٩٥٩٤٧

دانشگاه تهران
پردیس علوم
دانشکده زیست شناسی

عنوان:

بررسی پاسخ های فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی قطعات جدا کشت چند گونه بارهنگ تحت تنش شوری NaCl

نگارش:
زهرا راه نشان

۱۳۸۷ /۲/ ۱۱۲۱

استاد راهنما:
دکتر وحید نیکنام دکتر

استاد مشاور:
حسن ابراهیم زاده معبود

پایان نامه برای دریافت درجه کارشناسی ارشد
در رشته علوم گیاهی گرایش فیزیولوژی گیاهی
بهمن ۸۶

۵۰۹۲۷

تقدیم به :

دست های پر مهر و عطوفت

مادر و پدرم

و

قلب های با محبت خواهرانم

چکیده

سرده *Plantago* (بارهنگ) متعلق به تیره Plantaginaceae (بارهنگیان) می باشد. از آنجایی که گونه های مختلف این سرده از لحاظ درجه تحمل شوری اختلافات قابل توجهی دارند، به نظر می رسد که مدل خوبی برای مطالعات مقایسه ای پاسخ به تنش شوری باشند. در این تحقیق اثر تنش شوری بر روی رشد، تنظیم اسمزی، محتوای مواد آلی و سیستم پاداکسایشی در کالوس های دو گونه از بارهنگ *P.ovata* و *P.psyllium* بررسی شد. وزن تر و خشک کالوس ها *P.ovata* با افزایش غلظت نمک کاهش پیدا کرد. در گونه *P.psyllium* وزن تر و خشک کالوس ها در ۷۵ میلی مولار افزایش معنی داری نشان داده است. محتوای موسیلاژ در کالوس های حاصل از *P.ovata* با افزایش شوری افزایش یافت. در کالوس های ریشه ای *P.psyllium* تنها در غلظت های بالای NaCl محتوای موسیلاژ افزایش نشان داد. محتوای ترکیبات فنلی در کالوس های برگی *P.ovata* با افزایش شوری کاهش یافته است در کالوس های ریشه ای *P.ovata* روندی افزایشی در محتوای این ترکیبات مشاهده شد. در کالوس های برگی *P.psyllium* افزایش گذرای این ترکیبات در ۵۰ میلی مولار NaCl و سپس کاهش در غلظت های بالاتر مشاهده شد. محتوای پرولین کالوس ها در بیشتر موارد در غلظت های متوسط (۷۵ و ۵۰ میلی مولار) افزایش و سپس کاهش یافته است.

بیشترین مقدار پروتئین در کالوس های ریشه ای هر دو گونه در ۵۰ میلی مولار و در کالوس های برگی در بیشتر موارد محتوای پروتئین با افزایش غلظت نمک نسبت به شاهد افزایش یافته است. در کالوس های برگی هر دو گونه بیشترین میزان فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز در نمونه شاهد مشاهده شد. به نظر میرسد که در کالوس های ریشه ای غلظت های بالای NaCl سبب القای فعالیت آنزیمی گردیده است. فعالیت آنزیم پراکسیداز با افزایش شوری در کالوس های *P.ovata* و کالوس های ریشه ای *P.psyllium* در غلظت های پایین نمک ابتدا کاهش وسپس در غلظت های بالاتر افزایش یافته است. بیشترین مقدار فعالیت آنزیم پلی فنل اکسیداز در کالوس های هر دو گونه در غلظت های بالای NaCl مشاهده شد. نسبت اسید های چرب غیر اشباع به اسید های چرب اشباع در کالوس های ریشه ای *P.psyllium* و کالوس های برگی *P.ovata* در همه موارد نسبت به شاهد کاهش یافته است. در کالوس های برگی *P.psyllium* در ۷۵ و ۱۵۰ میلی مولار نسبت به شاهد کاهش یافته است. در کالوس های ریشه ای *P.ovata* این نسبت در ۷۵ میلی مولار افزایش و در ۱۵۰ میلی مولار کاهش یافته است.

با توجه به مجموع پارامترهای مطالعه شده، بنظر میرسد که کالوس های ریشه ای گونه *P.psyllium* نسبت به سایر نمونه ها در برابر تنش شوری بردبارتر بوده و کالوس های برگی *P. ovata* حساسیت بیشتری نسبت به شوری نشان می دهد.

سپاس خداوندی را که سخنوران از ستودن او عاجزند و حسابگران از شمارش نعمت های او ناتوان و تلاشگران از ادای حق او درمانده اند. خدایی که افکار ژرف اندیش، ذات او را درک نمیکنند و دست غواصان دریای علوم به او نخواهد رسید. با همه چیز هست، نه اینکه همنشین آنان باشد با همه چیز فرق دارد، نه اینکه از آنان جدا و بیگانه باشد. خدایی که یگانه و تنهاست.

و نیز برخود لازم میدانم از استاد فرهیخته و بزرگوارم جناب آقای دکتر وحید نیکنام به پاس راهنمایها تشویق ها و محبت های بی دریغشان در طی دوران تحصیلم در مقطع کارشناسی و کارشناسی ارشد که افتخار شاگردی در محضر ایشان را داشتم وچه در طی مراحل انجام پایان نامه صمیمانه تشکر و قدردانی نمایم.

از استاد مشاور فرزانه ام جناب آقای دکتر حسن ابراهیم زاده به پاس راهنمایهای دلسوزانه و پدرانه ایشان خالصانه تشکر و قدردانی میکنم.

از اساتید محترم سرکار خانم دکتر عذرا صبورا و جناب آقای دکتر شاهین زارع به خاطر قبول زحمت داوری و مطالعه این پایان نامه بسیار سپاسگزارم.

از اساتید بزرگوار و محترم خانم دکتر نسرین معتمد و جناب آقای دکتر سید مهدی سیدی که در طی دوران تحصیلم از محضرشان بهره مند شدم صمیمانه تشکر میکنم.

ار جناب آقای مسعود میر معصومی سرپرست محترم آزمایشگاه فیزیولوزی گیاهی به خاطر کمک هایی که در آزمایشگاه به بنده نمودند تشکر فراوان دارم.

همچنین سپاس میگویم بودن ها، همراهی هاو همدلی هایی را که مرا در امر انجام پروژه پایان نامه ترغیب، تشویق و یاریم نمودند:

دوستان عزیزم خانم ها: صفیه آقازاده، مریم بهزادفر، مهدیه انصاریان

دوستان بزرگوار در آزمایشگاه فیزیولوژی گیاهی: خانم ها و آقایان: محبوبه جعفر زاده، مریم السادات شبر، بابک مرادی، مرجان قاضی زاهدی، آزاده پهلوانی، سمانه اختراعی طوسی، الهه نجفیان، منا صراحی نوبر، مریم میر ارضگر، شیما بیات، حنانه نوروزی وجیهه ارفع،سمیه ترابی، عباس کیانی

دانشجویان دکتری: خانم ها و آقایان: الهه وطن خواه، گل اندام شریفی،خانم حسین زاده، سیدمهدی رجایی، محمد آقاله

هم اتاقی های مهربانم: آرزو جلیل زاده، شکیبا امیرخانی، فاطمه حجتی، لیلا علیپور

در پایان متواضعانه و خالصانه از تمام کسانی که وجود ارزشمندشان مایه دلگرمی و انگیزه تلاشهایم بوده اند و خواهند بود، تشکر و قدر دانی میکنم؛ پس به یادشان می نویسم:

پرنده ها به تماشای بادها رفتند
شکوفه ها به تماشای آب های سپید
زمین عریان مانده است و باغ های گمان
و یاد مهر تو ای مهربانتر از خورشید

عنوان **صفحه**

فصل اول: مقدمه و کلیات..... ۱

۱-۱- مقدمه..... ۲

۱-۲- مروری بر مسیر علامت‌دهی تنش در گیاهان..... ۲

۱۰-۳- مسئله شوری در ایران..... ۴

۱-۴- مکانیسم‌های تحمل شوری..... ۵

۱-۴-۱- کده‌بندی داخل سلولی..... ۸

۱-۴-۲-سنتز محافظت کننده‌های اسمزی..... ۹

۱-۴-۳-سمیت‌زدایی..... ۹

۱-۵- اثرات فیزیولوژیکی و بیوشیمایی شوری بر گیاهان..... ۱۰

۱-۵-۱-جوانه زنی گیاه..... ۱۰

۱-۵-۲- رشد رویشی..... ۱۱

۱-۵-۳- موسیلاژها..... ۱۲

۱-۵-۴- پرولین..... ۱۳

۱-۵-۵- ترکیبات فنلی..... ۱۴

۱-۵-۶- پروتئین‌های محلول..... ۱۶

۱-۵-۷- آنزیم سوپر اکسید دسموتاز (SOD)..... ۱۷

۱-۵-۸- آنزیم پراکسیداز (POX) ۱۸

۱-۵-۹- آنزیم پلی فنل اکسیداز..... ۱۸

۱-۶- موقعیت آرایه شناختی گیاه..... ۱۹

۱-۶-۱- شرح جنس..... ۱۹

۱-۶-۲- خصوصیات ریخت‌شناسی..... ۱۹

۱-۶-۳- تاریخچه..... ۲۰

۱-۶-۴- ترکیبات موجود در گیاه..... ۲۰
۱-۶-۵- ارزش دارویی و اقتصادی گیاه..... ۲۰
۱-۶-۶- سابقه طرح حاضر..... ۲۱
فصل دوم : مواد و روش‌ها..... ۲۳
۲-۱- محیط کشت..... ۲۴
۲-۱-۱- استوک ماکروالمان‌ها..... ۲۴
۲-۱-۲- استوک میکروالمان‌ها..... ۲۴
۲-۱-۳- استوک آهن..... ۲۵
۲-۱-۴- استوک ویتامین..... ۲۵
۲-۱-۵- تهیه محیط کشت MS..... ۲۶
۲-۲- سترون کردن وسایل مورد استفاده..... ۲۶
۲-۳- کشت بذر در محیط‌های کشت..... ۲۶
۲-۳-۱- جمع‌آوری بذر..... ۲۶
۲-۳-۲- شکستن خواب بذر..... ۲۶
۲-۳-۳- سترون‌سازی بذرها..... ۲۶
۲-۳-۴-کشت بذر به منظور تهیه قطعات جداکشت..... ۲۷
۲-۳-۵-کشت بافت..... ۲۷
۲-۴- بررسی تغییرات وزن تر و خشک..... ۲۷
۲-۵- بررسی تغییرات کمی موسیلاژها..... ۲۷
۲-۶- استخراج و سنجش پرولین آزاد..... ۲۸
۲-۶-۱- مواد معرف‌های لازم..... ۲۸
۲-۶-۲- روش استخراج..... ۲۹
۲-۶-۳- رسم منحنی استاندارد و سنجش پرولین..... ۲۹
۲-۷- بررسی ترکیبات فنلی..... ۲۹

۲-۷-۱- استخراج ترکیبات فنلی..... ۲۹
۲-۷-۲- مواد و معرف‌ها..... ۳۰
۲-۷-۳- تهیه منحنی استاندارد تانیک اسید..... ۳۰
۲-۷-۳- سنجش ترکیبات فنلی در عصاره‌ها..... ۳۰
۲-۸- بررسی کمی پروتئین‌ها..... ۳۰
۲-۸-۱- مواد و معرف‌ها..... ۳۱
۲-۸-۲- استخراج آنزیم و پروتئین..... ۳۱
۲-۸-۳- رسم منحنی استاندارد برادفورد..... ۳۱
۲-۸-۴- سنجش پروتئین به روش برادفورد..... ۳۱
۲-۹- بررسی کیفی پروتئین‌ها..... ۳۲
۲-۹-۱- الکتروفورز به روش SPS-PAGE در سیستم ناپیوسته..... ۳۲
۲-۹-۱-۱- با فرها و معرف‌های لازم جهت انجام SPS-PAGE..... ۳۲
۲-۹-۱-۲- تهیه ژل تحتانی..... ۳۳
۲-۹-۱-۳- تهیه ژل فوقانی..... ۳۳
۲-۹-۱-۴- آماده‌سازی عصاره پروتئینی و تزریق آن در ژل..... ۳۴
۲-۹-۱-۵- تثبیت پروتئین‌ها..... ۳۴
۲-۹-۱-۶- رنگ‌آمیزی ژل پلی اکریل آمید..... ۳۴
۲-۹-۱-۶-۱- روش تهیه محلول رنگ..... ۳۴
۲-۹-۱-۷- روش رنگ‌بری ژل‌ها..... ۳۵
۲-۹-۱-۷-۱- روش تهیه محلول رنگبر..... ۳۵
۲-۱۰- سنجش فعالیت آنزیم‌ها..... ۳۵
۲-۱۰-۱- آنزیم سوپراکسید اسموتاز (SOD)..... ۳۵
۲-۱۰-۲- آنزیم پراکسیداز (POX)..... ۳۶

۲-۱۰-۳- آنزیم پلی فنل اکسیداز (PPO)..... ۳۶
۲-۱۱-بررسی کیفی آنزیم‌ها..... ۳۷
۲-۱۱-۱- بررسی تغییرات الگوی الکتروفورزی آنزیم‌ها..... ۳۷
۲-۱۱-۱-۱- بافرها و معرف‌های لازم جهت انجام الکتروفورز سیستم PAGE..... ۳۷
۲-۱۱-۱-۲- تهیه ژل تحتانی..... ۳۸
۲-۱۱-۱-۳- تهیه ژل فوقانی..... ۳۸
۲-۱۱-۱-۴- روش الکتروفورز PAGE..... ۳۸
۲-۱۱-۱-۵-آماده‌سازی عصاره آنزیمی و تزریق آن در ژل..... ۳۹
۲-۱۱-۱-۶- آشکارسازی نوارهای آنزیمی روی ژل پلی اکریل آمید..... ۳۹
۲-۱۱-۱-۶-۱- ظهور نوارهای آنزیم سوپر اکسیداسموتاز..... ۳۹
۲-۱۱-۱-۶-۲- ظهور نوارهای آنزیم پراکسیداز..... ۳۹
۲-۱۱-۱-۶-۳- ظهور نوارهای آنزیم پلی فنل اکسیداز..... ۳۹
۲-۱۲-بررسی تغییرات کمی و کیفی لیپیدها و اسیدهای چرب کالوس‌ها..... ۴۰
۲-۱۲-۱- استخراج اسیدهای چرب..... ۴۰
۲-۱۲-۲- هیدرولیز اسیدهای چرب..... ۴۰
۲-۱۲-۳- آزادسازی اسیدهای چرب..... ۴۱
۲-۱۲-۴- مشتق‌سازی اسیدهای چرب..... ۴۱
۲-۱۲-۴-۱- طرز تهیه معرف..... ۴۲
۲-۱۲-۴-۲- روش انجام کار..... ۴۲
۲-۱۲-۵- تشخیص کمی و کیفی اسیدهای چرب..... ۴۲
۲-۱۳- آنالیز آماری..... ۴۳
فصل سوم : نتایج..... ۴۴
۳-۱- نتایج حاصل از بررسی رشد کالوس‌ها..... ۴۵

۳-۱-۱-نتایج حاصل از بررسی اثر شوری بر میانگین وزن تر کالوس‌ها..... ۴۵
۳-۱-۲- نتایج حاصل از بررسی اثر شوری بر میانگین وزن خشک کالوس‌ها..... ۴۸
۳-۲- نتایج حاصل از بررسی اثر شوری بر اندام زایی کالوس‌ها..... ۵۰
۳-۳- نتایج حاصل از بررسی اثر شوری بر محتوای موسیلاژها..... ۵۱
۳-۴- نتایج حاصل از بررسی اثر شوری بر محتوای پرولین آزاد..... ۵۴
۳-۵- نتایج حاصل از بررسی اثر شوری بر محتوای ترکیبات فنلی محلول کالوس‌ها..... ۵۷
۳-۶- نتایج حاصل از بررسی تغییرات کمی و کیفی محتوای پروتئین کالوس‌ها ۵۹
۳-۶-۱- نتایج بررسی اثر شوری بر محتوای پروتئین کل کالوس‌ها (تغییرات کمی)..... ۵۹
۳-۶-۲- نتایج بررسی تغییرات کیفی پروتئین کالوس‌ها به روش الکتروفورز ۶۱
۳-۷- نتایج حاصل از بررسی‌های کمی آنزیم‌ها..... ۶۲
۳-۷-۱- نتایج حاصل از بررسی‌های کمی آنزیم سوپراکسید دیسموتاز..... ۶۲
۳-۷-۲- نتایج حاصل از بررسی‌های کمی آنزیم پراکسیداز..... ۶۴
۳-۷-۳- نتایج حاصل از بررسی‌های کمی آنزیم پلی فنل اکسیداز..... ۶۶
۳-۸- نتایج حاصل از بررسی‌های کیفی آنزیم‌ها..... ۶۸
۳-۸-۱- نتایج حاصل از بررسی‌های کیفی آنزیم سوپراکسید دیسموتاز..... ۶۸
۳-۸-۲- نتایج حاصل از بررسی‌های کیفی آنزیم پراکسیداز..... ۶۹
۳-۸-۳- نتایج حاصل از بررسی‌های کیفی آنزیم پلی فنل اکسیداز..... ۷۲
۳-۹- نتایج حاصل از بررسی‌های اسیدهای چرب در کالوس‌ها با استفاده از GLC..... ۷۲
۳-۹-۱- نتایج بررسی اسیدهای چرب در کالوس‌های برگ *P.psyllium* در غلظت‌های مختلف NaCl..... ۷۴
۳-۹-۲- نتایج بررسی اسیدهای چرب در کالوس‌های ریشه‌ای *P.psyllium* در غلظت‌های مختلف NaCl..... ۷۴

۳-۹-۳-نتایج بررسی اسیدهای چرب در کالوس‌های برگی *P.ovata* در غلظت‌های مختلف NaCl ۸۰

۳-۹-۴- نتایج حاصل از بررسی اسیدهای چرب در کالوس‌های ریشه‌ای *P.ovata* در غلظت‌های مختلف NaCl ۸۲

فصل چهارم : بحث در نتایج ۹۴

۴-۱- بحث پیرامون نتایج بررسی رشد کالوس‌ها در غلظت‌های مختلف NaCl ۹۵

۴-۲- بحث پیرامون نتایج بررسی اثر شوری بر محتوای پرولین آزاد کالوس‌ها ۹۶

۴-۳- بحث پیرامون نتایج بررسی اثر شوری بر محتوای ترکیبات فنلی محلول ۹۷

۴-۴- بحث پیرامون نتایج حاصل از بررسی اثر شوری برمیزان پروتیئن های محلول ۹۸

۴-۵- بحث پیرامون نتایج حاصل از بررسی اثر شوری بر فعالیت آنزیم‌های پاداکسایشی ۱۰۰

۴-۶- بحث پیرامون نتایج حاصل از بررسی اثر شوری بر فعالیت آنزیم پلی فنل اکسیداز ۱۰۲

۴-۷- بحث پیرامون نتایج بررسی کمی و کیفی اسیدهای چرب در غلظت‌های مختلف NaCl ۱۰۳

۴-۸- نتیجه گیری کلی و پیشنهادات ۱۰۵

فهرست منابع ۱۰۶

عنوان صفحه

شکل ۱-۱- مسیر علامت دهی تنش در گیاهان..... ۴
شکل ۱-۲- رده های مختلف ترکیبات فنلی در گیاهان..... ۱۵
شکل ۱-۳- مسیر بیوسنتز ترکیبات فنلی در گیاهان..... ۱۶
شکل۳ -۱- کالوس های حاصل از قطعات جدا کشت ریشه ای و برگی *P.psyllium*..... ۴۶
شکل۳ -۲- کالوس های حاصل از قطعات جدا کشت ریشه ای و برگی *P.ovata*..... ۴۷
شکل ۳-۳- اثر غلظت های مختلف NaCl بر میانگین وزن تر در کالوس های حاصل از دو گونه بارهنگ..... ۴۹
شکل ۳-۴ - اثر غلظت های مختلف NaCl بر میانگین وزن خشک در کالوس های حاصل از دو گونه بارهنگ..... ۵۰
شکل۳-۵- اثر غلظت های مختلف NaCl بر ریشه زایی در کالوس های *P.psyllium*..... ۵۱
شکل۳-۶- منحنی استاندارد قند ها به روش فنل سولفوریک اسید..... ۵۲
شکل ۳-۷- اثر غلظت های مختلف NaCl بر محتوای موسیلاژ در کالوس های حاصل از دو گونه بارهنگ..... ۵۴
شکل ۳-۸- منحنی استاندارد پرولین..... ۵۵
شکل ۳-۹- اثر غلظت های مختلف NaCl بر محتوای پرولین آزاد در کالوس های حاصل از دو گونه بارهنگ..... ۵۶
شکل ۳-۱۰- منحنی استاندارد ترکیبات فنلی..... ۵۷
شکل ۳-۱۱- اثر غلظت های مختلف NaCl بر محتوای ترکیبات فنلی محلول در کالوس های دو گونه بارهنگ..... ۵۸
شکل۳-۱۲- منحنی استاندارد پروتئین به روش برادفورد..... ۵۹
شکل ۳-۱۳- اثر غلظت های مختلف NaCl بر محتوای پروتئین کل محلول در کالوس های دو گونه بارهنگ..... ۶۰
شکل ۳-۱۴- ژل SDS-PAGE مربوط به پروتئین های دو گونه بارهنگ..... ۶۲.

شکل ۳-۱۵- اثر غلظت های مختلف NaCl بر فعالیت آنزیم سوپراکسید دسموتاز درکالوس های دو گونه بارهنگ..... ۶۴

شکل ۳-۱۶- اثر غلظت های مختلف NaCl بر فعالیت آنزیم پراکسیداز..... ۶۶

شکل۳-۱۷- اثر غلظت های مختلف NaCl بر فعالیت آنزیم پلی فنل اکسیدازدر کالوس های دو گونه بارهنگ..... ۶۷

شکل ۳ -۱۸- ژل PAGE مربوط به آنزیم سوپراکسیددسموتاز..... ۷۰

شکل ۳-۱۹- ژل PAGE مربوط به آنزیم پراکسیداز..... ۷۰

شکل۳-۲۰- ژل PAGE مربوط به آنزیم پلی فنل اکسیداز..... ۷۱

شکل ۳-۲۱- اثر غلظت‌های مختلف NaCL بر درصد اسیدهای چرب کالوس‌های برگی *P.psyllium*..... ۷۶

شکل ۳-۲۲- اثر غلظت‌های مختلف NaCl بر درصد اسیدهای چرب کالوس‌های ریشه ای *P.psyllium*..... ۷۸

شکل ۳-۲۳- اثر غلظت های مختلف NaClبر درصد اسید های چرب در کالوس های برگی *P.ovata*..... ۸۲

شکل ۳-۲۴- اثر غلظت های مختلف NaClبر درصد اسید های چرب در کالوس های ریشه ای *P.ovata*..... ۸۴

شکل ۳-۲۵- کروماتوگرام اسیدهای چرب استاندارد..... ۸۵

۳-۲۶- کروماتوگرام اسیدهای چرب درکالوس های حاصل از قطعات برگی *P.psyllium* درغلظت های مختلفNaCl ۸۷

۳-۲۷- کروماتوگرام اسیدهای چرب درکالوس های حاصل از قطعات ریشه ای *P.psyllium* درغلظت های مختلفNaCl ۹۰

۳-۲۸- کروماتوگرام اسیدهای چرب درکالوس های حاصل از قطعات برگی *P.ovata* درغلظت های مختلف NaCl ۹۲

۳-۲۹- کروماتوگرام اسیدهای چرب درکالوس های حاصل از قطعات ریشه ای *P.ovata* درغلظت های مختلف NaCl ۹۳

فهرست جداول صفحه

۳ -۱- اثر غلظت های مختلف NaCl بر میانگین وزن تر در کالوس های دو گونه بارهنگ..... ۴۸
۳-۲- اثر غلظت های مختلف NaCl بر میانگین وزن خشک در کالوس های دو گونه..... ۵۰
۳-۳ - اثر غلظت های مختلف NaCl بر درصد ریشه زایی..... ۵۱
۳-۴- اثر غلظت های مختلف NaCl بر محتوای موسیلاژ..... ۵۳
۳-۵- اثر غلظت های مختلف NaCl بر محتوای پرولین آزاد..... ۵۶
۳-۶- اثر غلظت های مختلف NaCl بر محتوای ترکیبات فنلی..... ۵۸
۳-۷- اثر غلظت های مختلف NaCl بر محتوای پروتئین..... ۶۰
۳-۸- اثر غلظت های مختلف NaCl بر فعالیت آنزیم سوپراکسید دیسموتاز..... ۶۳
۳-۹- اثر غلظت های مختلف NaCl بر فعالیت آنزیم پراکسیداز..... ۶۵
۳-۱۰- اثر غلظت های مختلف NaCl بر فعالیت آنزیم پلی فنل اکسیداز..... ۶۷
۳-۱۱- انواع اسیدهای چرب استاندارد و زمان بازداری آنها..... ۷۳
۳-۱۲- اثر غلظت های مختلف NaCl بر درصد اسید های چرب در کالوس های برگی *P.psyllium*..... ۷۵
۳-۱۳- اثر غلظت های مختلف NaCl بر درصد اسید های چرب در کالوس های ریشه ای *P.psyllium*..... ۷۹
۳ -۱۴- اثر غلظت های مختلف NaCl بر درصد اسید های چرب در کالوس های برگی *P.ovata*..... ۸۱
۳-۱۵- اثر غلظت های مختلف NaCl بر درصد اسید های چرب مختلف در کالوس های ریشه ای *p.ovata*..... ۸۹

مقدمه و کلیات

۱-۱- مقدمه

در اصطلاحات زیستی هر عامل محیطی که فراوری[1] گیاهان زراعی را محدود کند یا زیتوده[2] گیاه را کاهش دهد، تنش نامیده می‌شود. شوری در خاک یا در آب از مهم‌ترین تنش‌ها و به خصوص در خاک‌های مناطق خشک و نیمه خشک است که می‌تواند به شدت محصول گیاهان زراعی را محدود کند (Ashraf and Harris 2004). امروزه ۲۰ درصد از زمین‌های زراعی و نزدیک به نصف اراضی تحت آبیاری در سراسر دنیا تحت تأثیر شوری قرار دارند. از سوی دیگر جمعیت جهان با سرعت هشداردهنده‌ای در حال افزایش است و انتظار می‌رود در پایان سال ۲۰۵۰ به بیش از شش بلیون برسد. از طرف دیگر فراوری غذا به موجب اثرات تنش‌های غیرزیستی رو به کاهش است. بنابراین یافتن مکانیسم‌های تحمل تنش به همراه ژن‌های درگیر در شبکه علامت‌دهی تنش برای بهبود محصولات زراعی مهم می‌باشد. در دهه‌های اخیر تحمل شوری در گونه‌های زراعی از طریق دورگه‌سازی سنتی و تکنیک‌های اصلاح‌نژاد به طور قابل توجهی بهبود یافته است. هم‌چنین با تغییر روش‌های کشاورزی برای جلوگیری از شور شدن خاک و ارائه طرح‌هایی برای اصلاح خاک شور می‌توان بر این مشکل تا حدی فائق آمد.

تنش شوری عبارت از حضور املاح با غلظت‌های بالا در محلول خاک می‌باشد. بیشتر تنش‌های شوری در طبیعت مربوط به نمک های سدیم به ویژه کلرید سدیم است. در خاک‌های با مقدار بالای نمک، گیاهان به دو صورت تحت تنش قرار می‌گیرند. افزون بر تنش تحمیل شده در اثر کاهش پتانسیل اسمزی در محیط ریشه که نتیجه‌ای از وجود مقدار بالای مواد محلول است، یک اثر سمی نیز از غلظت‌های بالای یون‌ها ناشی می‌شود. تعدادی از گیاهان مکانیسم‌هایی برای مقابله با این‌گونه تنش‌ها دارا می‌باشند و عده دیگری از گیاهان به صورت سازش یافته نسبت به آنها در می‌آیند ولی اکثر گیاهان زراعی حساس بوده و نمی‌توانند در شرایط شوری نسبتاً زیاد زنده بمانند و در صورت زنده ماندن مقدار محصول آنها کاهش می‌یابد. بنابراین یافتن و اصلاح گیاهانی که توانایی تحمل چنین شرایطی را داشته باشند حائز اهمیت است. در این فصل اثرات مختلف شوری بر گیاهان و عکس‌العمل‌های آنها در برابر این تنش‌ها در سطوح ملکولی، بیوشیمیایی و فیزیولوژیکی مورد بحث قرار خواهد گرفت.

۱-۲- مروری بر مسیر علامت‌دهی تنش در گیاهان

تنش‌ها ابتدا به وسیله رسپتورهای موجود در غشاء سلول‌های گیاهی دریافت می‌شوند. این علائم سپس به فرودست منتقل می‌شوند که نتیجه آن تولید پیک‌های ثانویه (شکل۱-۳) شامل کلسیم، انواع

---

[1] - Productivity
[2] - Biomass

رادیکال‌های آزاد *(ROS)* و اینوزیتول فسفات‌ها می‌باشد. این پیک‌های ثانویه مانند اینوزیتول فسفات‌ها خود بیشتر سطوح کلسیم سلولی را تعدیل می‌کنند. اختلال در سطح کلسیم سیتوزولی به وسیله پروتئین‌های متصل شونده به کلسیم که حسگرهای کلسیم نیز نامیده می‌شوند احساس می‌شود. این حسگرها فاقد هرگونه فعالیت آنزیمی‌بوده و پیکربندی آنها در طی یک رفتار وابسته به کلسیم تغییر می‌کند. سپس با پارتنرهای مخصوص به خود بر هم کنش می‌کنند و اغلب آبشارهای فسفریلاسیون را آغاز کرده و ژن‌های اصلی پاسخ‌دهنده به تنش و یا عوامل رونویسی که این ژن‌ها را کنترل می‌کنذ را هدف قرار می دهند. محصول این ژن‌های تنشی سرانجام منجر به سازش گیاه و کمک به بقا و فائق آمدن به شرایط نامناسب می‌شود. تنش‌ها تغییراتی در بیان ژن‌هایی که در تولید هورمون‌هایی نظیر ABA و SA و اتیلن شرکت می‌کنند، القاء کرده، این ملکول‌ها علائم آغازی را تقویت کرده و دور دوم علامت دهی را آغاز کرده که مسیرهای مشابهی را ادامه می‌دهند. ملکول‌های مشخص نیز که به عنوان ملکول‌های کمکی شناخته نشده‌اند، ممکن است به طور مستقیم در علامت‌دهی شرکت نکنند اما در دستکاری یا تجمع ترکیبات علامت دهنده شرکت می‌کنند که اینها شامل آنزیم‌هایی برای مریستیله کردن، گلیکوزیله کردن، متیله کردن و یوبی کیتینه کردن می‌باشد.

ژن‌های مختلف پاسخ دهنده به تنش می‌توانند در دو گروه ژن‌های زود القاء شونده و دیر القاء شونده تقسیم‌بندی شوند. ژن‌های زود القاء شونده در دقایق اولیه درک علامت تنش القاء شده و اغلب به طور گذرا بیان می‌شوند. عوامل رونویسی جزء این گروه می‌باشند. و القاء این ژن‌ها نیازمند سنتز پروتئین‌های جدید نیست.

دیگر ژن‌ها که کندتر (بعد از چند ساعت پس از درک تنش) به وسیله تنش فعال می‌شوند در گروه ژن‌های دیر القاء شونده قرار می‌گیرند. این ژن‌ها شامل ژن‌های اصلی پاسخ دهنده به تنش از قبیل RD (پاسخ دهنده به دهیدراسیون)، KIN (القاء شونده توسط سرما)، COR (پاسخ‌دهنده به سرما) که پروتئین‌های نیازمند برای سنتز پروتئین‌های LEA آنتی اکسیدان‌ها، پروتئین‌های پایدارکننده غشاء پروتئین‌های چاپرون و بیوسنتز اسمولیت‌ها را کد و تنظیم می‌کنند (Mahajan and Tuteja, 2005).