحصیلات تکمیلی دانشکده کشاورزی

دکتر نعمت ا... ارشدی
مدیر تحصیلات تکمیلی دانشگاه

## همسانه سازی کامل و بررسی بیان ژن *asr6* ، جداسازی شده تحت تنش شوری از *Aeluropus lagopoides*

چکیده:

شوری عامل محیطی مهمی است که رشد گیاه و عملکرد آن را به سبب ایجاد اختلال در تعادل یونی و اسمزی ، جذب مواد و تنش اکسیداتیو تحت تاثیر قرار می دهد و سبب مرگ گیاه یا کاهش عملکرد آن می شود. بقاء و نگهداری قدرت رشد گیاه در شرایط نمکی را تحمل شوری نامند. این صفت متغیری است که به فاکتورهای زیادی از جمله گونه گیاهی بستگی دارد.

آلوروپوس لگوپوییدس گیاهی هالوفیت از تیره گندمیان و خویشاوند نزدیک گندم دارای سیستم تنفسی $C_4$ وغدد نمکی است که در باتلاق ها و مرداب های شور می روید.

یک از راه های درک سازوکارهای درگیر در تحمل تنش شوری، شناسایی ژن ها و الگوی بیان گیاهان است. بیان ژن های آلوروپوس لگوپوییدس در شرایط تنش شوری سخت بررسی گردید و چندین ژن القاء پذیر از جمله قطعه *asr6* از آن جدا سازی شده است. این تحقیق به منظور همسانه سازی طول کامل ژن مذکور با استفاده از چندین روش جداسازی ژن نظیر RACE-PCR و Inverse- PCR وLinker PCR و جهت دستیابی به اطلاعات بیشتر در مورد این ژن و بررسی الگوی بیان آن در شرایط تیمار های شوری شامل غلظت های ۱۵۰، ۳۰۰، ۴۵۰، ۶۰۰ میلی مولار و بازیافت ۶۰۰، تیمار های هورمونی شامل آبسیزیک اسید و سالسیلیک اسید با غلظت ۱۰۰ ماکرو مولار، تیمارخشکی اعمال شده توسط پلی اتیلن کلایکول با غلظت ۱۰٪ و تیمار اسمزی اعمال شده به وسیله مانیتول با غلظت ۳۰۰ میلی مولار، با استفاده از روش Semi Quantitative RT PCR با هدف شناسایی و تجزیه و تحلیل بیان ژن در تیمار شوری صورت گرفته است.

از روش های افزایش طول قطعه ژن، با توجه به آغازگرهای به کار رفته در هر روش، قطعات متعددی مشابه با ژن های رمز کننده پروتئین های متفاوت در موجودات مختلف، جداسازی شد.

یافته های حاصل از بررسی نیمه کمی بیان ژن مسیر بیان آن را در تنش شوری وابسته به هورمون ABA و در فاز سمیت یونی می داند. نیز بیان آن در تنش های غیر زیستی (تیمار آبسیزیک اسید) همچون تنش های زیستی (تیمار سالسیلیک اسید) تایید شده است.

کلید واژگان: آلوروپوس لگوپوییدس، شوری، همسانه سازی ژن، بررسی بیان ژن

# فهرست

## فصل اول

مقدمه ۱

## فصل دوم

۲-۱- تعریف شوری و طبقه بندی خاک‌های شور ۷
۲-۲- شوری در ایران و جهان و اثر آن بر اقتصاد ۸
۲-۳- اثرات شوری بر گیاهان ۱۰
۲-۳-۱- رشد گیاه ۱۰
۲-۳-۲- روابط آبی ۱۰
۲-۳-۳- رنگدانه های فتوسنتزی ۱۰
۲-۳-۴- لیپیدها ۱۰
۲-۳-۵- سطوح یونی ۱۱
۲-۳-۶- آنزیم های اکسیداتیو و آنتی اکسیدانت ها ۱۱
۲-۳-۷- متابولیسم نیتروژن ۱۱
۲-۳-۸- فتوسنتز ۱۲
۲-۴- دسته بندی گیاهان براساس تحمل شوری ۱۲
۲-۵- اساس تنوع گیاهی هنگام تحمل ۱۴
۲-۶- مکانیسم های تحمل شوری ۱۶
۲-۷- مکانیسم مولکولی تحمل شوری ۱۸
۲-۸- آلوروپوس لگوپوئیدس، هالوفیت دارای ژرم پلاسم غنی ۲۲
۲-۹- نحوه جداسازی ژن *asr6* ۲۵
۲-۱۰- روش های تکمیل طول قطعه *asr6* ۲۶
۲-۱۰-۱- همسانه سازی توالی ژنومی رمزکننده پروتئین ها با استفاده از روش GDNA Linker-PCR ۲۸
۲-۱۰-۲- همسانه سازی توالی های ژنومی با استفاده از روشInverse PCR ۲۹
۲-۱۰-۳- همسانه سازی طول کامل ژن ها با روش dscDNA Linker-PCR ۳۰
۲-۱۰-۴- همسانه سازی طول کامل ژن ها با استفاده از روش RACE PCR[1] ۳۰
۲-۱۱- روش های بررسی بیان ژن ها ۳۱
۲-۱۱-۱- استاندارد برای کمی سازی ۳۴
۲-۱۱-۲- طراحی آغازگرهای PCR نیمه کمی ۳۵
۲-۱۱-۳- ایجاد شرایط محیطی مختلف برای بررسی الگوی بیان ژن ها ۳۵

## فصل سوم


| | |
|---|---|
| ۳-۱- جمع آوری ماده گیاهی | ۳۸ |
| ۳-۲- آماده سازی بذرها وکشت | ۳۸ |
| ۳-۳- تهیه محیط کشت گیاهی | ۴۰ |
| ۳-۳-۱- محلول های مادری محیط کشت گیاهی | ۴۰ |
| ۳-۴- استخراج RNA کل از بافت گیاهی | ۴۴ |
| ۳-۵- تیمار RNA کل با آنزیم *Dnase1* | ۴۵ |
| ۳-۶- ساخت DNA مکمل تک رشته ای | ۴۶ |
| ۳-۷- استخراج DNA ژنومی با استفاده از روش CTAB | ۴۷ |
| ۳-۸- طراحی آغازگرها | ۵۰ |
| ۳-۹- تکمیل طول قطعه ژن *asr6* با استفاده از روش Genomic Linker-PCR | ۵۱ |
| ۳-۹-۱- هضم آنزیمی DNA ژنومیک با *EcoR1* | ۵۱ |
| ۳-۹-۲- شستشوی DNA هضم شده | ۵۱ |
| ۳-۹-۳- ساخت آداپتور Oligo1-2 | ۵۲ |
| ۳-۹-۴- اتصال آداپتور Oligo1-2 به DNA ژنومیک هضم شده | ۵۲ |
| ۳-۹-۵- بهینه سازی واکنش PCR | ۵۳ |
| ۳-۱۰- تکمیل طول قطعه *asr6* با روش dscDNA Linker-PCR | ۵۳ |
| ۳-۱۰-۱- ساخت ds-cDNA (DNA مکمل دورشته ای) از mRNA | ۵۳ |
| ۳-۱۰-۲- هضم ds-cDNA با آنزیم *EcoR1* | ۵۵ |
| ۳-۱۰-۳- بهینه سازی واکنش PCR | ۵۷ |
| ۳-۱۱- تکمیل طول قطعه با استفاده از روش Inverse PCR | ۵۷ |
| ۳-۱۱-۱- هضم DNA ژنومی با آنزیم های برشگر | ۵۷ |
| ۳-۱۱-۲- واکنش IPCR | ۵۸ |
| ۳-۱۱-۳- بهینه سازی واکنش PCR | ۵۹ |
| ۳-۱۲- تکمیل طول قطعه *asr6* با استفاده از روش RACE - PCR | ۵۹ |
| ۳-۱۲-۱- ساخت رشته اول cDNA | ۶۰ |
| ۳-۱۲-۲- کنترل واکنش ساخت cDNA | ۶۱ |
| ۳-۱۲-۳- تکثیر cDNA به کمک PCR | ۶۲ |
| ۳-۱۲-۴ ۶۲- واکنش 5' RACE PCR | ۶۲ |
| ۳-۱۳- تخلیص باند مورد نظر از روی ژل آگاروز | ۶۲ |
| ۳-۱۴- همسانه سازی در ناقل pTZ57R/T | ۶۳ |
| ۳-۱۵- تهیه سلول های مستعد | ۶۵ |

۳-۱۶- تهیه محیط کشت LB ۶۶

۳-۱۷- تراریختی باکتری ۶۷

۳-۱۸- تأیید کلونی‌ها با استفاده از کلونی PCR ۶۹

۳-۱۹- استخراج پلاسمید (به روش miniprep) ۷۰

۳-۲۰- استخراج پلاسمید به روش TELT ۷۲

۳-۲۱- هضم آنزیمی جهت تأیید کلونی ها ۷۳

۳-۲۲- بررسی بیان ژن با استفاده از PCR نیمه کمی ۷۴

۳-۲۲-۱- طراحی آغازگرهای PCR نیمه کمی ۷۴

۳-۲۲-۲- بهینه سازی شرایط PCR نیمه کمی ۷۵


## فصل چهارم


۴-۱- کشت هیدروپونیک ۷۸

۴-۲- استخراج RNA کل از بافت گیاهی ۷۹

۴-۳- ساخت cDNA ۸۰

۴-۴- استخراج DNA ژنومی ۸۰

۴-۵- تکمیل طول ژن *asr6* با استفاده از روش GDNA Linker-PCR ۸۱

۴-۵-۱- بهینه سازی واکنش PCR، و همسانه سازی در حامل ۸۲

۴-۵-۲- نتایج توالی یابی قطعات ۸۴

۴-۶- همسانه سازی طول کامل ژن *asr6* با روش dscDNA Linker-PCR ۸۴

۴-۶-۱- بهینه سازی واکنش PCR، و همسانه سازی در حامل ۸۵

۴-۶-۲- نتایج توالی یابی قطعات ۸۸

۴-۷- تکمیل طول قطعه با استفاده از روش Inverse PCR ۸۹

۴-۷-۱- انجام IPCR ۹۰

۴-۷-۲- انتخاب آنزیم برشی ۹۱

۴-۷-۳- نتایج مربوط به IPCR بعد از بهینه سازی آن ۹۳

۴-۷-۳-۱- نتایج توالی یابی قطعات ۹۶

۴-۸- تکمیل طول قطعه *asr6* با استفاده از روش RACE PCR ۹۷

۴-۸-۱- بهینه سازی واکنش 3'RACE PCR: ۱۰۰

۴-۸-۲- نتایج توالی یابی: ۱۰۳

۴-۹- نحوه دست یابی به نتایج تعیین توالی: ۱۰۴

۴-۱۰- - بررسی نحوه بیان قطعه ژن *asr6* با استفاده از روش Q-RT- PCR ۱۰۵

۴-۱۰-۱- طراحی تیمارهای آزمایش ۱۰۵

۲-۱۰-۴- نتایج PCR : ۱۰۸
۳-۱۰-۴- بیان ژن *asr6* در شرایط کنترل شده: ۱۱۰
**نتیجه گیری** ۱۱۵
**پیشنهادات** ۱۱۶

**منابع** ۱۱۷

**پیوست ها**

جدول ۱-۱ مقایسه هالوفیت ها و گلیکوفیت ها ۱۳

جدول ۱-۳- محلول مادری ویتامین ۴۲

جدول۲-۳- محلول مادری آهن ۴۲

جدول ۳-۳- محلول مادری عناصر ماکرو ۴۳

جدول ۴-۳- مواد غذایی پر مصرف ۴۳

جدول ۵-۳- مخلوط واکنش تیمار RNA با *DnaseI* ۴۵

جدول ۶-۳- محلول واکنش RT ۴۷

جدول ۷-۳- ترکیب بافر استخراج ۴۹

جدول ۸-۳- ترکیب بافر شستشو ۴۹

جدول ۹-۳- توالی آغازگر اختصاصی بر اساس ژن *asr6* آلوروپوس لگوپویدس ۵۰

جدول ۱۰-۳- ترکیب 5X annealing buffer ۵۲

جدول ۱۱-۳- واکنش اتصال آداپتورها به DNA هضم شده ۵۳

جدول۱۲-۳- محلول واکنش RT ۵۴

جدول ۱۳-۳- محلول ساخت ds-cDNA ۵۶

جدول ۱۴-۳- مخلوط واکنش هضم ds-cDNA ۵۶

جدول ۱۵-۳- مخلوط واکنش اتصال ۵۷

جدول ۱۶-۳- واکنش هضم با آنزیم های برشگر ۵۸

جدول ۱۶-۳- واکنش خود اتصالی قطعات هضم شده با آنزیم های برشگر ۵۹

جدول ۱۷-۳- واکنش غنی سازی توالی های حلقوی شده ۶۰

جدول ۱۸-۳- اجزاء واکنش ساخت رشته اول cDNA ۶۱

جدول ۱۸-۳- اجزاء واکنش تکثیر 3'RACE ۶۱

جدول ۱۹-۳- اجزاء واکنش کنترل ساخت cDNA ۶۲

جدول ۲۰-۳- واکنش اتصال قطعه درون ناقل ۶۴

جدول ۲۱-۳- محتوای محلول TFBI ۶۷

جدول ۲۲-۳- محتوای محلول TFBII ۶۷

جدول ۲۳-۳- مواد تشکیل دهنده محیط LB ۶۸

جدول ۲۴-۳- اجزای واکنش کلونی PCR ۷۱

جدول ۲۵-۳- مخلوط واکنش هضم دوگانه آنزیمی ۷۵

جدول ۲۶-۳- آغازگرهای مورد استفاده در PCR نیمه کمی ۷۶

جدول ۲۷-۳- مواد به کار رفته در واکنش PCR برای ژن آلفا توبولین و ژن *asr6* ۷۷
جدول ۲۸-۳- برنامه زمانی و دمایی PCR برای ژن خانه دارتوبولین ۷۸
جدول ۲۹-۳- برنامه زمانی و دمایی PCR برای ژن *asr6* ۷۸

تصویر ۱-۳- کشت هیدروپونیک گیاهان ۳۹
تصویر۲-۳- کشت هیدروپونیک گیاهان در مدل جدید ۴۰
تصویر۳-۳- طراحی آغازگرها روی قطعه *asr6* ۵۰
تصویر ۳-۳- شمایی از وکتور PTZ57R ۶۵
تصویر۴-۳- نمونه ای از کلونی های تراریخت را روی محیط انتخابی ۷۰
تصویر۳-۴- الکتروفورز RNA روی ژل آگاروز ۱٪ ۸۰
تصویر۴-۴- محصول PCR مربوط به تعیین صحت cDNA با ژن آلفا توبولین. ۸۰
تصویر ۵-۴- الکتروفورز DNA بر روی ژل آگاروز ۰/۸٪ ۸۱
شکل ۶- ۴ – محصول هضم شده با آنزیم های برشی. ۸۲
شمایی از روش Inverse PCR ۹۰
شمایی از واکنش های RACE برای دو انتهای مولکول mRNA ۱۰۲

نمودار ۱-۴- نمودار نشان دهنده میزان میانگین ارزش کمی بیان ژن *asr6* در تیمار های متفاوت ۱۱۵

# مقدمه

## فصل اول

## مقدمه

وجود مقادیر زیادی از نمک در بسیاری از مناطق مختلف جهان، باعث کاهش محصولات زراعی به مقدار قابل توجهی می‌شود. مسئله بسیار حائز اهمیت است، زیرا تقریباً ۹۰۰ میلیون هکتار از اراضی تحت تاثیر شوری قرار گرفته‌اند (Szabolcs, 1994)، که معادل ۷٪ از کل خشکی های کره زمین را تشکیل می‌دهد. از ۱/۵ میلیارد هکتار سطح زیر کشت جهانی، حدود ۵٪ (یعنی ۷۷ میلیون هکتار) تحت تاثیر شوری قرار دارد (Munns *et al.*, 1999).

از بین آثار متعددی که خاک شور ایجاد می‌کند، ممانعت از رشد گیاه توسط $Na^+$ و $Cl^-$ اهمیت ویژه‌ای دارد. در گیاهان چند سالهٔ چوبی، $Na^+$ در ریشه و ساقه‌های چوبی شده باقی می‌ماند و $Cl^-$ در بخش هوایی مجتمع می شود و موجب آسیب گیاه می‌گردد، این آسیب‌ها بیشتر به سیستم فتوسنتز وارد می‌گردند (Flowers, 1988). در حالی که در بسیاری از گیاهان مثل گیاهان زراعی تیرهٔ گندمیان، $Na^+$ موجب تخریب ویژهٔ یونی می‌شود. آسیب ویژه $Na^+$ با تجمع آن در بافت‌های برگ در ارتباط است و منجر به از بین رفتن برگ‌های مسن‌تر می‌شود. کاهش رشد گیاه و محصول آن در نتیجهٔ کوتاه شدن عمر برگ‌ها به وقوع می‌پیوندد، در نتیجه عملکرد محصول گیاهان زراعی افت محسوسی پیدا می‌کند (Munns, 1993, 2002) .

مدت زمانی که در طی آن آسیب ویژهٔ $Na^+$ آشکار می‌شود، به سرعت تجمع $Na^+$ در برگ‌ها و نیز اثر به دام افتادن $Na^+$ در داخل بافت ها و سلول‌های برگ، بستگی دارد. چنین آثار ویژهٔ $Na^+$ وقتی با آثار اسمزی NaCl همراه می‌شود، آسیب‌های بیشتری را می‌تواند به همراه داشته باشد (Munns, 2002).

میزان تحمل شوری در گیاهان مختلف متفاوت است، این تفاوت در میان اعضا تیره های مختلف گیاهی، اعضاء یک جنس، حتی در بین افراد گونه های کاملاً نزدیک و همچنین رقم‌های یک واریته نیز دیده می‌شود. این تفاوت در میان گیاهان کاملاً نزدیک حائز اهمیت

ویژه ای اســـــــت، و احتمـــــــــالاً می‌توان عوامل مؤثر بر تحمل تنش شوری را شناسایی نمود(Teste and Davenport, 2003)

برخی از آثار مربوط به غلظت زیاد $Na^+$ در خاک به کمبود مواد معدنی مغذی و یا به برهم کنش شوری با دیگر عوامل محیطی مثل خشکی می تواند باشد، که در هر حال مسئله مسمومیت با $Na^+$ را حادتر می‌نمایند. کمبود مواد معدنی مغذی به دلیل عمل بازدارندهٔ $Na^+$ در جذب آنها رخ می‌دهد که:

۱) $Na^+$ به طور مستقیم در جذب این عناصر اختلال ایجاد می‌نماید، به نحوی که در عملکرد ناقلان عناصر مذکور در غشا پلاسمایی ریشه ایجاد مزاحمت می‌کنند (مانند کانال‌های یونی انتخاب کنندهٔ $K^+$)؛ و

۲) $Na^+$ از رشد ریشه ممانعت به عمل می‌آورد، کـــــــــه به علت آثار ناشی از تنش اسمزی و یا تغییر ساختار خاک رخ می‌دهد (Wild, 1988).

بنابراین از جذب آب و عناصر محدود کنندهٔ رشد (Fe، P یا Zn) جلوگیری می شود و رشد ریزسازواره های خاک (مانند قارچ های میکوریزایی) بسیار محدود می گردد. برگ‌ها نسبت به ریشه در برابر $Na^+$ آسیب پذیرتر هستند، زیرا $Na^+$ (و $Cl^-$) بیشتری در آنها جمع می‌شود. در ریشه‌ها مقدار NaCl در طول زمان ثابت می‌ماند، زیرا می‌توانند با دفع NaCl به خاک و یا به بخش هوایی مقدار آن را تنظیم نمایند. $Na^+$ در گزیلم و با جریان تعرق به سمت بخش هوایی منتقل می‌شود، ولی تنها از طریق فلوئم به ریشه باز می‌گردد. شواهد اندکی در مورد جریان دوباره $Na^+$ از بخش هوایی به ریشه موجود است، بنابراین احتمالاً جریان $Na^+$ یک طرفه است و همین منجر به تجمع مقادیر زیادی $Na^+$ در برگ‌ها می‌شود.

سمیت متابولیکی $Na^+$ از توانایی آن در اشغال جایگاه‌های اصلی $K^+$ ناشی می‌شود. $K^+$ بیش از ۵۰ آنزیم را فعال می نماید که $Na^+$ نمی‌تواند جانشینی برای $K^+$ باشد (Chinnusamy *et al.*, 2005). بنابراین وجود مقادیر زیادی از $Na^+$ یا نسبت بالای $Na^+/K^+$ واکنش‌های آنزیمی مختلفی را در سیتوپلاسم مختل می‌نماید. بعلاوه، برای ساخته شدن پروتئین $K^+$ فراوانی

لازم است، زیرا احتمالاً $K^+$ در ریبوزوم ها به tRNA متصل می‌شود، و یا برای اعمال ریبوزوم‌ها ضروری است (Wyn Jones *et al.*, 1979). ظاهراً اختلال در ساخت پروتئین از مهمترین آسیب‌های حاصل از تجمع $Na^+$ است. در تنش شوری ملایم غلظت $Na^+$ در آپوپلاست برگ‌های برنج به حدود ۶۰۰ میلی مولار می‌رسد (Flowers *et al.*, 1991). در این حالت +Na از طریق گزیلم وارد برگ‌ها می‌شود و پس از تبخیر آب، هم آنجا باقی می‌ماند. تعمیم تجمع آپوپلاستی $Na^+$، به همهٔ گیاهان، زیر سؤال است.

بر اساس پاسخ گیاهان به شوری، گیاهان به دو دسته هالوفیت و گلیکوفیت تقسیم می شوند. هالوفیت ها به گیاهانی گفته می شود که بتوانند در غلظت های بالای نمک زندگی کنند و زنده بمانند که خود به دو دسته اجباری و اختیاری تقسیم می گردند. هالوفیت های اجباری فقط در مناطقی با شوری بالای ۵۰ درصد آب دریا رشد می نمایند ولی هالوفیت های اختیاری در حاشیه زمین های شور یا غیرشور زندگی می کنند تفاوت گونه های دو لپه‌ای در همبستگی بین حساسیت به شوری و تجمع مقادیر اندکی $Na^+$ در بخش هوایی از تک لپه‌ای ها بیشتر است. همبستگی بین حساسیت به شوری و وجود مقادیر اندک $Na^+$ در بخش هوایی در هالوفیت ها مصداق ندارد. برخی از هالوفیت‌ها (به ویژه انواع دولپه ای آنها) مقادیر زیادی $Na^+$ را در بخش هوایی خود متراکم می‌نمایند (تا ۵۰٪ از وزن خشک). در این گیاهان NaCl برای بالابردن پتانسیل اسمزی کل گیاه استفاده می‌شود. در این حالت NaCl همانند یک اسموتیکوم عمل می‌کند (Glenn *et al.*, 1999; Flowers and Yeo, 1986).

در هالوفیت های تک لپه‌ای $Na^+$ کمتری در بخش هوایی ذخیره می شود و مقدار $K^+$ نسبت به دولپه‌ای‌های هالوفیت در بخش هوایی بیشتر است و تعادل اسمزی را اسموتیکوم‌های دیگر برقرار می‌نمایند. در واقع، هالوفیت‌ها در تنظیم جذب $Na^+$ از گیاهان حساس به شوری کارآمدتر هستند. حتی در بسیاری از هالوفیت ها به محض افزودن NaCl به محیط کشت، رشد تسریع می‌شود (بهینهٔ رشد در گونه های مختلف متفاوت است و می‌تواند در ۴۰۰ میلی مولار نمک و یا بیشتر به حداکثر برسد). بین غلظت $Na^+$ در اندام‌ها و رشد گیاه در گونه های

زراعی تیرهٔ گندمیان ارتباط بسیار نزدیکی وجود دارد، البتـــــــــه ذرت و برنج استثناء می باشند (Cramer *et al.*, 1994).

مکانیسم های تحمل شوری به دو دسته تقسیم می گردند، دسته اول مکانیسم های ساده می باشند که موجب تغییر در مسیرهای بیوشیمیایی می شوند و دسته دوم مکانیسم های پیچیده هستند که فرایندهای حیاتی نظیر فتوسنتز، تعرق و کارآیی مصرف آب را تحت تاثیر قرار می دهند و موجب حفظ دیواره سلولی یا رابطه متقابل دیواره سلولی با غشای پلاسمایی می شوند. مسیر های بیوشیمیایی و فرایندهایی که تحمل شوری را بهبود می بخشند احتمالاً بطور جمعی و شاید مشارکت کننده عمل می نمایند. راهکارهای بیوشیمیایی شامل:

۱) تجمع انتخابی یا ممانعت از ورود یونها: گیاهان هالوفیت یا گلیکوفیت نمی توانند مقادیر بالای نمک را در سیتوپلاسم تحمل نمایند بنابراین تحت تنش شوری از ورود نمک های اضافی خودداری می نمایند.

۲) کنترل جذب یون توسط ریشه و انتقال به برگ ها

۳) کده بندی یون ها در سطوح سلولی یا کل گیاه

۴) سنتز محلولهای سازگار نظیر پرولین، گلایسین بتائین، مانیتول و پلی اول ها

۵)تغییر در ساختار غشا

۶) تولید آنزیم های آنتی اکسیداتیو: تنش شوری به علت اثرات اسمتیک روی فعالیت های متابولیکی، موجب کمبود آب می شود. کمبود آب منجر به تشکیل انواع اکسیژن های فعال (ROS) ها نظیر سوپراکسید، پراکسید هیدروژن، رادیکال هیدروکسیل و اکسیژن می شود که در نهایت امر به لیپیدها، پروتئینها و اسیدهای نوکلئیک آسیب وارد می شود. وقتی گیاهان در معرض تنشهای محیطی قرار می گیرند تعادل بین تولید انواع اکسیژن فعال و ازدست رفتن فعالیت آنتی اکسیدان ها برهم می خورد که این امر به علت صدمه اکسیداتیو می باشد. گیاهانی که مقادیر بالاتری از آنتی اکسیدان ها دارند به

تنش مقاومتر می باشند، به همین علت تحت تنش شوری فعالیت آنزیمهای آنتی اکسیداتیو نظیر کاتالاز، آسکوربات پراکسیداز، گلوتامین رداکتاز و سوپراکسید دیسموتاز افزایش می یابد.

۷) تولید هورمونهای گیاهی از جمله اسید آبسزیک اسید و سیتوکینین که اثر بازدارندگی نمک روی فتوسنتز را کاهش می دهند و موجب تبدیل سیستم $C_3$ به سیستم CAM می گردند.

ضروری است جهت شناسایی مکانیسم‌های یاد شده اطلاعات کافی در زمینه سلولی و مولکولی تحمل شوری به دست آید. با وجود پیشرفت های اخیر، مکانیسم‌های مولکولی و بیوشیمیایی درگیر در تحمل به شوری به خصوص در تنش‌های طولانی مدت هنوز ناشناخته اند. این اطلاعات کمک خواهد کرد تا راهکارهای مناسب را جهت دست ورزی گیاهان و به نژادی آنها با استفاده از روش‌های مولکولی و اصلاح نباتات کلاسیک در پیش گیریم (Razavi *et. al.*, 2005). ضمن اینکه تحمل شوری یک فرایند فیزیولوژیک پیچیده و یک صفت کمی است روش‌های سنتی اصلاح نباتات که براساس به کارگیری تنوع ژنتیکی موجود در ژرم پلاست، تلاقی بین گونه‌ای و بین جنسی، ایجاد جهش و تنوع سوماکلونال است، سعی بر ایجاد ارقام متحمل به شوری چندان موفق نبوده است. با این وجود در طی دو دهه گذشته امکاناتی فراهم شده است که کاربرد زیست شناسی مولکولی را برای حل مشکلات پیچیده فیزیولوژیک ممکن ساخته است. در عمل هنوز فیزیولوژی سلولی و مولکولی تنش شوری در گیاهان وحشی متحمل شوری کاملاً شناسایی نشده است و بررسی‌های حاضر به جنبه‌های خاصی از جمله برخی ژن‌های پاسخ دهنده به شوری و یافتن برخی مسیرهای بیان پروتئین‌ها، به ویژه در تنش‌های اسمزی محدود بوده است.

در مورد گیاه *Aeluropus* که از دیرباز از جهت ارزش مرتع داری مورد توجه بوده است، بررسی‌های اکوفیزیولوژیکی متعددی انجام گرفته است. حتی با استفاده از روش