بسم الله الرحمن الرحيم

دانشکده علوم

گروه زیست شناسی

پایان نامه تحصیلی برای دریافت درجه کارشناسی ارشد رشته زیست شناسی گرایش فیزیولوژی گیاهی

بررسی اثر L -آرژنین و D- آرژنین در کاهش اثرات ناشی از تنش خشکی در گیاه گوجه فرنگی Lycopersicon esculentum

---

اساتید راهنما :

دکتر خسرو منوچهری کلانتری

دکتر محمد مهدی یعقوبی

استاد(استادان) مشاور :

دکتر زهرا اسرار

مؤلف :

فرشته میرزایی

خردادماه ۱۳۹۰

تقدیم به:

بنیانگذاران دانشگاه شهید باهنر کرمان

مهندس علیرضا افضلی پور و خانم فاخره صبا

و فرزندان این دو بزرگوار

و دانشجویان دانشگاه شهید باهنر کرمان

تقدیم به:

پدر و مادر عزیزم

تشکر و قدردانی

سپاس خدای یکتا را که هرچه هست از اوست.

برخود لازم می‌دانم از زحمات تمام عزیزانی که به طریقی مرا یاری نموده‌اند نهایت تشکر و قدردانی را داشته باشیم. از استاد گرامی و معظم خود آقای دکتر خسرو منوچهری کلانتری به دلیل راهنمایی و هدایت مؤثر و نیز پیگیری‌های مستمر برای انجام این پایان‌نامه کمال تشکر و سپاسگذاری را دارم. ایشان در تمام طول دوران کارشناسی ارشد در حل مشکلات درسی و راهنمایی پایان‌نامه از هیچ کوششی دریغ نورزیده و پشتیبان این جانب بوده‌اند.

مراتب سپاس و قدردانی خود را از زحمات ارزشمند و بی دریغ جناب آقای دکتر محمدمهدی یعقوبی ابراز می‌دارم. شایسته است از اساتید و کارکنان گروه زیست شناسی و کارکنان و دانشجویان هایتک نهایت سپاس و تشکر را داشته باشم.

چکیده :

تنش خشکی از مهم ترین تنش های محیطی است و از عوامل محدودکننده‌ی رشد و تولید محصولات کشاورزی محسوب می‌شود.

گزارش شده است که اسیدآمینه آرژنین از طریق سه مسیر متابولیسمی و محصولات نهایی این مسیرها (شامل پرولین، پلی‌آمین ونیتریک اکسید) در تنش‌های زیستی و غیرزیستی شرکت کرده و اثرات مخرب ناشی از این تنش‌ها را تخفیف می‌دهد. در این پژوهش از دو ایزومرآرژنین یعنی L-آرژنین و D-آرژنین به عنوان پیش تیمار گیاه گوجه فرنگی استفاده شد.گیاهان درمعرض خشکی قرارگرفتند و اثرات این دو ایزومرآرژنین بر برخی پارامترهای فیزیولوژیکی و بیان ژن آرژیناز که یکی از آنزیم های دخیل در سنتز پرولین و پلی آمین می‌باشد مورد بررسی قرار گرفت.

نتایج نشان دادکه وزن تر و خشک ریشه و ساقه و محتوی نسبی آب گیاه، تحت تنش خشکی، نسبت به شاهد کاهش یافت که پیش تیمار گیاهان با L-آرژنین تا حدی این کاهش را جبران کرد اما D-آرژنین تاثیر بسزایی در این مورد نداشت. در تمامی گروه‌هایی که تحت تنش خشکی قرار داشتند کاهش در طول ساقه مشاهده شد ولی تفاوت بین این گروه‌ها در سطح معنی‌داری نبود. هم‌چنین تیمارآرژنین برروی رنگیزه‌های فتوسنتزی هم تاثیر معنی-داری نداشت.

مقدار فلاوونوئید، قندهای احیاءکننده و محصولات پراکسیداسیون لیپیدها (مالون‌دآلدئید و سایرآلدئیدها)تحت تنش خشکی افزایش یافتندکه پیش‌تیمارگیاهان با D -آرژنین وL آرژنین، تاثیر معنی‌داری بر مقدار فلاوونوئید و قندهای احیاء کننده نداشت ولی توانست خسارات ناشی از افزایش پراکسیداسیون لیپیدها را جبران کند.

پرولین، تحت تنش خشکی افزایش یافت که پیش تیمار با L-آرژنین، مقدار آن را چند برابرکرد، نتایج آنالیز مولکولی و افزایش بیان ژن آرژیناز که در سنتز پرولین نقش دارد هم موید این مطلب است. در مورد پیش تیمار با D-آرژنین مقدار پرولین افزایش یافت ولی نسبت به اثر L-آرژنین کمتر بودکه با بررسی بیان ژن آرژیناز در این گروه مشخص شدکه آرژیناز می‌تواند از این ایزومر آرژنین هم استفاده کرده و پرولین تولید کند.بنابراین به نظر می‌رسد که نقش حفاظتی آرژنین در کاهش اثرات مخرب ناشی از تنش خشکی بر گیاه، از طریق مسیر سنتز پرولین، بیشتر مربوط به ایزومر L-آرژنین باشد

فهرست مطالب

۱- مقدمه ۲

۱-۱-تنش خشکی ۲

۱-۲-پاسخ گیاهان به تنش خشکی ۲

۱-۳ اثرات عمومی تنش خشکی ٤

۱-۳-۱- اثر تنش خشکی بر رشد گیاه ٤

۱-۳-۲-اثر تنش خشکی بر ساختمان گیاه ٥

۱-۳-۳-اثر تنش خشکی بر رنگیزه ها ٦

۱-۳-۴-اثر تنش خشکی بر فتوسنتز ۷

۱-۳-۵- اثر تنش خشکی بر تنظیم کننده های رشد گیاه ۸

۱-۳-۶-اثر تنش خشکی بر پرولین ۸

۱-۳-۷-اثر تنش خشکی بر کربوهیدراتها ۱۰

۱-۳-۸-پاسخ های مولکولی به تنش خشکی ۱۱

۱-۴-تنش اکسیداتیو ۱۲

۱-۴-۱-مکانیزمهای حفاظتی گیاهان در برابر تنش اکسیداتیو ۱۳

۱-۵-اسیدهای آمینه و تنش خشکی ۱۹

۱-۶-تاثیر اسیدهای آمینه بر نفوذپذیری غشاء و انتقال یون ۱۹

۱-۷-آمینواسیدها به عنوان اسمولیت ۲۰

۱-۷-۱-آرژنین ۲۱

۱-۸-متابولیسم آرژنین ۲۳

۱-۸-۱-بیوسنتز پلی آمینها از آرژنین ۲۳

۱-۸-۲-بیوسنتز اکسید نیتریک از آرژنین ۲٤

۱-۸-۳-بیوسنتز پرولین از آرژنین ۲٤

۱-۹-ارتباط بین فعالیت آنزیم آرژیناز و NOS ۲٥

۱-۱۰-اختصاصی بودن انتقال آرژنین به میتوکندری ۲٥

۱-۱۱-نحوه فعالیت آنزیم آرژیناز ۲۷

۱-۱۱-۱-اختصاصی بودن سوبسترای آرژیناز ۲۸

۱-۱۱-۲-بیان ژن آرژیناز در بافت های رویشی ۲۹

۱-۱۱-۳-بیان ژن آرژیناز درگرده ۳۰
هدف از انجام طرح ۳۱
۲-مواد و روش های آزمایشگاهی ۳۳
۲-۱-تهیه و انتخاب بذرهای گیاه مورد پژوهش ۳۳
۲-۲-کشت گیاه ۳۳
۲-۳- شرایط نور و دما برای رشد گیاهان ۳۳
۲-۴-نحوه اعمال تیمار ۳۳
۲-۵-مطالعات مرفولوژیکی ۳۵
۲-۵-۱-اندازه‌گیری وزن تر برگ ۳۵
۲-۵-۲-اندازه‌گیری وزن خشک برگ ۳۵
۲-۵-۳-اندازه گیری طول اندام هوایی ۳۵
۲-۵-۴-اندازه گیری طول ریشه ۳۶
۲-۵-۵-اندازه گیری محتوای نسبی آب برگ (RWC) ۳۶
۲-۶-مطالعات بیوشیمیایی ۳۶
۲-۶-۱-سنجش میزان رنگیزه های فتوسنتزی (کلروفیل و کاروتنوئید) ۳۶
۲-۶-۲-اندازه گیری فلاوونوئیدها به روش جذب اسپکتروفتومتری (Krizek 1998) ۳۷
۲-۶-۳سنجش میزان قندهای احیاکننده (Somogy1952) ۳۷
۲-۶-۴-اندازه گیری مقدار پرولین ۳۹
۲-۶-۵-سنجش میزان پراکسیداسیون لیپیدها ۴۱
۲-۷-بررسی های مولکولی ۴۲
۲-۷-۱-استخراج RNA کل از سلولهای برگ گوجه فرنگی ۴۲
۲-۷-۲-مراحل انجام کار ۴۵
۲-۷-۳-تیمار RNA با آنزیم DNase I ۴۶
۲-۷-۴-ساخت DNA مکمل ۴۷
۲-۷-۵-واکنش PCR ۴۸
۳-نتایج ۵۲
۳-۱- وزن تر برگ و ریشه ۵۲
۳-۲- وزن خشک برگ و ریشه ۵۳
۳-۳- طول ساقه و ریشه ۵۵

۳-۴- محتوی نسبی آب برگ (RWC) ۵۷
۳-۵- رنگیزه های فتوسنتزی ۵۸
۳-٦- مقدار فلاوونوئید های برگ ٦۰
۳-۷- مقدار قندهای احیاءکننده ٦۵
۳-۸- پرولین برگ و ریشه ٦۷
۳-۹- مالون دآلدئید ٦۹
۳-۱۰-سایر آلدئید ها ۷۱
آنالیز بیان ژن ۷۳
۴-بحث و نتیجه گیری ۷۸
۴-۱-اثر پیش تیمار L-Arg و D-Arg بر پارامترهای مورفولوژیکی تحت تنش خشکی ۷۹
۴-۱-۱-وزن تر و خشک برگ و ریشه ۷۹
۴-۱-۲-طول ساقه و ریشه ۸۰
۴-۱-۳-محتوی نسبی آب برگ ۸۲
۴-۲-مطالعات بیوشیمیایی ۸۵
۴-۲-۱-رنگیزه های فتوسنتزی (کلروفیل a وکلروفیل b وکلروفیل کل و کاروتنوئیدها) ۸۵
۴-۲-۲-فلاوونوئیدها ۸۷
۴-۲-۳-میزان قندهای احیاءکننده ۸۸
۴-۲-۴-پرولین ۸۹
۴-۲-۵-مالون دآلدئید ۹۱
۴-۳-آنالیز مولکولی اثر پیش تیمار D-Arg, L-Arg بر بیان ژن آرژیناز۱ در برگهای گیاه گوجه فرنگی تحت تنش خشکی ۹۳
نتیجه گیری کلی ۹۴
پیشنهادات ۹۶
منابع ۹۸

فصل ۱

(مقدمه)

۱- مقدمه:

۱-۱- تنش خشکی :

گیاهان در نواحی خشک و نیمه خشک با کمبود آب مواجه بوده وآب عامل محدودکننده رشد آنها محسوب می شود، کمبود آب تنها منحصر به این نواحی نمی شود و حتی در شرایط آب و هوای مرطوب هم توزیع نامنظم بارندگی منجر به محدودیت آب قابل دسترس و در نتیجه کاهش رشد می‌شود. از طرف دیگر عواملی مثل سرمازدگی و یخ زدگی همراه با از دست رفتن آب موجود در بافت منجر به تنش کم آبی و خشکی در گیاهان می شود (Serrano et al 1999,Zhu 2001).

تعریف دقیق تنش کم آبی بسیار دشوار است. اما یک تعریف گسترده این است که تنش کم آبی به شرایطی اطلاق می شود که آب در دسترس گیاه کمتر از نیاز گیاه برای ماکزیمم رشد باشد. از طرف دیگر این حالت زمانی اتفاق می افتدکه میزان تعرق بیش از مقدار جذب آب باشد(Hubick et al 1982).

تنش خشکی، علت اولیه کاهش ۵۰٪ محصول در بیشترگیاهان می باشد(Boyer 1982,Bray et al 2000) که باعث بسیاری از تغییرات مرفولوژیکی و فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی و مولکولی در گیاهان شده و رشد و محصول دهی آن ها را تحت تاثیر قرار می دهد(Serrano et al 1999,Zhu 2001)که این امر در گیاهان زراعی مثل برنج (Breveveden and Egli 2003) و گندم (Cabuslay et al 2002) گزارش شده است.

۱-۲-پاسخ گیاهان به تنش خشکی :

از آن جایی‌که گیاهان در مناطق خشک در بسیاری از فصول سال کم آبی یا بی آبی را تجربه می کنند، دارای خصوصیاتی برای تطابق با خشکی هستندکه گروهی از خشکی اجتناب کرده و گروه دیگر آن را تحمل می-کنند(Bartels et al 2001).

در اقلیمی با فصول خشک گیاهان طوری تکامل می‌یابند که در جهت دوری جستن از خشکی چرخه زندگیشان را در طول فصل مطلوب، قبل از فرا رسیدن خشکی شدید، کامل می کنند. تعدادی از گیاهان دارای اندام زیرزمینی بوده و هنگامی‌که بارندگی صورت بگیرد با مصرف کربوهیدرات های ذخیره شده در اندام های زیرزمینی به سرعت رشد می‌کنند این روش‌های مقاومت به خشکی را، فرار از خشکی (Drought Escape) می‌نامند (Lascano et al 2003).

گروه دیگر، با اعمالی از جمله ایجاد سیستم ریشه‌ای پراکنده و کنترل اتلاف آب از طریق برگ‌ها (با بستن روزنه برای کاهش تعرق و افزایش لایه موم و کوتیکول و کاهش سطح برگ و ذخیره آب در بافت ها) اثرات مخرب خشکی را به تاخیر می‌اندازندکه به آن اجتناب از خشکی (Drought Avoidance) گفته می شود(Larcher and Walter 2001).

و گروه دیگر، پروتوپلاسم آن ها، توانایی سازش در برابر از دست دادن شدید آب را دارد. ساختمان پروتوپلاسم تعداد زیادی از گلسنگ ها و خزه ها و سرخس‌ها به گونه ای است که می‌توانند شرایط خشکی هوا را بدون این‌که از بین بروند تحمل کنند (Larcher and Walter 2001).

واکنش گیاهان به خشکی در گیاهان مختلف متفاوت است و به شدت و طول مدت تنش ، همچنین به گونه گیاهی تحت تنش و سن گیاه بستگی دارد و وقتی‌که گیاه از خشکی اجتناب می‌کند رشد ریشه خود را افزایش و قسمت هوایی را کاهش می‌دهدکه این کار منجر به افزایش جذب و کاهش تعرق شده و آب بافت گیاهی حفظ می شود(Batlang 2006)

از طرف دیگر، گیاهی تحمل به خشکی را داراست که توانایی ادامه عملکردهای بیوشیمیائی در شرایطی که پتانسیل آبی بافت گیاه پایین است را داشته باشد. پاسخ‌های گیاه به کمبود آب می‌تواند منجر به تغییر در مسیرهای بیوشیمیایی و بیان ژن‌هایی شودکه پروتئین‌های خاصی را کد کرده و این پروتئین‌ها در تطابق به خشکی نقش

مهمی را ایفا می نمایند. اغلب این پروتئین‌ها آنزیم‌هایی هستندکه در سنتز اسمولیت هـا، آنتـی اکسـیدان هـا و یـا هورمون هایی مثل ABA شرکت کرده،که این تغییرات منجر به بالا رفتن تحمل به خشکی می شـو(Jones et al 1981)

در حال حاضر از پیشرفت های علم ژنتیک برای تطابق گیاهان به خشـکی و انتخـاب گیاهـان مقـاوم بـه خشـکی استفاده می شود (Nguyen 1997).

۱-۳- اثرات عمومی تنش خشکی :

تـنش خشـکی بـر هـر یـک از جنبـه هـای رشـد مـوثر بـوده و موجـب تغییـرات آنـاتومیکی و مورفولـوژیکی و فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی می‌گردد که بعضی مربوط به کاهش آماس، برخی مربوط بـه کـاهش پتانسـیل آب و برخی مربوط به کاهش پتانسیل اسمتیک می باشد.

۱-۳-۱- اثر تنش خشکی بر رشد گیاه :

تنش خشکی یک فاکتور محدود کننده بسیار مهم در مراحل ابتدایی رشد گیاهی محسوب می‌شودکه هـم رشـد طولی و هم رشد عرضی را تحت تاثیر قرار می دهد. در میان گیاهان، برنج معمولا بیشترین حساسیت را نسبت بـه خشکی نشان می دهد (Shao et al 2008).

واضح‌ترین اثر تنش طولانی مدت خشکی، کاهش اندازه گیاه مـی باشـد(Asseng et al 2004). رشـد انـدام هـا بستگی به سرعت تولید سلول های جدید و سرعت بزرگ شدن این سلول ها دارد کـه هـر دو فرآینـد بـه آمـاس سلولی حساس هستند(Kirnak et al 2001). گرچه کاهش آماس سلول مهمترین عامل کوچک ماندن گیاه است ولی علاوه بر آماس عوامل دیگری نیز دخالت دارند.

گزارش شده است که در گیاهانی مثل سویا (Specht et al 2004) وسیب زمینـی (Heuer and Nadler 1995) و در گیـاه ختمـی مخملـی Abelmoschus esculentus (Sankar et al 2007) وجعفـری(Petroselinum

crispum) (Petropoulos et al 2008)رشد طولی به شدت کاهش یافته ودر گیاهچه های مرکبات ،رشد طـولی گیاه تحت تنش خشکی حدود ۲۵٪ کاهش یافته است(Wu et al 200).

۱-۳-۲-اثر تنش کم آبی بر ساختمان گیاه :

گیاهانی که در معرض خشکی هستند نه تنها اندازه‌شان کاهش می‌یابد بلکه خصوصیات ساختمانی، بـه خصـوص برگ‌های آنها نیز تغییر یافته و سطح برگ، اندازه سلول‌ها، حجم منافذ بین سلولی کاهش یافته ولی مقدار کوتین، موم، تعداد رگبرگ ها، کرک ها وضخامت لایه پارانشیمی برگ‌ها افزایش می‌یابد که این موارد بیشتر درگیاهان مقاوم به خشکی دیده می شود (Asseng et al 2004).

کاهش سطح برگ یکی از اولین پاسخ های برگ بـه تـنش خشـکی اسـت.(Hsieh et al 2002). در بسـیاری از گیاهان چند روز بعد از شروع تنش توسعه و رشد برگی متوقف مـی شـود. مـواردی وجـود دارد مبنـی بـر اینکـه ABA در این پدیده یعنی کنترل توسعه برگ نقش اساسی ایفا می کند، اگرچه حفظ تورژسانس سلول در شرایط خشکی نقش مهمتری ایفا می‌کند (Morgan 1990). کاهش پتانسیل اسمزی با تجمع تنظیم کننده‌هـای اسـمزی می‌تواند در حفظ تورگر تحت تنش خشکی مشارکت کند(Souza et al 2004).

در مورد تاثیر خشکی بر روی ریشه گیاهان، افزایش رشد ریشه در تنش خشکی در گیاه آفتابگردان گزارش شده است (Tahir et al 2002) در حالی که ریشه گندم و ذرت تحت خشکی تغییر نمی کند (Sacks et al 1997).

در تنش خشکی، توسعه سیستم ریشه ای جذب آب را افـزایش داده و فشـار اسـمزی را از طریـق افـزایش سـطح پرولین بالا می برد (Djibril et al 2005).

افزایش نسبت ریشه به اندام هوایی تحت خشکی به دلیل افزایش انتقال ABA از ریشـه بـه قسـمت هـوایی اسـت (Sharp and LeNoble 2002).

اثر رایج و متداول تنش خشکی بر محصول گیاه، کاهش در وزن تر و خشک است، که این کاهش تقریباً در تمام ژنوتیپ های آفتابگردان دیده می شود (Tahir and Mehid 2001).

اگرچه بعضی از گونه ها مقاومت بهتری را نسبت به سایر گونه ها نشان می دهند. تنش خشکی ملایم وزن خشک اندام هوایی را تحت تاثیر قرار می‌دهد در حالی که در ژنوتیپ‌های چغندرقند وزن خشک اندام هوایی نسبت به وزن خشک ریشه در تنش خشکی بیشتر کاهش می‌یابد (Mohammadian et al 2005).

وزن خشک ریشه، تحت شرایط ملایم و شدید تنش خشکی کاهش می‌یابد (Wullschleger et al 2005).

۱-۳-۳-اثر تنش خشکی بر رنگیزه ها :

رنگیزه های فتوسنتزی از جمله کلروفیل a و b در به دام انداختن نور،فتوسنتز و تولید محصول نقش مهمی را ایفا می کنند (Anjum et al 2003).

کاروتنوئیدها اگرچه نقش عمده ای در به دام انداختن نور وفتوسنتز ایفا می کنند، به گیاه نیز در برابر خشکی کمک می کنند.

۱-۳-۳-۱- کلروفیل ها :

تنش خشکی تغییراتی در میزان کلروفیل a,b و کاروتنوئیدها ایجاد می‌کنند(Anjum et al 2003) که این کاهش در کلروفیل در پنبه (Massacci et al 2008) و گیاه آفتابگردان (Kiani et al 2008) گزارش شده است.

هر چند گزارش شده است که تنش خشکی در دو رقم از گیاه بامیه، محتوی کلروفیل b را افزایش داده در حالی که کلروفیل a دست نخورده باقی مانده است (Ashraf et al 1994).

۱-۳-۳-۲-کاروتنوئیدها :

کاروتنوئیدها تتراپن‌هایی هستندکه از طریق سنتز *de novo* توسط بسیاری از موجودات فتوسنتزی و غیر فتوسنتزی ساخته و در پلاست ها یافت می‌شوند (Andrew et al 2008).

اگرچه وجود کاروتنوئیدها درکلروپلاست‌ها در جمع کردن نور مکمل کلروفیل می‌باشد، ولی نقش مهم‌تر آن‌ها سم زدایی اشکال مختلف اکسیژن‌های فعال در بافت‌های فتوسنتزی است (Tausz et al 2002).

در برخی مطالعات نقش آنتی‌اکسیدانی کاروتنوئیدها در برابر تنش‌های اکسیداتیو گزارش شده است.(Iturbe-Edge et al 1998).

۱-۳-۴-اثر تنش خشکی بر فتوسنتز :

در بسیاری از گیاهان، تنش خشکی باعث کاهش در رشد و فتوسنتز و تغییر در متابولیسم کربن و نیتروژن می‌شود (Pospisilova et al 2000).

ایجاد تنش خشکی روی شاخص‌هایی مانند سطح برگ، تولید ماده آلی، تثبیت CO_2، هدایت روزنه‌ای و رشد سیستم ریشه‌ای تاثیرگذاشته و در نتیجه عملکرد گیاه را کاهش می‌دهد. به عنوان مثال تنش کم آبی معمولاً هدایت روزنه‌ای و فعالیت فتوسنتزی را در برگ تحت‌تاثیر قرار می‌دهد وگیاه با بستن سریع روزنه‌ها برای جلوگیری از، از دست رفتن آب بیشتر از طریق روزنه ها واکنش می‌دهدکه در پی آن انتشار CO_2 به برگ ها محدود شده و در نتیجه ،کاهش در میزان خالص فتوسنتز مشاهده می‌شود(Chaves 1991)

از طرف دیگر به علت بسته شدن روزنه در طی مراحل اولیه تنش کم‌آبی، ممکن است کارایی مصرف آب افزایش یابد (یعنی CO_2بیشتری به ازای هر واحد از آب تعرق شده جذب شود). چون بسته شدن روزنه کاهش تعرق را بیش از کاهش غلظت CO_2 داخل سلول تحت تاثیر قرار می دهد.

به هر حال زمانی که تنش شدید باشد، کارایی مصرف آب معمولا کاهش می یابد و متابولیسم سلول های مزوفیل برگ وتوان فتوسنتزی مزوفیل نیز کاهش یافته که این امر باعث کاهش کربوکسیلاسیون و همچنین تغییرات فراساختاری کلروپلاست می‌شود(Pospisilova et al 2000).

۱-۳-۵- اثر تنش خشکی بر تنظیم کننده‌های رشد گیاه :

تنش خشکی روی مقادیر هورمونی تاثیرگذاشته وتعادل هورمونی را بر هم می‌زند،یکی از این هورمون‌ها سیتوکینین است که نقش مهمی در ارتباط ریشه به ساقه اعمال می‌کند در نتیجه مقدار سیتوکینینی که از طریق شیره آوند چوبی از ریشه به ساقه منتقل می‌شود کاهش می‌یابد و افزایش انتقال ABA به آوند چوبی توسط ریشه ها نیز موید آن است (Schulz and Caldwell 1995).

از طرف دیگر تنش خشکی منجر به افزایش تجمع ABA می‌شود که در افزایش توانایی حفظ غشاها و آنزیم-های سلول نقش دارد(Wilkinson and Davies 2002). تنش خشکی موجب افزایش تولید اتیلن می‌شود که در عکس العمل های آغازین گیاه به تنش مانند ریزش برگ،پیری و افزایش مقاومت دخالت می‌کند(Taiz and Zeiger 1998).

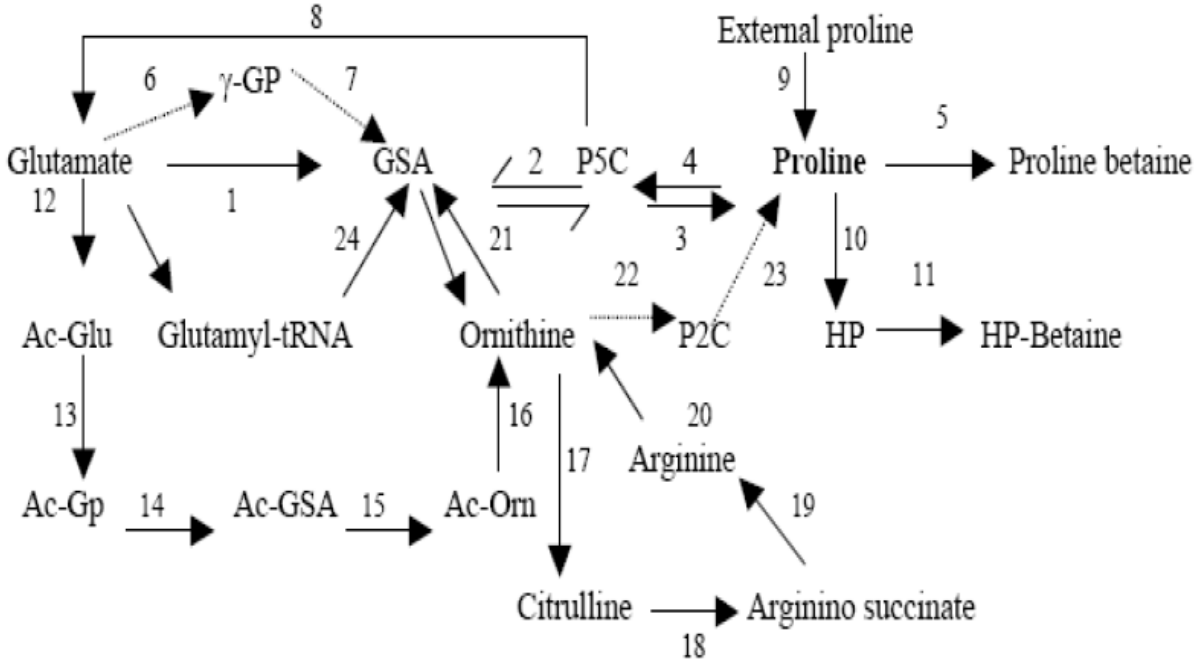
۱-۳-۶-اثر تنش خشکی بر پرولین :

یکی از مکانیسم‌های مقاومت گیاهان به تنش خشکی، بیوسنتز و تجمع مواد آلی با وزن مولکولی کم می‌باشد. این مواد به عنوان محافظت کننده‌های اسمزی جهت حفظ فعالیت آنزیم‌ها در سلول نیزمطرح می‌شوند. از مهم-ترین این مواد آلی، اسید آمینه پرولین می‌باشدکه ساختمان سه بعدی پروتئین‌ها را در مقابل فشار اسمزی (حاصل از تنش خشکی) خارج سلول حفظ می کند (Saneoka et al 2004) در حقیقت این نوع مواد (مانند گلیسین، بتائین، پرولین و پلی ال ها)موجب ایجاد محیطی سازگار برای ماکرومولکول‌های سلولی (بویژه پروتئین‌ها) می-شوند. تحقیقات نشان داده است که خشکی، تجمع گلسین ،بتائین و پرولین را در سلول القاء می‌کند (Souza et al 2004).

پرولین بطور مستقیم درگیر تنظیم اسمزی نیست، اما از طریق افزایش هیدراتاسیون پروتوپلاسم نقش مستقیمی را بازی می‌کند. در برگ‌های گیاهان تحت تنش خشکی ، در بین اسیدهای آمینه آزادی که وجود دارند، پرولین بیشترین مقدار را شامل می‌شود.(Seki et al 2007).

پرولین یک اسمولیت رقابتی است که در pH خنثی، بدون بار بوده و کاملا در آب قابل حل می‌باشد.این اسید آمینه در شرایط خشکی با تجمع خود باعث می‌شود آب به درون سلول کشیده شده و از خروج آب جلوگیری می‌کند که این امر تورگر لازم برای رشد سلول را فراهم می‌کند.

مشخص شده است که پرولین هم از گلوتامات و هم از اورنیتین سنتز می‌شود که در طول شرایط تنش اسمزی پرولین از مسیر گلوتامات و در شرایطی که میزان نیتروژن بالایی برای گیاه فراهم باشد مسیر دوم یعنی اورنتین فعال می‌شود. اگرچه مسیر بیوسنتزی پرولین کاملا مشخص شده است اما نحوه ی جذب و انتقال آن هنوز معلوم نیست.



پیشنهاد شده است که پرولین ممکن است بیشتر در ریشه سنتز شود اما بیشتر به اندام‌های هوایی منتقل شود، در این راستا(Verslues and Sharp 1999) با مدارکی ادعا کردند که در شرایط تنش ،پرولین در نوک ریشه ذرت افزایش می یابد.

از عواملی که در تجمع پرولین نقش دارند می‌توان به کربوهیدرات‌ها اشاره کرد. مشخص شده است که استفاده از کربوهیدرات‌های برون زا مثل مانیتول ، سوربیتول ، گلوکز ، فروکتوز و سوکروزدر محیط کشت کالوس برنج، تجمع پرولین را القا می کند.

از هورمون‌هایی که بر روی تجمع پرولین اثرگذاشته اند IBA،ABAوکینتین می باشند که در دانه رست‌های Guizotia abyssinica مورد بررسی قرارگرفته اند(Sarvesh et al 1996).

۱-۳-۷-اثر تنش خشکی بر کربوهیدرات‌ها:

کاهش آب موجب کاهش تورگر و بسته شدن روزنه‌ها و در نتیجه کاهش غلظت CO_2 داخلی می‌شود. در نتیجه میزان فتوسنتز و میزان تثبیت CO_2 کاهش می‌یابدکه این کاهش روی توزیع و تجمع و متابولیسم قندها اثر می گذارد.گزارش شده است که با افزایش تنش در برگ ها مقدار نشاسته کاهش می‌یابد زیرا کربوهیدرات‌های ذخیره ای صرف رشد گیاه می‌شوند و غلظت آن‌ها کاسته و معمولا مقدار قند آزاد، افزایش می‌یابد (Ahmadi and Baker 2001).

احتمالاً تغییرات نسبت قندها و پلی ساکاریدها مربوط به فعالیت‌های آنزیمی است، چون گزارش شده است که تنش آب برگ ها موجب افزایش آمیلاز شده و مقدار قندهای فعال از نظر اسمزی، در برگ‌ها افزایش می یابد(Taiz and Zeiger 1998).

افزایش فعالیت آنزیم سوکروز سنتاز در برگ‌های گندم در کم‌آبی نیز مشاهده شده که این آنزیم نشاسته را به فروکتوز و گلوکز می‌شکند و احتمالاً افزایش فعالیت آن به دلیل افزایش ABA است (Yang et al 2003).

تجمع کربوهیدرات‌های احیا کننده داخل سلول ها در تنظیم اسمزی نقش مهمی را ایفا نموده و کمک می کند تا پتانسیل آب سلول کاهش یافته و آب بیشتری برای حفظ تورگر تحت تنش آب داخل سلول باقی بماند(Souza et al 2004).

هم‌چنین گزارش شده است که کربوهیدرات‌های غیر احیا کننده (تری ساکاریدها،تتراساکاریدها،فروکتان ها) که در حفظ ساختار و عمل غشا سلولی و پروتئین‌ها نقش دارند در تنش خشکی افزایش می‌یابند(Hoekstra et al 2001).

۱-۳-۸-پاسخ های مولکولی به تنش خشکی :

پاسخ گیاهان به کمبود آب بسیار پیچیده است که منجر به پاسخ های مختلف در گیاهان می‌شود. هماهنگی این پاسخ ها باعث بیان تعداد زیادی ژن می شود که تعدادی پروتئین حاصل از آن ها در سازگاری به خشکی دخالت می کنند.

افزایش سنتز ABA هم پاسخی به خشکی است. از دست دادن تورگر به طرق مختلف حس می‌شود که ممکن است کاهش تورگر باعث تغییراتی در توپوگرافی غشاء شده در نتیجه منجر به تغییراتی در کنفورماسیون پروتئین-های حساس غشاء مثل کانال‌های یونی شود. بنابراین سیگنال تنش خشکی در سطح خارجی غشاء به وسیله یک گیرنده دریافت شده و به هسته منتقل می‌شود که PLC تحت خشکی فعال شده و روی PIP2 اثر گذاشته و آن ا به IP3 و دی آسیل گلیسرول تبدیل می‌کند. آنگاه IP3 به گیرنده خودش در غشاء شبکه آندوپلاسمی می‌چسبد و موجب باز شدن کانال کلسیم به سیتوپلاسم می‌شود. کلسیم و IP3 به عنوان پیک های ثانویه در پاسخ به تنش خشکی در سلول های گیاه هستند و باعث پاسخ های متفاوت در سیتوپلاسم می‌شوند. پیک‌های ثانویه که دارای طول عمر کوتاه هستند به کانال‌های یونی و آنزیم‌هایی مثل پروتئین کیناز و پروتئین فسفاتاز باند شده و موجب فعالیت آن‌ها می شوند. این آنزیم‌ها ممکن است به طور مستقیم یا غیر مستقیم از طریق آنزیم‌های دیگر منجر به فعال شدن فاکتورهای رونویسی شوند که یک سری پروتئین‌ها و آنزیم‌ها را به رمز در می‌آورند که در شرایط اسمزی و تحمل تنش خشکی نقش دارند و همچنین منجر به افزایش بیوسنتز ABA می‌شوند.