دانشگاه الزهرا (س)
دانشکده علوم پایه

پایان نامه
جهت اخذ درجه کارشناسی ارشد
رشته علوم گیاهی گرایش فیزیولوژی گیاهی

عنوان

اثر پاکلوبوترازول و سالیسیلیک اسید در طی تنش شوری در کلزا (*Brassica napus L.*)

استاد راهنما
دکتر خدیجه کیارستمی

استاد مشاور
مهندس مرتضی حیدری

دانشجو
نسرین عبدالملکی

شهریور ۱۳۸۸

فهرست مطالب

چکیده

فصل اول: مقدمه

۱- تنش ۲
۱-۱ اثرات تنش ۲
۱-۲ مکانیسم تحمل شوری ٤
۱-۲-۲ مکانسیم هالوفیت ها برای تحمل تنش ٦
۱-۲-۱-۱ القای بیوسنتز پلی اول ۹
۱-۲-۱-۲ تنظیم جذب یون و کده بندی ۱۲
۱-۲-۱-۳ نفوذپذیری آب تسهیل شده ۱۳
۱-۲-۱-٤ HSPs ها و چاپرون های مولکولی ۱٤
۱-۲-۱-۵ پروتئین های نوع-LEA ۱۵
۱-۲-۲ مکانیسم گلیکوفیت ها برای تحمل تنش ۱۵
۱-۳-۱ پاسخ رشد به شوری: یک مدل دو مرحله ای ۱٦
۱-۳-۲ تنش شوری و رویش بذر ۱۸
۱-۳-۳ اثر تنش شوری روی لیپیدها ۱۹
۱-٤ تاریخچه کلزا در ایران و جهان ۲۲
۱-۵ خصوصیات گیاهشناسی ۲٦
۱-۵-۱ ریشه ۲٦
۱-۵-۲ ساقه ۲٦
۱-۵-۳ برگ ۲۷
۱-۵-٤ گل آذین ۲۸
۱-۵-۵ میوه ۲۸
۱-۵-٦ دانه ۲۸
۱-٦ فرآورده های کلزا ۲۹
۱-٦-۱ روغن کلزا ۲۹
۱-٦-۲ کنجاله کلزا ۳۰
۱-٦-۳ گلوکوزینولات ها ۳۲
۱-۷ پیشینه پژوهش ۳٦
۱-۸ استفاده از تنظیم کننده های رشد برای کاهش اثرات تنش شوری ۳۸
۱-۸-۱ پاکلوبوترازول ٤۰
۱-۸-۲ مکانیسم عمل پاکلوبوترازول ٤۱
۱-۸-۳ سالسیلیک اسید ٤۳

۱-۹-پیشنهادات ٤٤

فصل دوم: مواد وروشها

۲-۱ تهیه نمونه ٤٦
۲-۱-۱ کشت در ظروف پتری دیش ٤٧
۲-۱-۲ انتخاب نمونه جهت کاشت مزرعه ای ٤٧
۲-۲ مشخصات محل اجرای آزمایش و آزمایشات خاک ٤٧
۲-۳ عملیات زراعی ٤٧
۲-۳-۱ بررسی اثر تنش شوری و غلظتهای پاکلوبوترازول و سالسیلیک اسید بر برخی از شاخص های رشد ٤٩
۲-۳-۱-۱ اندازه گیری طول، وزن تر و خشک ساقه، ریشه و وزن کل گیاه و... ٤٩
۲-۳-۱-۲ محتوی آب نسبی گیاه ٤٩
۲-۳-۱-۳ میزان رشد نسبی گیاه ٥٠
۲-٤ سنجش میزان رنگیزه های فتوسنتزی ٥٠
۲-٥ سنجش غلظت پرولین آزاد ٥١
۲-٥-۱ سنجش پرولین ٥١
۲-٥-۲ رسم منحنی استاندارد پرولین ٥٢
۲-٦ سنجش میزان عناصر ٥٣
۲-٦-۱ هضم ماده گیاهی ٥٣
۲-٦-۲ سنجش غلظت کاتیون های سدیم و پتاسیم ٥٣
۲-٦-۳ رسم منحنی استاندارد سدیم و پتاسیم ٥٣
۲-۷ استخراج و سنجش پروتئین ها ٥٥
۲-۷-۱ استخراج پروتئین ها ٥٥
۲-۷-۲ سنجش غلظت پروتئین به روش برادفورد ٥٦
۲-۷-۲-۱ سنجش غلظت پروتئین ٥٦
۲-۷-۲-۲ تهیه معرف برادفورد ٥٦
۲-۷-۲-۳ رسم منحنی استاندارد پروتئین ٥٧
۲-۸ اندازه گیری میزان پراکسیداسیون لیپیدها ٥٧
۲-۸-۱ سنجش غلظت مالون دآلدئید ٥٨
۲-۸-۲ محاسبه محتوای مالون دآلدئید ٥٨
۲-۹ اندازه گیری کیفی میزان گلوکوزینولات ٥٩
۲-۱۰-آنالیز آماری ٥٩

فصل سوم: نتایج

۳-۱ بررسی تنش در پتری دیش ٦١
۳-۱-۱ میزان جوانه زنی ٦١
۳-۱-۲ درصد جوانه زنی ٦١

۳-۱-۳ بررسی شاخص های مورفولوژیکی ٦٢
۳-۲ نتیجه آزمایشات خاک وآب ٦٦
۳-۳ آنالیز شاخص های مورفولوژیکی در کاشت مزرعه ای ٦٧
۳-۳-۱ اثر پاکلوبوترازول در مرحله رویشی(۱۳۰روزگی) ٦٧
۳-۳-۲ اثر پاکلوبوترازول در مرحله گلدهی(١٦٠روزگی) ٧٢
۳-۳-۳ اثر پاکلوبوترازول در مرحله رسیدگی(۱۹۰روزگی) ٧٧
۳-۳-٤ اثر سالسیلیک اسید در مرحله رویشی(۱۳۰روزگی) ٨٠
۳-۳-٥ اثر سالسیلیک اسید در مرحله گلدهی(١٦٠روزگی) ٨٥
۳-۳-٦ اثر سالسیلیک اسید در مرحله رسیدگی(۱۹۰روزگی) ٩٠
۳-٤ آنالیز شاخص های فیزیولوژیکی در کاشت مزرعه ای ٩٤
۳-٤-۱ اثر پاکلوبوترازول بر رنگیزه های گیاهی در دوره رویشی ٩٤
۳-٤-۲ اثر پاکلوبوترازول بر رنگیزه های گیاهی در دوره گلدهی ٩٦
۳-٤-۳ اثر سالسیلیک اسید بر رنگیزه های گیاهی در مرحله رویشی ٩٧
۳-٤-٤ اثر سالسیلیک اسید بر رنگیزه های گیاهی در مرحله گلدهی ٩٩
۳-٤-٥ اثر پاکلو بوترازول بر پرولین در دوره رویشی و گلدهی ١٠١
۳-٤-٦ اثر سالسیلیک اسید بر پرولین در دوره رویشی و گلدهی ١٠٢
۳-٤-٧ اثر پاکلو بوترازول بر عناصر (سدیم وپتاسیم) موجود در برگ ١٠٣
۳-٤-٨ اثر پاکلوبوترازول بر عناصر (سدیم وپتاسیم) موجود درریشه ١٠٤
۳-٤-۹ اثر پاکلوبوترازول بر نسبت (پتاسیم/ سدیم) موجود در برگ و ریشه ١٠٦
۳-٤-۱۰ اثر سالسیلیک اسید بر عناصر (سدیم وپتاسیم) موجود در برگ ١٠٧
۳-٤-۱۱ اثر سالسیلیک اسید بر عناصر (سدیم وپتاسیم) موجود در ریشه ١٠٨
۳-۳-۱۲ اثر سالسیلیک اسید برنسبت پتاسیم به سدیم موجود دربرگ و ریشه ١١٠
۳-٤-۱۳ اثر پاکلوبوترازول بر مالون دآلدئید ١١١
۳-۳-١٤- اثر سالسیلیک اسید بر مالون دآلدئید ١١٢
۳-۳-۱٥ اثر پاکلوبوترازول بر میزان پروتئین برگ ١١٢
۳-٤-١٦ اثر پاکلوبوترازول بر میزان پروتئین ریشه ١١٣
۳-٤-۱۷ اثر سالسیلیک اسید بر میزان پروتئین برگ ١١٤
۳-٤-۱۸ اثر سالسیلیک اسید بر میزان پروتئین ریشه ١١٤
۳-٤-۱۹ اثر پاکلوبوترازول بر مقدار گلوکوزینولات ١١٥
۳-٤-۲۰ اثر سالسیلیک اسید بر مقدار گلوکوزینولات ١١٦
۳-٤-۲۱ جداول تجزیه واریانس صفات ١١٧

فصل چهارم: بحث

٤-۱ بررسی نتایج کشت در پتری دیش ١٤٦
٤-۲-۱ بررسی نتایج آنالیز رشد کشت مزرعه ای تحت تاثیر پاکلوبوترازول ١٤٦

٤-٢-٢ بررسی نتایج فیزیولوژیکی تحت تاثیر پاکلوبوترازول ١٤٩
٤-٣-١- بررسی نتایج آنالیز رشد کشت مزرعه ای تحت تاثیر سالسیلیک اسید ١٥٣
٤-٣-٢- بررسی نتایج فیزیولوژیکی تحت تاثیر سالسیلیک اسید ١٥٤
فصل پنجم: منابع مورد استفاده **١٥٨**

چکیده:

شوری از مهم ترین عواملی است که باعث کاهش محصولات کشاورزی در کشور ما بویژه استان قم شده است.در این تحقیق مشخص شد که مقاومت به شوری در گیاه روغنی کلزا با کمک دو تنظیم کننده رشد (پاکلوبوترازول و سالسیلیک اسید) افزایش یافت.

رقم Y3000 بعنوان رقم حساس به شوری و رقم هایولا ٤٢٠ بعنوان رقم متحمل به شوری انتخاب شد. اسپری کردن پاکلوبوترازول با غلظتهای ۰، ۳۰ و ٦۰ PPm بر روی برگها در مرحله دو برگی با فاصله های یک هفته و در ۳ مرحله انجام شد. محلول سالسیلیک اسید یک بار صبح زود با غلظتهای ۰، ۰/۵ و ۱میکرومولار بر روی برگها و در مرحله چهار برگی اسپری شد. نمونه برداری ها در۱۲۰، ١٦٠ و ۱۹۰ روزگی صورت گرفت.

پاکلوبوترازول در مرحله رویشی(۱۳۰روزگی) عموما تاثیر مثبت داشت و در مرحله گلدهی(١٦٠روزگی) تنها در صفت وزن تر ساقه در هر دو رقم افزایش معنادار نشان داد و این افزایش در غلظت PPm۳۰ بیشتر بود و اختلاف بین سطوح غلظت در سطح ۵ درصد معنی دار شد. در مرحله رسیدگی(۱۹۰روزگی) سبب افزایش وزن هزاردانه در هر دو رقم و با هر دو غلظت شد که این افزایش در رقم Y3000 و با غلظت PPm٦۰ بیشتر بود. تعداد شاخه های فرعی تنها در رقم هایولا٤٢٠ افزایش یافت ولی تعداد خورجین در هر دو رقم و با هر دو غلظت بویژه PPm٦۰ افزایش یافت. میزان مالون دآلدئید در Y3000 افزایش و در رقم هایولا٤٢٠ کاهش یافت و اختلاف دو رقم در سطح یک درصد معنی دار شد. میزان کلروفیل a، b، کل و پرولین در هر دو رقم و با هر دو غلظت افزایش یافت. پاکلوبوترازول در هر دو رقم نسبت پتاسیم به سدیم را دربرگ و ریشه افزایش داد ولی در میزان پروتئین در برگ و ریشه و در دو رقم تقریبا اثر معکوس داشت. در مجموع غلظت PPm۳۰ مطلوبتر عمل کرده است.

سالسیلیک اسید عموما در مرحله رویشی عملکرد مثبتی داشت اما عملکرد آن در مرحله گلدهی عموما در رقم هایولا٤٢٠ افزایشی و در رقمY3000 کاهشی بود و اختلاف دو رقم در سطح یک درصد معنی دار شد. در مرحله رسیدگی سبب افزایش وزن هزار دانه در هر دو رقم شد و این افزایش در رقم Y3000 بیشتر بود و اختلاف دو رقم در سطح ۵ درصد معنی دار شد و در بقیه صفات اختلاف رقم ها معنی دار نشد. سالسیلیک اسید در مرحله رویشی و گلدهی، در رقم Y3000 سبب افزایش میزان رنگیزه و میزان پرولین شد اما در رقم هایولا٤٢٠ میزان پرولین افزایش ولی میزان رنگیزه ها کاهش یافت. میزان مالون دآلدئید در هر دو رقم کاهش یافت. میزان نسبت پتاسیم به سدیم در برگ و ریشه و در دو رقم برعکس عمل کرد. میزان پروتئین ریشه در هر دو رقم با غلظت۰/۵ میکرومولار کاهش و با غلظت یک میکرومولار افزایش یافت، در حالی که پروتئین برگ در رقم Y3000 با هر دو غلظت افزایش یافت اما در رقم هایولا٤٢٠ برعکس وضعیت پروتئین در ریشه بود. در مجموع غلظت ۱ میکرومولار سالسیلیک اسید بویزه در رقم Y3000 موثر تر عمل کرده است.

کلمات کلیدی: *کلزا، پاکلو بوترازول، سالسیلیک اسید، رنگیزه، پرولین، پروتئین و مالون دآلدئید*

فصل اول

مقدمه

۱- تنش

تنشهای محیطی همچون شوری، خشکی، دمای بالا، سمیت شیمیایی و تنش های اکسیداتیو تهدید جدی برای کشاورزی و موقعیت طبیعی محیط زیست می باشند. افزایش شوری زمین در سطح جهان رو به گسترش است تا جائیکه ۳۰ درصد زمین ها در طی ۲۵ سال آینده از دست خواهند رفت و این رقم تا سال۲۰۵۰ میلادی به بالاتر از ۵۰ درصد خواهد رسید (Ashraf, 2001).

شوری ۷ درصد از خشکی های کره زمین را متاثر ساخته است و متاسفانه این نواحی در حال افزایش است. در یک مطالعه جهانی از زمینهای قابل استفاده، ٦ درصد شور بوده است که حدود ۷۷ میلیون هکتار است که تا۵۰ سال آینده، ۱۵ میلیون هکتار به آن اضافه می شود. تدابیر آبیاری تنها برای ۱۵ درصد از زمینهای کشت شده جهان کفایت می کند(Szabolcs، 1994 و بر اساس اطلاعات ۱۹۸۹ فائو). شوری خاک بوسیله روشهای مدیریتی کشاورزی می تواند مدیریت شود. در کشت آبی، روشهای بهتر آبیاری، همچون آبیاری قطره ای کار آمد هستند و در کشاورزی دیم، روشهایی همچون تغییر کشتهای یکساله با گونه های پایا و ریشه های عمیق ممکن است موازنه ای بین بارندگی و مصرف آب ایجاد کند و با افزایش آب معلق، از آوردن نمک به سطح جلوگیری کند (Munns, 2002).

۱-۱- اثرات تنش

تنش های محیطی علت اولیه کاهش محصولات کشاورزی تا بیش از ۵۰ درصد می باشد. تنش های محیطی منجر به یک سری از وقایع مورفولوژیکی، فیزیولوژیکی، بیو شیمیایی و تغییرات مولکولی می شود که بطور موثری در رشد گیاهان و تولیداتشان اثر دارند. خشکی، شوری، دماهای بالا و تنش های اکسیداتیو اغلب با یکدیگر در ارتباط هستند و ممکن است تخریب های سلولی را

القا کنند. برای مثال، شوری و یا خشکی در ابتدا همچون تنش های اسمتیک ظاهر می شوند و تعادل و توزیع یونها در سلول را برهم می زنند. احتمال دارد، تنش های اکسیداتیو که بطور وسیعی با دماهای بالا، شوری یا خشکی همراه می شوند، سبب واسرشته شدن[1] پروتئین های ساختمانی و آنزیمی شوند (Ashraf, 2001).

تنش های محیطی موجب القای فاکتورهای محدود کننده رشد سلولهای گیاهی می شود. بطور مثال؛ تنش خشکی چندین اثر را القاء می کند؛ از جمله: کاهش تقسیم سلولی و مقدار رشد، بازدارندگی از طویل شدن ساقه همراه با تغییراتی در مقدار آب برگی که در بین گونه ها ی مختلف متفاوت است. چون برگها در تبادلات گازی نقش اصلی را دارند، به شدت تحت تاثیر خشکی قرار می گیرند، اما اثرات عمده تنش خشکی عبارتند از: باز و بسته شدن روزنه ها، بازدارندگی از انتقال الکترون تیلاکوئیدی و تخریب غشاها (Benhassaine-Kesri و همکاران، ۲۰۰۲).

تنش های محیطی پاسخ های سلولی متنوعی از قبیل: مسیرهای علامت دهی سلولی و تولید بالای پروتئین های تنشی، آنتی اکسیدان ها و انباشتگی محلولهای سازگار[2] را فعال می کنند (Ashraf, 2001).

۱-۲- مکانیسم تحمل شوری

تنش شوری در اکثر گونه های گیاهی پدیده ی پیچیده ای است. تا کنون تنش شوری به دلایل دهیدراتاسیون، سمیت یونی، عدم موازنه در تغذیه یا ترکیبی از اثرات، به همراه خیلی از تغییرات مولکولی دیگر شناخته شده است. مکانیسم های مشهوری در سطح سلولی، بافتی، اندامی یا در سطح کل گیاه وجود دارد. البته برخی رفتارها تنها در یک زمان و در یک گونه ویژه به وقوع

۱- Denaturation
۲- Compatible Solutes

می پیوندد. بعلاوه اثر یک مکانیسم، ممکن است دو جانبه باشد و یـا ایـن کـه در مراحـل مختلـف رشد و نمو اثری خاصی داشته باشد (Ashraf, 2001).

مکانیسم های مولکولی تحمل تنش های محیطی بر اساس فعال سازی وتنظیم ژنهای وابسته به تنش کنترل می شود. این ژنها در مجموعه ای از پاسخ های تنشی، همچون: علامت دهی، کنترل رونویسی، حفاظت از اعضای پروتئینی و جارو کردن رادیکـال هـای آزاد و ترکیبـات سـمی نقـش دارند. بسیاری از ژنها ومکانیسم های بیو شیمیایی در پاسخهای پیچیده گیاهی به تنش های محیطی نقش دارند (شکل۱-۱).

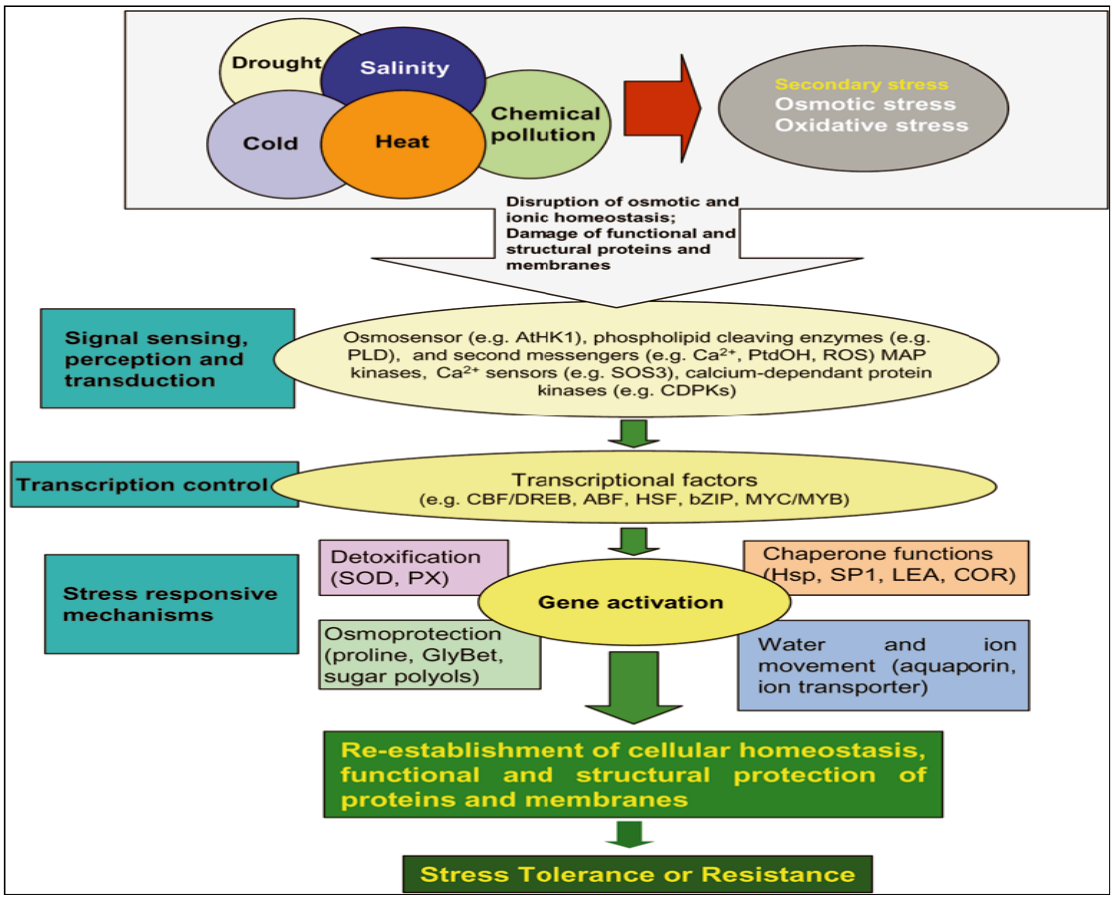
این ژنها در ۳ دسته عمده دسته بندی می شوند:

۱- آنهایی که در آبشار علامت دهی و در کنتـرل رونویسـی نقـش دارنـد، همچـون MyC ، MAP کینازهـا[۳] و SOS کینازهـا[٤]، فسـفو لیپـاز هـا و فاکتورهـای رونویسـی ماننـد HSF[٥] و CBF/DREB و ABF/ABAE.

۲-آنهایی که در حفاظت از اعضای پروتئینی نقش مستقیم دارند، مانند: پروتئین هـای شـوک حرارتی (HSPs)[٦] و چاپرونها، پروتئین های مراحل آخـر رویـانی (LEA)[۷]، حفاظـت کننـده هـای اسمزی[۸] و جارو کننده های رادیکالهای آزاد[۹].

۳- Mitothise activity protein kinase
۴- Salt overly sensitive kinase
۵- Heat shock factor
۶- Heat shock proteins
۷- Late embryogenesis abundant proteins
۸- Osmoprotectants
۹- Free-radicale scavngers

۳-آنهایی که در جذب آب و یونها وانتقال آنها نقش دارند، مانند: آکوآپورین ها و ناقلین یونی.(جدول۱-۱)



شکل۱-۱- مجموعه ژنها و مکانیسم هایی که در مقابله باتنش های محیطی فعال می شوند.(Wang و همکاران، ۲۰۰۳)

Mechanism	Genes	Species	Reference
Transcription control	CBF1	*Arabidopsis thaliana*	Jaglo-Ottosen et al. 1998
	DREB1A	*A. thaliana*	Kasuga et al. 1999
	CBF3	*A. thaliana*	Gilmour et al. 2000
	CBFs	*Brassica napus*	Jaglo et al. 2001
	CBF1	*Lycopersicon esculentum*	Hsieh et al. 2002
	CBF4	*A. thaliana*	Haake et al. 2002
	AtMYC2 and AtMYB2	*A. thaliana*	Abe et al. 2003
	ABF3 or ABF4	*A. thaliana*	Kang et al. 2002
	HSF1 and HSF3	*A. thaliana*	JH Lee et al. 1995; Prändl et al. 1998
	HsfA1	*L. esculentum*	Mishra et al. 2002
	spl7	*Oryza sativa*	Yamanouchi et al. 2002
Compatible solute			
Proline	P5CS	*Nicotiana tabacum*	Kishor et al. 1995; Konstantinova et al. 2002; Hong et al. 2000
	ProDH	*A. thaliana*	Nanjo et al. 1999
Myo-inositol	IMT1	*N. tabacum*	Sheveleva et al. 1997
Sorbitol	*stpd1*	*N. tabacum*	Sheveleva et al. 1998
Antioxidants and detoxification	CuZn-SOD	*N. tabacum*	Gupta et al. 1993a, 1993b; Pitcher and Zilinskas 1996
	Mn-SOD or Fe-SOD	*Medicago sativa*, *N. tabacum*	McKersie et al. 1996, 1999, 2000; Van Camp et al. 1996
	GST and GPX	*N. tabacum*	Roxas et al. 1997
	*chy*B	*A. thaliana*	Davison et al. 2002
	Aldose-aldehyde reductase	*N. tabacum*	Oberschall et al. 2000
Ion transport	*AtNHX1*	*A. thaliana*	Apse et al. 1999
		B. napus	Zhang et al. 2001
		L. esculentum	Zhang and Blumwald 2001
	SOS1	*A. thaliana*	Shi et al. (2003)
	HAL1	*Cucurbita melo*	Bordas et al. 1997 Rus et al. 2001
	AVP1	*A. thaliana*	Gaxiola et al. 2001
Hsps and molecular chaperones	Hsp17.7	*Daucus carota*	Malik et al. 1999
	Hsp21	*A. thaliana*	Härndahl et al. 1999
	AtHSP17.6A	*A. thaliana*	Sun et al. 2001
	DnaK1	*N. tabacum*	Sugino et al. 1999
	SP1	*Populus tremula*	Wang et al. 2003
LEA-type proteins	COR15a	*A. thaliana*	Artus et al. 1996; Steponkus et al. 1998; Jaglo-Ottosen et al. 1998
	HVA1	*O. sativa*	Xu et al. 1996
		Triticum aestivum	Sivamani et al. 2000
	WCS19	*A. thaliana*	Ndong et al. 2002

جدول۱-۱-ژنهای موثر در سازگاری به تنش های محیطی (Wang و همکاران، ۲۰۰۳)

۱-۲-۱- مکانیسم هالوفیت ها برای تحمل تنش

حساسیت آنزیمهای گیاهان هالوفیت و گلیکوفیت به نمک یکسان است، به عنوان مثال؛ فعالیت in vivo آنزیم های خارج شده از هالوفیت[۱۰] *Atriplex spongeosa* یا[۱۱] *Suaeda maritime* به کلرید سدیم حساس هستند و از نظر حساسیت به آنزیم های لوبیا یا نخود شباهت دارند. حتی آنزیم های استخراج شده از جلبک صورتی[۱۲] *Dunaliella parva* ساکن دریاچه های شور، که می تواند شوری ۱۰ برابر آب دریا را تحمل کند مانند آنزیم های استخراج شده از گیاهان حساس به کلریدسدیم است، معمولا یون سدیم در غلظت های بالای ۱۰۰ میلی مولار کلریدسدیم مانع از فعالیت بیشتر آنزیم ها می شود (Munns, 2002).

۱۰- *Atriplex spongeosa*
۱۱- *Suaeda maritime*
۱۲- *Dunaliella parva*

از بررسی تفاوت بین فعالیت ژنی گلیکوفیت و هالوفیت به نظر می رسد که در چگونگی درک تنش و یا چگونگی مراحل علامت دهی بین گیاهان تفاوت وجود دارد و احتمال دارد این تفاوت از حساسیت متفاوت این گیاهان به تنظیم کننده های رشد ناشی شود. تنش شوری میزان ABA را در هر دو گیاه هالوفیت و گلیکوفیت افزایش می دهند، اما به نظر می رسد؛ هالوفیت ها تغییرات ناشی از ABA را در مسیری متفاوت از گلیکوفیت ها (آرابیدوپسیس) اعمال می کنند (Hansو همکاران،۱۹۹۵).

هالوفیت ها، سیما و ویژگی های ریخت شناسی و تشریحی ویژه ای دارند. پتانسیل اسمزی اغلب آنها در شیره سلولی بسیار پایین است. بعضی از آنها به دلیل ترشح نمک و یا انباشتگی آب فراوان در سلولها گوشتی شده و قادر هستند غلظت نمک درونی خود را تنظیم کنند (Fletcher , 1988 Hofstra).

گیاهان هالوفیت بر اساس مکانیسم تحمل شوری به دو دسته تقسیم می شوند:

۱- گروهی که میزان ورود نمک به آنها کم است.

۲- گروهی که میزان ورود نمک به سیتوپلاسم آنها کم است.

هالوفیت ها علاوه بر جلوگیری از ورود نمک ، بطور موثر نمک ها را در واکوئلها انباشته می کنند، لذا می توانند در دوره های طولانی مدت در خاکهای شور زندگی کنند. بعضی از گلیکوفیتها هم به خوبی مانع ورود نمک می شوند، اما در کده بندی بقایای نمک به خوبی هالوفیتها عمل نمی کنند. در بیشتر گلیکوفیتها غلظت نمک تا حد سمی در برگهای در حال تعرق افزایش می یابد (Munns, 2002).

پیشرفت هالوفیت ها به تغییرات مرحله های استقرار دانه رست، نوجوانی، بلوغ، گلدهی و تشکیل دانه ها وابسته است. هر مرحله تحت تاثیر ویژگی های مورفولوژیکی، فیزیولوژیکی و

بیوشیمیایی و شرایط بیرونی، نور، دما، CO_2 و تنش هایی که دسترسی به آب را محـدود مـی کنـد، قرار می گیرند (Hans و همکاران،۱۹۹۵).

گیاه یخی[۱۳]، بومی بیابانهای نامیبیای افریقای جنوبی است، که به شرایط شوری و خشکی بالا و دمای پایین سازگار است. ژنوم این گیاه تقریبا دو برابر ژنـوم آرابیدوپسـیس اسـت (DeRocher، ۱۹۹۰) و به دلیل داشتن تنظیمات ویژه سلولی و پلی پلوئیدی بالا (۱۲۸N)مـی توانـد بـا تـنش هـا مقابله کند (DeRocher، 1990)و(Meyer، 1990).

القای مسیر CAM در این گیاه ، مثالی از افزایش کارایی آب مورد اسـتفاده اسـت (Bohnert، 1992).

در گیاهان CAM که روزنه ها طی روز بسته هستند، تبخیر کاهش می یابد و بازده فتوسنتزی گیاهان CAM از C_3 بیشترمی شود (Furbank , Taylor ، 1995).

در گیاهان CAM CO_2 در شب جذب می شود و توسـط آنـزیم ویـژه CAM، فسـفو انـول پیروات کربوکسیلاز (PPC) به اگزالواستات و در نهایت به مالات همانند سازی[۱۴] می شود. مـالات در واکوئل ذخیره می شود. مالات در طی روز جابجا مـی شـود و CO_2 لازم را بـرای عمـل آنـزیم (ریبولوز ۱-۵ بیس فسفات کربوکسیلاز / اکسیژناز)، فراهم می کند. ایزوفرمPPC ویـژه CAM (کـه بوسیله Ppc_1 کد می شود)، در گیاهان جوان بیان پایه کمی را دارد و تنها mRNA های کوچکی را ایجادمی کند، مگر اینکه؛ گیاه در تنش قرار گیرد. تنش آب به رونویسی فعال پـنج برابـری از Ppc_1 منجرمی شود و با انباشتگی بیشتر از ۱۰۰بار از mRNA ها و در نتیجه انباشـتگی Ppc ویـژه CAM ادامه مـی یابـد. شـوری بـالا در زمـان کمتـر از ٤ هفتـه بـه القـای کامـل Ppc_1 منجـر نمـی شـود (Coshman، 1990).

۱۳- *Mesembryanthemum crystallinum*
۱٤- assimilated

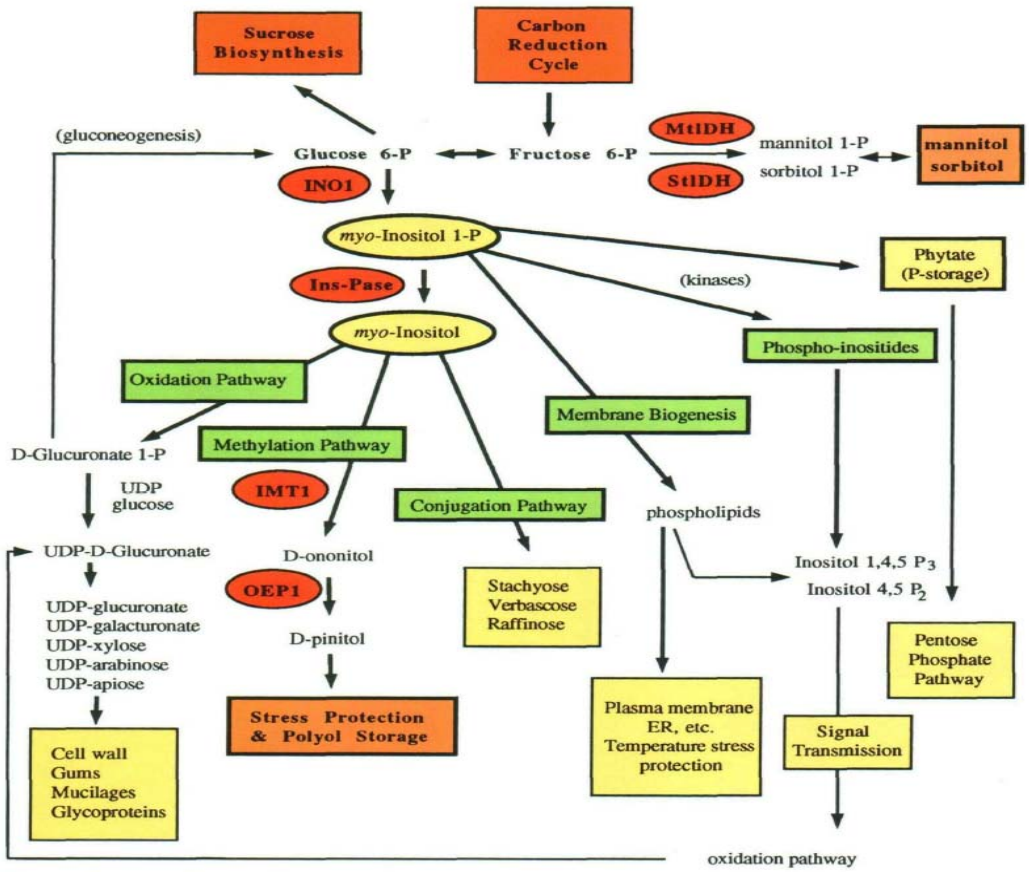
القای CAM در گیاهان در حدود ۵ هفته طول می کشد. این نتایج یک نکته مهم را نشان می دهد و آن این که پاسخهای گیاه به تنش، در ضمن نمو تغییر می کند. حتی به نظر می رسد که تحریک CAM در گیاهان یخی جوان ناقص است و چنانچه گیاهان در استرس باقی بمانند، باید مکانیسم های اضافی برای عمل در یک دوره کوتاه را داشته باشد که به تحمل تنش در گیاهان یخی منجر شود. سه مکانیسم شناخته شده عبارتند از: القای بیوسنتز پلی اول، تنظیم جذب یون و انباشتگی آن و جذب آب تسهیل شده (Hansو همکاران،۱۹۹۵).

۱-۲-۱-۱- القای بیوسنتز پلی اول

انباشتگی پلی اول ها و دیگر متابولیتهای اولیه همچون مانیتول و سوربیتول(Bieleski، 1982) یا پلی اول های حلقوی همچون میو اینوزیتول و مشتقات متیله اش(Loewus,Dickinson، 1982)، با تحمل خشکی، شوری در ارتباط است. پلی اول ها در خیلی از گونه ها مانند: باکتری ها، مخمرها، جلبک دریایی، گیاهان بزرگتر و حیوانات، وجود دارند. به نظر می رسد که پلی اول ها در دو مسیر تنظیم کننده های اسمتیکی[۱۵] و حفاظت کننده های اسمزی[۱۶] فعالیت می کنند که جدا سازی مکانیسم آنها مشکل است. در تنظیم اسمزی، همچون اسمولیت عمل می کنند و جریان آب به درون سیتوپلاسم را آسان می کنند و با هدایت سدیم به درون واکوئل یا آپوپلاست، آن را منزوی می کنند. حفاظت از ساختار های سلولی(احتمالا بوسیله جارو کننده های اکسیژن فعال) ممکن است، با واکنش بین این اسمولیت ها که اغلب محلولهای سازگار[۱۷] نامیده می شوند و کمپلکس های پروتئینی یا آنزیمی غشا ها، کامل شود. پلی اول ها

۱۵- Osmotic adjustment
۱۶- Osmoprotection
۱۷- compatible solution

قند هایی هستند که با افزایش در شرایط تنش محیطی، مـی تواننـد کـربن اضـافه را ذخیـره کننـد. پرولین، آمونیوم های چهار ظرفیتی و اسمولیت های سولفونیوم سه ظرفیتی، هر چند یـونی هسـتند ولی هیچ شارژی ندارند و عمل حفاظت کننده های اسمزی در سیتوزول ممکـن اسـت بـه ماهیـت شیمیایی منحصر بفرد آنها مربوط باشد. برای اختصاص کربن بـه بیوسـنتز پلـی اول هـا، از ذخیـره گلوکز ٦- فسفات، که در شکل۱-۲ نشان داده شده است، اسـتفاده مـی شـود (Hans و همکـاران، ۱۹۹۵).



شکل۱-۲- مراحل سنتز میو اینوزیتول و پلی اول(Hans و همکاران،۱۹۹۵)

در مسیر بیوسنتز اینوزیتول جنبه های جالب توجهی وجود دارد. اول اینکه؛ اینوزیتـول بـرای بیوسنتز غشا و اعمال علامت دهی در همه اندامک ها ضروری است زیرا INO1[۱۸] آنزیم منحصر به فردی است که در مسیر شرکت می کند. در گیاه یخی (و دیگر گونـه هـای بـا سـابقه تکـاملی) در ادامه ی این مسیر اینوزیتولهای متیله شـده ای انباشـته مـی شـود کـه بوسـیله اینوزیتـول O- متیـل ترانسفراز (IMT1) کاتالیز می شوند. اینوزیتول و اینوزیتول ۱- فسفات منبع تولید ترکیباتی هسـتند که با تحمل تنش ارتباط دارند، برای مثال؛ صمغ هـا، کربوهیـدراتهای موجـود در دیـواره سـلولی، کربوهیدراتهای موجود در گلیکوپروتئین ها و موسیلاژ هـا از اینوزیتـول و اینوزیتـول ۱- فسـفات تشکیل می شوند. گیاهان از اینوزیتول برای سنتز ذخیره های کربوهیدراتی گیاهی همچون استاکیوز و ورباسکوز استفاده می کنند کـه در خیلـی از گونـه هـا القـا کننـده تـنش هسـتند. یکـی دیگـر از محصولات این مسیر فیتات[۱۹]، و اینوزیتول–هگزاکیزفسـفات[۲۰] اسـت کـه بـه عنـوان ذخیـره هـای فسفات در دانه عمل می کنند. مسیر طراحی شده در شـکل ۱-۲ مـی توانـد نمونـه ای از مکانیسـم توانایی تحمل دائمی تنش های زیستی باشد (Hans و همکاران، ۱۹۹۵).

در گیاه یخی، ژن imt1 (شکل۱-۲) در کنترل شرایط محیطی سخت در هر مرحله نموی عمل می کند. این ژن تنها در شرایط تنش شوری و دمای پایین وادار به رونویسی می شود (Vernon و Bohnert، ۱۹۹۲).

فعالیت آنزیم IMT1 باعث تولید o- انونیتول مـی شـود، بیشـتر ایـن ترکیـب بـه o-پینیتـول اپیمریزه می شود. پینیتول در گیاه یخی تحت تنش افزایش می یابد و از عمـده ترکیبـات کربنـی بـا

۱۸-Inositol 1-P synthetase
۱۹- Phytate
۲۰- Inositol-hexakisphosphate

وزن مولکولی پایین است که با غلظتی بالاتر از ۷۰۰ میلی مولار در سیتوزول و کلروپلاست وجـود دارد (Adams، 1992).

۱-۲-۱-۲- تنظیم جذب یون و کده بندی

دومین مکانیسمی که از گیاه یخی جوان بر ضد تنش آب حمایت می کند، تنظیم جذب یـون و کده بندی است. وقتی سدیم در دسترس است، گیاه یخی آن را منزوی کرده و با بیشـترین میـزان در بافتهای جوان ذخیره می کند. این ذخیره سازی در راستای افزایش o-پینیتـول اسـت. انباشـتگی بالای سدیم و پینیتول در گیاه یخی قابل مشاهده است. در گیاهان تحت تنش نمک غلظـت سـدیم سلولها ی اپیدرمی غده های نمکی متجاوز از یک مولار اسـت. توانـایی گیـاه یخـی در اسـتفاده از سدیم به عنوان اسموتیکوم، درمحدوده ی واکوئل مناطق در حال رشد (o-پینیتـول در سیتوپلاسـم انباشته می شوند) در مقابله کامل با گیاهان گلیکوفیت است، که با محدودیت در جـذب سـدیم یـا تخصیص سدیم به بافتهای قدیمی تـر همچـون کـده بنـدی ذخیـره ای عمـل مـی کننـد (Hans و همکاران،۱۹۹۵).

۱-۲-۱-۳- نفوذ پذیری آب تسهیل شده

سومین مکانیسم برای محافظت از تنش، با تنظیم نفوذ پـذیری آب تسـهیل شـده، نشـان داده می شود. رونوشتهای Mip[۲۱] که تحت تنش شوری تغییراتی نشان می دهد، از cDNA ریشـه گیـاه یخی در آزمایشگاه جدا شده است. (MIP)های کد شـده، همولـوگ آکوآپـورین هـای جـانوری و

۲۱- major intrinsic protein

گیاهی یا کانالهـای آب و پروتئینهـای تسـهیل شـده گلیسـرولی در باکتریهـا اسـت. دو خـانواده از آکوآپورین های گیاهی که در غشاهای پلاسمایی و تونوپلاست قرار دارند، تشخیص داده شده انـد. دو ژن Mip گیاه یخی که در سلولها غالب هسـتند، احتمـالا در جریـان آب نقـش دارنـد (Hans و همکاران،۱۹۹۵).

پروتئین های نوع- LEA وHSP ها ، نیز از دیگر عوامل موثر در گیاهان سـازگار بـه تـنش هستند.

۱-۲-۱-٤-پروتئین های شوک حرارتـی (HSPs) و چـاپرون هـای مولکولی

در جریان تنش ها، در عملکرد آنزیم ها و پروتئین ها اختلال بوجود می آید. بنـابراین حفـظ پروتئینها با موقعیت فضایی لازم، برای عملکرد و جلوگیری از انباشتگی پـروتئین هـای غیرطبیعـی برای بقای سلول تحت تنش اهمیت بسیار زیادی دارد. خیلی از پروتئین های وابسته به تنش بـویژه HSP ها همچون چاپرونهای مولکولی عمل می کنند که عهـده دار سـنتز پـروتئین، نشـانه گـذاری کردن، بلوغ و تخریب هستند. علاوه بر این عمل چاپرونهای مولکولی استقرار پروتئینها و غشا ها و تا خوردگی مجدد پروتئین ها است که در طی تنش شوری همکاری می کنند. در گیاهان مشـخص شده است که از میان پنج خانواده HSPs (HSP60-HSP70-HSP90-HSP100 وsHSP) sHSP ها بیشترین مقدار را دارند و اندازه آنها از ۱۲ تا ٤۰ کیلو دالتون متنوع است و فقط برای شوک گرمایی طراحی نشده اند بلکه در تنشهای آب، شوری و اکسیداتیو و دماهای پایین هـم بیـان مـی شـوند.

$Dnak_1$یـک عضـو HSP_{70}، از *Cyanobacterium aphanothece* [۲۲] (متحمـل بـه شـوری)، در سیتوزول گیاهان توتون ترانس ژنیک به شدت بیان می شود. تحت تنش شوری، مقدار تثبیت CO_2 تا۴۰ درصد در گیاهان کنترل کاهش می یابد در حالی که مقدار تثبیتCO_2 در گیاهان ترانس ژنیک در حدود ۸۵ درصد است. علاوه بر این غلظت سدیم برگی نسبت به گیاهان کنترل بطور معنا داری افزایش یافت. اما در گیاهان ترانس ژنیک میزان سدیم به اندازه ی گیاهان بدون تنش بود (Wang و همکاران،۲۰۰۳).

۱-۲-۱-۵- پروتئین های مراحل آخر رویانی (LEA)

این پروتئین ها در محدوده وسیعی از گونـه هـای گیـاهی در پاسـخ بـه کمبـود آب در اثـر خشکی، تنش اسمتیک و سرما یافت می شود. این پروتئین ها در خانواده ای با ساختمان و عملکرد متنوع قرار می گیرند. عمل پروتئین نوع- LEA در حد زیادی ناشناخته است. البته بـه دلیـل سـنتز قابل توجه آنها در طی مرحله آخر رویانی و القا در طی تنش و ویژگی های سـاختاری (آبدوسـتی، مارپیچ های تصادفی، تکرارهای موتیف) می توان دیگر اعمال آن ها را پیشـگویی نمـود. احتمـال دارد که پروتئین نوع LEA همچون مولکولهای پیوسته به آب در جداسـازی یـونی و بـا توجـه بـه ماکرومولکولی بودن آنها در پایداری مجموعه نقش ایفا کنند (Wangو همکاران، ۲۰۰۳).

۱-۲-۲- مکانیسم گلیکوفیت برای تحمل تنش

مکانیسم عمل گلیکوفیت های تحت تنش، از نظر حفاظت، شباهت زیادی بـه هالوفیـت هـا دارد. آنچه از بررسی گونه های هالوفیت بدست آمده است، نشان می دهد که مکانیسم های تحمـل

۲۲- *Cyanobacterium aphanothece*