پاسخ‌های فیزیولوژیکی و فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی در گیاهچه‌های شاهی تحت تنش متیل‌ایزوتیوسیانات

فریناز فرزادنژاد[۱]، رویا رضوی زاده[۱*] و لیلا شبانی [۲]

[۱]گروه زیست شناسی، دانشگاه پیام نور، تهران- ایران صندوق پستی۳۶۹۷-۱۹۳۹۵ و[۲]گروه زیست شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه شهرکرد

(تاریخ دریافت: ۱۳۹۲/۰۳/۲۲؛ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۲/۰۴/۳۰).

چکیده:

یکی از آسیب‌های مهم بافتی که به دنبال قرارگیری گیاهان در معرض تنش به وجود می‌آید، ایجاد تنش اکسیداتیو است. در این پژوهش اثر سطوح مختلف متیل‌ایزوتیوسیانات بر برخی پارامترهای بیوشیمیایی و میزان فعالیت سه آنزیم آنتی‌اکسیدان آسکوربات‌پراکسیداز، کاتالاز و گایاکول‌پراکسیداز در گیاهچه شاهی در شرایط در شیشه بررسی شده است. بذرهای گیاه شاهی بعد از ضدعفونی در محیط کشت MS کشت گردیدند. پس از یک دوره رشد ۲۰ روزه، گیاهچه‌ها در شرایط استریل با غلظت های صفر، ۰/۰۱، ۰/۱ و ۱ میلی‌مولار متیل‌ایزوتیوسیانات به‌مدت ۳ روز تیمار گردیدند. نتایج به دست آمده نشان داد که میزان کلروفیل a، کلروفیل b، کلروفیل کل، کاروتنوئید و میزان پروتئین در گیاهچه‌های تحت تنش کاهش معنی‌داری داشته است. در حالیکه تنش ایزوتیوسیانات مقادیر قندهای احیاکننده، پرولین، آنتوسیانین و همچنین فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان را افزایش داده است. به نظر می‌رسد متیل‌ایزوتیوسیانات باعث ایجاد تنش اکسیداتیو و فعال شدن پارامترهای دفاعی در گیاه شده است. بیشترین و کمترین میزان تأثیر به ترتیب در غلظت ۱ میلی‌مولار و ۰/۰۱ میلی‌مولار متیل‌ایزوتیوسیانات مشاهده شد.

کلمات کلیدی: تنش اکسیداتیو، کشت درون شیشه، متیل‌ایزوتیوسیانات.

مقدمه:

در درون سلول هیدرولیز گلیکوزینولات‌ها توسط آنزیم میروزیناز (تیوگلوکوزید گلوکوهیدرولاز)، طیفی از محصولات که مهم‌ترین آن‌ها ایزوتیوسیانات‌ها هستند را به‌وجود می‌آورد. اخیراً مطالعات بیوشیمی و ژنتیکی صورت گرفته روی گیاه مدل آرابیدوپسیس، مسیر بیوسنتز گلیکوزینولات‌ها را از پیش‌ماده آمینواسیدی تائید کرده است. گلیکوزینولات‌ها در تمام سلول‌ها (در واکوئل) در غلظت‌های مختلف و در تمام اندام‌های خانواده شب‌بویان موجود می‌باشند و آنیون‌های آلی حاوی D-β تیوگلوکز و اکسیم‌های سولفونه شده هستند که گروه مهم و منحصر به فردی از متابولیت‌های ثانویه را در بذرها، ریشه‌ها، ساقه‌ها و برگ‌های گیاهان تشکیل می‌دهند. زمانی که گلوکوزینولات‌ها و آنزیم میروزیناز در مجاورت یکدیگر قرار می‌گیرند (پس از آسیب مکانیکی یا زخم) آنزیم در حضور آب به سرعت باعث هیدرولیز ترکیبات گلوکوزینولاتی می‌شود. محصولات هیدورلیز شامل یک بخش آگلیکون، گلوکز و سولفات می‌باشد. بخش آگلیکون

*نویسنده مسؤل، نشانی پست الکترونیکی: Razavi.roya@gmail.com

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2024-11-09]

[DOR: 20.1001.1.23222727.1392.2.5.4.6]

ناپایدار است و برای تشکیل ایزوتیوسیانات‌ها، تیوسیانات ها، نیتریل‌ها، اکسازولیدین تیون‌ها، اپی تیو نیتریل‌ها بسته به ساختار گلوکوزینولات‌ها و شرایط واکنش باز آرایی می‌شوند. ایزوتیوسیانات‌ها دارای گروه عاملی N=C=S هستند. از آنجایی که ایزوتیوسیانات‌ها با گروه‌های آمینو و سولفیدریل پپتیدها واکنش می‌دهند، این احتمال وجود دارد که بر عملکردهای پپتیدها تأثیر بگذارند (Yan and Chen, 2007). بسیاری از ایزوتیوسیانات‌های طبیعی در گیاهان از تغییرات شیمیایی ایجاد شده توسط گلیکوزینولات‌ها حاصل می‌شوند. ایزوتیوسیانات‌های طبیعی همچون آلیل ایزو تیو سیانات‌ها به عنوان عوامل طعم‌دهنده، معطرکننده و قارچ‌کش به کار می‌روند (Yan and Chen, 2007). این ترکیبات دارای طیف وسیعی از فعالیت‌های زیستی شامل فعالیت‌های آنتی‌اکسیدان، آنتی‌باکتریال، ضدقارچ، ضدنماتد و ضد حشره هستند (Yan and Chen, 2007). ایزوتیوسیانات‌ها ترکیباتی بسیار واکنش‌پذیر هستند، بنابراین باعث ایجاد واکنش‌های اکسیداتیو در گیاه شده و اکسیژن فعال تولید می‌کنند (Yan and Chen, 2007). در حقیقت این ترکیبات نقش دوگانه دارند، در غلظت بالا اثرات سمی روی سلول دارند (Hara *et al.*, 2010). ولی در غلظت‌های پایین‌تر به‌طور غیرمستقیم باعث دفاع سلولی می‌شوند. ویتامین C، ویتامینE و کاروتنوئیدها آنتی اکسیدان‌های مستقیم هستند به صورتی که رادیکال‌های آزاد را قبل از آنکه به سلول‌ها آسیب برسانند خنثی می‌کنند. گلوکوزینولات‌ها و محصولات هیدرولیزشان به عنوان آنتی‌اکسیدان‌های غیرمستقیم در نظر گرفته می‌شوند، به دلیل اینکه آنها رادیکال‌های آزاد را مستقیماً خنثی نمی‌کنند، بلکه از طریق تنظیم فعالیت آنزیم‌های متابولیزه کننده زنوبیوتیک (آنزیم های فاز I و فاز II که فعالیت آنتی اکسیدان تأخیری را راه‌اندازی می‌کنند) عمل می‌کنند. آنزیم‌های فاز I (ستیوکروم P450) و آنزیم فاز II (گلوتاتیون اس ترانسفراز، آلدهیدردوکتاز، S- میتل ترانسفراز، N- استیل ترانسفراز) هستند.

تنش‌ها به طور معمول انتقال الکترون سلولی را در محفظه‌های مختلف درون سلولی مختل و منجر به تولید گونه‌های اکسیژن فعال (ROS) می‌شوند. یکی از آسیب-های مهم بافتی که به دنبال قرارگیری گیاهان در معرض تنش ایجاد می‌شود، افزایش تجمع انواع مختلف اکسیژن‌های واکنش‌گر و ایجاد تنش اکسیداتیو می‌باشد. بسیاری از فرایندهای متابولیکی تولید گونه‌های اکسیژن فعال می‌نماید. سلول‌های گیاهی و اندامک‌های آن‌ها مثل کلروپلاست، میتوکندری و پراکسی‌زوم برای محافظت از خود در برابر این اکسیژن سمی از سیستم‌های دفاع آنتی‌اکسیدانی استفاده می‌کنند (Corpas *et al.*, 2001). به نظر می‌رسد توانایی گیاهان عالی در جاروب کردن رادیکال‌های سمی اکسیژن، عامل بسیار مهمی برای تحمل به تنش‌های محیطی باشد. آزمایشات انجام شده در شرایط در شیشه نشان داده است که بسیاری از آنزیم‌ها و ترکیبات ثانویه، گیاهان را در برابر آسیب‌های اکسیداتیو محافظت می‌کنند. بررسی آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانی و تعیین میزان فعالیت آن‌ها یکی از فاکتورهای تعیین‌کننده در تقویت سیستم آنتی‌اکسیدانی و در نتیجه کاهش یا افزایش مقاومت گیاه به تنش‌های محیطی است (Corpas *et al.*, 2001).

با وجود چندین گزارش روی ترکیبات ایزوتیوسیانات، مکانیسم فیزیولوژیکی گیاه در برابر انواع این ترکیبات به‌طور کامل مشخص نیست (Hara *et al.*, 2010; Khokon *et al.*, 2011). به این منظور در این تحقیق تأثیر متیل ایزوتیوسیانات بر پاسخ‌های فیزیولوژیکی و فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان کاتالاز، آسکوربات‌پراکسیداز و گایاکول‌پراکسیداز در گیاهچه‌های شاهی مورد مطالعه قرار گرفت. تره‌تیزک (شاهی) گیاهی خوراکی از تیره شب‌بویان و با نام علمی (*Lepidium sativum* L.) می‌باشد. گیاهی یکساله که برگ‌های بدون کرک و بدون دندانه آن به مصرف تغذیه انسان می‌رسد (Sheel and Agarwal, 2010). با توجه به اینکه گیاهان برای پاسخ به تنش‌ها از چندین مکانیسم بهره می‌گیرند، انجام این پژوهش برای بررسی نقش مؤثر

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2024-11-09]

[DOR: 20.1001.1.23222727.1392.2.5.4.6]

ترکیبات ایزوتیوسیانات به‌کار رفته در القای پاسخ‌های دفاعی از طریق سیستم آنتی‌اکسیدانی گیاه و یافتن مناسب ترین غلظت این ترکیبات می‌باشد.

مواد و روش‌ها:

موادگیاهی: بذرهای گیاه شاهی (*Lepidium sativum* L.) از شرکت پاکان بذر اصفهان تهیه گردید. بذرها با آب مقطر شستشو و سپس با اتانول ۷۰٪ به مدت ۱ دقیقه و محلول ۲۰ درصد هیپوکلریت سدیم به مدت ۲۰ دقیقه ضدعفونی شدند. تعداد ۲۰ بذر شاهی در ظروف کشت حاوی محیط کشت MS کشت گردید و سپس محیط‌های کشت حاوی بذر به مدت ۲۰ روز در اتاق کشت با دوره نوری ۱۶ ساعت روشنایی و ۸ ساعت تاریکی، دمای ۲۵±۲ °C و رطوبت ۹۸-۹۵٪ نگهداری شدند.

امولسیون آبی متیل ایزوتیوسیانات در غلظت‌های صفر، ۰/۰۱، ۰/۱ و ۱ میلی‌مولار تهیه گردید و سپس در شرایط استریل (کابینت لامینار ایرفلو) با استفاده از سرنگ استریل روی گیاهچه ها درون ظروف کشت تیمار گردید. گیاهان تیمار شده با ایزوتیوسیانات مجدداً به مدت ۳ روز در شرایط اتاق کشت نگهداری شدند (Hara *et al*., 2010). پس از ۳ روز گیاهچه‌ها در نیتروژن مایع منجمد شدند و در فریزر ۸۰- درجه سانتی‌گراد نگهداری شدند و برای اندازه‌گیری پارامترهای فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی استفاده گردیدند.

اندازه‌گیری میزان کلروفیل و کاروتنوئید: بر اساس این روش ۰/۰۵ گرم برگ تر وزن شد و در هاون چینی حاوی ۵ میلی‌لیتر استن ۸۰ درصد سائیده شد. محتوای هاون با کاغذ صافی که در قیف شیشه‌ای قرار داشت صاف گردید. سپس ۱۰ میلی‌لیتر استن به آن اضافه شد. حجم محلول به ۱۵ میلی‌لیتر رسانده شد. این محلول حاوی کلروفیل a، b و کاروتنوئید است. ۳ میلی‌لیتر از عصاره نمونه ها در کووت ریخته شد و شدت جذب آنها در طول موج‌های ۶۴۶/۸، ۶۶۳/۲۰ و ۴۷۰ نانومتر با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر خوانده شد(Lichtenthaler, 1987). نتایج حاصل از اندازه گیری مقدار رنگیزه‌های فتوسنتزی بر حسب میلی گرم بر گرم وزن تر محاسبه و ارائه شد.

سنجش میزان آنتوسیانین: در این روش ابتدا ۰/۰۵ گرم برگ گیاه را با ترازو وزن کرده سپس با ۲/۵ سی‌سی متانول اسیدی (۹۹ سی‌سی متانول و ۱سی‌سی اسید کلریدریک) سائیده شد. در استوانه مدرج حجم کل عصاره به ۲/۵ سی‌سی رسانده شد. عصاره در لوله‌های آزمایش سرپیچ‌دار ریخته و به مدت ۲۴ ساعت در تاریکی و در دمای ۲۵ درجه قرار گرفت و سپس به مدت ۱۰ دقیقه با سرعت ۴۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفوژ و با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر جذب در طول موج ۵۵۰ نانومتر خوانده شد (Wagner, 1979). برای محاسبه غلظت، ضریب خاموشی ۳۳۰۰۰ سانتی‌متر بر مول در نظر گرفته شد و نتایج بر حسب میکرومول بر گرم وزن تر محاسبه گردید.

اندازه‌گیری مقدار پرولین: مقدار پرولین در برگ‌ها و ریشه به روش Bate و همکاران (۱۹۷۳) اندازه‌گیری شد. مطابق این روش ۰/۰۲ گرم از بافت تازه برگ و ریشه توزین گردید و هر نمونه جداگانه با ۱۰ میلی‌لیتر اسید سولفوسالسیلیک ۳ درصد در هاون چینی سائیده شد. پس از سانتریفیوژ و افزودن معرف نین هیدرین و اسید استیک خالص به محلول رویی، نمونه ها در بن ماری به مدت یک ساعت قرار داده شدند. با افزودن تولوئن به نمونه ها و جداسازی محلول رویی، شدت جذب محلول‌ها در طول موج ۵۲۰ نانومتر خوانده شد. سپس با استفاده از منحنی استاندارد، غلظت پرولین بر حسب میکرو مول بر گرم وزن تر محاسبه و گزارش گردید.

سنجش میزان قندهای احیاکننده: ۰/۰۵ گرم از بافت تر برگ و ریشه توزین شد و هر نمونه با ۱۰ میلی‌لیتر آب مقطر در هاون چینی سائیده شد. مقدار قندهای احیاکننده در برگ و ریشه به روش Somogyi-Nelson (۱۹۵۲) اندازه‌گیری شد. شدت جذب محلول‌ها در طول موج ۶۰۰ نانومتر خوانده شد، سپس با استفاده از منحنی استاندارد

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2024-11-09]

[DOR: 20.1001.1.23222727.1392.2.5.4.6]

غلظت قندهای احیا کننده بر حسب میلی‌گرم بر گرم وزن تر محاسبه و گزارش گردید.

تهیه عصاره گیاهی برای اندازه‌گیری آنزیم: مقدار ۰/۱ گرم از بخش هوایی توزین و درون هاون قرار داده شد و ۱/۵ میلی‌لیتر از بافر نمک‌های فسفات حاوی پلی‌وینیل پیرولیدین (PVP) به آن اضافه شد. بافر مورد استفاده در این مرحله دارای pH برابر ۷/۴ بود. بافت مورد نظر در هاون ساییده شد به طوری‌که یک محلول کاملاً هموژن حاصل گردید. عصاره‌گیری و نگهداری بافت‌های هموژن در دمای پایین و روی یخ انجام شد. بافت‌های عصاره‌گیری شده در ۱۰۰۰۰ دور و دمای ۴ درجه سانتی‌گراد به مدت ۱۰ دقیقه سانتریفیوژ شدند.

اندازه‌گیری فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز: اندازه‌گیری فعالیت آنزیم APX بر اساس روش Nakano و Asada (۱۹۸۱) اندازه‌گیری شد. محلول واکنش آنزیم APX از ۶۲۵ میکرولیتر بافر فسفات حاوی ۰/۲ میلی‌مولار EDTA، ۱۷۵ میکرولیتر آسکوربیک اسید، ۵۰ میکرولیتر پراکسید هیدروژن و ۵۰ میکرولیتر آلبومین گاوی تشکیل شده بود. جهت اندازه‌گیری فعالیت آنزیم APX، مقدار ۹۰۰ میکرولیتر از محلول واکنش و ۱۰۰ میکرولیتر از عصاره آنزیمی مخلوط شد و منحنی کاهش جذب در طول موج ۲۹۰ نانومتر در مدت ۶۰ ثانیه رسم گردید. یک واحد از فعالیت آنزیم APX بر اساس سرعت اکسید $1\ \mu mol\ min^{-1}$ آسکوربیک اسید در دمای ۲۵ °C بیان گردید. این عمل سه بار تکرار گردید و میانگین سه بار مبنای محاسبه فعالیت APX در هر نمونه قرار گرفت. میزان فعالیت آسکوربات پراکسیداز با استفاده از ضریب خاموشی مولی برابر $2.8\ mM^{-1}cm^{-1}$ محاسبه شد.

اندازه‌گیری فعالیت آنزیم کاتالاز: اندازه‌گیری فعالیت آنزیم کاتالاز بر اساس روش معرفی شده توسط Aebi (۱۹۸۴) انجام شد. طبق تعریف یک واحد کاتالاز مقدار آنزیمی است که موجب تجزیه یک میکرومول H_2O_2 در مدت یک دقیقه در دمای ۲۵ درجه سانتی‌گراد شود. بنابراین محلول واکنش حاوی H_2O_2 با غلظت ۵ میلی‌مولار و بافر فسفات ۵۰ میلی‌مولار با pH برابر با ۷ تهیه شد. ۱۵۰ میکرولیتر عصاره آنزیمی و ۱۳۵۰ میکرولیتر از محلول واکنش با هم ترکیب شدند. با شروع تجزیه H_2O_2 در محیط، واکنش آغاز شد و میزان کاهش جذب در طول زمان در طول موج ۲۴۰ نانومتر در دستگاه اسپکتروفتومتری اندازه‌گیری شد. میزان فعالیت کاتالاز با استفاده از ضریب خاموشی مولی برابر $0.039\ mM^{-1}\ cm^{-1}$ محاسبه شد.

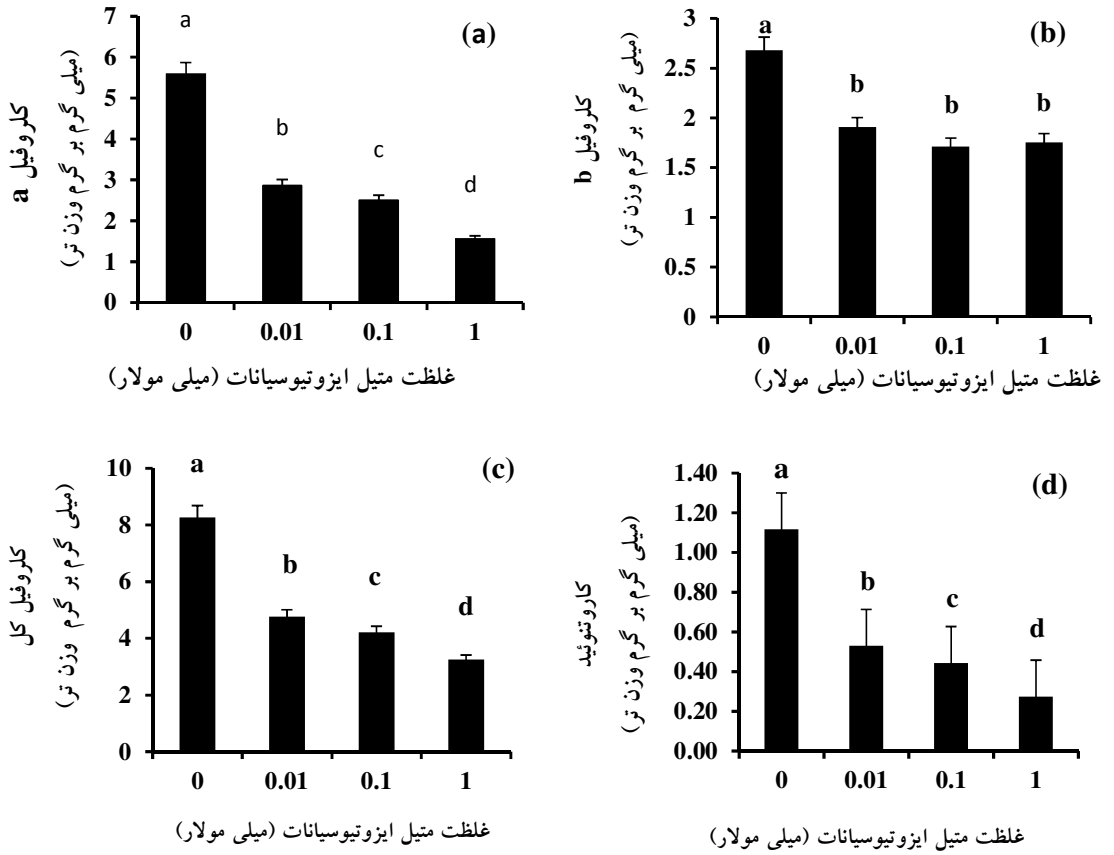
اندازه‌گیری میزان فعالیت آنزیم گایاکول‌پراکسیداز: مخلوط واکنش برای اندازه‌گیری آنزیم گایاکول‌پراکسیداز مطابق با روش Lin و Kao (۱۹۹۹) حاوی بافر فسفات ۵۰ میلی‌مولار با pH= ۷، گایاکول ۹ میلی‌مولار و پراکسید هیدروژن ۱۹ میلی‌مولار می باشد. میزان جذب در طول موج ۴۷۰ نانومتر در طول ۱ دقیقه اندازه‌گیری شد. ضریب خاموشی، ۲۶/۶ میلی‌مول بر سانتیمتر در نظر گرفته شد. یک واحد فعالیت آنزیم گایاکول‌پراکسیداز به عنوان مقدار آنزیمی که باعث تشکیل ۱ میکرومولار تتراگایاکول در دقیقه می‌شود تعریف شد.

اندازه‌گیری غلظت کل پروتئین‌ها: اندازه‌گیری پروتئین کل طبق روش Bradford (۱۹۷۶) با اندکی تغییر انجام شد. جذب عصاره ها در طول موج ۵۹۵ nm با دستگاه اسپکتروفتومتر UV-mini ۱۲۴۰ مدل Shimdazu خوانده شد. میزان پروتئین محلول کل بر حسب mg/g FW گزارش گردید.

تجزیه و تحلیل آماری: طرح آزمایشی به کار رفته طرح کاملاً تصادفی و با سه تکرار به ازای هر تیمار انجام گرفت. آنالیز واریانس داده‌ها با استفاده از نرم‌افزار SPSS انجام گرفت. مقایسه میانگین براساس آزمون Duncan انجام گردید و سطوح معنی‌دار بودن تیمارها در سطح $P \leq 0.05$ محاسبه گردید.

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2024-11-09]

[DOR: 20.1001.1.23222727.1392.2.5.4.6]



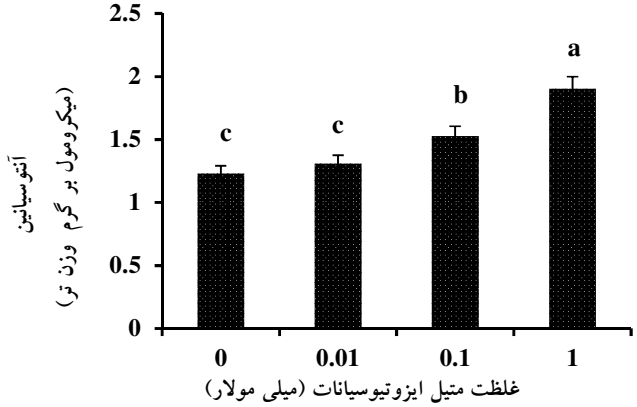
شکل۱- تأثیر متیل‌ایزوتیوسیانات بر میزان کلروفیل a (a)، کلروفیل b (b)، کلروفیل کل (c) و کاروتنوئید (d). مقادیر میانگین سه تکرار و حروف نامتشابه بیانگر اختلاف معنی‌دار بر اساس آزمون دانکن می‌باشد (P≤005).

نتایج:

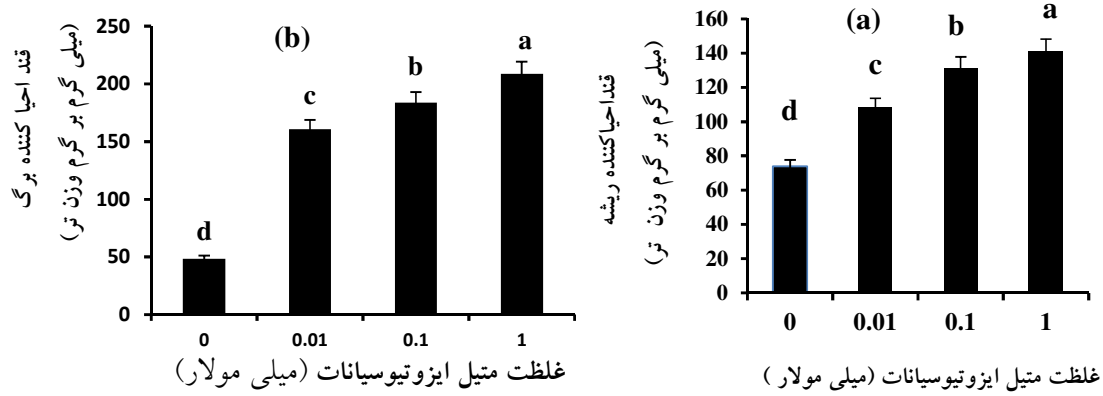
کلروفیل a، b، کلروفیل کل و کاروتنوئیدها: در گیاهچه‌های مورد مطالعه میزان کلروفیل a، b و کل و نیز کاروتنوئیدها تحت تأثیر تنش متیل ایزوتیوسیانات کاهش معنی‌داری نشان داد. غلظت‌های ۱ و ۰/۱ و ۰/۰۱ میلی‌مولار متیل ایزوتیوسیانات باعث کاهش میزان کلروفیل a به ترتیب به میزان ۷۲، ۵۵ و ۵۱ درصد در مقایسه با شاهد شد (شکل a ۱). متیل ایزوتیوسیانات در غلظت ۱ میلی مولار باعث کاهش میزان کلروفیل b به میزان ۴۰ درصد در مقایسه با شاهد شد و غلظت ۰/۱ و ۰/۰۱ به ترتیب باعث کاهش ۴۵ و۴۲ درصدی میزان کلروفیل b در مقایسه با شاهد گردید (شکل b ۱). میزان کلروفیل کل در غلظت‌های ۱، ۰/۱ و ۰/۰۱ میلی‌مولار متیل‌ایزوتیوسیانات نسبت به گیاهچه‌های شاهد به ترتیب به میزان ۶۲، ۵۱ و۴۰ درصد کاهش نشان داد (شکل c ۱). تیمار متیل ایزوتیوسیانات باعث کاهش معنی دار میزان کاروتنوئید شد. در غلظت‌های ۱، ۰/۱ و ۰/۰۱ میلی مولار ایزوتیوسیانات کاهش میزان کاروتنوئید به ترتیب به میزان۸۲، ۶۰ و ۵۲ درصد در مقایسه با شاهد مشاهده گردید (شکل d ۱).

میزان آنتوسیانین: در بررسی تأثیر متیل‌ایزوتیوسیانات مشاهده شد که میزان آنتوسیانین برگ نسبت به گیاهچه‌های شاهد افزایش یافته است. متیل‌ایزوتیوسیانات در غلظت۱ و۰/۱ میلی‌مولار میزان آنتوسیانین برگ را به ترتیب به میزان ۱/۵۴ و۱/۲۴ برابر در مقایسه با شاهد افزایش داده

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2024-11-09]
[DOR: 20.1001.1.23222727.1392.2.5.4.6]



شکل۲- تاثیر متیل‌ایزوتیوسیانات بر میزان آنتوسیانین درگیاهچه‌های شاهی. مقادیر میانگین سه تکرار و حروف نامتشابه بیانگر اختلاف معنی‌دار بر اساس آزمون دانکن می‌باشد (P≤0.05).



شکل ۳- تأثیر متیل‌ایزوتیوسیانات بر میزان قندهای احیاکننده در ریشه (a) و اندام هوایی (b) گیاهچه های شاهی. مقادیر میانگین سه تکرار و حروف نامتشابه بیانگر اختلاف معنی‌دار بر اساس آزمون دانکن می‌باشد (P≤0.05).

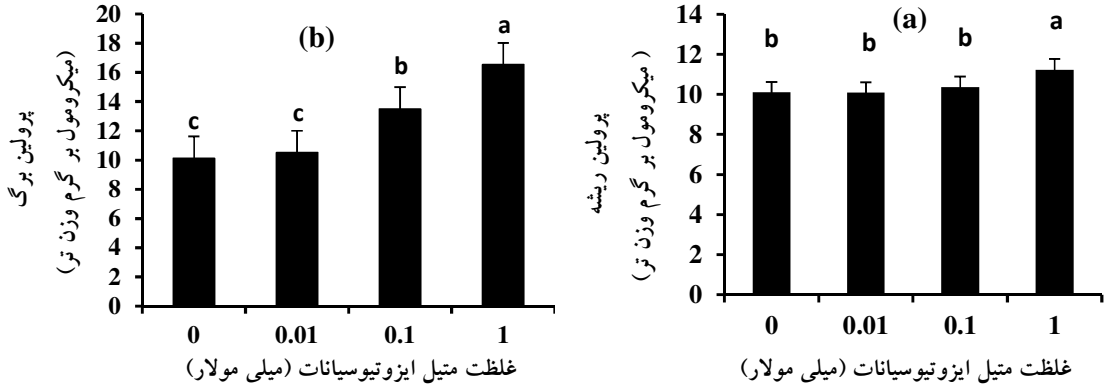
است ولی میزان آنتوسیانین درغلظت ۰/۰۱ میلی‌مولار اختلاف معنی‌داری با شاهد نشان نداد (شکل ۲).

میزان قندهای احیاکننده: میزان قندهای احیاکننده در ریشه در غلظت های ۱، ۰/۱ و ۰/۰۱ میلی‌مولار متیل ایزوتیوسیانات به ترتیب به میزان ۱/۷۸، ۱/۷۷ و ۱/۴۶ برابر در مقایسه با شاهد افزایش معنی داری یافته است. متیل‌ایزوتیوسیانات در غلظت‌های۱، ۰/۱ و ۰/۰۱ میلی‌مولار باعث افزایش معنی دار قندهای احیاکننده به ترتیب به میزان ۴/۴، ۳/۸ و ۳/۲ برابر در مقایسه با شاهد در اندام هوایی شد. بیشترین میزان افزایش قندها در غلظت ۱ میلی‌مولار و کمترین میزان در غلظت ۰/۰۱ میلی‌مولار مشاهده شد (شکل ۳).

پرولین ریشه و اندام هوایی: متیل‌ایزوتیوسیانات در غلظت ۱ میلی‌مولار باعث افزایش معنی‌دار پرولین ریشه در مقایسه با شاهد شد. اختلاف معنی‌داری در میزان پرولین ریشه بین تیمار ۰/۱ و ۰/۰۱ میلی مولار و گیاهچه‌های شاهد مشاهده نشد. همچنین متیل‌ایزوتیوسیانات در غلظت‌های ۱ و ۰/۱ میلی‌مولار باعث افزایش پرولین برگ به ترتیب به میزان ۱/۶، ۱/۳ برابر در مقایسه با شاهد شده است. اختلاف معنی‌داری در میزان پرولین برگ بین تیمار ۰/۰۱ میلی‌مولار و گیاهچه‌های شاهد مشاهده نشد (شکل ۴).

فعالیت آنزیم های آنتی اکسیدان در اندام هوایی: میزان فعالیت هر سه آنزیم تحت تیمار با

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2024-11-09]
[DOR: 20.1001.1.23222727.1392.2.5.4.6]



شکل ۴- تاثیر متیل‌ایزوتیوسیانات بر میزان پرولین ریشه (a) و اندام هوایی (b) گیاهچه های شاهی. مقادیر میانگین سه تکرار و حروف نامتشابه بیانگر اختلاف معنی‌دار بر اساس آزمون دانکن می‌باشد (P≤0.05).

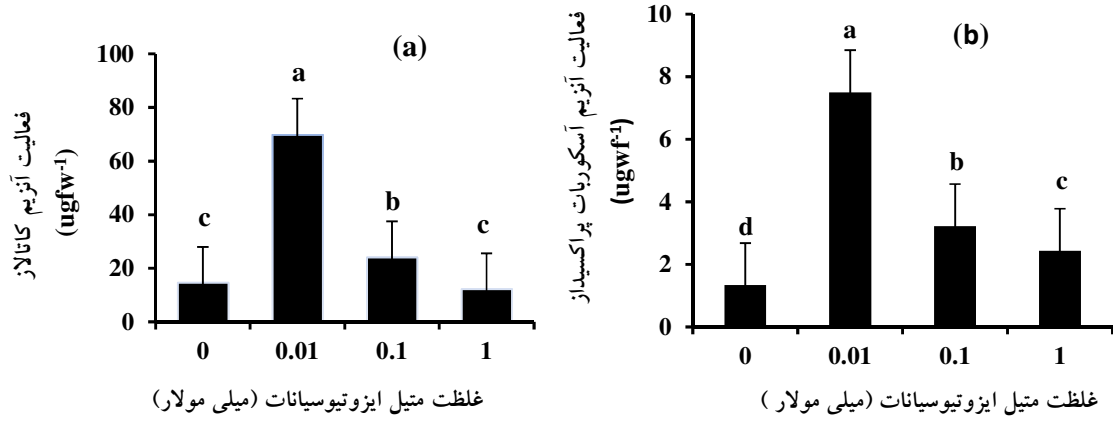
متیل‌ایزوتیوسیانات افزایش یافت. در بررسی اثر متیل‌ایزوتیوسیانات، افزایش معنی‌داری در میزان فعالیت آنزیم کاتالاز در غلظت‌های ۰/۱ و ۰/۰۱ میلی‌مولار ایزوتیوسیانات در مقایسه با شاهد مشاهده شد. در غلظت ۱ میلی‌مولار کمترین و در غلظت ۰/۰۱ میلی‌مولار بیشترین میزان فعالیت آنزیم کاتالاز مشاهده شد. میزان فعالیت آنزیم کاتالاز در غلظت‌های ۰/۰۱ و ۰/۱ میلی‌مولار ایزوتیوسیانات به ترتیب حدود ۷ و ۲ برابر نسبت به تیمار شاهد افزایش یافت **(شکل** a **۵)**. در غلظت های ۰/۰۱، ۰/۱ و ۱ میلی‌مولار متیل ایزوتیوسیانات، میزان فعالیت آسکوربات‌پراکسیداز به ترتیب به میزان ۵/۶، ۲/۴ و ۱/۸برابر نسبت به گیاهچه‌های شاهد افزایش معنی‌داری یافته است **(شکل** b **۵)**. تیمار متیل ایزوتیوسیانات در غلظت های ۰/۰۱، ۰/۱ و ۱میلی‌مولار، میزان فعالیت آنزیم گایاکول‌پراکسیداز را در برگ به ترتیب به میزان ۶/۲، ۴ و ۳ برابر در مقایسه با گیاهچه‌های شاهد افزایش داده است. در غلظت ۰/۰۱ میلی‌مولار بیشترین میزان فعالیت آنزیم مشاهده شد (شکل c ۵).

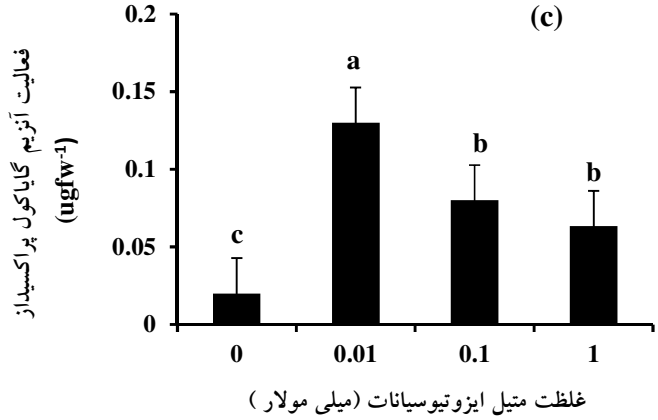
میزان پروتئین در اندام هوایی: پروتئین کل در گیاهچه‌های تحت تنش متیل ایزوتیوسیانات نسبت به گروه شاهد کاهش معنی‌داری یافت. متیل‌ایزوتیوسیانات در غلظت های ۱، ۰/۱ و۰/۰۱ میلی‌مولار ، باعث کاهش میزان پروتئین به ترتیب به میزان ۴۰، ۲۰ و ۱۰ درصد در مقایسه با شاهد شده است (شکل ۶).

بحث:

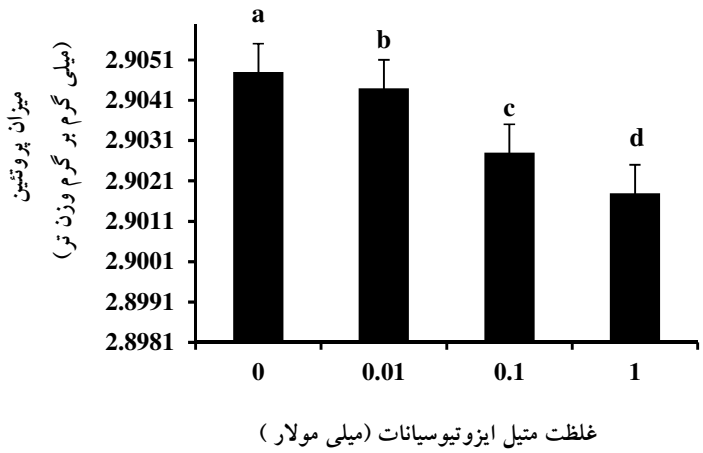
نتایج به دست آمده از این تحقیق نشان می‌دهد که تنش متیل‌ایزوتیوسیانات سبب القا پاسخ‌های فیزیولوژیکی و فعال‌سازی آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان در گیاهچه‌های شاهی شده است. میزان کلروفیل در گیاهان اغلب برای ارزیابی اثر تنش‌های محیطی تعیین می‌شود. این تنش‌ها ممکن است از طریق مهار فعالیت آنزیم‌ها، فرآیندهای متابولیکی را متوقف کنند. کاهش میزان کلروفیل در گیاهان تحت تنش احتمالا به علت مهار فعالیت آنزیم‌های سنتزکننده کلروفیل و یا افزایش تجزیه رنگدانه‌های کلروفیل می‌باشد (Sairam *et al*., 1998). تیمار متیل‌ایزوتیوسیانات در غلظت‌های ۱ و ۰/۱ و ۰/۰۱ میلی‌مولار باعث کاهش میزان کلروفیل کل نسبت به گیاهچه‌های شاهد شاهی شد. Hara و همکاران (۲۰۱۰) نیز گزارش کردند تیمار متیل ایزوتیوسیانات سبب کاهش میزان کلروفیل (تقریبا ۵۰ درصد) در اندام هوایی گیاهچه‌های ۵ هفته‌ای آرابیدوپسیس شده است. همچنین در تحقیق حاضر تیمار متیل‌ایزوتیوسیانات میزان کاروتنوئید برگ را نسبت به گیاهچه‌های شاهد کاهش داده است. رادیکال‌های آزاد

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2024-11-09]
[DOR: 20.1001.1.23222727.1392.2.5.4.6]





شکل ۵- تأثیر متیل‌ایزوتیوسیانات بر میزان فعالیت آنزیم کاتالاز (a)، آسکوربات‌پراکسیداز (b) و گایاکول‌پراکسیداز (c) برگ شاهی. مقادیر میانگین سه تکرار و حروف نامتشابه بیانگر اختلاف معنی‌دار بر اساس آزمون دانکن می‌باشد (P≤0.05).



شکل۶- تأثیر متیل‌ایزوتیوسیانات بر میزان پروتئین کل در بافت برگ شاهی. مقادیر میانگین سه تکرار و حروف نامتشابه بیانگر اختلاف معنی‌دار بر اساس آزمون دانکن می‌باشد (P≤0.05).

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2024-11-09]

[DOR: 20.1001.1.23222727.1392.2.5.4.6]

تولید شده در طی تنش سبب تجزیه رنگیزه‌های فتوسنتزی گیاهچه‌های شاهد کاهش داده است. رادیکال‌های آزاد تولید شده در طی تنش سبب تجزیه رنگیزه‌های فتوسنتزی و غیرفتوسنتزی و در نتیجه کاهش رنگیزه‌ها می‌گردند (Sairam *et al.*, 1998). کاروتنوئیدها در چند سطح باعث حفاظت دستگاه فتوسنتزی در برابر فوتون‌های اضافی و تنش اکسیداتیو می‌شوند که از جمله واکنش با کلروفیل برانگیخته برای ممانعت از تشکیل رادیکال‌های فعال اکسیژن می‌باشد. در واقع، کاروتنوئیدها به عنوان یک سیستم حفاظتی در برابر تنش اکسیداتیو القا شده تجزیه شده و از بین می‌روند. فرونشانی فتوشیمیایی کلروفیل‌های برانگیخته توسط کاروتنوئید منجر به برهم زدن ساختار کاروتنوئیدها و در نهایت کاهش میزان آن‌ها می‌گردد (Sanita and Gabbrielli , 1999). بنابراین احتمال دارد کاهش میزان کاروتنوئیدها تحت تیمار متیل ایزوتیوسیانات، به دلیل نقش این رنگیزه‌ها در محافظت کلروفیل برگ‌ها در برابر تنش اکسیداتیو ایجاد شده توسط ایزوتیوسیانات‌ها باشد.

در این تحقیق مشخص شد که تیمار متیل ایزو تیو سیانات میزان آنتوسیانین را در برگ گیاهچه‌های شاهی در مقایسه با گیاهچه‌های شاهد افزایش داده است. فلاونوئیدها ترکیبات پلی‌فنولیک و از مهمترین ترکیبات ثانویه گیاهان می‌باشند. این ترکیبات از مشتقات فنیل‌پروپانوئید می‌باشند. آنتوسیانین‌ها به عنوان یک گروه از فلاوونوئیدهای محلول در آب، در یک نقطه پایانی در مسیر بیوسنتز فلاونوئیدها سنتز می‌شوند (Mars *et al.*, 1995). با ایجاد تنش اکسیداتیو در گیاه، بیان ژن‌های آنتی‌اکسیدان (Vinyard *et al.*, 2005) و القاء مسیر فنیل‌پروپانوئید به‌ویژه مسیر بیوسنتز فلاوونوئیدها افزایش می‌یابد (Green and Fluhr, 1995). در این پژوهش اختلاف معنی‌داری در میزان آنتوسیانین بین غلظت ۰/۰۱ میلی‌مولار متیل‌ایزوتیوسیانات و شاهد مشاهده نشد ولی در غلظت‌های ۱ و۰/۱ میلی‌مولار میزان آنتوسیانین به ترتیب به میزان ۵۸ و ۲۵ درصد افزایش یافته است. نتایج مشابهی از افزایش فلاونوئیدها طی تنش‌های محیطی گزارش شده است (Murali and Teramura, 1986). در این تحقیق به نظر می‌رسد تیمار متیل‌ایزوتیوسیانات از طریق افزایش آنتوسیانین‌ها و فلاوونوئیدها سبب زدودن رادیکال‌های آزاد اکسیژن و افزایش سازگاری گیاه به شرایط تنش شده باشد. در پژوهشی Connor و همکاران (۲۰۰۲) گزارش دادند که فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانت و آنتوسیانین در میوه زغال اخته به طور قوی در ارتباط با یکدیگر هستند و در طول دوره سرما افزایش می‌یابند. همچنین Solecka و همکاران (۱۹۹۹) اثر تنش سرما (دمای ۵°C-) را بر میزان آنتوسیانین در گیاه کلم بررسی کردند. نتایج آنها افزایش محتوای آنتوسیانین را در مقایسه با گیاهچه‌های شاهد نشان داد.

میزان کربوهیدرات و پرولین در ریشه و اندام هوایی گیاهچه های شاهی تحت تنش ایزوتیوسیانات افزایش معنی‌داری نسبت به گیاهان شاهد نشان داد. گیاهان برای حفظ تعادل یونی و تنظیم اسمزی در واکوئل‌ها و سیتوپلاسم خود ترکیباتی با جرم ملکولی کم از قبیل پرولین، گلایسین، بتائین و قندهایی از قبیل گلوکز و فروکتوز که مجموعاً اسمولیت نامیده می‌شوند را انباشته می‌کنند (Parida *et al.*, 2002). همچنین به نظر می‌رسد که قندهای محلول نقش مهمی در ارتباط با گونه‌های اکسیژن واکنش‌دهنده داشته باشند. قندها برای انجام فرایندهای آنتی اکسیداتیو مثل مسیر پنتوزفسفات (Barra *et al.*, 2003; Debnam *et al.*, 2004) و بیوسنتز کاروتنوئیدها نیز لازم هستند. کاهش محتوای نشاسته ذخیره شده و افزایش قندهای احیا و غیراحیاء در شرایط تنش گزارش شده است (Parida *et al.*, 2003). آنالیزهای رونویسی ژن تأیید کرده است که پیام‌رسانی قند با کنترل تنش اکسیداتیو مرتبط است. تنش‌های متفاوت که به طور مستقیم یا غیر مستقیم باعث تجمع گونه‌های اکسیژن واکنش‌دهنده می‌شوند، مثل شوری، خشکی، حرارت پایین و سمیت فلزات سنگین باعث انباشتگی قندهای محلول شده که به عنوان مکانیسم سازشی پاسخ به شرایط تنش می‌باشد

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2024-11-09]
[DOR: 20.1001.1.23222727.1392.2.5.4.6]

(Roitsch and Ehneß, 2000). در این تحقیق نیز به نظر می‌رسد افزایش کربوهیدرات‌ها به دلیل مقابله با رادیکال‌های اکسیژن ایجاد شده تحت تنش ایزوتیوسیانات باشد. پرولین نیز نقش‌های متعددی در تحمل به تنش گیاهان به عهده دارد که از جمله فعالیت آنتی‌اکسیدانی پرولین می‌باشد. پرولین می‌تواند اکسیژن یکتایی و تخریب‌های ناشی از رادیکال‌های آزاد را پاک‌سازی کرده و یک نقش مهم در حفاظت پروتئین‌ها در مقابل دناتوره شدن داشته باشد (Alia and Mohanty, 1991).

نتایج حاصل از اندازه‌گیری فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانت تحت تنش ایزوتیوسیانات نشان داد که متیل‌ایزوتیوسیانات باعث افزایش فعالیت آنزیم کاتالاز و در نتیجه تحمل بیشتر به تنش می‌شود. بالاترین میزان فعالیت آنزیم کاتالاز در غلظت ۰/۰۱ میلی‌مولار متیل‌ایزوتیوسیانات مشاهده شد. تعادل بین تولید گونه‌های واکنش‌پذیر اکسیژن و فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان چگونگی رخداد سیگنال های اکسیداتیو را تعیین می‌کند (Moller *et al.*,2007). القای فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدان یک سازوکار سازگاری عمومی گیاهان در مقابل تنش‌های اکسیداتیو است (Foyer and Noctor, 2005). کاتالاز مهمترین آنزیم برای حذف پراکسید هیدروژن می‌باشد که از طریق شکستن آن به آب و اکسیژن، آن را حذف می‌کنند. القای فعالیت کاتالاز باعث غلبه بر تنش اکسیداتیو از طریق سم‌زدایی پراکسید هیدروژن می‌شود (Mazhoudi *et al.*, 2002). در غلظت‌های بالای متیل‌ایزوتیوسیانات، آنزیم کاتالاز ممکن است توسط پروتئازهای القا شده توسط تنش اکسیداتیو شکسته شود که در برگ‌های مسن نخود نیز گزارش شده است (Sandalio *et al.*, 2001). کاهش در فعالیت آنزیم های آنتی اکسیدان در سطوح بالای تنش، همچنین می‌تواند به علت شکستن مولکول‌های آنزیم توسط رادیکال‌های آزاد اکسیژن باشد (Sandalio *et al.*, 2001). طبق نتایج این تحقیق، متیل‌ایزوتیوسیانات همچنین فعالیت آنزیم آسکوربات‌پراکسیداز را نسبت به گیاهچه‌های شاهد در اندام هوایی شاهی افزایش داده است. بیشترین میزان فعالیت این آنزیم در غلظت ۰/۰۱ میلی‌مولار متیل‌ایزوتیوسیانات مشاهده شد. افزایش فعالیت آنزیم آسکوربات‌پراکسیداز توسط تنش‌های غیرزیستی دلیلی بر شروع دفاع آنتی‌اکسیدانتی می‌باشد. آنزیم آسکوربات پراکسیداز در سیکل آسکوربات – گلوتاتیون شرکت کرده و از این طریق باعث از بین بردن پراکسید هیدروژن می‌شود. در تحقیقی Wang و همکاران (۲۰۱۰) نشان دادند که تیمار آلیل‌ایزوتیوسیانات ابتدا باعث افزایش و سپس کاهش میزان فعالیت آنزیم آسکوربات‌پراکسیداز در میوه زغال اخته شده است. فعالیت آنزیم گایاکول‌پراکسیداز نیز تحت تأثیر غلظت های مختلف ایزوتیوسیانات افزایش نشان داده است. آنزیم گایاکول‌پراکسیداز اکسیداسیون گهرمایه وابسته به پراکسیدهیدروژن را کاتالیز می‌کند. همچنین این آنزیم بیوسنتز لیگنین را تحریک می‌کند و قادر به ایجاد یک سد فیزیکی در برابر تنش‌ها می‌باشد که به موجب آن بافت‌ها را بر علیه رادیکال‌های آزاد فعال که به سلول‌ها آسیب می‌رسانند تقویت می‌کند (Fang and Kao, 2000). در تحقیق حاضر کاهش فعالیت این آنزیم‌ها در غلظت‌های بالای متیل‌ایزوتیوسیانات، ممکن است از طریق مهار این آنزیم‌ها و یا غیرفعال کردن و تنظیم پایین آن‌ها باشد به طوری که در شدت بالای تنش اثر متضاد روی فعالیت آنزیم‌های دفاعی داشته و کاهش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان مشاهده می‌گردد.

از نتایج دیگر این تحقیق کاهش میزان پروتئین‌های محلول در گیاهان تحت تنش ایزوتیوسیانات می‌باشد. از دلایل کاهش پروتئین‌ها در این سطوح تنش، ممکن است افزایش تولید رادیکال‌های آزاد اکسیژن باشد چرا که این ترکیبات موجب مهار سنتز پروتئین‌ها شده و یا منجر به واسرشتگی آنها می‌گردند (Sgherri and Navari-Izzo, 1995). همچنین می‌توان به کاهش فتوسنتز و کاهش مواد مورد نیاز برای سنتز پروتئین‌ها تحت شرایط تنش اشاره کرد (Havaux *et al.*, 1987).

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2024-11-09]

[DOR: 20.1001.1.23222727.1392.2.5.4.6]

نتیجه‌گیری کلی:

نتایج به دست آمده در این تحقیق نشان داد تنش اکسیداتیو ناشی از تیمار غلظت‌های متوسط متیل ایزوتیوسیانات سبب القا پاسخ‌های فیزیولوژیکی و افزایش فعالیت آنزیم‌های دفاعی آنتی‌اکسیدان در گیاهچه‌های شاهی در شرایط در شیشه شده است و می‌تواند در سازگاری و مقابله گیاهان در برابر شرایط تنش اهمیت داشته باشد. احتمالاً متیل ایزوتیوسیانات در گیاهچه‌های شاهی پاسخ‌های وابسته به دفاع سیستم آنتی اکسیدانی را وساطت می‌کند

سپاسگزاری:

نویسندگان مقاله از قطب تنش‌های گیاهی دانشگاه اصفهان تشکر می‌نمایند.

منابع:

Aebi, H. (1984) Catalase *in vitro*. Methods Enzymology 105: 121 – 126.

Alia, P. S. P. and Mohanty, P. (1991) Proline enhances primary photochemical activities in isolated thylakoid membranes of *Brassica juncea* by arresting photoinhibitory damage. Biochemical and Biophysical Research Communications 181: 1238-1244.

Barra L., Pica N., Couffi K., Walker G., Blanko C. and Trautwetter A. (2003) Glocose-6-phosfate dehydrogenase is required for sucrose and trehalose to be efficient osmoprotectans in *Sinorhizobium meliloty*. FEMS Microbiology Letters, 229: 183-188.

Bates, L., Waldren, R. and Teare, I. (1973) Rapid determination of free prolin for water-stress studies. Plant and Soil 39: 205-207.

Bradford, M. M. (1976) A rapid and sensitive method for the quantification of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. Analytical Biochemistry 72: 248–254.

Connor, A. M., Luby, J. J., Hancock, J. F., Berkheimer, S. and Hanson, E. J. (2002) Changes in fruit antioxidant activity among blueberry cultivars during coldtemperature storage. Journal of Agricultural and Food Chemistry 50: 893–898.

Corpas, F. J., Barroso, J. B. and Del Rio, L. A. (2001) Peroxisomes as a source of reactive oxygen species and nitric oxide signal molecules in plant cells. Trends Plant Science 6: 145-50.

Debnam P. M., Fernie A. R., Leisse A., Golding A., Bowsher C. G., Grimshaw C., Knight J. S. and Emes M. J. (2004) Altered activity of the P2 isoforme of plastidic glucose-6- phosphate dehydrogenase in tobacco (*Nicotiana tabacum*) causes changes in carbohydrate metabolism and response to oxidative stress in leaves. Plant Journal 38: 49-59.

Fang, W. and Kao, C. H. (2000) Enhanced peroxidase activity in rice leaves in response to excess iron, copper and zinc. Plant Science 158: 71 – 76.

Foyer, C. H. and Noctor, G. (2005) Redox homeostis and antioxidant signaling: a metabolic interface between stress perception and physiological responses. Plant Cell 17: 1866-1875

Green, R. and Fluhr, R. (1995) UV-B induced PR-1 accumulation is mediated by active oxygen species. Plant Cell 7: 203–212.

Hara, M., Yatsuzuka, Y., Tabata, K. and Kuboi, T. (2010) Exogenously applied isothiocyanates enhance glutathione S-transferase expression in Arabidopsis but act as herbicides at higher concentrations. Journal of Plant Physiology 167: 643-649.

Havaux, M., Canaai, O. and Malkin, S. (1987) Inhibition of photosynthetic activies under slow water stress measured *in vivo* by photoacoustic method. Physiological Plantarum 70: 503-510.

Khokon, M., Jahan, M. D. S., Rahman, T., Hossain, M. A., Muroyama, D., Minami, I., Munemasa, S., Mori, I. C., Nakamura, Y. and Murata, Y. (2011) Allyl isothiocyanate (AITC) induces stomatal closure in Arabidopsis. Plant, Cell and Environment 34: 1900-1906.

Lichtenthaler, H. K. (1987) Chorophylls and carotenoids: pigments photosynthetic biomembranes. Methods in Enzymol 148: 350-382.

Lin, C. C. and Kao, C. H. (1999) Nacl induced changes in ionically bound peroxidase activity in roots of rice seedling. Plant and Soil 216:147-153.

Mars, K. A., Alfenito, M. R., Loyd, A. M. and Valbot, V. A. (1995) Glutathione s-transferase involved in vacuolar transfer encoded by the maize gene bronze-2. Nuture 375:397-400.

Mazhoudi S., Chaoui A., Ghorbal M. H. and Ferjani E. (2002) Response of antioxidative enzymes to excess copper in tomato (*Lycopersicum esculentum* Mill). Plant Science 127: 129 – 137.

Moller, I. M., Jensen P. E. and Hansson, A. (2007) Oxidative modifications to cellular components in plants. Annual Review of Plant Biology 58: 459–481.

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2024-11-09]

[DOR: 20.1001.1.23222727.1392.2.5.4.6]

Sgherri, C. L. M. and Navari-Izzo, F. (1995) Sunflower seedling subjected to increasing water deficit stress: oxidative stress and defense mechanisms. Physiologia Plantarum 93:25-30.

Sheel, Sh. and Agarwal, N. (2010) Nourishment and healing process of garden cress. Indian Journal of Natural Products and Resources 18: 292-297.

Somogyi-Nelson, M. (1952) Notes on sugar determination. Journal of Biological Chemistry 195:19-29.

Solecka, D., Boudet, A. M. and Kacperska, A. (1999) Phenylpropanoid and Anthocyanin changes in low temperature treated winter oilseed rape leaves. Plant Physiology and Biochemistry 31:491-496

Vinyard, P. G., Moody, C. J. and Jacob, C. (2005) Oxidative activation of antioxidant defence. Trends in Biochemical Science 8:453–461.

Wagner, G. J. (1979) Content and vacuole/extera vacuole distribution of neutral sugars, free amino acids and anthocyanin in protoplast. Plant Physiology 68: 88-93.

Wang, S. Y., Chi-Tsun, Ch. and Jun-jie, Y. (2010) Effect of allyl isothiocyanate on antioxidants and fruit decay of blueberries. Food Chemistry 120:199-204.

Yan, X. and Chen, S. (2007) Regulation of plant glucosinolate metabolism. Planta 226: 1343-1352.

Murali, N. S. and Teramura, A. H. (1986) Effectiveness of UV-B radiation on the growth and physiology of field grown soya bean modified by water stress. Photochemical Photobiology 44: 215–219.

Nakano, Y. and Asada, K. (1981) Hydrogen peroxide is scavenged by ascorbate specific peroxidase in spinach chloroplasts. Plant Cell Physiology 22: 867 – 80.

Parida B. K., Chhibba, I. M. and Nayyar, V. K. 2003. Influence of Ni contaminated soils on fenugreek (*Trigonnella corniculata* L.) growth and mineral composition. Scientia Horticulturae 98: 113-119

Roitsch, T. and Ehneß, R. (2000) Regulation of source/sink relations by cytokinins. Plant Growth Regulation 32: 359-367.

Sairam, R. K., Deshmukh, P. S. and Saxena, D. C. (1998) Role of antioxidant systems in wheat genotype tolerance to water stress. Biologia Plantarum 41: 387-394.

Sandalio L. M., Dalurzo H. C., Gomez M., Romero – Puertas, M. C. and Del Rio L. A. (2001) Cadmium – induced changes in the growth and oxidative metabolism of pea plants. Journal of Experimental Botany 52: 2115 – 2226.

Sanita T. and Gabbrielli R. (1999) Response to cadmium in higher plants – review. Environmental and Experimental Botany 41: 105 – 130.

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2024-11-09]

[DOR: 20.1001.1.23222727.1392.2.5.4.6]

Physiological responses and antioxidant enzyme activities in seedlings of *Lepidium sativum* L. under methyl isothiocyanate stress

Farinaz Farzadnejad[1], Roya Razavizadeh[1*] and Leila Shabani[2]

[1]**Department of biology, Payame Noor University, PO BOX 19395-3697 Tehran, Iran,**
[2]**Department of Biology, Faculty of Science, University of Shahrekord**

(Received: 12 June 2013; Accepted: 21 July 2013).

Abstract:

One of the major tissue damage following exposure to stress in plants is caused by the oxidative stress. In this study, effects of different levels of methyl isothiocyanate on biochemical parameters and antioxidant enzyme activity such as ascorbate peroxidase, catalase and guaiacol peroxidase in seedlings of *Lepidiun sativum* L. under *in vitro* were investigated. The seeds of *Lepidium sativum* (Garden Cress) were sterilized and cultured in MS medium. After 20 days, seedlings were treated with concentrations of 0.01, 0.1 and 1 mM methyl isothiocyanate (various levels of stress) under sterile condition. After 3 days, result showed that chlorophyll a, chlorophyll b, total chlorophyll, carotenoids and protein were significantly decreased, while reduced sugar, proline and antioxidant enzymes were increased in seedlings which were under oxidative stress. Thus methylisothiocyanate appeared to induce oxidative stress and activation of the plant's defenses parameters. The maximum and minimum at concentrations of 1 mM and 0.01 mM methyl isothiocyanate observed respectively.

Key words: *In vitro* culture, Methyl isothiocyanate, Oxidative stress.

[*]Corresponding Author: Razavi.roya@gmail.com

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2024-11-09]

[DOR: 20.1001.1.23222727.1392.2.5.4.6]