بسم الله الرحمن الرحیم

گروه زیست‌شناسی

بررسی تغییرات فیزیولوژیک و بیان برخی ژن‌های رمزکننده اسید فسفاتاز گیاه آرابیدوپسیس تالیانا در تنش کمبود فسفات

توسط:

شراره شجاعی استبرق

اساتید راهنما:

دکتر مهری عسکری و دکتر محمدعلی ملبوبی

دانشگاه اراک

بهمن ۸۹

چکیده

بررسی تغییرات فیزیولوژیک و بیان برخی ژن‌های رمزکننده اسید فسفاتاز گیاه آرابیدوپسیس تالیانا در تنش کمبود فسفات

شراره شجاعی استبرق

فسفر از ترکیبات لازم برای ساختارهای بیومولکول‌ها و فرآیندهای سلولی است. گیاهان برای مقابله با کمبود فسفر راه‌کارهای متفاوتی اتخاذ می‌کنند. در این رساله بررسی‌های فیزیولوژیکی، بیوشیمیایی و مطالعات مولکولی متعددی بر روی آرابیدوپسیس تالیانا در شرایط کمبود فسفر صورت گرفته است. براساس تیمار این گیاه در غلظت‌های مختلف فسفات بعد از ۲۱ روز از لحاظ فیزیولوژیک تغییرات وزن تر و خشک، تغییرات شکل ظاهری ریشه گیاه، تغییرات مقدار فسفر کل، فسفات آزاد و تغییرات میزان آنتوسیانین بررسی گردید. طول ریشه اصلی، تعداد ریشه های جانبی و مقدار آنتوسیانین در غلظت‌های پایین فسفات افزایش یافته است، در حالی که فسفات آزاد و فسفر کل در غلظت‌های صفر، ۰/۲و ۰/۵ میلی‌مولار نسبت به غلظت‌های بالاتر کاهش یافته است. بررسی میانگین تعداد ریشه‌های مویی نشان داد که به جز در تیمار بدون فسفات که بدون ریشه مویین بوده، رابطه معکوسی بین غلظت فسفات و تعداد ریشه‌های مویی وجود دارد. از آنالیز داده‌های فوق چهار حالت تغذیه‌ای فسفات برای گیاه بدست آمد: تنش فقدان کامل فسفات (صفر میلی‌مولار)، تنش کمبود فسفات ۰/۲ تا ۰/۵ میلی‌مولار، شرایط فسفات کافی بین ۱/۲ تا ۳ میلی‌مولار و شرایط فسفات اضافی ۵ میلی‌مولار.

الگوی بیان ژن‌های رمز کننده اسید فسفاتازها به نام‌های PAP12، PAP1، PAP5 گیاهان رشد یافته در محیط تغذیه‌ای فسفات کافی (+P) با غلظت ۲/۵ میلی‌مولار و بدون فسفات (-P) با روش RT-PCR مقایسه‌ای بررسی گردید. بطور مشخصی، ژن PAP5 تنها در تنش فقدان فسفات و PAP1 و PAP12 در همه شرایط بیان می‌شدند.

کلمات کلیدی: کمبود فسفات، بررسی فیزیولوژیکی، بیان ژن، آرابیدوپسیس تالیانا.

فهرست مطالب

عنوان	صفحه
فصل اول- کلیات و اهداف	
۱-۱- آرابیدوپسیس تالیانا	۱
۱-۱-۱تاریخچه استفاده از آرابیدوپسیس به‌عنوان گیاه مدل	۲
۱-۱-۲-انواع اکوتایپ‌ها	۲
۱-۲- فسفر در خاک	۳
۱-۳- جذب فسفر توسط گیاهان از خاک	۵
۱-۳-۱- اهمیت و نقش‌های فسفر در گیاهان	۶
۱-۳-۲- جذب فسفر	۷
۱-۳-۳- انواع جذب فسفر توسط گیاهان	۷
۱-۳-۴- انتقال فسفات بین سلول‌ها	۱۰
۱-۳-۵- نقش عوامل خاکی و فیزیکی در قابلیت جذب فسفر توسط گیاه	۱۰
الف) pH خاک	۱۱
ب) مقدار مواد آلی خاک و میزان تجزیه آن‌ها	۱۱
۱-۳-۶- عوامل زیستی مؤثر در جذب فسفر توسط گیاه	۱۲
الف- فعالیت ریزسازواره‌های خاک	۱۲

ب- میکوریز ۱۲

۱-۳-۷- نقش عوامل گیاهی در قابلیت جذب فسفر ۱۳

۱-۳-۷-۱-رفتارهای ریشه در برابر افزایش جذب فسفات ۱۳

الف- ساختار ریشه ۱۳

ب- توده ریشه ۱۴

ج- طول ریشه ۱۴

۱-۳-۷-۲- اثر میزان نیاز گیاه ۱۴

۱-۴- پاسخ‌های گیاهان به تنش کمبود فسفات ۱۵

۱-۵- راه‌کارهای گیاه در برابر فقر فسفات ۱۶

۱-۵-۱- افزایش توان جذب فسفات معدنی در گیاهان در شرایط فقر فسفات ۱۶

۱-۵-۱-۱-تطابق‌های مورفولوژیکی گیاهان مقاوم ۱۷

۱-۵-۱-۲- گیاهان همزیست با قارچها در مقابل غیرهمزیست ۱۷

۱-۵-۲- سازگاری‌های مولکولی و بیوشیمیایی گیاهان در برابر تنش کمبود فسفات ۱۷

۱-۵-۳- ذخیره فسفات در حد بیشینه در هنگام فراوانی فسفات معدنی ۱۹

۱-۵-۴- به حداقل رساندن مصرف فسفات و حداکثر نمودن کارآیی سازوکارهای سلول گیاهی ۱۹

۱-۶- تجزیه اسیدهای نوکلئیک و اسیدفسفاتازها ۲۱

۱-۷- اسید فسفاتازها ۲۲

۱-۷-۱- نقش اسید فسفاتازهای گیاهی و الگوی بیان آن‌ها ۲۶

۱-۸- بررسی میزان بیان ژن اسیدفسفاتاز تحت اثر تنش‌های مختلف با استفاده از تکنیک RT-PCR کمّی مقایسه‌ای ۳۳

۱-۹- مروری بر کارهای گذشته ۳۵

۱-۹-۱- موتیف انگشت روی ۳۶

۱-۹-۲- اسید فسفاتاز موجود در توالی E7 ۳۷

۱-۹-۳- فرایند *Trans*- splicing ۳۷

۱-۱۰- اهداف پایان‌نامه ۳۸

فصل دوم- مواد و روش‌ها

۲-۱- تهیه و آماده‌سازی بذر گیاه آرابیدوپسیس تالیانا ۳۹

۲-۲-انتخاب غلظت‌های مختلف برای این تحقیق ۳۹

۲-۳- کشت آرابیدوپسیس ۴۰

۲-۳-۱- کشت در محیط مایع و تنش‌های مختلف فسفات جهت بررسی‌های ژنتیکی و سنجش فسفات کل و فسفات آزاد ۴۰

۲-۳-۲- کشت گیاه برای بررسی‌های فنوتیپی ۴۱

۲-۴- بررسی بیان ژن‌ها با استفاده از RT-PCR نیمه کمی ۴۱

الف- طراحی آغازگر برای RT-PCR ۴۲

ب- استخراج RNA کل از بافت گیاهی ۴۲

ج - واکنش رونوشت برداری معکوس یا ساخت cDNA ۴۳

د- هم‌رقت کردن cDNA ها ۴۴

ز- برنامه دستگاه PCR برای تکثیر ژن مورد نظر توسط آغازگرها ۴۴

و- انجام PCR با آغازگرهای اختصاصی وکمی سازی باندهای به دست آمده در واکنش‌های PCR ۴۴

۲-۵- اندازه‌گیری طول ریشه، تعداد و طول ریشه‌های فرعی و تعداد تارکشنده ۴۶

۲-۶- اندازه‌گیری وزن تر و وزن خشک گیاه ۴۷

۲-۷- اندازه گیری میزان فسفات آزاد ریشه و اندام هوایی گیاهان تحت تیمار ۴۷

۲-۸- اندازه گیری میزان فسفات کل ریشه و اندام هوایی ۴۸

۲-۹- اندازه‌گیری میزان آنتوسیانین ۴۸

۲-۱۰- تجزیه و تحلیل آماری داده ها ۴۹

فصل سوم- نتایج

۳-۱ تأثیر غلظت‌های مختلف فسفات بر شاخص‌های عملکردی گیاه آرابیدوپسیس ۵۰

الف- تأثیر غلظت‌های مختلف فسفات بر وزن تر ریشه آرابیدوپسیس ۵۰

ب- تأثیر غلظت‌های مختلف فسفات بر وزن خشک ریشه آرابیدوپسیس ۵۱

ج- تأثیر غلظت‌های مختلف فسفات بر وزن تر بخش هوایی آرابیدوپسیس ۵۲

د- تأثیر غلظت‌های مختلف فسفات بر وزن خشک بخش هوایی آرابیدوپسیس ۵۳

۳-۲- تاثیر غلظت‌های مختلف فسفات بر شاخص‌های ریختی گیاه آرابیدوپسیس ۵۴

الف - تغییرات طول ریشه اصلی در محیط‌های با غلظت‌های مختلف فسفات ۵۴

ب- بررسی تغییرات تعداد ریشه‌های جانبی در غلظت‌های مختلف فسفات ۵۶

ج- تغییرات میزان حضور تارهای کشنده در محیط‌های با غلظت‌های مختلف فسفات ۵۶

۳-۳- ارتباط میزان آنتوسیانین با فسفات در محیط کشت ۵۷

۳-۴- اندازه‌گیری فسفات آزاد و فسفر کل موجود در ریشه و ساقه آرابیدسیس در غلظت‌های مختلف فسفات ۵۸

الف- اندازه‌گیری فسفات آزاد ۵۸

ب- اندازه گیری فسفر کل ۵۹

۳-۵- بررسی تاثیر غلظت‌های مختلف فسفات بر الگوی بیان برخی ژن‌های اسید فسفاتاز ۶۰

الف- بررسی الگوی بیان ژن PAP5 ۶۱

ب - بررسی الگوی بیان ژن zinc finger نوع C_2H_2 ۶۲

ج- بررسی الگوی بیان E7 ۶۵

د- بررسی الگوی بیان ژن PAP12 ۶۵

ز - بررسی الگوی بیان ژن PAP1 ۶۵

فصل چهارم- بحث، نتیجه‌گیری نهایی و پیشنهادات

۴-۱- بررسی فیزیولوژیک تنش فسفات بر روی آرابیدوپسیس تالیانا ۶۷

۴-۱-۱- بررسی تغییرات رشد ۶۸

الف- تغییرات وزن تر و خشک در غلظت‌های مختلف فسفات ۶۸

ب - تغییرات ریختی ریشه‌ها در تنش فسفات ۶۹

ج- بررسی تغییرات تعداد و تراکم تارهای کشنده در تنش فسفات ۷۱

۴-۱-۲- بررسی میزان آنتوسیانین در تنش فسفات ۷۲

۴-۱-۳- بررسی مقدار فسفات آزاد و فسفات کل سلولی آرابیدوپسیس در تنش فسفات ۷۳

۴-۱-۴- بررسی الگوی بیان و نقش اسید فسفاتازهای گیاهی در تنش فسفات ۷۴

الف- بررسی الگوی بیان ژن PAP5 ۷۴

ب- بررسی الگوی بیان ژن مربوط به zinc finger نوع C2H2 ۷۵

ج- بررسی الگوی بیان (PAP5::zinc finger)E7 ۷۵

د- بررسی الگوی بیان ژن PAP12 و PAP1 ۷۶

۴-۲- جمع‌بندی ۷۷

۴-۳- پیشنهادات ۷۸

پیوست‌ها ۷۹

منابع ۹۳

عنوان و خلاصه انگلیسی

فهرست جدول‌ها

عنوان **صفحه**

جدول ۱-۱ - فهرستی از ترکیبات فسفات کلسیم خاک به ترتیب حلالیت در آب ۴

جدول ۱-۲- علائم کمبود فسفر در گیاهان مختلف ۱۶

جدول۲-۱- اجزاء واکنش ساخت cDNA و مقادیر آنها ۴۳

جدول۲-۲- آغازگرهای استفاده شده ۴۵

جدول ۲-۳- توالی آغازگرهای استفاده شده ۴۶

فهرست شکل‌ها

عنوان **صفحه**

شکل ۱-۱- تفاوت ظاهری گیاه آرابیدوپسیس تالیانا در شرایط +P,-P ۷

شکل۱-۲- مدلی از هیدرولیز اسیدهای نوکلئیک توسط آنزیم‌های ترشحی گیاهان به منظور جداسازی فسفات. ۲۲

شکل۱-۳- سازوکار جداسازی فسفات از ملکول‌های آلی و غیرآلی توسط اسیدهای فسفاتاز ۲۵

شکل۱-۴- طبقه بندی PAP های گیاه آرابیدوپسیس بر مبنای آنالیز خوشه‌ای توالی‌های آمینواسیدی ۳۲

شکل ۳-۱- مقایسه میانگین وزن تر ریشه گیاهان در غلظت‌های مختلف فسفات (۰، ۰/۲، ۰/۵، ۲/۵، ۳ و ۵ میلی‌مولار). ۵۱

شکل ۳-۲- مقایسه میانگین وزن خشک ریشه گیاهان در غلظت‌های مختلف فسفات (۰، ۰/۲، ۰/۵، ۲/۵، ۳ و ۵ میلی‌مولار). ۵۲

شکل ۳-۳- مقایسه میانگین وزن تر بخش هوایی گیاهان در غلظت‌های مختلف فسفات (۰، ۰/۲، ۰/۵، ۲/۵، ۳ و ۵ میلی‌مولار). ۵۳

شکل ۳-۴- مقایسه میانگین وزن خشک بخش هوایی گیاهان در غلظت‌های مختلف فسفات (۰، ۰/۲، ۰/۵، ۲/۵، ۳ و ۵ میلی‌مولار). ۵۴

شکل ۳-۵- تغییرات طول ریشه اصلی در محیط‌های با غلظت‌های مختلف فسفات (۰، ۰/۲، ۵۵
۰/۵، ۱/۲، ۲/۵، ۳ و ۵ میلی‌مولار) برحسب سانتی‌متر.
شکل ۳-۶- تغییرات ظاهری طول ریشه اصلی در غلظت‌های مختلف فسفات (۰، ۰/۲، ۳ و ۵۵
۵ میلی‌مولار) بعد از ۲۱ روز.
شکل ۳-۷- رابطه تعداد ریشه‌های جانبی با محیط‌های با غلظت‌های مختلف فسفات در ۵۶
محیط کشت (۰، ۰/۲، ۰/۵، ۱/۲، ۲/۵، ۳ و ۵ میلی‌مولار).
شکل ۳-۸- رابطه تعداد تارهای کشنده در محیط‌های با غلظت‌های مختلف فسفات (۰، ۵۷
۰/۲، ۰/۵، ۱/۲، ۲/۵، ۳ و ۵ میلی‌مولار).
شکل۳-۹- انتهای ریشه در غلظت‌های متفاوت فسفات بعد از ۲۱ روز. ۵۷
شکل ۳-۱۰- مقدار آنتوسیانین بخش هوایی آرابیدوپسیس در غلظت‌های مختلف فسفات ۵۸
(۰، ۰/۲، ۰/۵، ۱/۲، ۲/۵، ۳ و ۵ میلی‌مولار) بعد از ۲۱ روز تیمار.
شکل ۳-۱۱- مقادیر فسفات آزاد در ریشه و اندام هوایی آرابیدوپسیس در غلظت‌های ۵۹
مختلف فسفات (۰، ۰/۲، ۰/۵، ۱/۲، ۲/۵، ۳ و ۵ میلی‌مولار).
شکل ۳-۱۲ - مقادیر فسفر کل در ریشه و اندام هوایی گیاهان رشد یافته در مقادیر مختلف ۶۰
فسفات (۰، ۰/۲، ۰/۵، ۱/۲، ۲/۵، ۳ و ۵ میلی‌مولار).
شکل ۳-۱۳- ارزیابی سطوح رونوشت‌های ژن اسید فسفاتاز PAP5 در ریشه و اندام هوایی ۶۲
گیاهان آرابیدوپسیس تحت تیمار غلظت صفر و ۲/۵ میلی‌مولار با استفاده از RT-PCR
مقایسه‌ای.

شکل ۳-۱۴- ارزیابی سطوح رونوشت‌های ژن اسید فسفاتاز Zinc finger در ریشه و اندام هوایی گیاهان آرابیدوپسیس تحت تیمار غلظت صفر و ۲/۵ میلی‌مولار با استفاده از RT-PCR مقایسه‌ای. ۶۳

شکل ۳-۱۵- ارزیابی سطوح رونوشت‌های ژن اسید فسفاتاز E7 در ریشه و اندام هوایی گیاهان آرابیدوپسیس تحت تیمار غلظت صفر و ۲/۵ میلی‌مولار با استفاده از RT-PCR مقایسه‌ای. ۶۴

شکل ۳-۱۶- ارزیابی سطوح رونوشت‌های ژن اسید فسفاتاز PAP12 در ریشه و اندام هوایی گیاهان آرابیدوپسیس تحت تیمار غلظت صفر و ۲/۵ میلی‌مولار با استفاده از RT-PCR مقایسه‌ای. ۶۵

شکل ۳-۱۷- ارزیابی سطوح رونوشت‌های ژن اسید فسفاتاز PAP1 در ریشه و اندام هوایی گیاهان آرابیدوپسیس تحت تیمار غلظت صفر و ۲/۵ میلی‌مولار با استفاده از RT-PCR مقایسه‌ای ۶۶

فهرست پیوست‌ها

عنوان	صفحه
پیوست ۱-محیط کشت MS	۷۹
پیوست ۱-الف- منبع آهن (۱۰ برابر غلظت)	۸۰
پیوست ۱-ب- منبع ویتامین ب۵ (۱۰۰ برابر غلظت)	۸۰
پیوست ۱-ج- منبع ریز مغذی‌ها (۱۰۰ برابر غلظت)	۸۱
پیوست ۱-د- منبع یدید پتاسیم ده برابر غلظت	۸۱
پیوست ۲- جدول آنالیز واریانس اثر غلظت‌های مختلف فسفات (۰، ۰/۲، ۰/۵، ۲/۵، ۳ و ۵ میلی‌مولار) بر وزن تر و خشک ریشه و بخش هوایی آرابیدوپسیس ۲۱ روزه	۸۱
پیوست ۳- جدول آنالیز واریانس اثر غلظت‌های مختلف فسفات (۰، ۰/۲، ۰/۵، ۲/۵، ۳ و ۵ میلی‌مولار) بر طول و تعداد ریشه‌های فرعی و تارهای کشنده آرابیدوپسیس۲۱ روزه	۸۲
پیوست ۴- جدول آنالیز واریانس اثر غلظت‌های مختلف فسفات (۰، ۰/۲، ۰/۵، ۲/۵، ۳ و ۵ میلی‌مولار) بر مقدار آنتوسیانین آرابیدوپسیس۲۱ روزه و مقدار فسفات آزاد و فسفات کل آرابیدوپسیس ۱۴ روزه	۸۲
پیوست ۵- منحنی استاندارد KH_2PO_4 برای سنجش فسفات آزاد	۸۲
پیوست ۶- منحنی استاندارد KH_2PO_4 برای سنجش فسفات کل	۸۳

پیوست ۷- مسیرهای مختلفی که گیاه در برابر تنش فسفات بوسیله آنها سازگاری پیدا می‌کند ۸۴

پیوست۸ - الف- پروتئین فعال E7 ۸۵

پیوست ۹-جدول‌های مربوط به آزمایشات ۸۶

پیوست ۹-الف- میانگین وزن تر و خشک ریشه و بخش هوایی (g) آرابیدوپسیس در غلظت‌های مختلف فسفر(۰، ۰/۲، ۰/۵، ۲/۵، ۳ و ۵ میلی‌مولار) ۸۶

پیوست ۹-ب- میانگین طول ریشه‌ی اصلی (Cm) آرابیدوپسیس در غلظت‌های مختلف فسفر (۰، ۰/۲، ۰/۵، ۱/۲، ۲/۵، ۳ و ۵ میلی‌مولار) ۸۷

پیوست ۹-ت- میانگین‌های تعداد ریشه‌های جانبی آرابیدوپسیس در غلظت‌های مختلف فسفر (۰، ۰/۲، ۰/۵، ۱/۲، ۲/۵، ۳ و ۵ میلی‌مولار) ۸۸

پیوست-۹-ج- میانگین‌های تعداد تارهای کشنده آرابیدوپسیس در غلظت‌های مختلف فسفر (۰، ۰/۲، ۰/۵، ۱/۲، ۲/۵، ۳ و ۵ میلی‌مولار) ۸۹

پیوست-۹-د- - میانگین مقدار آنتوسیانین (unit/g fresh weight) در غلظت‌های مختلف فسفات (۰، ۰/۲، ۰/۵، ۱/۲، ۲/۵، ۳ و ۵ میلی‌مولار). ۹۰

پیوست -۹-ر-میانگین مقادیر فسفات آزاد موجود در ریشه و بخش هوایی آرابیدوپسیس در غلظت‌های مختلف فسفات (۰، ۰/۲، ۰/۵، ۱/۲، ۲/۵، ۳ و ۵ میلی‌مولار). ۹۱

پیوست-۹-س- مقایسه میانگین مقادیر فسفر کل در ریشه و بخش هوایی گیاهان پرورش یافته در مقادیر مختلف فسفات در غلظت‌های مختلف فسفر (۰، ۰/۲، ۰/۵، ۱/۲، ۲/۵، ۳ و ۵ میلی‌مولار).

فهرست نشانه‌های اختصاری

		صفحه
ABRC	Arabidopsis Biological Resource Center	۲
NASC	The Nottingham Arabidopsis Stock Centre	۲
TAIR	The Arabidopsis information resource	۲
Pi	Inorganic phosphate	۳
Km	Km is the amount of substrate that produces the half of the maximum velocity of the enzyme	۵
+P	With phosphate	۷
-P	Without phosphate	۷
RUBP	ریبولوز بیس‌فسفات	۱۹
PAP	Purple acid phosphatase	۲۳
HMW	High molecular weight	۲۳
LMW	Low molecular weight	۲۳
PCR	Polymerase chain reaction	۳۲
RT-PCR	Reverse transcriptase - PCR	۳۲
MS	Murashige and Skoog	۳۹
OD	Optical density	۴۱

فصل اول

کلیات و اهداف

۱-۱- آرابیدوپسیس تالیانا

آرابیدوپسیس تالیانا [۱] از دولپه‌ای‌ها، خانواده شب‌بو و گیاه خردلی‌ها[۲] است. با وجود نسبت نزدیکی که با گیاهان کشاورزی مثل کلزا، بروکلی و ترب دارد، از نظر کشاورزی حایز اهمیت نیست و اهمیت آن بیش‌تر از لحاظ زیست‌شناسی مولکولی می‌باشد (Boyes *et al.*, 2001). این گیاه به دلایل زیر به‌عنوان یک مدل ژنتیکی گیاهی، بسیار مورد استفاده قرار می‌گیرد:

الف) ژنوم دیپلوئید (۲n=۱۰) با اندازه کوچک آن (۱۲۵ مگا باز) و حدود ۲۶۰۰۰ ژن که در سال ۲۰۰۰ کاملا توالی‌یابی شده است.

ب) نقشه ژنتیکی و فیزیکی کروموزوم‌های آن کاملاً مشخص شده است.

ج) دوره زندگی کوتاه (۶ هفته)

د) تعداد بذرهای زیاد و قابل رشد در فضاهای بسیار کم

ن) روش‌های تراریختی آسان با استفاده از اگروباکتریوم

و) تعداد زیاد لاین‌های جهش یافته و منابع ژنومی که از منابع زیستی آن قابل تهیه هستند.

---

[۱] *Arabidopsis thaliana*

[۲] Brassicaceae or Crusiferae

ه) عدم همزیستی با قارچ‌های میکوریزی که بدلیل حذف تداخل اثر قارچ‌ها مزیتی برای آزمایشات مربوط به بررسی تنش محسوب می‌شود.

۱-۱-۱- تاریخچه استفاده از آرابیدوپسیس به‌عنوان گیاه مدل

این گیاه توسط یوهانس تال (Thal) در قرن شانزدهم در کوهستان‌های هالتز (Haltz) پیدا شد. اولین گزارش درباره جهش یافته این گیاه در سال ۱۸۷۳ توسط براون (Brown) داده شد. لیباخ اولین بار از این گیاه به‌عنوان مدل ژنتیکی در سال ۱۹۴۳ استفاده کرد (TAIR).

۱-۱-۲- انواع اکوتایپ‌ها

تقریباً ۷۵۰ زیر گونه از گیاه آرابیدوپسیس تالیانا در سراسر دنیا گزارش شده است که از لحاظ تکاملی و فیزیولوژیکی با یکدیگر متفاوت هستند. محققان از این تفاوت‌ها برای فهمیدن سازوکارهای ژنتیکی و مولکولی پاسخ به محیط، تکامل و صفات ظاهری استفاده فراوان می‌برند. از مهم‌ترین اکوتایپ‌های این گیاه می‌توان کلمبیا[1] و لنزبرگ را نام برد. انواع اکوتایپ‌ها و جهش یافته‌های این گیاه در دو مرکز اصلی ABRC و NASC نگهداری می‌شود. پایگاه اختصاصی بنام TAIR نیز اطلاعات کامل این گیاه را در اختیار کاربران قرار می‌دهد. آرابیدوپسیس گیاهی ظریف، علفی، یکساله یا دوساله و خود لقاح می‌باشد. گل آذین آن خوشه‌ای، تعداد پرچم‌ها شش عدد و میوه آن خورجین می‌باشد. ارتفاع گیاه بالغ به ۱۵ تا ۲۰ سانتی‌متر می‌رسد. دوره زندگی آرابیدوپسیس شامل مراحل جوانه‌زنی، ساقه روی، گل‌دهی و بلوغ دانه‌ها است و طی شش هفته کامل می‌شود. در انتها گیاه تولید صدها میوه خورجین می‌کند که حاوی حدود ۵۰۰۰ دانه می‌باشد (TAIR Website).

[1] Colombia

۱-۲- فسفر در خاک

فسفر حدود ۰/۱ درصد وزنی قشر زمین را تشکیل می‌دهد و از نظر مقدار دوازدهمین عنصر قشر زمین است. این عنـصر معمولاً به صورت ترکیب با عناصر دیگر در بیش از ۱۵۰ کانی مختلف وجود دارد و به صورت آزاد در طبیعت یافت نمی‌شود. منابع این ماده منبعی تجدیدناپذیر (برعکس نیتروژن) می‌باشد (Lambers *et al.*, 2006).

مقدار فسفر در خاک‌های مختلف بسیار متفاوت است، به طور کلی، در خاک‌های بکر و جوان و در نواحی خشک مقدار آن بیش‌تر است. مقدار متوسط آن در خاک‌های زراعی در حدود ۰/۰۶درصد و حدود تغییرات آن بین ۰/۰۳ تا ۰/۲۲درصد است که این میزان در مقایسه با دیگر عناصر بسیار کم‌تر است. مقدار ازت ۱۵۰ کیلوگرم در هکتار، پتاسیم ۱۵۰ کیلوگرم در هکتار ، کلسیم ۷۵ کیلوگرم در هکتار ولی فسفر و منیزیم ۲۰ کیلوگرم در هکتار در ۱۰ تن در هکتار خاک‌های زراعی می‌باشد (Cooke, 1982).

فسفات در خاک به دو صورت معدنی و آلی وجود دارد. شکل غالب فسفات آزاد در خاک به صورت ارتو فسفات Pi (HPO_4^{-2} و $H_2PO_4^{-1}$) است، که اتم فسفر آن توسط چهار اتم اکسیژن احاطه شده است. در فسفات‌های معدنی، یک یا تمام هیدروژن‌های اسیدفسفریک با کاتیون‌های فلزی جایگزین شده‌اند، در حالی که در فسفات‌های آلی یک یا تمام هیدروژن‌های اسیدفسفریک، با اتصال‌های استری (علاوه بر کاتیون‌های فلزی) جایگزین می‌گردند. فسفات عموماً به یون‌های آلومینیوم، آهن، کلسیم و یا اسیدهای آلی خاک متصل است. فسفات‌های معدنی خاک عمدتاً فسفات‌های کلسیم، آهن و آلومینیوم هستند (جدول۱-۱). در خاک‌های آهکی، اکثر ترکیبات فسفات در خاک را اشکال مختلف فسفات کلسیم تشکیل می‌دهند. در صورتی که در خاک‌های اسیدی و خاک‌های با زهکشی خوب و نواحی پرباران قسمت عمده فسفات خاک به صورت فسفات‌های متبلور آهن و آلومینیوم است (cooke, 1982).

جدول ۱-۱ - فهرستی از ترکیبات فسفات کلسیم خاک به ترتیب حلالیت در آب (cooke, 1982).

ترکیب فسفات کلسیم خاک	فرمول شیمیایی	حلالیت در آب
فلوئور – آپاتایت	$3Ca_3(PO_4)_2.CaF_2$	حلالیت کم
کربنات – آپاتایت	$3Ca_3(PO_4)_2.CaCO_3$	⇓
هیدروکسید – آپاتایت	$3Ca_3(PO_4)_2.Ca(OH)_2$	⇓
اکسید – آپاتایت	$3Ca_3(PO_4)_2 .CaO$	⇓
تری کلسیم فسفات	$Ca_3(PO_4)_2$	⇓
دی کلسیم فسفات	$CaHPO_4$	⇓
مونو کلسیم فسفات	$Ca(H_2PO_4)_2$	حلالیت زیاد

فلوئور- آپاتیت نامحلول‌ترین ترکیب گروه فسفات‌های کلسیم است که به دلیل انحلال‌پذیری بسیار پائین آن، مقدار ناچیزی از فسفات مورد نیاز گیاه را تامین می‌کند. ترکیبات ساده فسفات‌های کلسیم مانند مونو و دی‌کلسیم فسفات به سادگی تجزیه شده و توسط گیاه جذب می‌شوند (جدول ۱-۱). این دو ترکیب که قسمت اعظم کودهای شیمیایی را شامل می‌شوند، در مدت زمان بسیار کوتاهی پس از افزوده شدن به خاک به سرعت تثبیت شده و به حالت نامحلول تبدیل می‌شوند (Cooke, 1982).

فسفات‌های آهن و آلومینیوم نیز بسیار نامحلول هستند و در شرایط اسیدی پایدار می‌باشند. این ترکیبات در خاک به صورت کانی‌های دوفرنایت، واریسایت، استرانژیت، باراندایت و ویولایت (Dufrenite, Varisite, Strengite, Barandite and Wavellite) حضور دارند.

همچنین فسفر به صورت ترکیبات پیچیده آلی نیز در خاک وجود دارد. بیش‌تر این ترکیبات شامل فیتین، اسیدهای نوکلئیک و فسفولیپیدها می‌باشند. ترکیبات فسفر در خاک بسیار پایدار و در بیش‌تر اوقات توسط گیاه غیرقابل جذب می‌باشند. فسفات محلول در خاک نیز به سرعت از دسترس گیاه خارج می‌شود، به طوری که پس از مصرف کودهای فسفاته، به طور متوسط ۷۵٪ آن‌ها در خاک به صورت غیرقابل جذب توسط گیاه در می‌آیند (Mendoza and Barrow, 1989). تـثـبـیت فسفر [۱] در خاک سبب تبدیل فسفر قابل استفاده (یون فسفات معدنی) به حالتی که گیاه نتواند به آسانی از آن

[۱] Phosphorous Fixation