بررسی تأثیر تغییر عملکرد ژن‌های مختلف بر واکنش گیاهان به اتیلن (C_2H_4) شرایط *in vitro* در *Arabidopsis thaliana*

سیده حمیده طاهری، رضا شیرزادیان خرم آباد *، علی اعلمی و حبیب الله سمیع زاده

گروه بیوتکنولوژی کشاورزی، دانشکده کشاورزی دانشگاه گیلان، صندوق پستی ۱۳۱۴- ۴۱۶۳۵

(تاریخ دریافت:۱۳۹۲/۰۹/۲۴ ، تاریخ پذیرش نهایی: ۱۳۹۳/۰۴/۱۷)

چکیده:

اتیلن، اگر چه یک ملکول ساده است، از جمله فاکتورهای مهم و موثر بر رشد و نمو گیاهان محسوب می‌شود. واکنش سه‌گانه درگیاهچه های اتیوله *Arabidopsis* به اتیلن (C_2H_4) به طور گسترده ای جهت بررسی فعالیت بیوسنتز، درک و سیگنالینگ اتیلن و همچنین جداسازی موتانت‌های مرتبط با این رخدادها در اتیلن استفاده می‌شود. در این تحقیق گیاهان مختلف موتانت که هر یک حاوی موتاسیونی اختصاصی در یکی از ژن های مرتبط با سنتز هورمون‌هایی مانند اتیلن (*ein2* و *edr1*)، جاسمونیک اسید (*jar1*) و سالسیلیک اسید (*pad4* و *NahG*) در *Arabidopsis* بودند جهت بررسی تأثیر تغییر عملکرد ژن‌های *EIN2*، *EDR1*، *JAR1*، *PAD4* و *NahG* بر واکنش گیاهان به اتیلن مورد بررسی قرار گرفت. جهت انجام بررسی فوق از روش ارزیابی واکنش سه‌گانه (Ethylene Triple Response) برای ارزیابی گیاهان موتانت *ein2*، *jar1*، *NahG*، *pad4* و *edr1* مورد توجه قرار گرفت. لذا بذور گیاهان فوق در محیط MS شامل غلظت‌های مختلف ACC (1-aminocyclopropane-1-carboxylic acid) برای مدت ۵ روز در شرایط تاریکی مطلق نگهداری و سپس صفات سه‌گانه چرخش قلاب رأسی، طول هیپوکوتیل و طول ریشه‌چه گیاهچه‌های موتانت مورد بررسی و تجزیه و تحلیل آماری قرار گرفت و با شاهد والدینی (Col-0) مقایسه شد. بر اساس نتایج بدست‌آمده، هیچ‌کدام از موتانت‌های مورد بررسی در دو گروه (Ethylene overexpression) *eto* و(hook less) *hls* قرار نمی‌گیرند. در حالی که کلیه موتانت‌ها دارای تفاوتی معنی‌دار با ژنوتیپ مادری در صفات ۳ گانه واکنش به اتیلن بودند و فقط ژنوتیپ *pad4* از نظر طول هیپوکوتیل و ریشه‌چه با ژنوتیپ مادری خود تفاوتی نداشت. لذا وقوع موتاسیون در ژن‌های مؤثر بر سنتز دیگر هورمون‌ها به نحو قابل توجهی می‌تواند بر واکنش گیاهان به اتیلن تغییر ایجاد نماید. همچنین بررسی واکنش سه‌گانه در گیاهچه های اتیوله موتانت می‌تواند به عنوان یک شاخص مهم و قابل توجهی برای ارزیابی واکنش گیاهان بالغ به اتیلن نیز محسوب گردد.

کلید واژه: اتیلن، ACC، گیاهچه اتیوله، واکنش سه گانه، موتانت‌ها.

مقدمه:

هورمون اتیلن (C_2H_4)، اگرچه ملکولی بسیار ساده است، بر دامنه وسیعی از واکنش‌های فیزیولوژیکی در گیاهان از جمله جوانه‌زنی بذر، توسعه‌ی ریشه موئین، پیری گل، ریزش برگ و رسیدگی میوه، تأثیر دارد (Olmedo *et al.*, 2006). میزان تولید اتیلن در گیاهان تحت تأثیر عواملی چون دوره رشد و نمو گیاهان قرار گرفته و در پاسخ به محرک‌های محیطی زنده و غیر زنده تغییر می‌کند. از جمله این محرک‌ها می توان به ایجاد

*نویسنده مسؤل، نشانی پست الکترونیکی: R.shirzadian@gmail.com

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2026-11-29]

[DOR: 20.1001.1.23222727.1393.3.10.7.6]

زخم، کمبود اکسیژن در بافت، میزان ازون، تنش سرما یا یخ زدگی اشاره کرد (Stepanova and Ecker, 2000). در مسیر بیوسنتز اتیلن در گیاهان ابتدا آمینو اسید متیونین توسط آنزیم SAM سنتاز و با مصرف ATP به SAM (*S*-AdoMetionin) تبدیل می‌شود. SAM یک سوبسترای مهم در بسیاری از چرخه‌های بیوشیمیایی از جمله چرخه بیوسنتز اتیلن است. مهم‌ترین قسمت این چرخه تبدیل SAM به ACC (1-aminocyclopropane-1-carboxylic acid) توسط آنزیم ACC سنتاز است. در مرحله بعد ACC توسط آنزیم ACC اکسیداز اکسید می‌شود و به اتیلن تبدیل می‌گردد. مرحله‌ی محدود کننده در بیوسنتز اتیلن تبدیل SAM به ACC توسط آنزیم ACC سنتاز می‌باشد (Wang *et al.,* 2002; Dalcin *et al.,* 2006). پس از سنتز اتیلن، حضور آن توسط خانواده‌ای از گیرنده‌ها همچون ETR1 (ETR for Ethylene Resistant)، ETR2، ERS1، ERS2 و EIN4 در سطح دیواره سلولی و شبکه آندوپلاسمی دریافت و سپس در مسیر سیگنالینگ ویژه سیتوپلاسم وهسته ارسال می‌شود (Omalley *et al.,* 2005; Ma *et al,* 2006). اولین عضو در مسیر سیگنالینگ اتیلن، پروتئین CTR1 است. این پروتئین به طور مستقیم با ETR1 و ERS1 ارتباط داشته و آبشار سیگنالینگ Map kinase را فعال می‌کند. این پروتئین تنظیم کننده‌ی منفی واکنش پایین دست خود می باشد. EIN2 در پایین دست CTR1 و بالادست EIN3 قرار گرفته است و یک تنظیم-کننده‌ی مثبت واکنش پایین دست محسوب می شود و نقش مهمی در سیگنالینگ اتیلن دارد. EIN3 در مسیر سیگنالینگ اتیلن پس از EIN2 قرار می گیرد و از فاکتورهای مهم رونویسی در هسته می باشد. فعالیت این فاکتور موجب فعال شدن فاکتورهای خانواده‌ی EIN3 همچون EILs شده و بیان ژن ERF1 را تنظیم می کند. در این صورت عملیات مرتبط با بیان ژنهای مربوط با واکنش گیاه به حضور اتیلن را القا نموده و لذا گیاه واکنش لازم به حضور اتیلن را نشان خواهد داد (Wang *et al.,* 2002).

تغییرات مرفولوژیکی در گیاهچه‌های اتیوله که توسط پیش ساز متابولیکی اتیلن (ACC) تیمار شده‌اند اصطلاحاً واکنش سه گانه (Triple Response) نامیده می‌شود (Wang *et al.,* 2002). این واکنش اولین بار توسط Neljubow (۱۹۰۱) شرح داده شد که شامل: کوتاه شدن هیپوکوتیل، کوتاه و ضخیم شدن ریشه‌ها و چرخش در قلاب رأسی هیپوکوتیل می‌باشد. تغییرات مرفولوژیکی که در طول رشد گیاهچه‌های اتیوله روی می‌دهد به آسانی و با چشم قابل رویت هستند. گیاهچه‌های موتانت *Arabidopsis* که دارای تغییر در مسیر بیوسنتز، درک و یا سیگنالینگ اتیلن هستند ممکن است تغییراتی را در واکنش سه‌گانه نشان دهند (Li and Guo, 2007). نحوه‌ی واکنش گیاهچه های اتیوله آرابیدوبسیس به ACC روشی مناسب برای جداسازی موتانت‌های مرتبط با واکنش اتیلن بوده و جهت شناسایی ژن‌های مؤثر بر این فرآیند از اهمیت زیادی برخوردار می‌باشد و همچنین در زمینه بررسی مولکولی انتقال پیام اتیلن در گیاهان مهم به نظر می‌رسد (Kieber, 1997). موتانت‌هایی که دارای علائم کوتاه شدن طول هیپوکوتیل و ریشه‌چه و دارای چرخش در قلاب رأسی در صورت عدم حضور تیمار اتیلن هستند، موتانت‌های گروه *eto* (Ethylene overexpression) نامیده می‌شوند. موتانت‌هایی که دارای علائم کوتاهی هیپوکوتیل و ریشه‌چه و فاقد چرخش در قلاب رأسی در عدم حضور تیمار اتیلن هستند متعلق به گروه موتانت‌های *hls* (hook less) بوده و دسته سوم علائم طویل شدن هیپوکوتیل و ریشه‌چه و عدم چرخش قلاب رأسی در حضور تیمار اتیلن را نشان می‌دهند و از گروه موتانت‌های *ein* (Ethylene insensetive) می‌باشند (Gusman and Ecker, 1990). موتانت‌های *eto* قادر به تولید سطوح بالایی از اتیلن نسبت به ژنوتیپ وحشی می‌باشند که این موتانت‌ها در مراحل قبل از مرحله تبدیل ACC به اتیلن در مسیر بیوسنتز اتیلن دچار تغییر شده‌اند. ممکن است تغییر در این موتانت‌ها در مرحله تبدیل SAM به ACC و ناشی از تغییر در بیان ACC سنتازها باشد. در موتانت‌های *ein* نیز مقدار تولید اتیلن افزایش می‌یابد، ولی بر خلاف موتانت‌های *eto*، این موتانت ها در مسیر سیگنالینگ اتیلن دارای تغییراتی هستند. درموتانت‌های *ein*، فعالیت پروتئین ein2 به عنوان مهمترین جزء در مسیر سیگنالینگ اتیلن دچار تغییر شده و در نتیجه پیام اتیلن منتقل نشده و گیاه حساسیتی به حضور اتیلن نخواهد داشت (Wang *et al.,* 2002). بررسی مکانیسم دریافت اتیلن توسط گیاه و انتقال پیام آن با

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2026-11-29]

[DOR: 20.1001.1.23222727.1393.3.10.7.6]

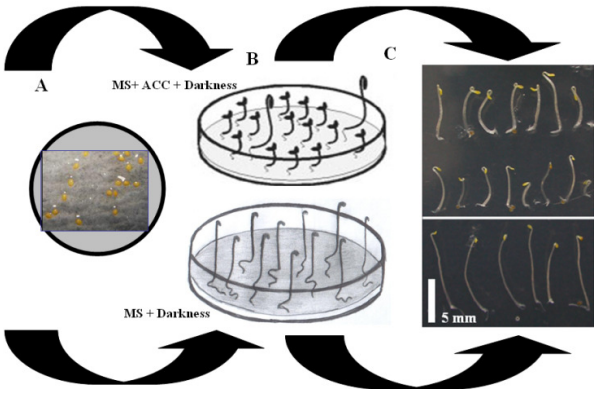
استفاده از موتانت‌هایی که دارای نقص در واکنش به اتیلن هستند صورت می‌گیرد (Stepanova and Ecker, 2000). مطالعه حاضر به منظور بررسی فعالیت مسیر بیوسنتزی، درک و یا سیگنالینگ اتیلن در تعدادی از موتانت‌های *Arabidopsis* که در ژنوم مادری Col-0 به وجود آمده اند شامل موتانت‌های *ein2* (Ethylene insesetive 2) (Wang *et al.*, 2002)، *jar1* (Jasmonic Acid response locus)، *NahG* (دارای ژن باکتریایی از سویه Naphtalen-degrading) (Lawton *et al.*, 1995) ، *pad4* (Phyto Alexin-Deficient 4) (Staswick and Tiryaki, 2004) و *edr1* (Enhanced disease resistance) (Tang *et al.*, 2005) انجام شد. EIN2 یکی از مهمترین اجزا در مسیر سیگنالینگ اتیلن و یک تنظیم کننده مثبت در مسیر انتقال پیام اتیلن است. جهش در لوکوس EIN2 موجب عدم حساسیت موتانت ایجاد شده در مقابل اتیلن داخلی و تیمار اتیلن می‌گردد (Alonso *et al.*, 1999). پروتئین JAR1 یک JA-amino synthase است که برای فعال سازی جاسمونیک اسید به منظور فعالسازی این هورمون و سیگنالینگ مطلوب آن در *Arabidopsis* لازم است. در موتانت *jar1* به دلیل نقص آنزیمی مقدار JA (جیبرلیک اسید) فعال کاهش می‌یابد. در نتیجه مکانیسم دفاع نیز کاهش یافته و ضعیف می‌شود (Staswick and Tiriyaki., 2004). ژن *NahG* برای اولین بار در باکتری *Pseudomonas studzeri* سویه naphtalen-degrading شناسایی شد. در اثر بیان این ژن آنزیم سالیسیلات هیدروکسیلاز تولید می‌شود. سالیسیلات هیدروکسیلاز مانع تجمع SA (سالیسیلیک اسید) در هنگام حمله‌ی پاتوژن می شود. لذا بیان *NahG* درگیاهان ترانسژیک موجب کاهش قدرت دفاعی این گیاهان شد (Lawton *et al.*, 1995). ژن *PAD4* برای سنتز کامالکسین در واکنش به آلودگی‌های باکتریایی و ویروسی در گیاه لازم است. موتانت‌های *pad4* در واکنش دفاعی نقص نشان می‌دهند که ناشی از نقص در سنتز کامالکسین می‌باشد (Zhou *et al.*, 1998). موتاسیون *edr1* در ژن EDR1 منجر به افزایش مقاومت در گیاه علیه بیماری سفیدک پودری می‌شود این افزایش مقاومت ناشی از افزایش تولید سالیسیلیک اسید در این موتانت‌ها می‌باشد (Tang *et al.*, 2005). مسیر سیگنالینگ سالسیلیک اسید، جیبرلیک اسید و اتیلن در سیستم دفاعی گیاهان اثر متقابل و تداخلی بر هم دارند. برای اثر متقابل و تداخلی این هورمون‌ها نسبت به هم از اصطلاح cross-talk استفاده می‌شود. قطعاً تغییر در سطح هر کدام از این هورمون‌ها بر میزان فعالیت و سنتز سایر هورمون‌ها تأثیر می‌گذارد (Kunkle and Brook, 2002).

این تحقیق به منظور بررسی فعالیت مسیر بیوسنتزی اتیلن در این گروه از موتانت‌ها و چگونگی تأثیر تغییر ژن‌های مورد نظر در هر یک از موتانت‌ها بر واکنش موتانت‌ها به اتیلن صورت گرفت. بر اساس نتایج بدست آمده، هیچ‌کدام از موتانت‌های مورد بررسی در دو گروه موتانت‌های *eto* و *hls* قرار نمی‌گیرند.

مواد و روش‌ها:

این تحقیق به منظور بررسی واکنش موتانت‌های مختلف متعلق به گروه گیاهان مادری Col-0 در *Arabidopsis* شامل *ein2*، *jar1*، *NahG*، *pad4* و *edr1* به اتیلن در شرایط *in vitro* انجام شد. تهیه بذور وحشی و موتانت‌ها از دپارتمان بیولوژی گیاهی دانشگاه گرونینگن هلند و از دانشگاه مسی نیوزلند تهیه شد. جهت استریل نمودن بذور از محلول هیپوکلرید سدیم ۱۵٪ به مدت ۱۵ دقیقه استفاده شد و سپس در سه مرحله (هر مرحله به مدت ۳ دقیقه) بذور با آب مقطر استریل آبکشی شدند. سپس به مدت ۷۲ ساعت در دمای ۴°C و تاریکی مطلق نگهداری شدند و پس از یک ساعت قرار گرفتن در معرض نور، هر کدام از ژنوتیپ‌ها در پتری‌های حاوی محیط MS ۱/۲و در ۵ غلظت (۰، ۱، ۵، ۱۰و ۲۰ میکرومول) از ACC (۱-آمینوسیکلو پروپان ۱-کربوکسیلیک اسید) و سه تکرار کشت شدند (Shirzadian-Khorramabad *et al.*, 2010). نمونه‌ها به مدت ۵ روز در انکوباتور و در شرایط تاریکی مطلق و دمای ۲۳ درجه سانتیگراد نگهداری شدند. در روز پنجم بررسی ۳ صفت طول هیپوکوتیل و ریشه‌چه و چرخش هیپوکوتیل مطابق با شکل ۱ در گیاهچه‌های *Arabidopsis* تحت عنوان روش سه

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2026-11-29]
[DOR: 20.1001.1.23222727.1393.3.10.7.6]



شکل۱- وضعیت شماتیک گیاهچه‌های رشد یافته در محیط غذایی MS بعد از مدت ۵ روز نگهداری در تاریکی مطلق: کشت بذور در محیط غذایی MS و ACC (A)، بروز واکنش سه گانه در گیاهچه‌هایی که دارای سیستم نرمال در زمینه بیوسنتز، دریافت و انتقال پیام اتیلن در گیاه است (B) و تصویری از نحوه ارزیابی گیاهچه‌ها (C) دیده می‌شود.

گانه Triple Response (Neljubow, 1901) اندازه‌گیری شد. ارزیابی واکنش گیاهچه ها به ACC می‌تواند الگویی از کارکرد فرآیند سنتز، دریافت و انتقال اتیلن در سلول در مرحله اولیه و در مراحل بعدی رشد در *Arabidopsis* را در اختیار قرار دهد. آنالیز داده‌ها بر مبنای آزمایش فاکتوریل بر پایه طرح کاملاً تصادفی صورت گرفت. جهت آنالیز داده‌های بدست آمده از نرم افزار SAS نسخه ۹ و Excel نسخه ۲۰۰۷ استفاده شد.

جهت تیمار گیاهان بالغ با اتیلن، ابتدا گیاهان والدینی و گیاهان موتانت *ein2* در دمای C ° ۲۱ و ۶۰٪ رطوبت نسبی محیط و تحت شرایط نور فلورسنت $60\mu mol^{-2}\,sec$ (۱۶ ساعت روشنایی و ۸ ساعت تاریکی) برای مدت ۳۱ روز در اطاقک رشد نگهداری شدند. سپس برای مدت ۷۲ ساعت با گاز اتیلن ($10\text{-}40\ \mu l\ l^{-1}$) و نور فلورسنت مداوم تیمار شدند.

نتایج و بحث:

بررسی تغییرات واکنش سه‌گانه گیاهچه‌های موتانت در عدم حضور ACC: در صورت عدم استفاده از ACC در محیط MS ۱/۲ در شرایط تاریکی، کلیه گیاهچه‌های مادری و موتانت‌های *ein2*، *jar1*، *NahG*، *pad4* و *edr1* فنوتیپ و عکس العملی مشابه ژنوتیپ مادری خود(Col -0) را نشان دادند(داده‌ها نشان داده نشده). در این بررسی هیچ‌کدام از موتانت‌های مورد بررسی در دو گروه موتانت‌های *eto* و *hls* قرار نگرفتند. این بدان معنی است که موتاسیون در ژن‌های *EIN2*، *JAR1*، *NAHG*، *PAD4* و *EDR1* منجر به ایجاد واکنش کاذبی شبیه آنچه در موتانت‌های *eto* و *hls* مشاهده می‌شود، نمی‌گردد. موتانت‌های *eto* و *hls* در صورت عدم حضور تیمار اتیلن علائمی از واکنش سه‌گانه را نشان می‌دهند. زیرا موتانت‌های *eto* در مراحل قبل از تبدیل ACC به اتیلن در مسیر بیوسنتز اتیلن دچار تغییر شده و به دلیل تأثیر جهش بر روی ژن ACC سنتاز، مقادیر بالایی از اتیلن را تولید می‌کنند و همچنین موتانت *hls* به دلیل تأثیر موتاسیون بر ژن *HLS* (Guzman and Ecker, 1990) دچار تغییر فعالیت اتیلن شده است.

بررسی تغییرات واکنش سه‌گانه در گیاهچه‌های موتانت در حضور ACC: به منظور بررسی مقدماتی واکنش موتانت های مورد بررسی به اتیلن، وضعیت فنوتیپی واکنش سه‌گانه گیاهچه‌های موتانت در حضور ACC مورد بررسی قرار گرفت (جدول ۱). ژنوتیپ مادری Col-0 در حضور تیمار اتیلن هر سه فنوتیپ مربوط به واکنش سه‌گانه شامل کوتاهی ریشه‌چه، کوتاهی هیپوکوتیل و چرخش رأسی هیپوکوتیل را نشان داد. موتانت *ein2* دارای فنوتیپ متفاوتی در مقایسه با ژنوتیپ مادری در حضور پیش‌ساز اتیلن می‌باشد. این موتانت همانند موتانت‌های گروه *ein* درحضور ACC و تاریکی، فنوتیپ‌های کوتاهی هیپوکوتیل و ریشه‌چه و چرخش در هیپوکوتیل رأسی را نشان نمی‌دهد. در این موتانت، حضور اتیلن اثر مهارکنندگی

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2026-11-29]
[DOR: 20.1001.1.23222727.1393.3.10.7.6]

جدول ۱- بررسی وجود یا عدم وجود فنوتیپ سه‌گانه (Triple Response) در موتانت‌های گروه مادری Col-0 در حضور ACC و پس از ۵ روز تاریکی مطلق، تعداد تکراربرای هر مشاهده ۴ می‌باشد. ✔(وجود) و× (عدم وجود).

ژنوتیپ	کوتاه و ضخیم شدن طول هیپوکوتیل	کوتاه شدن ریشه‌چه	چرخش در قلاب رأسی
Col-0	✔	✔	دارای چرخش
ein2	×	×	فاقد چرخش
jar1	✔	✔	فاقد چرخش
NahG	✔	✔	فاقد چرخش
pad4	✔	✔	فاقد چرخش
edr1	✔	✔	فاقد چرخش

بر طویل شدن هیپوکوتیل و ریشه‌چه نداشته است و چرخش قلاب رأسی در این موتانت دیده نمی‌شود (جدول ۱). بنابراین می‌توان نتیجه گرفت که این موتانت متعلق به گروه موتانت *ein* می‌باشد. در این موتانت، EIN بعنوان مهمترین جز در مسیر سیگنالینگ اتیلن دچار تغییر شده است و در نتیجه پیام اتیلن منتقل نشده و گیاه حساسیتی به حضور اتیلن نشان نمی دهد (Alonso *et al.*, 1999). مطابق با جدول ۱ موتانتهای *jar1*، *NahG*، *pad4* و *edr1* در حضور تیمار اتیلن فاقد چرخش در قلاب رأسی می‌باشند. با توجه به اینکه این موتانت‌ها جز گروه *ein* نبوده و از طرف دیگر به دلیل عدم چرخش در قلاب رأسی، با ژنوتیپ مادری Col-0 نیز تفاوت دارند، می‌توان آنها را در گروه جدیدی قرار داده و از آنها به عنوان گروه چهارم در این تحقیق نام برد. در گروه اخیر در حضور تیمار اتیلن طول ریشه و هیپوکوتیل کاهش می‌یابد، اما چرخش هیپوکوتیل صورت نمی‌گیرد. این ویژگی کاملاً متفاوت با ویژگی سه گروه دیگرمی‌باشد. شکل قلاب رأسی هیپوکوتیل در اثر طویل شدن نامتقارن سلول‌ها و در اثر فعالیت مواد آنتاگونیست فعالیت اتیلن در رأس هیپوکوتیل صورت می‌گیرد. احتمالاً عدم تشکیل قلاب رأسی در حضور تیمار اتیلن در موتانت‌های این گروه به دلیل عدم حضور مواد آنتاگونیستی فوق بوده و در نتیجه اتیلن تأثیر خود را به طور کامل گذاشته و قلاب رأسی تشکیل نمی‌گردد.

به منظور بررسی دقیق‌تر تفاوت واکنش موتانت‌ها به اتیلن در گروه ژنوتیپی فوق، طول هیپوکوتیل و ریشه‌چه گیاهچه‌ها در غلظت‌های ۰، ۱، ۵، ۱۰ و ۲۰ میکرومول از ACC اندازه گیری و مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت. نتایج بدست آمده از تجزیه واریانس داده‌های حاصل از تأثیر مقادیر مختلف ACC بر دو صفت طول هیپوکوتیل و ریشه‌چه ژنوتیپ Col-0 و موتانت‌های *ein2*، *jar1*، *NahG*، *pad4* و *edr1* در جدول ۲ ارائه شده است. نتایج تجزیه واریانس داده‌های بدست آمده نشان می‌دهد که دو فاکتور ژنوتیپ و سطوح مختلف ACC و اثر متقابل آنها دارای تأثیرات معنی داری در سطح ۱٪ بر صفات اندازه‌گیری شده در این موتانت ها شامل طول هیپوکوتیل و ریشه‌چه می باشد.

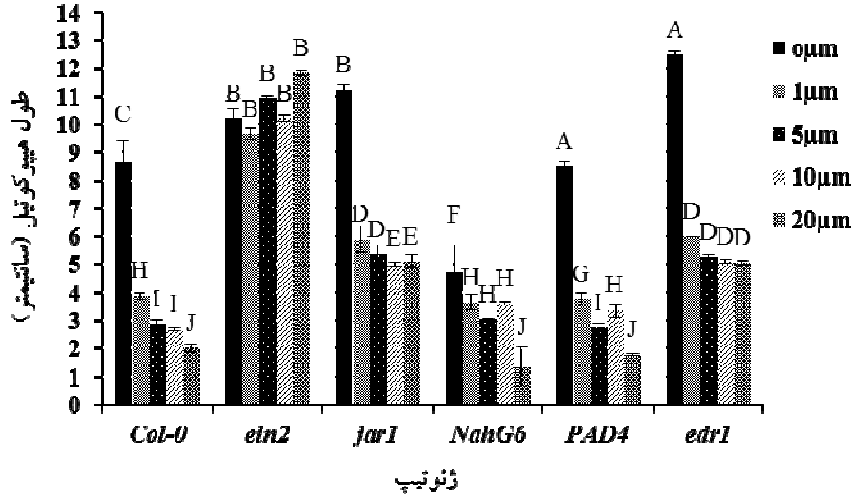
همان طور که در شکل‌های ۲ و ۳ مشاهده می شود روند تغییرات طول هیپوکوتیل و ریشه چه در موتانت های گروه Col-0 از روند مشابهی برخوردار نیست. این تغییرات در والد وحشی Col-0 با افزایش غلظت ACC به صورت پلکانی کاهش می‌یابد، در حالیکه در گیاهچه های *ein2* روندی کاملاً متفاوتی از والد وحشی یعنی روندی غیر کاهشی و نسبتاً ثابتی را دنبال میکند. اگر چه روند تغییرات فوق در دیگر موتانت‌ها کاهشی است ولی شیب تغییرات فوق از وضعیت مشابهی با والد وحشی برخوردار نیست. بنابراین علی‌رغم اینکه در مطالعه مقدماتی مشاهده گردید که موتانت‌های *jar1*، *NahG*، *pad4* و *edr1*در گروه چهارم از نظر واکنش سه‌گانه به اتیلن قرار دارند، ولی تجزیه واریانس داده‌های حاصل از مطالعه دقیق تر تأثیر غلظت‌های مختلف ACC بر دو صفت طول هیپوکوتیل و ریشه‌چه نشان می‌دهد (شکل ۲ و ۳) که میزان اثرگذاری ACC

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2026-11-29]
[DOR: 20.1001.1.23222727.1393.3.10.7.6]

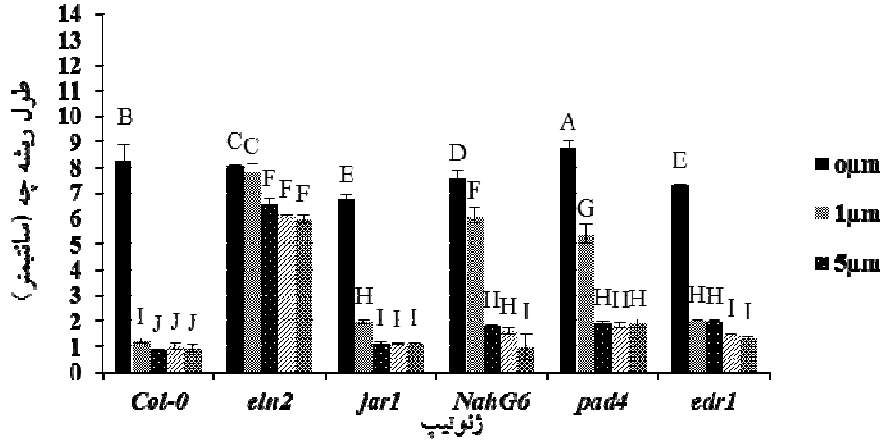
جدول ۲- تجزیه واریانس مربوط به اثر غلظت‌های مختلف ACC بر طول هیپوکوتیل و ریشه‌چه ژنوتیپ‌های col-0، ein2، jar1 ، NahG، pad4 و edr1

منبع تغییرات	درجه آزادی	SS		MS		F	
		طول هیپوکوتیل	طول ریشه‌چه	طول هیپوکوتیل	طول ریشه‌چه	طول هیپوکوتیل	طول ریشه‌چه
تیمار	۲۹	۷۱۵/۲۹۶	۹۳۷/۴۲۲	۲۴/۶۶۵	۳۲/۳۲۴	۱۶۸/ ۹۴**	۱۱۲/ ۳۲**
ژنوتیپ	۵	۲۱۴/۸۴۸	۵۳۶/۲۶۷	۴۲/۹۶۹	۱۰۷/۲۵۳	۲۹۴/۳۲**	۳۷۲/۶۹**
ACCسطح	۴	۴۱۵/۷۹۷	۲۴۸/۷۱۴	۱۰۳/۹۴۹	۷۱/۱۷۸	۷۱۲/۰۰**	۲۴۷/۳۴**
ACC سطح xژنوتیپ	۲۰	۸۴/۶۵۰	۱۱۶/۴۳۹	۴/۲۳۲	۵/۸۲۱	۲۸/۹۹**	۲۰/۲۳**
خطا	۶۰	۸/۷۵۹	۱۷/۲۶۶	۰/۱۴۵	۰/۲۸۷	-	-
کل	۸۹	۷۲۴/۰۵۶	۹۵۴/۶۸۸	-	-	-	-

** به مفهوم معنی دار بودن تفاوت داده ها در سطح ۱٪



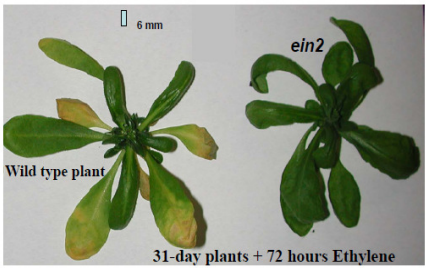
شکل۲- مقایسه میانگین‌های طول هیپوکوتیل در موتانت های مختلف گروه Col-0 در غلظت‌های ۰، ۱، ۵، ۱۰ و ۲۰ میکرومول از ACC. حروف مشابه بیانگر عدم اختلاف معنی‌دار با استفاده از آزمون LSD در سطح ۱٪ می‌باشند.



شکل ۳- مقایسه میانگین‌های طول ریشه‌چه درموتانت های مختلف گروه Col-0 در غلظت‌های ۰، ۱، ۵، ۱۰ و ۲۰ میکرومول از ACC . حروف مشابه بیانگر عدم اختلاف معنی‌دار با استفاده از آزمون LSD در سطح ۱٪ می‌باشند.

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2026-11-29]

[DOR: 20.1001.1.23222727.1393.3.10.7.6]



شکل۴- فنوتیپ گیاهان ۳۱ روزه موتانت ein2 پس از ۷۲ ساعت تیمار با گاز اتیلن در مقایسه با گیاه وحشی

به صورت بروز واکنش سه‌گانه بسته به نوع موتاسیون متفاوت است، تا جائی که موتاسیون در ژنی همچون *EIN2* واکنش گیاهچه‌ها به غلظت های مختلف ACC را به حداقل میرساند. بررسی واکنش ۳ گانه در گیاهچه های موتانت ۵ روزه میتواند بعنوان شاخص قابل توجهی برای بررسی واکنش گیاهان بالغ به اتیلن محسوب گردد. زیرا همان طور که در شکل ۴ مشاهده می‌شود، تیمار نمودن گیاهان بالغ ۳۱روزه *ein2* با گاز اتیلن منجر به بروز واکنش مشابهی با گیاهچه‌های ۵ روزه در واکنش به اتیلن گردید. در این تصویر همانطور که مشاهده میشود تعدادی از برگهای گیاهان ۳۱ روزه والدینی در واکنش به ۷۲ ساعت تیمار گاز اتیلن زرد شده اند، در حالیکه درهیچ‌یک از برگهای گیاهان *ein2* علائمی از زردی مشاهده نمی‌شود. EIN2 یکی از مهمترین اجزا در مسیر سیگنالینگ اتیلن و یک تنظیم کننده مثبت در مسیر انتقال پیام اتیلن است. جهش در *EIN2* موجب عدم حساسیت موتانت ایجاد شده در مقابل اتیلن می گردد. به دنبال اختلال در مسیر سیگنالینگ اتیلن، پیام اتیلن منتقل نشده ودر نتیجه بیان ژنهای مرتبط با و متاثر از اتیلن صورت نگرفته و به دنبال آن تأخیر در فرآیند پیری رخ می‌دهد (Alonso *et al.*, 1999).

جهت بررسی دقیق‌تر تفاوت موتانت ها در زمینه واکنش به ACC، مقایسه میانگین صفات مورد توجه قرار گرفت. میانگین دو صفت طول هیپوکوتیل و ریشه‌چه برای کلیه موتانت‌ها در مقایسه با شاهد Col-0 به جز موتانت *pad4* دارای تفاوت معنی‌داری در سطوح مختلف ACC هستند (شکل ۵ و ۶). ذیلاً به بررسی تفکیکی تأثیر هر یک از موتاسیونهای فوق بر صفات اندازه‌گیری شده در گیاهچه‌های موتانت پرداخته می‌شود.

بررسی طول هیپوکوتیل و ریشه‌چه در موتانت *pad4*

مطابق با جدول ۱ فنوتیپ یکسانی در گیاهچه‌های موتانت *pad4*در مقایسه با ژنوتیپ مادری Col-0 در زمینه واکنش سه‌گانه مشاهده نمی‌شود. این تفاوت عمدتاً در قسمت چرخش در قلاب رأسی هیپوکوتیل مشاهده می‌شود، اما طول هیپوکوتیل و ریشه‌چه در موتانت *pad4* دارای تفاوت معنی داری در غلظت‌های مختلف از ACC این موتانت می باشد (جدول ۳)، ولی دارای تفاوت معنی‌داری با ژنوتیپ مادری نیست (شکل ۵ و ۶). همان طور که در جدول ۴ مشاهده می گردد نسبت تغییر طول هیپوکوتیل در گیاهچه های موتانت *pad4* (۰/۳۸) با نسبت فوق در گیاهچه‌های وحشی Col-0 (۰/۳) بسیار نزدیک می‌باشد. بنابراین موتانت *pad4* دارای علائم نسبتاً یکسان دوگانه با ژنوتیپ مادری بوده و احتمالاً می‌تواند از مسیر بیوسنتز، درک و یا سیگنالینگ اتیلن نرمالی برخوردار باشد. ژن *PAD4* برای سنتز کامالکسین که یک نوع فایتوالکسین می‌باشد در واکنش به آلودگی‌های باکتریایی و ویروسی در گیاه لازم است. محصول ژن *PAD4* یک پروتئین مشابه با تری اسیل گلیسرول لیپاز است که در سیگنالینگ سالیسیلیک اسید به منظور افزایش قدرت دفاعی گیاه نقش مهمی دارد (Jirage *et al.*, 1999). در موتانت *pad4* (*Phyto 4 Alexin-Deficient Mutant*) به دلیل افزایش تولید آنزیم تخریب کننده سالیسیلیک اسید، بنام سالیسیلات هیدروکسیلاز، مقدار تجمع سالیسیلیک اسید در سلول‌ها کاهش یافته و به دنبال آن میزان کامالکسین که در واکنش‌های دفاعی گیاهان نقش دارد، در سلول کاهش می‌یابد (Jirage *et al.*, 1999;

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2026-11-29]
[DOR: 20.1001.1.23222727.1393.3.10.7.6]

Kunkle and Brook, 2002). از آن جایی که برای سنتز کامالکسین به سالیسیلیک اسید نیاز می‌باشد، لذا احتمالاً میزان مقاومت گیاهچه‌های موتانت به دلیل کاهش میزان کامالکسین در مقابل حمله پاتوژن‌ها کاهش می‌یابد. مسیر سیگنالینگ هورمون سالیسیلیک اسید با هورمون اتیلن در گیاهان تداخل دارد (Kunkle and Brook, 2002; Leon-Reyer *et al.*, 2010). طول هیپوکوتیل و ریشه‌چه در موتانت *pad4* دارای تفاوت معنی‌داری در غلظت‌های مختلف از ACC در مقایسه با ژنوتیپ مادری نیست (شکل ۵ و ۶). اما این موتانت در مقایسه با ژنوتیپ مادری و در حضور اتیلن فاقد چرخش در هیپوکوتیل می‌باشد (جدول۱)، بنابراین احتمالاً سطوح سالیسیلیک اسید در شکل‌گیری قلاب رأسی توسط اتیلن نقش داشته است و کاهش سطح سالیسیلیک اسید در طول هیپوکوتیل و ریشه‌چه تغییری به وجود نیاورده اما مانع از چرخش قلاب رأسی شده است. لذا احتمالاً موتاسیون *pad4* روی میزان فعالیت ژنهای موثر بر شکل‌گیری قلاب رأسی مؤثر است.

بررسی طول هیپوکوتیل و ریشه‌چه در موتانت *ein2*:

همان طور که در جدول ۱ مشاهده می‌شود، فنوتیپ مشابهی در گیاهچه‌های اتیوله موتانت *ein2* و ژنوتیپ مادری Col-0 از نظر علائم سه‌گانه دیده نمی‌شود. زیرا برخلاف ژنوتیپ مادری، گیاهچه‌های موتانت *ein2* در حضور اتیلن دارای هیپوکوتیل و ریشه‌چه طویل و فاقد چرخش در قلاب رأسی می‌باشد. همچنین با توجه به شکل ۵ و ۶ طول هیپوکوتیل و ریشه چه در غلظت‌های مختلف ACC در گیاهچه‌های موتانت *ein2* در مقایسه با ژنوتیپ Col-0 از تفاوت معنی‌داری برخوردار است، در حالیکه این تفاوت در مقایسه با خودش معنی دار نیست، یعنی در گیاهچه‌های این موتانت طول هیپوکوتیل و ریشه‌چه در غلظت‌های مختلف ACC تقریبا یکسان می‌باشد (جدول۳). همان طور که در جدول ۴ مشاهده می‌گردد، نسبت تغییر طول هیپوکوتیل در گیاهچه های موتانت *ein2* (۰/۹۹) با نسبت فوق در گیاهچه‌های وحشی Col-0 (۰/۳) بسیار متفاوت می‌باشد. علاوه بر این، تیمار نمودن گیاهان بالغ ۳۱روزه *ein2* با گاز اتیلن بطور چشمگیری منجر به تأخیر فرآیند پیری (Leaf Senescence) در مقایسه با گیاهان وحشی که فاقد موتاسیون *ein2* است می‌گردد (شکل ۴). همانطور که قبلاً ذکر شد، وظیفه اصلی ژن *EIN2* کد کردن یک پروتئین داخل غشایی می‌باشد، که تنظیم کننده مثبت در مسیر انتقال پیام اتیلن است. خصوصیت تأاخیر پیری در گیاهان جهش یافته *ein2* با افزایش حساسیت به برخی پاتوژنها همراه است. در واقع کاهش حساسیت به اتیلن در برخی گیاهان منجر به افزایش امکان حمله پاتوژن‌ها می‌شود (Thommas *et al.*, 1999; Van loon *et al.*, 2006). احتمالاً این نتایج به دلیل تأثیر موتاسیون در مسیر بیوسنتز و یا سیگنالینگ اتیلن در این موتانت می‌باشد. اما با توجه به جدول ۳ طول هیپوکوتیل و ریشه‌چه در موتانت های *ein2* در غلظت‌های مختلف ACC هیچ تفاوت معنی‌داری را نشان نمی‌دهد و این بدان معنی است که گیاهچه‌های موتانت *ein2* به تیمار اتیلن، حساسیت و واکنشی ندارند. همانطور که در جدول ۱ مشاهده می‌شود فنوتیپ واکنش سه گانه در گیاهچه‌های موتانت *ein2* با علائم گروه موتانت‌های *ein* مشابه می‌باشد. در گیاهان موتانت، پروتئین EIN2 به عنوان مهمترین جزء در مسیر سیگنالینگ اتیلن دچار تغییر شده است و در نتیجه پیام اتیلن منتقل نمی‌شود و گیاه حساسیتی به حضور اتیلن نشان نخواهد داد. موتانت *ein2* یک فنوتیپ فاقد حساسیت به اتیلن (Ethylene insensistive phenotype) می باشد. EIN2 به عنوان یکی از اجزای مهم و ضروری در مسیر سیگنالینگ اتیلن، بین اجزای CTR1 و EIN3/EIL قرار گرفته و تنظیم‌کننده مثبت در این مسیر می‌باشد (Alonso *et al.*, 1999). اتصال اتیلن به گیرنده‌های این هورمون موجب غیر فعال شدن گیرنده‌ها شده و غیر فعال شدن گیرنده‌ها منجر به غیر فعال شدن CTR1 می‌گردد. CTR1 تنظیم کننده منفی در مسیر سیگنالینگ اتیلن بوده و با اتصال اتیلن به گیرنده‌ها، CTR1 غیر فعال می‌شود، سپس EIN2 به عنوان یکی از اجزای مهم در سیگنالینگ اتیلن، شروع به فعالیت می‌کند. EIN2 تنظیم کننده مثبت در این مسیر بوده و موجب فعال‌سازی یکسری از فاکتورهای رونویسی بنام EIN3/EIL شده و در نهایت موجب بیان ژن‌های مرتبط با اتیلن می‌گردد (Wang *et al.*, 2002). احتمالاً موتاسیون در جایگاه EIN2 مانع از انتقال پیام اتیلن به

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2026-11-29]

[DOR: 20.1001.1.23222727.1393.3.10.7.6]

جدول ۳- تجزیه واریانس طول هیپوکوتیل و ریشه‌چه در ژنوتیپ‌های Col-0، ein2، jar1 ، NahG، pad4 و edr1 در سطوح مختلف ACC به روش برش‌دهی

ژنوتیپ	درجه آزادی	SS		MS		F	
		طول هیپوکوتیل	طول ریشه‌چه	طول هیپوکوتیل	طول ریشه‌چه	طول هیپوکوتیل	طول ریشه‌چه
Col-0	۴	۸۶/۲۷۵	۱۲۵/۶۵۹	۲۱/۵۶۸	۳۱/۴۱۴	۷۴/ ۹۵**	۲۱۵/ ۱۷**
ein2	۴	۲/۰۴۴	۲/۸	۰/۵۱۱	۰/۷۴	۱/۷۸^{ns}	۱/۸^{ns}
jar1	۴	۸۴/۴۴۲	۷۰/۹۶۰	۲۱/۱۱۰	۱۷/۵۲	۷۳/۳۶**	۱۲۰/۰۳**
NahG	۴	۲۰/۴۷۹	۱۰۸/۰۹۷	۵/۱۱۹	۲۷/۰۲۴	۱۷/۷۹**	۱۸۵/۱۰**
pad4	۴	۸۳/۸۸۶	۱۰۹/۹۷	۲۰/۹۷۱	۲۷/۴۹۲	۷۲/۸۷**	۱۸۸/۳۱**
edr1	۴	۱۲۴/۰۲۵	۷۵/۶۴۶	۳۱/۰۰۶	۱۸/۹۱۱	۱۰۷/۴۷**	۱۲۹/۵۳**

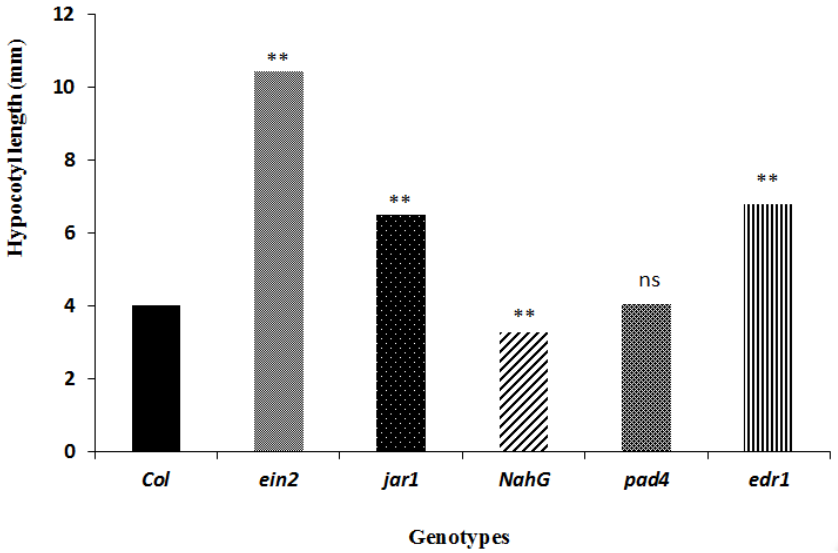
** به مفهوم معنی دار بودن تفاوت داده ها در سطح ۱٪

سایر اجزای مسیر انتقال پیام اتیلن شده و در نهایت منجر به عدم حساسیت در حضور تیمار اتیلن و اتیلن داخل سلولی می‌شود.

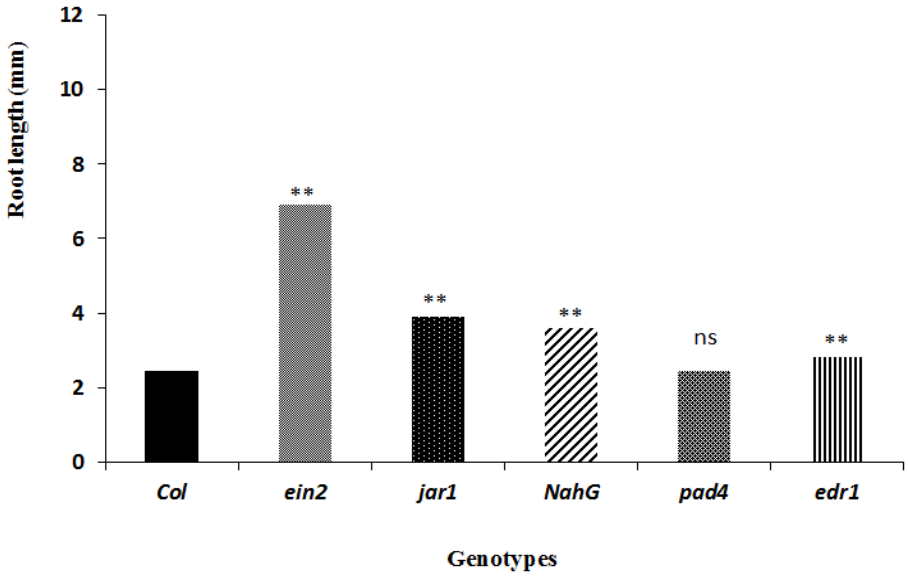
بررسی طول هیپوکوتیل و ریشه‌چه در موتانت *edr1*: طبق جدول ۱ علائم کاملا یکسانی در موتانت *edr1* و ژنوتیپ مادری Col-0 از نظر علائم سه‌گانه دیده نمی‌شود. زیرا موتانت *edr1* در حضور اتیلن فاقد چرخش در قلاب رأسی می‌باشد. مطابق با شکل۲ و ۳ موتانت *edr1* از نظر طول هیپوکوتیل و ریشه‌چه دارای تفاوت معنی‌داری با خودش در سطوح مختلف ACC و با ژنوتیپ مادری Col-0 میباشد(شکل۵ و ۶ –جدول ۳). همانطور که در جدول ۴ مشاهده میگردد، نسبت تغییر طول هیپوکوتیل در گیاهچه های موتانت *edr1* (۰/۴) با نسبت فوق در گیاهچه های وحشی Col-0 (۰/۳) متفاوت میباشد. بنابراین احتمالاً این موتانت از وضعیت متفاوتی در زمینه مسیر بیوسنتز، درک و سیگنالینگ اتیلن در مقایسه با ژنوتیپ مادری برخوردار است. ژن *EDR1* (*ENHANCED DISEASE RESISTANCE1*) یک پروتئین کیناز مشابه CTR1 را کد می کند (Tang *et al.*, 2005). این کیناز تنظیم کننده منفی در فرایند مقاومت به بیماری و پیری القا شده توسط اتیلن است، لذا پیری در گیاهان موتانت *edr1* در واکنش به تیمار اتیلن تسریع و مقاومت در گیاه علیه بیماری سفیدک پودری افزایش می‌یابد (Dingzhong and Innes, 2002). افزایش مقاومت در گیاهان موتانت به علت افزایش القای سالیسیلیک اسید رخ داده است. واکنش دفاعی گیاهان علیه حمله میکروبی از طریق شبکه ی پیچیده‌ای از مسیرهای سیگنالینگ که شامل سیگنالینگ سالیسیلیک اسید، جاسمونیک اسید و اتیلن هستند، صورت می گیرد. این تداخل (Cross talk) موجب القا واکنش دفاعی گیاهان در ارتباط با مسیرهای سیگنالینگ مختلف می‌گردد (Tang *et al.*, 2005; Kunkle and Brook, 2002). وجود تفاوت معنی‌دار در روند تغییر طول هیپوکوتیل و ریشه چه بین موتانت *edr1* و ژنوتیپ مادری Col-0 نشان داد که این موتاسیون بر مسیر بیوسنتز، درک یا انتقال پیام اتیلن نیز تأثیرگذار بوده و آنرا تغییر داده است. احتمالاً عملکرد ژن EDR1 در مسیر تداخل بین سیگنالینگ اتیلن و سالیسیلیک اسید که در مرگ سلولی و پیری دخالت دارند، صورت می گیرد. به همین دلیل نیز تغییر در سطح سالیسیلیک اسید موجب تغییر در مسیر بیوسنتز اتیلن می‌شود. همچنین می‌توان نتیجه گرفت که احتمالاً افزایش درسطح سالیسیلیک اسید موجب ایجاد تغییر در مسیر بیوسنتز و سیگنالینگ اتیلن خواهد شد.

بررسی طول هیپوکوتیل و ریشه‌چه در موتانت *jar1*: مطابق با جدول ۱ در موتانت *jar1* و ژنوتیپ مادری Col-0 از نظر علائم سه‌گانه، فنوتیپ یکسانی دیده نمی‌شود. مطابق با شکل ۲ و ۳ موتانت *jar1* از نظر طول هیپوکوتیل و ریشه‌چه دارای تفاوت معنی‌داری در سطوح مختلف ACC و همچنین با

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2026-11-29]
[DOR: 20.1001.1.23222727.1393.3.10.7.6]



شکل ۵- مقایسه میانگین طول هیپوکوتیل در کلیه غلظت‌های مختلف ACC در هر یک از موتانت‌های ein2، jar1، NahG، pad4 و edr1 با شاهد Col-0 با استفاده از آزمون LSD در سطح ۱٪ (= تفاوت معنی‌دار ns = تفاوت بی‌معنی).**



شکل ۶- مقایسه میانگین طول ریشه‌چه در کلیه غلظت‌های مختلف ACC در هر یک از موتانت‌های ein2، jar1 ، NahG، pad4 و edr1 با شاهد Col-0 با استفاده از آزمون LSD در سطح ۱٪ (= تفاوت معنی‌دار ns = تفاوت بی‌معنی).**

ژنوتیپ مادری Col-0 میباشد(شکل های ۵ و ۶ و جدول ۳). همانطور که در جدول ۴ مشاهده میگردد، نسبت تغییر طول هیپوکوتیل در گیاهچه های موتانت *jar1* (۰/۴۴) با نسبت فوق در گیاهچه های وحشی Col-0 (۰/۳) متفاوت می‌باشد. در نتیجه احتمالاً این ژنوتیپ دچار نقص در یکی از مسیرهای بیوسنتز، درک یا سیگنالینگ اتیلن می‌باشد و این می‌تواند به معنای تأثیر موتاسیون بر مسیر بیوسنتز، درک یا سیگنالینگ اتیلن در گیاهچه‌های موتانت *jar1* باشد. پروتئین *Jar1* (*Acid* response *Jasmonic 1*) *JAR1* از جمله ژن‌های موثر بر واکنش گیاه به سیگنالینگ جاسمونیک است. میزان حساسیت گیاهچه های موتانت *jar1* به جاسمونیک اسید و متیل جاسمونیت به دلیل نقص آنزیمی JAR1 کاهش یافته و در

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2026-11-29]
[DOR: 20.1001.1.23222727.1393.3.10.7.6]

جدول ۴- نسبت تغییر طول هیپوکوتیل در گیاهچه های موتانت و والد حشی Col-0 (تیمار شده با ۱۰ میکرومولار ACC) به طول هیپوکوتیل در این گیاهچه در محیط غذایی فاقد ACC.

Mutant	ACC (0µM)	ACC (10µM)	Ratio
Col-0	۸/۶۶ + ۰/۲	۲/۶۶ + ۰/۳	۰/۳
ein2	۱۰/۲ + ۰/۴	۱۰/۱ + ۰/۳	۰/۹۹
Jar1	۱۱ + ۰/۳۵	۴/۹ + ۰/۲	۰/۴۴
NahG	۴/۷۲ + ۰/۷	۳/۶ + ۰/۲	۰/۷۶
PAD4	۸/۸۳ + ۰/۴	۳/۳۶ + ۰/۲	۰/۳۸
edr1	۱۲/۵ + ۰/۲	۵ + ۰/۲	۰/۴

نتیجه واکنش دفاعی در گیاهان موتانت علیه پاتوژن‌ها دچار ضعف می‌شود (Staswick and Tiryaki, 2004). بنابراین این موتانت در مقابل حمله پاتوژن‌ها حساسیت بیشتری دارد. از طرف دیگر مقدار این هورمون در گیاهان در هنگام پیری در برگ‌ها افزایش یافته و بیان ژن‌های مرتبط با فتوسنتز را کاهش می‌دهد (He *et al.,* 2002). از آنجایی که مسیر پیام رسانی سالسیلیک اسید، جیبرلیک اسید و اتیلن در سیستم دفاعی گیاهان اثر متقابل و تداخلی بر هم دارند (Tang *et al.,* 2005; Kunkle and Brook, 2002)، در گیاهچه‌های موتانت *jar1* نیز ایجاد موتاسیون و تغییر مقاومت در گیاهان موتانت علیه پاتوژن‌ها و کاهش مقدار جیبرلیک اسید فعال در گیاه، به مسیر بیوسنتز، درک یا سیگنالینگ اتیلن آسیب وارد کرده است. احتمالاً موتانت‌هایی که در آنها سطح یکی از هومون‌های اتیلن، سالیسیلیک اسید و جیبرلیک اسید دچار تغییر شده است، برای فعال‌سازی مسیر پیام رسانی سایر هورمون‌ها تغییر حساسیت می‌دهند. موتانت *edr1* و *jar1* به ترتیب در القای سالیسیلیک اسید و جاسمونیک اسید دچار اختلال وتغییر شده‌اند که این می‌تواند با توجه به وابستگی مسیر سیگنالینگ اتیلن به مسیر سیگنالینگ SA و JA در واکنش موتانت‌ها به اتیلن تغییر ایجاد کند. بنابراین می‌توان نتیجه گرفت برای داشتن مسیر بیوسنتز، درک و انتقال پیام مناسب و فعال برای هورمون اتیلن در گیاهان، به فعالیت نرمال و صحیح مسیر انتقال پیام دو هورمون سالیسیلیک اسید و جیبرلیک اسید نیاز است (Wang *et al.*, 2002; Kunkle and Brook, 2002).

بررسی طول هیپوکوتیل و ریشه‌چه در موتانت *NahG*:

همان طور که در جدول ۱ مشاهده می‌شود، در موتانت *NahG* و ژنوتیپ مادری Col-0 از نظر فنوتیپ واکنش سه‌گانه علائم یکسانی دیده نمی‌شود. مطابق با شکل ۲ و ۳ موتانت *NahG* از نظر طول هیپوکوتیل و ریشه‌چه دارای تفاوت معنی‌داری در سطوح مختلف ACC در مقایسه با خود و با ژنوتیپ مادری Col-0 میباشد(شکل‌های ۵ و ۶ و جدول ۳). همانطور که در جدول ۴ مشاهده میگردد، نسبت تغییر طول هیپوکوتیل در گیاهچه های موتانت *NahG* (۰/۷۶) با نسبت فوق در گیاهچه های وحشی Col-0 (۰/۳) بسیار متفاوت میباشد. در نتیجه احتمالاً این ژنوتیپ دچار نقص در یکی از مسیرهای بیوسنتز، درک یا سیگنالینگ اتیلن می‌باشد. گیاهان ترانسژنیک *Arabidopsis* که دارای ژن *NahG* از منبع باکتریایی هستند در اثر بیان مضاعف این ژن، آنزیم سالیسیلات هیدروکسیلاز را با مقادیر بیشتری تولید می‌کنند. این آنزیم می‌تواند سالیسیلیک اسید را متابولیزه نماید. سالیسیلات هیدروکسیلاز مانع تجمع SA (سالیسیلیک اسید) در هنگام حمله‌ی پاتوژن شده و در نتیجه قدرت دفاعی گیاه را کاهش می‌دهد. این هورمون علاوه بر تأثیر در سیستم دفاعی گیاه، بیان برخی از ژن‌های مرتبط با پیری را نیز تنظیم می‌کند(Lawton *et al,* 1995). همانطور که قبلا اشاره شد، اثر متقابل و تداخلی هورمون‌های سالیسیلیک اسید، جیبرلیک اسید و اتیلن موجب می‌شود که تغییر در سطح یکی از هورمون‌ها در مسیر انتقال پیام سایر هورمون‌ها نیز تغییر ایجاد شود. نکته قابل توجه در خصوص موتانت *NahG* اینست

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2026-11-29]
[DOR: 20.1001.1.23222727.1393.3.10.7.6]

که بر خلاف موتانت *pad4* که با کاهش سطح سالیسیلیک اسید توسط آنزیم سالیسیلات هیدروکسیلاز، تفاوت معنی‌داری در این ژنوتیپ از نظر طول ریشه‌چه و هیپوکوتیل با ژنوتیپ مادری مشاهده نمی شود. در گیاهچه‌های موتانت *NahG* با وجود کاهش سطح سالیسیلیک اسید توسط آنزیم سالیسیلات هیدروکسیلاز، تفاوت معنی‌داری از نظر طول هیپوکوتیل و ریشه‌چه با ژنوتیپ مادری نشان می‌دهد (شکل۳ و ۴). تفاوت معنی‌دار طول هیپوکوتیل و ریشه‌چه در موتانت *NahG* با صفات فوق در ژنوتیپ مادری احتمالاً بعلت اثرات ورود ژن جدید بوده است.

نتیجه‌گیری:

در این تحقیق بررسی سه صفت طول هیپوکوتیل، طول ریشه چه و چرخش قلاب رأسی تحت عنوان واکنش سه گانه به منظور بررسی تأثیر فعالیت ژن‌های مختلف بر مسیر بیوسنتز، درک و انتقال پیام اتیلن در گیاهچه‌های موتانت *ein2*، *jar1*، *NahG*، *pad4* و *edr1* در حضور و عدم حضور اتیلن مورد بررسی و با واکنش گیاهچه های مادری *Col*-0 مقایسه شد. در این گروه هیچ‌کدام از ژنوتیپ‌ها فنوتیپ سه‌گانه کاملا یکسانی با ژنوتیپ مادری در حضور و عدم حضور تیمار اتیلن نشان ندادند و فقط ژنوتیپ *pad4* از نظر طول هیپوکوتیل و ریشه‌چه تفاوتی با ژنوتیپ مادری خود نداشته است و سایر ژنوتیپ‌ها دارای تفاوتی معنی‌دار با ژنوتیپ مادری در این گروه بوده‌اند. لذا وقوع موتاسیون در ژنهای متفاوت در گیاهان جهش یافته مورد بررسی موجب ایجاد اثرات متفاوتی در زمینه واکنش گیاهان موتانت به اتیلن می‌گردد.

منابع:

Alonso, J., Hirayama, T., Roman, G., Nourizadeh S., and Ecker, J. R. (1999) EIN2, a bifunctional transducer of ethylene and stress responses in *Arabidopsis*. Science 284: 2148-2152.

Dalcin, V., Rizzini, F., Botton, A., and Tonutti. P. (2006) The ethylene biosynthetic and signal transduction pathways are differently affected by 1-MCP in apple and peach fruit. Postharvest Biology and Technology 42: 125-133

Guzman, P and Ecker, J. R. (1990) Exploiting the triple response of arabídopsís to identify ethylene-relatedmutants. Plant Cell 2: 513-523.

He, Y., H. Fukushige, D. Hildebrand and Gan, S. (2002) Evidence supporting a role of jasmonic acid in arabidopsis leaf senescence. Plant Physiology 128: 876-884.

Jirage, D., Tootle, T., Linea, T., Forest, L. N., Fart, B., Parker, J. and Ausuble, F. (1999) Arabidopsis thaliana PAD_4 encodes a lipase-like gene that is important for salicylic acid signaling. PNAS 96: 13583-13588.

Kunkle, B and Brook, D. (2002) Cross talk between signaling pathways in pathogen defense. Plant Biology 5:325-331.

Lawton, K., Waymann, K., Friedrich, L., Vernooji B., Uknes, S., and Ryals, J. (1995) Systemic acquired resistance in Arabidopsis requires salicylic acid but not ethylene. Molecular Plant Microbe Interaction 8:863-70.

Leon-Reyer, A., Du, Y., Koorneef, A., Proietti, S., Korbes, A., Memelink, J., Pieters, C., and Ritsem, T. (2010) Ethylen signaling renders the jasmonate response of *Arabidopsis* insensitive to future suppression by salicylic acid. Molecular Plant – Microbe Intractions 23: 187-197.

Li, H and Guo, H. (2007) Molecular basis of the ethylene signaling and response pathway in Arabidopsis. Plant Growth Regulation 26:106-117.

Ma, B., M. Sui, H. Sun, K. Takada, H. Mori, H. Kamada and H. Ezora. (2006) Subcellular localization and membrane topology of the melon ethylene receptor CmERS1. Plant Physiology 141:587–597.

Neljubow, D. N. (1901) Über die horizontale *Nutation* der Stengel von *Pisum sativum* und einiger anderer Pflanzen. Beitrage und Botanik Zentralblatt 10: 128-139.

Olmedo, G., Goue, H., Gregory, B., Nourizadeh, S., Aguilar- Henonin, L., Li, H., An, F., Guzman, P. and Ecker, J. (2006) Ethylen-insensisitive5 encodes a 5′ → 3′ exoribonuclease required for regulation of the EIN3- targeting F-box proteins EBF1/2. PNAS 36: 13286-13293.

Omalley, RC., F. Rodriguez, J. Esch, B. Binder, P. ODonnel, H. Klee and A. Bleecker. (2005) Ethylene-binding activity, gene expression levels, and receptor system output for ethylene receptor family members from *Arabidopsis* and Tomato. Plant Journal 41:651–659

Shirzadian-Khorramabad, R., Jing, H. C., Hille, J. and Dijkwel, P. P. (2010) Identification of *Arabidopsis* stay-green mutants with a functional ethylene-response pathway. In: Agronomy Society of New Zealand Special Publication No. l3 / Grassland Research and Practice No. 14: 119-130.

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2026-11-29]

[DOR: 20.1001.1.23222727.1393.3.10.7.6]

Thomma, B. P. H., Nelissen, I., Eggermont, K. and Broekaert, W. F. (1999) Deficiency in phytoalexin production causes enhanced susceptibility of *Arabidopsis thaliana* to the fungus *Alternaria brassicicola*. Plant Journal 19: 163-171.

Wang, K., Li, H. and Ecker, J. (2002) Ethylene biosynthesis and signaling networks. Plant Cell S131-S151.

Zhou, N., Tootle, T., Tsue, F., Klessing, D. and Glazbrook, j. (1998) PAD4 Functions upstream from salicylic acid to control defense responses in Arabidopsis. Plant Cell 10: 1021–1030.

Stepanova, A and Ecker, J. R. (2000) Ethylene signaling: from mutants to molecules. Plant Biology 3:353-360.

Staswick, P. and Tiryaki, I. (2004) The oxylipin signal jasmonic acid is activated by an enzyme that conjugates it to isoleucine in *Arabidopsis*. Plant Cell 16: 2117-2127.

Tang, D., Christiansen, K. and Innes, R. (2005) Regulation of plant disease resistance, stress responses, cell death, and ethylene signaling in Arabidopsis by the EDR1 protein kinase. Plant Physiology 138: 1018–1026.

Van loon, L., Geraats, P., and Linthorst, H. (2006) Ethylene as a modulator of disease resistance in plants. Plant Science 11: 184-191.

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2026-11-29]

[DOR: 20.1001.1.23222727.1393.3.10.7.6]