Downloaded from jispp.iut.ac.ir at 7:06 IRST on Saturday December 16th 2017

تأثیر تیمار متیل‌جاسمونات بر محتوای ترکیبات فنلی و فعالیت آنزیم PAL در گیاه شاهی (*Lepidium sativum*) تحت سمیت مس (Cu)

الهام اسدی کرم[1]، زهرا اسرار[1] و بتول کرامت[*1]

[1]گروه زیست شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه شهید باهنر کرمان

(تاریخ دریافت: ۱۳۹۲/۰۲/۰۷؛ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۲/۰۷/۲۷)

چکیده:

تجمع ترکیبات فنلی در بافت‌های گیاهی به عنوان یک ابزار مهم در محافظت از گیاه در برابر تنش‌های محیطی محسوب می‌گردد. در این پژوهش گیاه شاهی در شرایط استاندارد گلخانه‌ای تحت تیمار غلظت‌های ۰، ۵۰، ۱۰۰ و ۲۰۰ میکرومولار مس و ۰، ۵، ۱۰ و۲۰ میکرومولار متیل‌جاسمونات کشت داده شدند. سپس وزن خشک اندام هوایی، محتوای ترکیبات فنلی کل، رنگیزه‌های فتوسنتزی و میزان فعالیت آنزیم فنیل‌آلانین‌آمونیالیاز در نمونه‌ها سنجش شد. براساس نتایج، وزن خشک اندام هوایی و فعالیت آنزیم فنیل‌آلانین‌آمونیالیاز در تیمار ۵ میکرومولار متیل‌جاسمونات با ۵۰ میکرومولار مس به طور معنی‌داری نسبت به شاهد افزایش نشان داد. همچنین تیمار غلظت‌های ۵ و ۱۰ میکرومولار متیل‌جاسمونات همراه با تیمار ۵۰ میکرومولار مس موجب افزایش معنی‌دار کلروفیل a، b، کلروفیل کل و محتوای ترکیبات فنلی کل نسبت به شرایط شاهد گردید، نتایج حاصل از این پژوهش نشان می‌دهد که احتمالا متیل‌جاسمونات به عنوان یک ملکول سیگنالی از طریق افزایش ذخیره آنتی‌اکسیدانی، گیاه را در برابر خسارات ناشی از سمیت مس در محیط حفظ می‌نماید. براساس این پژوهش غلظت‌های ۵ و ۱۰ میکرومولار متیل‌جاسمونات اثر مطلوبی بر بهبود تنش فلز سنگین مس در گیاه شاهی دارد.

واژه‌های کلیدی: ترکیبات فنلی، شاهی، فنیل‌آلانین‌آمونیالیاز، متیل‌جاسمونات، مس.

مقدمه:

جاسمونات‌ها شامل جاسمونیک‌اسید و استر متیله آن یعنی متیل‌جاسمونات از اسیدهای چرب اکسیژنه مانند لینولنیک اسید، از طریق مسیر اکتادکانوئید مشتق می‌شوند و از مشخصات آنها وجود ساختار ۵ ضلعی حلقوی می‌باشد (Nojavan-Asghari and Ishizawa, 1998). جاسمونات‌ها به عنوان ترکیبات پیش‌برنده پیری، بازدارنده رشد و محرک هایی برای متابولیسم ثانویه در گونه‌های مختلف شناخته شدند (Balbi and Devoto, 2008). در گیاهان عالی جاسمونات و استر متیلی آن، متیل‌جاسمونات به عنوان فیتوهورمون‌هایی در نظر گرفته می‌شوند که گلدهی و پیری گیاه را تنظیم می‌کنند و منجر به راه انداختن پاسخ‌های مربوط به دفاع و تنش می‌شوند (Wasternack and Parthier, 1997). چنان چه گزارش شده است کاربرد جاسمونات در غلظت ۰/۱ میکرومولار باعث کاهش صدمات ناشی از سمیت سرب در نوعی عدسک آبی گردیده است (Piotrowska *et al*., 2009).

[*]نویسنده مسؤل، نشانی پست الکترونیکی: Bkeramat@uk.ac.ir

Downloaded from jispp.iut.ac.ir at 7:06 IRST on Saturday December 16th 2017

آلودگی خاک‌ها با فلزات سنگین پدیده‌ای است که به طور گسترده در نتیجه فعالیت‌های بشر، کشاورزی و صنعت اتفاق می‌افتد (Sharma and Dubey, 2005). اگرچه مس به طور گسترده در طبیعت انتشار یافته و یک عنصر ضروری برای رشد طبیعی گیاه به شمار می‌رود، اما غلظت زیاد آن برای گیاهان سمی است (Groppa and Benavides, 2007)، به طوری که ممکن است آزاد شده و به عنوان کاتالیزوری در ایجاد رادیکال‌های بسیار فعال هیدروکسیل عمل نماید (Gaetke and Cow, 2003). ترکیبات فنلی به عنوان یکی از ترکیبات آنتی‌اکسیدان شناخته شده‌اند که با مکانیسم‌های متعددی مثل ربایش رادیکال‌های آزاد، خاموش کردن اکسیژن یکتایی، کلات کردن یون‌های فلزی و یا قرار گرفتن به عنوان گهرمایه آنزیم‌های پراکسیداز، نقش آنتی اکسیدانی خود را ایفا می‌کنند. این ترکیبات همچنین با انتقال سریع هیدروژن به رادیکال‌های لیپید، از ادامه زنجیره پراکسیداسیون لیپیدها ممانعت می‌کنند (Chu and Chang, 2000). ترکیبات فنلی در شرایط طبیعی در سلول سنتز می‌گردند اما تنش‌های محیطی مقدار آنها را در سلول تغییر می‌دهد. تغییر در فعالیت آنزیم‌های بیوسنتز کننده یا تجزیه‌کننده این ترکیبات بر مقدار این ترکیبات در سلول تاثیر می‌گذارد. تجمع ترکیبات فنلی در گیاهان در پاسخ به تنش‌های زیستی و غیرزیستی متعددی مانند اشعه UV، دمای پائین، جراحت، کاهش تغذیه، حمله پاتوژن‌ها و خشکی گزارش شده است (Kovacik and Backor, 2007). فلاونوئیدها، آنتوسیانین‌ها، تانن‌ها، هیدروکسی‌سینامیک‌استرها و لیگنین-ها از ترکیبات فنلی و جزء متابولیت‌های ثانویه حاصل از مسیر فنیل‌پروپانوئید می‌باشند که در بافت‌های گیاهی به وفور یافت می‌شوند. آنزیم فنیل‌آلانین‌آمونیالیاز آغازگر مسیر فنیل‌پروپانوئید می‌باشد که L- فنیل‌آلانین را با دآمیناسیون به ترانس‌سینامیک‌اسید تبدیل می‌کند (Solecka, 1997). فلاونوئیدها گروه بزرگی از متابولیت های ثانویه هستند که در میان گیاهان گسترش فراوانی دارند و دارای نقش‌های متعددی می‌باشند. علاوه بر نقش های ذکر شده در بالا، ترکیبات فنلی به عنوان آنتی‌اکسیدان نیز در سلول عمل می نمایند. با توجه به نقش ترکیبات فنلی در کاهش یا مهار اتواکسیداسیون لیپیدها، جاروب کردن رادیکال‌های آزاد اکسیژن، خاموش کردن اکسیژن یکتایی و یا تجزیه پراکسیدها این ترکیبات به عنوان یک آنتی‌اکسیدان ضروری برای حفاظت علیه تکثیر و پیشروی زنجیره اکسیداسیون و دفاع علیه گونه‌های فعال اکسیژن عمل می‌نمایند (Navarro *et al*., 2006). در سلول‌های گیاهی معمولاً ترکیبات فیتوفنولی به خصوص پلی‌فنل‌ها در سم‌زدایی پراکسیدهیدروژن بسیار کارا عمل کرده و به عنوان سیستم پشتیبان چرخه آسکوربات-گلوتاتیون در دفع رادیکال‌های پراکسیدهیدروژن شرکت می‌کنند. افزایش فعالیت آنزیم فنیل‌آلانین‌آمونیالیاز که اولین آنزیم مسیر بیوسنتز فنل‌هاست نیز در بسیاری از تنش‌ها گزارش شده است (Kovacik *et al*., 2009). هدف کلی از پژوهش حاضر، تاثیر مقادیر مختلف متیل‌جاسمونات بر کاهش اثرات تنش مس در گیاه شاهی با تاکید بر تغییرات فنل‌ها و فعالیت آنزیم PAL می باشد.

مواد و روش‌ها:

گیاه مورد مطالعه در این پژوهش، گیاه شاهی (*Lepidium sativum* L.) متعلق به خانواده Brassicaceae می‌باشد. بذرها از مرکز تحقیقات کشاورزی کرج تهیه شد. برای این منظور ابتدا بذرهای یکسان با سدیم هیپوکلریت ۰/۵ درصد به مدت یک دقیقه ضدعفونی شده و سپس دو بار با آب مقطر شستشه شدند. برای کشت گیاه، از گلدان های پلاستیکی با قطر ۱۲ سانتی‌متر حاوی پرلیت استفاده شد. سپس بذرهای خیس خورده به گلدان‌ها منتقل شدند. برای هر تیمار ۳ گلدان به عنوان ۳ تکرار در نظر گرفته شد. در هر گلدان دو بذر به عنوان دو نمونه کاشته شد. گلدان‌ها پس از کشت در گلخانه، تحت شرایط نوری (۱۶: ۸) (نور/ تاریکی) با شدت نور حدود ۱۵۰ میکرومول فوتون بر مترمربع بر ثانیه، رطوبت ۷۵ درصد و دمای ۱۶

Downloaded from jispp.iut.ac.ir at 7:06 IRST on Saturday December 16th 2017

درجه سانتی‌گراد (تاریکی/نور) قرار گرفتند و به منظور تامین املاح مورد نیاز گیاه، گلدان‌ها هفته‌ای ۳ مرتبه با محلول غذایی هوگلند ۱/۲ با pH تقریبی۱± ۵/۷ مدت ۳ هفته آبیاری شدند. پس از اینکه گیاهان به رشد کافی رسیدند (مرحله سه جفت برگی)، به مدت دو هفته به صورت یک روز در میان، تیمارهای مس و جاسمونات به طور هم‌زمان اعمال شد. به منظور تهیه‌ی محلول‌هایی با غلظت‌های ۰، ۵۰، ۱۰۰ و ۲۰۰ میکرومولار مس، مقدار مناسبی از سولفات‌مس به محلول هوگلند اضافه گردیده و pH محلول‌ها با استفاده از اسیدکلریدریک و سود یک میلی‌مولار تنظیم شد. محلول‌ها به صورت یک روز در میان به حجم ۵۰ میلی‌لیتر به گلدان‌ها اضافه و در فواصل بین تیمارها به منظور مرطوب نگه داشتن خاک و ممانعت از تجمع بیش از حد نمک در گلدان‌ها از آب مقطر استفاده می‌شد. محلول‌پاشی گیاهان توسط متیل‌جاسمونات نیز با غلظت‌های ۰، ۵، ۱۰ و۲۰ میکرومولار هم‌زمان با تیمار محلول‌های مس شروع و به مدت دو هفته ادامه داشت. پس از گذشت دو هفته نمونه‌ها برداشت شدند.

اندازه‌گیری وزن خشک: برای اندازه‌گیری وزن خشک اندام هوایی گیاه، پس از خشک شدن نمونه‌ها در آون با دمای ۷۰ درجه سانتی‌گراد، وزن خشک آنها اندازه‌گیری شد. برای تعیین وزن خشک اندام هوایی، وزن هر یک از نمونه‌ها برحسب گرم با ترازوی Sartorius مدل BPSIID با دقت ۰/۰۰۱ گرم اندازه‌گیری شد.

سنجش رنگیزه‌های فتوسنتزی: اندازه‌گیری مقدار رنگیزه‌های فتوسنتزی شامل کلروفیل a، b، کلروفیل کل و کاروتنوئیدها (کاروتنوئید و گزانتوفیل) با استفاده از روش Lichtenthaler (۱۹۸۷) انجام پذیرفت. ۰/۲ گرم از برگ های فریز شده انتهای گیاه با ۱۵ میلی‌لیتر استن ۸۰ درصد سائیده شده و پس از صاف کردن جذب آنها با اسپکتروفتومتر در طول موج های ۶۴۶/۸، ۶۶۳/۲۰ و ۴۷۰ نانومتر خوانده شد و غلظت رنگیزه‌ها بر حسب میکروگرم بر گرم وزن تر محاسبه گردید.

$$Chla = 12.25\ A_{663.2} - 2.79\ A_{646.8}.$$

$$Chlb = 21.21\ A_{646.8} - 5.1\ A_{663.2}$$

$$Chl\ a+b = 7.15\ A_{663.2} + 18.71\ A_{646.8}$$

$$Car = (1000A_{470} - 1.8\ chla - 85.02\ Chl\ b)/198$$

اندازه‌گیری آنتوسیانین: برای سنجش آنتوسیانین از روش Wanger (۱۹۷۹) استفاده شد. ۰/۱ گرم از اندام هوایی گیاهان را در هاون چینی با ۱۰ میلی‌لیتر متانول اسیدی (متانول خالص واسیدکلریدریک خالص به نسبت حجمی ۱:۹۹) کاملا سائیده و عصاره در لوله‌های آزمایش سر پیچ‌دار ریخته شد و به مدت ۲۴ ساعت در تاریکی و دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد قرار گرفت. سپس به مدت ۱۰ دقیقه در ۴۰۰۰g سانتریفوژ و جذب محلول بالایی در طول موج ۵۵۰ نانومتر اندازه‌گیری شد. محاسبه غلظت با استفاده از ضریب خاموشی $M^{-1}cm^{-1}$ ۳۳۰۰۰ انجام و نتایج بر حسب میکرومول بر گرم وزن تر ارائه گردید.

اندازه‌گیری مقدار فنل کل: برای این منظور از روش Sonald و Laima (۱۹۹۹) استفاده شد. از بخش ریشه و اندام هوایی، ۰/۱ گرم نمونه تر تهیه و در ۱۰ میلی‌لیتر اتانول ۸۰٪ جوشانده شد. سپس عصاره‌ها به مدت ۱۰ دقیقه با سرعت۴۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفیوژ شدند و آن گاه فولن رقیق شده و کربنات‌سدیم اشباع اضافه گردید و دوباره سانتریفیوژ شد. در نهایت اندازه‌گیری توسط دستگاه اسپکتروفتومتر، در طول موج ۶۴۰ نانومتر در مقابل شاهد دستگاه صورت گرفت. رسم منحنی استاندارد با استفاده از کاتکول صورت گرفت. محاسبه میزان ترکیبات فنلی بر حسب میلی‌گرم در گرم وزن تر صورت گرفت.

اندازه‌گیری فعالیت آنزیم PAL: برای تهیه عصاره آنزیمی مقدار ۳۰۰ میلی‌گرم از بافت تازه برگ با ۶/۵ میلی لیتر بافر تریس–HCl (pH ۸/۸، ۵۰ میلی‌مولار) حاوی بتامرکاتواتانل (۱۵ میلی‌مولار) در هاون سرد شده سائیده شد. سپس عصاره به دست آمده با دور ۵۰۰۰۰g به مدت ۳۰ دقیقه سانتریفوژ گردید. محلول رویی برای سنجش فعالیت آنزیم مورد استفاده قرار گرفت. یک واحد از

Downloaded from jispp.iut.ac.ir at 7:06 IRST on Saturday December 16th 2017

فعالیت PAL معادل ۱ میکرومول از سینامیک‌اسید تولید شده در یک دقیقه می‌باشد (Wang *et al*., 2006) .

آنالیز آماری: این تحقیق در قالب طرح کاملا تصادفی و با سه تکرار در هر تیمار انجام شد. تجزیه و تحلیل داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار آماری SPSS صورت گرفت. مقایسه میانگین‌ها با استفاده از آزمون دانکن در سطح احتمال ۵ درصد انجام پذیرفت.

نتایج:

براساس نتایج، تنش فلز سنگین مس باعث کاهش میزان رنگیزه‌های فتوسنتزی کلروفیل a، b و کلروفیل کل در مقایسه با گیاهان شاهد شد. در حالی که تیمار متیل جاسمونات به تنهایی باعث افزایش کلروفیل a، b، کلروفیل کل گردید. کاربرد توام متیل‌جاسمونات (۵ و ۱۰ میکرومولار) و مس (۵۰ میکرومولار) موجب افزایش معنی‌دار کلروفیل a، b و کلروفیل کل نسبت به گیاه شاهد گردید. غلظت‌های ۱۰۰ و ۲۰۰ میکرومولار مس باعث کاهش محتوای کاروتنوئیدها در مقایسه با گیاه شاهد شده است. تیمار متیل‌جاسمونات به تنهایی، اثر معنی‌دار بر میزان کاروتنوئید گیاه شاهی نسبت به گیاه شاهد نداشت. تیمار توام گیاهان با غلظت‌های ۵ و ۱۰ میکرومولار متیل جاسمونات و ۵۰ میکرومولار مس، مقدار کاروتنوئیدها را در این گیاهان نسبت به گیاهان شاهد تغییر نداده است (جدول۱).

گیاهان تحت تیمار ۱۰۰ و ۲۰۰ میکرومولار مس کاهش معنی‌داری در میزان وزن خشک اندام هوایی نشان می‌دهند. تیمار گیاهان با متیل‌جاسمونات ۵ و۱۰ میکرومولار در گیاهان شاهد تفاوت معنی‌داری بر مقدار وزن خشک اندام هوایی نداشت. در بررسی تیمار توام، تنها تیمار ۵ میکرومولار متیل‌جاسمونات با ۵۰ و۱۰۰ میکرومولار مس باعث افزایش معنی‌دار وزن خشک اندام هوایی نسبت به شرایط تنش بدون جاسمونات گردید (شکل۱).

در این پژوهش میزان ترکیبات فنلی در غلظت‌های مختلف مس تغییر معنی‌داری نکرد (شکل۲)، در حالی که میزان آنتوسیانین‌ها در برگ گیاه در غلظت بالای مس به طور معنی‌داری کاهش یافت (جدول ۱). این نتایج با نتایج حاصل از تغییرات فعالیت آنزیم PAL در برگ‌های گیاه نیز مطابقت نشان می‌دهد (شکل۳). تیمار گیاه شاهی با هورمون متیل‌جاسمونات تنها در غلظت‌های ۵ و ۱۰ میکرومولار متیل‌جاسمونات با غلظت ۵۰ میکرومولار مس اثر معنی‌داری در افزایش محتوای ترکیبات فنلی کل در برگ گیاه داشت. میزان آنتوسیانین در تیمار توام ۲۰ میکرومولار متیل‌جاسمونات با تیمار ۵۰ میکرومولار مس به طور معنی‌داری نسبت به شاهد افزایش داشت (جدول۱). افزایش فعالیت آنزیم PAL در حضور مس و غلظت ۱۰ و۲۰ میکرومولار متیل‌جاسمونات معنی‌دار نبود در حالی که این افزایش در غلظت ۵ میکرومولار متیل جاسمونات با ۵۰ میکرومولار مس کاملا معنی‌دار بود و تیمار ۱۰ میکرومولار متیل‌جاسمونات در غلظت‌های مختلف مس تفاوت معنی‌داری را در میزان فعالیت PAL و میزان آنتوسیانین در برگ گیاه شاهی نشان نمی‌دهد (شکل۳).

بحث:

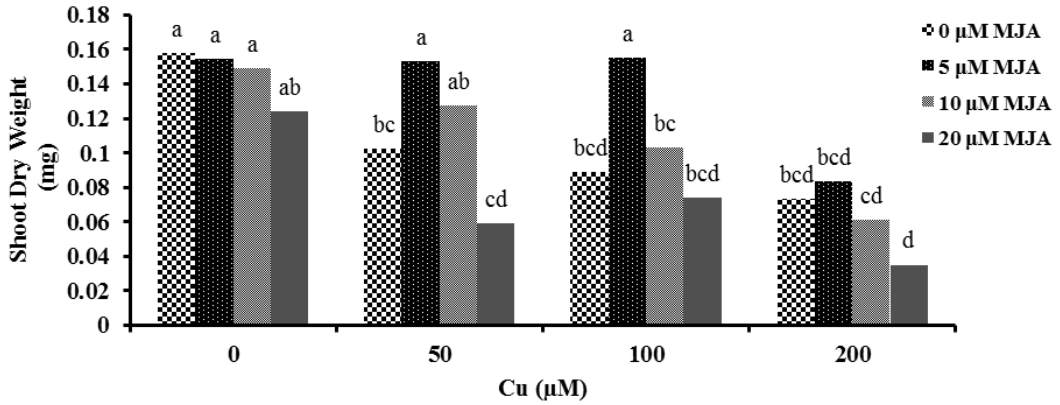
در تحقیق صورت گرفته وزن خشک اندام‌های هوایی با افزایش غلظت مس در محلول غذایی کاهش یافت. افزایش توسعه پذیری دیواره و فراوانی مواد محلول برای ایجاد فشار اسمزی دو نیاز اساسی برای رشد و طویل شدن سلول می‌باشند. تصور می‌شود که اتصال Cu^{+2} به صورت مستقیم یا با جایگزینی قسمتی از Ca^{+2} دیواره سلول انعطاف پذیری آن را کاهش می‌دهد که دلیلی بر اثبات کاهش رشد برگ در حضور مس اضافی می‌باشد (Sesse *et al*., 2004). تیمار گیاه *Pharbitis nil* با غلظت‌های 10^{-3} و 10^{-4} مولار متیل‌جاسمونات باعث کاهش رشد ریشه و ساقه شده است در حالی که در غلظت 10^{-7} مولار اثر تحریک کنندگی بر رشد ریشه و ساقه داشته است، محققین دلیل این تاثیر را تشکیل مجدد مریستم ریشه دانستند (Maciejewska and Kopcewicz, 2002). عوامل ایجاد

Downloaded from jispp.iut.ac.ir at 7:06 IRST on Saturday December 16th 2017

جدول ۱- تاثیر متیل‌جاسمونات بر رنگیزه‌های فتوسنتزی و آنتوسیانین در گیاه شاهی تحت تنش مس.

متیل جاسمونات (μM)	مس (μM)	کلروفیل a (میلی‌گرم بر گرم وزن تر)	کلروفیل b (میلی‌گرم بر گرم وزن تر)	کلروفیل کل (میلی‌گرم بر گرم وزن تر)	کاروتنوئید (میلی‌گرم بر گرم وزن تر)	آنتوسیانین (نانومولار بر گرم وزن تر)
۰	۰	۱۲/۹۶ bcd	۳/۹۷ cdefg	۱۶/۹۵ bcd	۳/۷۱ a	۶/۱۲ def
۰	۵۰	۱۲/۱۵ cde	۳/۴۴ efg	۱۵/۵۹ cdef	۳/۷۹ a	۵/۷۵ efgh
۰	۱۰۰	۷/۹۶ gh	۲/۶۹ g	۱۰/۶۵ fg	۲/۴۱ bcd	۴/۵۵ j
۰	۲۰۰	۸/۵۰ gh	۳/۶۴ defg	۱۲/۱۵ bcde	۲/۶۶ bc	۴/۸۹ ij
۵	۰	۱۶/۶۶ a	۷/۵۷ a	۲۴/۲۳ a	۳/۹۳ a	۶/۰۹ def
۵	۵۰	۱۴/۲۶ bc	۶/۱۲ ab	۲۰/۳۸ abc	۳/۱۶ ab	۵/۵۱ fghi
۵	۱۰۰	۱۰/۲۱ efg	۵/۲۸ bc	۱۵/۴۹ cdef	۲/۲۴ bc	۶/۰۴ def
۵	۲۰۰	۸/۸۰ fgh	۳/۱۸ bcde	۱۱/۹۹ defg	۲/۴۶ bcd	۴/۹۴ hij
۱۰	۰	۱۵/۳۳ ab	۷/۲۵ a	۲۲/۵۸ a	۳/۷۳ a	۷/۴۸ b
۱۰	۵۰	۱۳/۲۱ bcd	۶/۳۲ ab	۱۹/۵۴ abc	۳/۱۲ ab	۶/۵۶ cde
۱۰	۱۰۰	۸/۸۴ fgh	۴/۴۲ cdef	۱۳/۲۶ defg	۲/۲۱ bcd	۵/۹۳ defg
۱۰	۲۰۰	۸/۶۴ fgh	۴/۷۴ bcde	۱۳/۳۸ defg	۲/۰۰ cd	۶/۷۶ bcd
۲۰	۰	۱۴/۱۱ bc	۷/۰۸ a	۲۱/۱۹ ab	۳/۰۱ abc	۸/۷۵ a
۲۰	۵۰	۱۱/۰۶ def	۵/۲۲ bcd	۱۶/۳۰ bcde	۲/۳۳ bcd	۷/۲۴ bc
۲۰	۱۰۰	۶/۴۲ h	۲/۸۷ fg	۹/۲۹ g	۱/۵۸ d	۵/۰۳ hij
۲۰	۲۰۰	۸/۲۷ gh	۳/۱۳ efg	۱۱/۴۱ efg	۲/۲۵ bcd	۵/۱۳ ghij

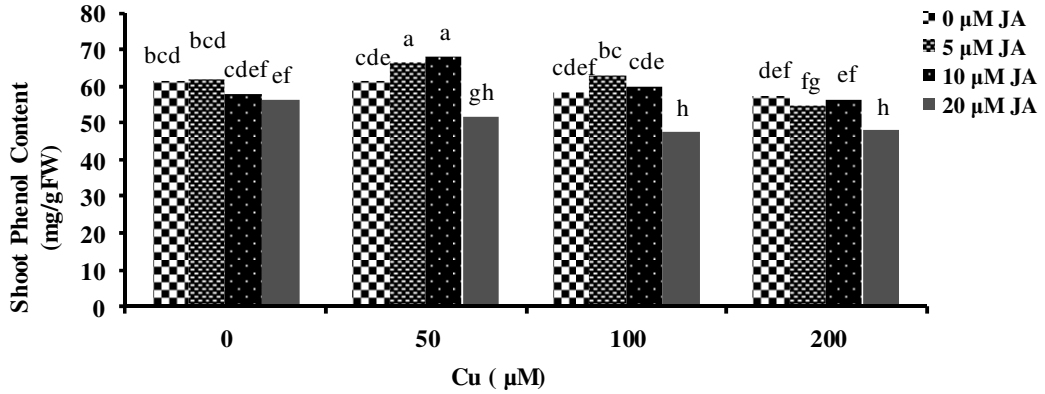
حروف مشابه نشان دهنده عدم اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال ۵ درصد بر اساس آزمون دانکن می‌باشد.



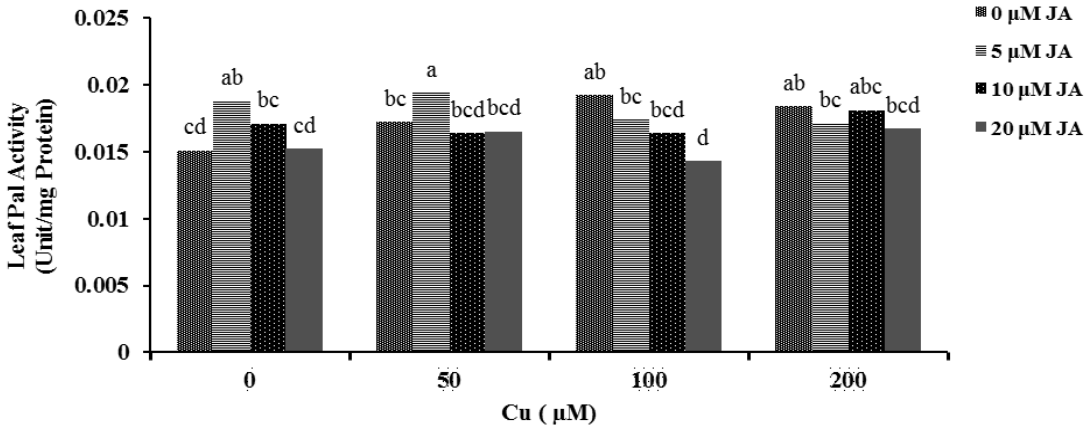
شکل۱- برهم‌کنش مس و متیل‌جاسمونات بر وزن خشک اندام هوایی در گیاه شاهی. حروف مشابه نشان دهنده عدم اختلاف معنی دار در سطح احتمال ۵ درصد بر اساس آزمون دانکن می‌باشد.

کننده تنش اکسیداتیو مانند تنش فلزات سنگین ممکن است محتوای کلروفیل را از طریق بر هم زدن تعادل در بازگشت پروتئین‌های کمپلکس فتوسیستم II کاهش دهند (Laspina *et al*., 2005). به نظر می‌رسد کاهش معنی‌دار

Downloaded from jispp.iut.ac.ir at 7:06 IRST on Saturday December 16th 2017



شکل۲- برهم‌کنش مس و متیل‌جاسمونات بر میزان پلی فنل کل اندام هوایی در گیاه شاهی. حروف مشابه نشان دهنده عدم اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال ۵ درصد بر اساس آزمون دانکن می‌باشد.



شکل۳- برهم‌کنش مس و متیل‌جاسمونات بر میزان فعالیت آنزیم فنیل‌آلانین‌آمونیالیاز اندام هوایی در گیاه شاهی. حروف مشابه نشان دهنده عدم اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال ۵ درصد بر اساس آزمون دانکن می‌باشد.

رنگیزه‌های فتوسنتزی گیاهان تحت تنش مس عموماً به علت تجزیه فزاینده آنها باشد (Vassilev *et al*., 2003)، که موجب کاهش فتوسنتز می‌شود. کاهش کلروفیل پس از تیمار مس ممکن است مربوط به توقف عمل آنزیم‌های دخیل در سنتز کلروفیل یا تجزیه کلروفیل باشد (Yruela , 2005) تصور می‌شود که مس از طریق تغییر ساختار پروتئین‌ها و رنگیزه‌ها در امر فتوسنتز تداخل ایجاد می‌کند. مس اضافی در گیاهان جایگزین آهن در جایگاه فعال آن شده و از این طریق باعث کمبود آهن و در نتیجه رنگ پریدگی شدیدتر برگ می شود (Boycheva and Babalakova, 2008). در ارتباط با اثر متیل‌جاسمونات بر محتوای کلروفیل نیز تحقیقات زیادی انجام گرفته است که نشان‌دهنده اثرات متفاوت غلظت‌های گوناگون این ترکیب در گیاهان است. مشاهده شده که در پایه پیاز لاله در حضور نور و با استفاده از متیل‌جاسمونات تشکیل کلروفیل a و b افزایش یافت (Udea and Saniewski, 2006). این محققین اظهار نموده اند که متیل‌جاسمونات در بیان یک سری از ژن‌های آنزیم های کلیدی در بیوسنتز کلروفیل از طریق تشکیل آمینولولینیک‌اسید دخالت دارد. البته این امر در غلظت‌های پایین متیل‌جاسمونات مشاهده شده است. در این پژوهش متیل‌جاسمونات به ویژه در غلظت ۵ میکرومولار تا حدودی خسارات ناشی از کاربرد مس را در گیاه شاهی

Downloaded from jispp.iut.ac.ir at 7:06 IRST on Saturday December 16th 2017

تخفیف داده است. احتمال داده می‌شود که از طریق دخالت در مسیر بیوسنتز کلروفیل اثرات خود را اعمال کرده باشد. در پژوهش فوق، غلظت‌های به کار برده شده مس تاثیر معنی‌دار بر میزان ترکیبات فنلی کل نداشت و تیمار ۵ و ۱۰ میکرومولار متیل‌جاسمونات در غلظت ۵۰ میکرومولار مس باعث افزایش معنی‌دار محتوای ترکیبات فنلی گردید. مشاهده شده است که در برگ گیاه اسفناج تیمار غلظت های پایین مس باعث افزایش محتوای ترکیبات فنلی می شود در حالی که در غلظت‌های بالای مس محتوای ترکیبات فنلی کاهش می‌یابد (Caldwell, 2002). گزارش شده که در گیاه *Raphanus sativus* تیمار متیل‌جاسمونات باعث افزایش معنی‌دار محتوای ترکیبات فنلی در شرایط آزمایش گردید (Kim *et al*., 2006). همچنین مشاهده شده است که سنتز ترکیبات فنلی در ساقه مخروطیان توسط متیل‌جاسمونات افزایش یافته است (Hudgins *et al*., 2003). با وجود القای سنتز ترکیبات فنلی در تنش‌های گوناگون مقدار واقعی آنها حاصل توازن بین سرعت سنتز آنها (Ks) و سرعت کاهش یا مصرف (Kd) آنهاست. افزایش مشاهده شده در میزان ترکیبات فنلی محلول، نشان دهنده بزرگ‌تر بودن Ks نسبت به Kd می‌باشد. یعنی فنلیک‌ها احتمالا به عنوان مکانیسم‌های دفاعی برای جمع‌آوری ROS تولید می‌شوند. از طرف دیگر کاهش مشاهده شده در این ترکیبات حاصل کوچک تر بودن Ks به Kd است که پیامد تشکیل ترکیبات فنلی نامحلول و یا پلیمریزاسیون فنلیک‌ها در نتیجه اکسیداسیون است (Anagnostopoulou *et al*., 2006)، بنابراین می توان احتمال داد که عدم تغییر ترکیبات فنلی در شرایط کاربرد مس در این پژوهش به دلیل فوق باشد.

در این تحقیق، تیمار ۵ میکرومولار متیل‌جاسمونات فعالیت آنزیم PAL را به میزان زیادی افزایش داد. از آن جا که ترکیبات فنلی از سینامیک‌اسید مشتق می‌شوند که خود محصول عمل دآمیناسیون آنزیم فنیل‌آلانین‌آمونیالیاز روی فنیل‌آلانین می‌باشند، به نظر می‌رسد که تغییرات فعالیت آنزیم PAL به عنوان کلیدی‌ترین آنزیم در مسیر سنتز ترکیبات فنلی، یکی از فاکتورهای اساسی در پاسخ گیاهان در برابر تنش‌های مختلف محیطی باشد. پس از تیمار متیل جاسمونات مشاهده شده که، متیل‌جاسمونات می‌تواند به طور معنی‌داری موجب افزایش مقدار کل ترکیبات فنلی در گیاه شود. علاوه بر این فعالیت PAL، به عنوان یک آنزیم کلیدی تنظیم کننده متابولیسم فنیل پروپانوئید در جوانه گیاه تربچه افزایش می‌یابد (Kim *et al*., 2006) . این نتایج با گزارش پیشین که ترکیبات فنلی می‌توانند به طور معنی داری در میوه‌های بسیاری از گیاهان بعد از تیمار با متیل جاسمونات القا شوند، مطابقت دارد (Wang and Zheng, 2005). به نظر می رسد یکی از دلایل افزایش پارامترهای رشد و رنگیزه‌های فتوسنتزی تحت تاثیر تیمار متیل جاسمونات، اثر این تیمار بر فعالیت آنزیم PAL و افزایش فعالیت این آنزیم و افزایش ترکیبات مختلف فنلی (به عنوان یک جزء آنتی اکسیدان غیرآنزیمی) می‌باشد که می تواند کاهش‌دهنده اثرات تنش باشد.

نتیجه‌گیری کلی:

به طور کلی، نتایج ما نشان می‌دهند گیاه شاهی در غلظت های پایین فلز سنگین مس (۵۰ و ۱۰۰ میکرومولار) به وسیله ذخیره آنتی‌اکسیدانی خود تا حدی قادر به تحمل تنش می‌باشد در حالی که غلظت‌های بالای مس بر سیستم آنتی اکسیدانی گیاه غلبه نموده و تنها زمانی گیاه قادر به تحمل تنش می‌باشد که به وسیله ترکیباتی مانند متیل جاسمونات تیمار گردد چرا که متیل‌جاسمونات با افزایش محتوای ترکیبات آنتی‌اکسیدان از جمله ترکیبات فنلی توانایی گیاه برای مقابله در برابر تنش‌ها را افزایش می‌دهد. با توجه به نتایج به دست آمده می‌توان گفت که غلظت‌های ۵ و ۱۰ میکرومولار متیل‌جاسمونات در این پژوهش موجب مقاومت و رشد بهتر گیاه شاهی در شرایط تنش مس گردید.

Downloaded from jispp.iut.ac.ir at 7:06 IRST on Saturday December 16th 2017

منابع:

Anagnostopoulou, M. A., P. Kefalas, V. P. Papageorgiou, A. N. Assimopoulou and Boskou, D. (2006) Radical scavenging activity of various extracts and fractions of sweet orange peel (*Citrus sinensis*). Journal Food Chemistry 94: 19-25.

Balbi, V. and Devoto, A. (2008) Jasmonate signalling network in *Arabidopsis thaliana*: crucial regulatory nodes and new physiological scenarios. New Phytologist 177: 301-318.

Boycheva, S. and Babalakova, N. (2008) Does chelated copper ameliorate the greening of iron-deficient cucumber plants through nitric oxide signaling? Comparison with chemical forms of Zinc. Plant Physiology 34: 295-308.

Caldwell, C. (2002) Effect of elevated copper on the phenolic compounds of spinach (*Spinacea Oleracea L.*) leaf tissues. Journal of Plant Nutrition 26: 1725-1734.

Chu, Y. H., Chang, C. L. and Hsu, H. F. (2000) Flavonoid contents of several vegetable and their antioxidant activity. Journal Agriculture and Food Science 80: 561-566.

Gaetke, L. M. and Chow, C. K. (2003) Copper toxicity, oxidative stress and antioxidant nutrients. Toxicology 189: 147–163.

Groppa, M. D. and Benavides, M. P. (2008) Polyamines and abiotic stress: recent advances. Amino Acids 34: 35–45.

Hudgins, J. W., Christiansen, E. and Franceschi, V. R. (2003) Methyl jasmonate induces changes mimicking anatomical defenses in diverse members of the Pinaceae. Journal Tree Physiology 23: 361–371.

Kim, H. J., Chen, F., Wang, X. and Chios, J. H. (2006) Effect of methyl jasmonate on phenolics, isothiocyanate, and metabolic enzymes in radish sprout *(Raphanus sativus)*. Journal Agriculture and Food Science 54: 7263-7269.

Kovacik,J. and Backor, M. (2007) Phenylalanine ammonia-lyase and phenolic compounds in chamomile tolerance to cadmium and copper excess. Plant and Soil 297: 255-265.

Kovacik, J., Klejdus, B. and Backor, M. (2009) Nitric oxide signals ROS scavengermediated enhancement of PAL activity in nitrogen-deficient *Matricaria chamomilla* roots. Free Radical Biology and Medicine 46: 1686-1693.

Laspina, N. V., Groppa, M. D. and Benavides, M. P. (2005) Nitric oxide protects sunflower leaves against Cd-induced oxidative stress. Plant Sciences 169: 323-330.

Lichenthaler, H. K. (1987) Chlorophyll and carotenoids: pigments of photosynthetic biomembranes. Method Enzymol 148: 350-382.

Maciejewska, B. and Kopcewicz, J. (2002) Inhibitory effect of methyl jasmonate on flowering and elongation growth in *Pharbitis nil*. Journal Plant Growth Regulation 21: 216-223.

Navarro, J. M., Flores, P. Garrido, C. and Martinez, V. (2006) Changes in the contents of antioxidant compounds in pepper fruits at different ripening stages, as affected by salinity. Journal Food Chemistry 96: 66-73.

Nojavan-Asghari, M. and Ishizawa, K. (1998) Inhibitory effects of methyl jasmonate on the germination and ethylene production in cocklebur seeds. Journal Plant Growth Regulation 17: 13-18.

Piotrowska, A., Bajguz, A., Godlewska-Zylkiewicz, B. and Czerpak, R. (2009) Jasmonic acid modulator of lead toxicity in aquatic plant *Wolffia arrhiza* (Lemnaceae). Journal Environmental and Experimental Botany 66: 507-513.

Sesse, B. A., Genet, P., Dunand, F. V., Toussaint, M. L., Epron, D. and Badot, P. M. (2004) Effect of copper on growth in cucumber plants and its relationships with carbohydrate accumulation and changes in ion content. Plant Sciences 166: 1213-1218.

Sharma, P. and Dubey, R. S. (2005) Drought induces oxidative stress and enhances the activities of antioxidant enzymes in growing rice seedlings. Plant Growth Regulation 46: 209-221.

Sonald, S. F. and Laima, S. K. (1999) Phenolics and cold tolerance of *Brassica napus*. Plant Agriculture 1: 1-5.

Solecka, D. (1997) Role of phenyl propanoid compounds in plant responses to different stress factor. Plant Physiology 19; 257-268.

Udea, J. and Saniewski, M. (2006) Methyl jasmonate-induced Stimulation of chlorophyll formation in the basal part of tulip bulbs kept under natural light conditions. Journal Fruit Ornamental Plant Resarch 14: 199-210.

Vassilev, A., Lidon, F., Ramalho, J. C., Doceumatos, M. and Graca, M. (2003) Effects of excess cu on growth and photosynthesis of barley plants, implication with a screening test for cu tolerance. Journal Central European Agriculture 4: 225-236.

Wang, J. W., Zheng, L. P., Wu, J. Y. and Tan, R. X. (2006) Involvement of nitric oxide in oxidative burst, phenylalanine ammonia-lyase activation and taxol production induced by low-energy ultrasound in *Taxus yunnanensis* cell suspension cultures. Nitric Oxide 15: 351-358.

Wang, S. Y. and Zheng, W. (2005) Preharvest application of methyl jasmonate increases fruit quality and antioxidant capacity in raspberries. International Journal Food Science 40: 187-195.

Wanger, G.J. (1979) Content and vacuole/ extra vacuole distribution of neutral sugars, free amino acids, and anthocyanin in protoplast. Plant physiology 64: 88-93.

Wasternack, C. and Parthier, B. (1997) Jasmonate signalled plant gene expression. Trends in Plant Sciences 2: 302–307.

Yruela, I. (2005) Copper in plants. Brazilian Journal of Plant Physiology 17:145–146.

Downloaded from jispp.iut.ac.ir at 7:06 IRST on Saturday December 16th 2017