بررسی اثر متیل جاسمونات بر محتوای کلر، نیکوتین، پروتئین کل، کاروتنوئید، نشاسته و فعالیت آنزیم آلفا آمیلاز در توتون رقم کوکر ۳۴۷ در پاسخ به غلظت های مختلف یون کلر

جنت سرمد*، سیده معصومه دیوبند و سیده فاطمه فلاح

گروه زیست شناسی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه گیلان

(تاریخ دریافت: ۱۳۹۵/۰٤/۰۵، تاریخ پذیرش نهایی: ۱۳۹۵/۱۲/۰۹)

چکیده:

جاسمونیک اسید و استر متیله آن (متیل جاسمونات) یکی از تنظیم کننده های طبیعی رشد گیاهی است که به طور گسترده در گیاهان وجود دارد. نتایج حاصل از گزارشات مختلف نشان می دهد که کاربرد خارجی جاسمونات ها پاسخ های فیزیولوژیکی به تنش در گیاهان را تغییر می دهند. از طرفی کلر به عنوان یک عنصر ضروری در رشد محسوب می شود، این ماده به مقدار کم باعث بهبود عملکرد توتون می شود، در حالی که مقدار بیشتر کلر یکی از عوامل مغایر با کیفیت توتون می باشد. در این پژوهش تأثیر غلظت ۳۰ میکرومولار متیل جاسمونات به صورت محلول پاشی بر روی برگ ها در مراحل اولیه رشد در گیاه توتون رقم کوکر ۳٤۷ در غلظت های مختلف شوری حاصل از یون کلر (۵۰، ۱۵۰ و ۳۰۰ میلی‌گرم در لیتر) به صورت گلدانی خارج از گلخانه در قالب آزمایش فاکتوریل ۲×۳ بر پایه طرح کاملاً تصادفی در ٤ تکرار در سال زراعی ۱۳۹۰-۱۳۹۱ در مرکز تحقیقات توتون رشت صورت گرفت. نتایج نشان می دهد که با افزایش غلظت کلر آب آبیاری تا ۳۰۰ میلی گرم در لیتر، محتوای کلر برگ های گیاه توتون به صورت خطی افزایش یافت. افزایش غلظت یون کلر تا ۳۰۰ میلی گرم در لیتر با افزایش معنی دار مقادیر نشاسته و کاهش معنی دار فعالیت آنزیم آلفا آمیلاز و محتوای پروتئین کل در برگ های میانی همراه گردید، در حالی که مقدار نیکوتین و محتوای کاروتنوئید برگ ها تغییر چندانی نیافت. کاربرد خارجی متیل جاسمونات موجب کاهش معنی دار مقدار نشاسته و محتوای کلر برگ ها به ویژه در غلظت های کلر ۱۵۰ و ۳۰۰ گردید، همچنین مقادیر نیکوتین، محتوای کاروتنوئید و پروتئین کل در غلظت کلر ۵۰ به طور معنی داری افزایش یافت. در حالی که فعالیت آنزیم آلفا آمیلاز تغییر چندانی نیافت.

کلمات کلیدی: آلفا آمیلاز، توتون کوکر ۳٤۷، متیل جاسمونات، نشاسته، نیکوتین، یون کلر

مقدمه:

گیاهان در دوره حیات شان با انواع تنش های محیطی مواجه می شوند، این تنش ها شانس نمو و بقای گیاهان را محدود می کنند. در بسیاری از نقاط کره خاکی شرایط مناسب رشد فقط برای مدت کوتاهی دوام دارد و گیاهان مجبورند که در همین زمان کم، مراحل اساسی رشد خود را انجام دهند. در برخی نقاط هم که شرایط برای رشد مناسب است، افزایش تراکم و تعداد گیاهان عامل ایجاد رقابت برای گیاهان در به دست آوردن مواد غذایی، آب و نور است (Larcher *et al.*, 2001). شوری عبارت از حضور بیش از اندازه نمک های قابل حل و غلظت بالایی از یون های سدیم، کلر، کربنات، منیزیم، سولفات و بورات در آب و خاک است که منجر به تجمع نمک در

*نویسنده مسؤل، نشانی پست الکترونیکی: Sarmad@guilan.ac.ir

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2025-07-12]

[DOR: 20.1001.1.23222727.1397.7.26.5.4]

ناحیه ریشه شده و گیاه در جذب آب کافی از محلول خاک با مشکل مواجه می شود. خاک شور به خاک هایی اطلاق می شود که بیش از ۰/۱ درصد نمک داشته باشند. حد بحرانی نمک برای گیاهان ۰/۵ درصد وزن خاک خشک می باشد (Levitt, 1980). از آن جا که تحمل به شوری در گیاهان یک فرآیند پیچیده است که در آن تغییرات مورفولوژیکی، فرآیندهای فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی درگیر هستند، رشد در محیط های شور نیز نتیجه فرآیند های سازگاری مانند انتقال یون و جایگزینی آن ها، سنتز محلول های اسمزی، تجمع آن ها در جهت تنظیم اسمزی و تغییر و تبدیل پروتئین ها برای حفظ و بازسازی سلول ها است (Munns and Tester, 2008). محیط های شور با دو خصوصیت اصلی مشخص می شوند که عبارتند از پتانسیل اسمزی پایین و غلظت بالای املاحی که بالقوه برای اکثر گیاهان زراعی سمی هستند. گیاهان زراعی در چنین محیط هایی با کاهش رشد و اختلالاتی در فعالیت های متابولیکی مواجه می شوند (Geortz and Cons, 1991). افزایش شوری در خاک باعث کاهش رشد و کاهش محصول می شود. شوری بر تمام فرآیندهای اصلی مانند رشد، فتوسنتز، سنتز پروتئین، متابولیسم لیپید و انرژی تأثیر می گذارد، درنتیجه تمام مراحل زندگی گیاه از جوانه زنی تا تولید بیوماس و تولید دانه را تحت تأثیر قرار می دهد (Parida *et al.*, 2004). همچنین تغییر در کروموزوم و ساختار کروماتین، متیلاسیون DNA، پلی پلوئیدی و چند برابر شدن یا حذف رشته های DNA نیز از عوارض مهم شوری اند. افزایش شوری می تواند باعث ایجاد تنش هیپراسموتیک و هیپرتونیک شده که منجر به مرگ گیاه می شود (Mahajan and Tuteja, 2007).

کلر یک ماده غذایی کم مصرف ضروری برای بسیاری از گیاهان می باشد و حداقل کلر مورد نیاز برای رشد محصول یک گرم بر کیلوگرم وزن خشک گیاه توسط محققین پیشنهاد شده است. آنیون کلر در طبیعت فراگیر بوده، تنها حالت اکسایش پایدار کلر به صورت آنیون تک ظرفیتی Cl^- در محلول خاک وجود دارد (Marschner, 1995). امّا با توجه به وجود کلر در منابع مختلف نظیر آب آبیاری، ذخایر خاک، باران، کودها و آلودگی هوا، سمیت کلر بیش از کمبود آن مورد توجه است. آنیون کلر به وسیله ریشه جذب می شود؛ ازدیاد کلر در گیاه توتون باعث ایجاد اثرات نامطلوبی از جمله ترد، شکننده و ضخیم شدن برگ می شود و غلظت بحرانی کلر در گیاه توتون ۱۰ میلی گرم در گرم وزن خشک است (Li *et al.*, 1994). جذب کلر اضافی از راه کود، خاک شور و یا آبیاری توسط آب هایی که درجه شوری آن ها بالا است، اتفاق می افتد و این کلر اضافی باعث کاهش کیفیت توتون می شود. کلر بیش از یک درصد وزن خشک برگ توتون باعث کاهش کیفیت محصول می شود (Layten *et al.*, 1999). جذب کلر که به وسیله ریشه ها انجام می گیرد یک فرآیند فعال است و این فرآیند نیازمند انرژی می باشد و به وسیله سمپورت با یون های H^+ یا آنتی پورت با یونهای OH^- انجام می شود و انرژی آن توسط ATP تأمین می شود (Byrt *et al.*, 2007). باز شدن کانال های ورودی کلر در شرایط عادی (بدون تنش) از طریق جریان غیرفعال کلر انجام می شود (Yamashita *et al.*, 1994). انتقال کلر به آوند چوبی مکانیسم غیرفعال می باشد که توسط کانال های آنیونی صورت می گیرد (Gilliham and Tester, 2005). این کانال ها توسط هورمون آبسیزیک اسید تنظیم می گردند و در شرایط ایجاد تنش شوری انتقال کلر به ساقه محدود می شود. کنترل انتقال کلر به ساقه ممکن است به دلیل کاهش در انتقال کلر از راه کانال های آنیونی باشد و همچنین ممکن است از راه افزایش بازیابی فعال کلر از راه جریان آوند چوب در رگبرگ، ساقه های چوبی و ریشه باشد (Munns and Tester, 2008). وجود کلر برای تجزیه آب در فتوسیستم II ضروری است. کلر در این فتوسیستم باعث پایداری حالت اکسایشی منگنز در کلروفیل می شود. پلی پپتیدهای متصل به فتوسیستم II برای پیوند برقرار کردن با کلر باردار می‌شوند. در واقع کلر از هم گسیختگی پلی پپتیدهای موجود در مرکز فتوسیستم II جلوگیری می کند (Ho, 1988). معمولاً گیاه در کوتاه مدت توانایی تحمل افزایش کلر را دارد، امّا در بلند مدت افزایش کلر باعث کاهش رشد و تقسیم سلولی می‌شود. در نتیجه رشد برگ های جدید کم و اندازه آن ها کوچک تر

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2025-07-12]

[DOR: 20.1001.1.23222727.1397.7.26.5.4]

می‌شود و ضخامت برگ افزایش می‌یابد، سپس گیاه زودتر به مرحله گلدهی می رسد؛ امّا تعداد و اندازه گل ها کوچک تر است.

جاسمونات ها از جمله متیل جاسمونات گروهی از تنظیم کننده های رشد گیاهی هستند و از مولکول های اسید لینولنیک مشتق شده اند. این هورمون های به خوبی شناخته شده اند، زیرا نقش محوری در بسیاری از جنبه های رشد گیاه مانند رشد ریشه، پیری، باروری، تولید متابولیت های ثانویه و پاسخ به تنش های زیستی و غیر زیستی دارند (Jing *et al.*, 2012). همچنین این مولکول های علامت رسان در برخی از سیستم های انتقال علامت درگیرند و منجر به القای فعالیت آنزیم های ویژه ای می شوند که واکنش های بیوسنتزی مربوط به تولید ترکیبات دفاعی مانند پلی فنل ها، آلکالوئیدها و پروتئین های وابسته به میکروب های بیماری زا را کاتالیز می کنند. نتیجه این فرآیند، القا شدن پاسخ های دفاعی و محافظت گیاه در برابر حمله میکروب های بیماری زا است (Kozlowski *et al.*, 1999). مقدار جاسمونات ها در برخی از بافت ها بیشتر از بافت های دیگر است. به عنوان مثال درصد کل اسید جاسمونات و متیل جاسمونات حاضر در گل های گوجه فرنگی شامل ۱۳ درصد در تخمدان و ۵۳ درصد در گلبرگ ها است. تغییرات در ساختار و نمو گیاه همراه با حضور جاسمونات ها دیده شده است. یکی از مهم‌ترین تغییرات شکل گیری اندام های ذخیره ای است. برای مثال غده زایی در یام چینی توسط جاسمونات ها افزایش می یابد. اسپری زمین های تحت کشت یام چینی با غلظت ۱۰-۵ میلی گرم بر لیتر با جاسمونات اسید عملکرد غده ها را حدود ۴۰-۱۵ درصد افزایش می دهد (Kim et al, 2005). به طور معمول، از متیل جاسمونات خارجی در کشت سلولی گیاهی برای فعال کردن متابولیسم ثانویه استفاده می شود، امّا مطالعاتی که در مورد تأثیر آن بر رشد گیاه صورت گرفته است، نشان می دهد که جاسمونات ها، فعالیت زیستی گوناگونی مانند بازدارندگی رویش و جوانه زنی دانه و دانه ی گرده و مهار رشد ریشه و دستگاه های فتوسنتزی را دارند (Rossato *et al.*, 2002).

سلیمی و همکاران (۱۳۸۹) روی گیاه بابونه نشان دادند که درصد آسیب به غشاء در سطح احتمال ۱ درصد تحت اثر متقابل اسپری کردن با متیل جاسمونات و تنش شوری قرار گرفت؛ نتایج نشان داد افزایش سطح شوری باعث افزایش درصد آسیب به غشاء می‌شود و کمترین سطح متیل جاسمونات به کار رفته تا حد زیادی توانست میزان آسیب به غشا را کاهش دهد. همچنین طبق نتایج Fedina و Benderliev (۲۰۰۰) کاربرد خارجی متیل جاسمونات را در هنگام تنش های مختلف از جمله شوری، کم آبی و جراحت مورد بررسی قرار دادند و مشاهده کردند که متیل جاسمونات خارجی باعث افزایش مقاومت در گیاه با القای آنزیم سنتزکننده‌ی پرولین می گردد. حسیبی و همکاران (۱۳۸۷) تأثیر متیل جاسمونات و اتیلن روی کلزا مورد بررسی قرار دادند و مشاهده کردند که اتیلن پراکسیداسیون لیپیدی را افزایش داده، در حالی که متیل جاسمونات به طور معنی داری پراکسیداسیون لیپیدی را کاهش داده است که نشان دهنده کاهش خسارت اکسیداتیو با استفاده از متیل جاسمونات خارجی می‌باشد.

توتون گیاهی است با نام علمی *Nicotiana tabacum* که یک آمفی پلوئید (آلوتتراپلوئید) با ٤٨ کروموزوم است و به خانواده بادنجانیان (*Solanacoae*) تعلق داشته که آنیون کلر را خیلی سریع و به مقدار قابل توجه انباشت می نماید و تا حدود ۱۰۰ گرم کلر بر کیلوگرم ماده خشک برگ گزارش شده است. میزان کم کلر در خاک و کود اثرات سودمندی بر محصول و ارزش تجاری برگ توتون دارد، در حالی که غلظت زیاد توتون با رشد غیرطبیعی و خصوصیات نامطلوب برگ فرآوری شده همراه است (صدر زمانی و همکاران، ۱۳۹۳).

امروزه معضل ناشی از سمیت کلر در گیاهان، به دلیل وجود کلر در منابع مختلف نظیر آب آبیاری، بیش از کمبود آن مورد توجه قرار گرفته است. همچنین به دلیل سرعت و مقدار بالای انباشت آنیون کلر در گیاه توتون، سطح کلر موجود در آب و خاک مورد استفاده در زراعت توتون بسیار مهم ارزیابی می شود. بنابراین، یافتن راه های مناسب برای کاهش جذب کلر در گیاه توتون بسیار ضروری است. با توجه به اثرات

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2025-07-12]

[DOR: 20.1001.1.23222727.1397.7.26.5.4]

محدود کننده غلظت های زیاد کلر بر روی رشد، کیفیت و ارزش تجاری برگ گیاه توتون و همچنین کاربرد برخی تنظیم کننده‌های رشد مانند جاسمونیک اسید یا مشتق متیله‌ی آن به منظور بهبود رشد وتعدیل شرایط تنش در گیاهان، تحقیق حاضر به بررسی اثرات کلر آب آبیاری حاصل از کلرید کلسیم و متیل جاسمونات بر صفات فیزیولوژیکی و فعالیت آنزیم گیاه توتون رقم کوکر ۳٤۷ اختصاص یافت. این واریته، به عنوان یک رقم تجاری مناسب و منطبق با شرایط آب و هوایی در استان‌های شمالی ایران کشت می‌شود.

مواد و روش ها:

این طرح در سال زراعی ۹۱-۹۲ در مزرعه تحقیقاتی موسسه تحقیقات توتون گیلان با مختصات جغرافیایی طول ٤۹ درجه و ۳۱ دقیقه شرقی و عرض ۳۷ درجه و ۳۷ دقیقه شمالی با ۱۰ متر ارتفاع از سطح دریا و با وضعیت اقلیمی معتدل اجرا شد. از گیاه توتون واریته کوکر ۳٤۷، مربوط به توتون های تیپ غربی (ویرجینیا) که از تلاقی بین کوکر ۳۱۹ و کوکر ۲۵۸ حاصل شده و به آب و هوای استان های شمالی کشور به خوبی سازگاری دارد، استفاده شد. این واریته از ارقام توتون تجاری محسوب می شود. نشاهای توتون در این طرح نشاهای توتون که از مرکز تحقیقات توتون گیلان که به روش فلوت سیستم (خزانه شناور در آب) حاصل شده بود، استفاده شد و در اواخر اردیبهشت ۹۰ به گلدان ها منتقل شد. گلدان های پلاستیکی با قطر ۳۰ و ارتفاع ٤۰ سانتی متر با گنجایش ۲۵ کیلوگرم خاک انتخاب شدند. در کف هرگلدان چهار سوراخ جهت خروج آب و تبادلات گازی ایجاد و بخش تحتانی گلدان توسط توری های پلاستیکی که به همان اندازه بریده شده بود، پوشانده شدند، تا از خروج ریشه از سوراخ گلدان ها ممانعت به عمل آورد. روی توری با یک لایه نازک از سنگ ریزه پوشانده شد که نقش زهکش را ایفا کرده و تبادلات گازی و آبی را تسهیل نماید. حجم گلدان با چهار قسمت از خاک ایستگاه توتون گیلان و یک قسمت پرلیت ریز پر شد. کشت بذر در خزانه فلوت سیستم مرکز تحقیقات توتون گیلان انجام شد و نشاهایی کاملاً یکنواخت (با ارتفاع ۱۵-۱۲ سانتی متر) که جوانه انتهایی آن ها کاملاً سالم و عاری از هرگونه عوامل بیماری زا بودند، در ۲۸ اردیبهشت ۹۱ به تعداد یک بوته در هر گلدان کشت شدند. پس از طی شدن دوره ریشه زایی بوته ها، حدود چهار هفته بعد از نشاکاری گلدان ها با محلول های ۵۰، ۱۵۰ و ۳۰۰ میلی گرم در لیتر کلر حاصل از $CaCl_2(6H_2O)$ آبیاری شدند. آبیاری هر هفته سه بار و هر بار آبیاری یک لیتر از محلول کلسیم کلراید استفاده شد. این میزان آبیاری باعث آب شویی و خارج شدن کلر از گلدان ها نخواهد شد. به منظور بررسی اثرات متیل جاسمونات در شرایط تنش شوری حاصل از یون کلر، در سه مرحله این هورمون با غلظت ۳۰ میکرومولار روی برگ های توتون اسپری شدند که هر بار اعمال تیمار ۲٤ ساعت قبل از آبیاری با کلر انجام گرفت. میان برگ ها یا کمر برگ ها یعنی برگ های هشتم تا سیزدهم که در وسط بوته قرار دارند (این برگ ها دارای بافت ظریف تا متوسط هستند)، برای نمونه گیری انتخاب شدند و برای بررسی صفات فیزیولوژیکی و فعالیت آنزیم از این برگ ها استفاده شد. از هر بوته یک برگ سبز برداشت شد و در فویل های شماره گذاری شده قرار داده شدند و نمونه ها در نیتروژن مایع شوک فریز شدند و سریعاً به یخچال با دمای ۷۰- درجه سانتی گراد منتقل شدند تا در زمان مناسب برای سنجش استفاده شوند.

سنجش یون کلر: اندازه گیری مقدار یون کلر به روش تیتراسیون با نیترات نقره و مطابق روش Emami (۱۹۹٦) انجام شد. بر اساس این روش ۱ گرم از پودر خشک توتون را در ارلن ۱۰۰ میلی لیتری ریخته و به آن ۱۰۰ میلی لیتر آب مقطر اضافه کرده، به مدت ۳۰ دقیقه در حمام آب جوش قرار داده و سپس آن ها را صاف شدند، ۱۰ میلی لیتر از محلول صاف شده را برداشته و در ارلن ۱۰۰ میلی لیتری ریخته شد و به آن ۱۰۰ میلی لیتر آب مقطر اضافه شد، سپس در ارلن دیگری به عنوان شاهد ۱۱۰ میلی لیتر آب مقطر ریخته شد، به هر دو ارلن ۲ میلی لیتر کرومات پتاسیم ۵ درصد (۵ گرم کرومات پتاسیم در ۱۰۰ میلی لیتر آب مقطر) به عنوان معرف اضافه کرده و هر دو

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2025-07-12]

[DOR: 20.1001.1.23222727.1397.7.26.5.4]

ارلن را با نیترات نقره ۰/۰۲۵ نرمال تیتر شدند، به طوری که رنگ محلول از زرد روشن به نارنجی متمایل به قهوه ای تبدیل شود. با جاگذاری مقادیر تیتر در رابطه ۱ درصد یون کلر در گرم نمونه ماده خشک به دست می آید:

رابطه ۱: $[(v_1-v_0)\times 35.5 / 40\times 95] \times 100$

v_0: میزان تیتر برای محلول شاهد به میلی لیتر، v_1: میزان تیتر برای نمونه به میلی لیتر

سنجش درصد نیکوتین برگ: درصد نیکوتین در آزمایشگاه موسسه تحقیقات توتون رشت، با روش تقطیر بخار آب و قرائت جذب نمونه ها با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر UV visible بر اساس دستورالعمل مرکز تحقیقات و آموزش تیرتاش به شماره سند PR-85-02-01/00 اندازه گیری شد. طبق این روش ۰/۵ گرم از پودر خشک برگ را در ظرف تقطیر ریخته و ۱۰ میلی لیتر سود ۸ نرمال و ۳۰ میلی لیتر نمک اشباع و حدود ۲۰ تا ۳۰ میلی لیتر آب مقطر اضافه شدند، در زیر مبرد دستگاه تقطیر بالن ژوژه ۲۵۰ میلی لیتری که محتوی ۲۵ میلی لیتر اسید سولفوریک ۲ نرمال می باشد، قرار گرفتند. مخلوط به کمک بخار آب تقطیر شده و در بالن ژوژه حاوی اسید سولفوریک ۲ نرمال جمع آوری شدند، عمل تقطیر را تا حدود ۲۰۰ میلی لیتر ادامه داده و پس از سرد شدن بالن ژوژه با آب مقطر به حجم رسانده شدند و از محلول بالن ژوژه ۲۵۰ میلی لیتری مقدار ۲۵ میلی لیتر برداشته و در بالن ژوژه ۱۰۰ میلی لیتری ریخته و آن را با اسیدسولفوریک ۰/۰۵ نرمال به حجم رسانده شدند. جذب را در طول موج های ۲۳۶، ۲۵۹ و ۲۸۲ نانومتر علیه محلول شاهد با دستگاه اسپکتروفتومتر خوانده شدند (دادفر، ۱۳۶۰; Coresta, 1994).

درصد نیکوتین بر اساس رابطه ۲ محاسبه شد:

رابطه ۲: $A_{259} - (A_{236}-A_{282}/2) \times 6.5$ =درصد نیکوتین

سنجش نشاسته برگ: برای اندازه گیری میزان نشاسته ۱۰۰ میلی گرم نمونه فریز شده ۷۰- را وزن کرده و با اتانول ۸۰٪ هموژنیزه کرده و به لوله آزمایش درب دار منتقل کرده و به مدت ۵ دقیقه با سرعت ۳۰۰۰ سانتریفیوژ شدند تا مواد جامد ته نشین شود. سپس محلول روشناور را دور ریخته و باقیمانده ماده جامد را مجددا یک بار با اتانول ۸۰٪ و یک بار نیز با آب مقطر شستشو داده تا تمامی قندهای محلول در نمونه شسته شود، به باقیمانده مواد، ۲ میلی لیتر بافر سدیم فسفات ۲۰ میلی مولار و ٦ میلی مولار NaCl با pH ٦/۹ اضافه و لوله ها را ورتکس می شوند. سپس نمونه ها به مدت ۱۵ دقیقه در حمام آب جوش قرار گرفت تا نشاسته به حالت محلول درآید. پس از سرد شدن، ۱ میلی لیتر از محلول را به یک لوله آزمایش منتقل نموده و به میزان ۵۰ میکرولیتر آنزیم آلفا آمیلاز (mg/ml ۰/۷۵ در بافر تریس ۲۵ میلی مولار با pH ۷/۵ حاوی $CaCl_2$ ۱۰ میلی مولار) به آن اضافه گردید. سپس نمونه ها به مدت ١٦ ساعت در دمای ۳۷ درجه سانتی گراد در بن ماری قرار گرفت. در این مدت نشاسته توسط آلفا آمیلاز تجزیه شده و به قند تبدیل می شود، پس از این مدت نمونه ها خارج و ۲/۵ میلی لیتر آب مقطر به آن ها اضافه شده و به مدت چند ثانیه ورتکس شد. سپس ۲۵۰ میکرولیتر از نمونه برداشته و به آن ۲۵۰ میلی لیتر محلول DNS که قبلاً تهیه شده بود اضافه گردید (Wample and Davis, 1983). جهت تهیه نمونه کنترل، به ۱ میلی لیتر از نمونه باقیمانده نیز ۲/۵ میلی لیتر آب مقطر اضافه نموده و آن را هم زده و همانند نمونه، ۲۵۰ میکرولیتر DNS اضافه گردید. سپس لوله ها همزمان به مدت ۵ دقیقه در حمام آب جوش قرار گرفته و پس از سرد شدن لوله ها ۲/۵ میلی لیتر آب مقطر به آن ها اضافه شد، پس از هم زدن جذب آن ها را در طول موج ٥٤٠ نانومتر خوانده شد (Luchusinger and Cornresky, 1962). در نهایت عدد جذب نمونه از عدد جذب کنترل کسر و با استفاده از منحنی استاندارد مالتوز (۵ میلی مولار در بافر تریس) میزان نشاسته براساس میلی گرم مالتوز در گرم وزن تر محاسبه شد.

سنجش فعالیت آنزیم آلفا آمیلاز: برای استخراج آنزیم آلفا آمیلاز از روش Cuglielminetti (۱۹۹۵) استفاده شد. بر اساس این روش ۰/۵ گرم از بافت تر فریز شده را توسط نیتروژن مایع در هاون چینی کاملاً ساییده و به فالکون منتقل می کنیم و یک میلی لیتر بافر استات سدیم ۰/۳ مولار با pH ٥/٤ و $CaCl_2$ ۳ میلی مولار به آن اضافه کرده و حجم نمونه را یادداشت می

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2025-07-12]

[DOR: 20.1001.1.23222727.1397.7.26.5.4]

کنیم. سپس فالکون ها با دور ۱٤۰۰۰ به مدت ۱۰ دقیقه سانتریفیوژ شد و محلول روشناور جدا و به فریزر ۷۰- منتقل گردید. برای سنجش فعالیت آنزیم، ابتدا دو برابر تعداد نمونه ها لوله آزمایش آماده نموده (نیمی از لوله ها برای کنترل و نیم دیگر برای سنجش آنزیم)، به هر یک از لوله ها ۲۰۰ میکرولیتر بافر و ۵۰ میکرولیتر عصاره آنزیمی اضافه شد. به لوله های سنجش آنزیم، ۲۵۰ میکرولیتر نشاسته یک درصد (یک گرم نشاسته در ۱۰۰ میلی لیتر بافر) اضافه شد. پس از ۲۰ دقیقه از زمان شروع، به لوله ها ۵۰۰ میکرولیتر محلول دنیتروسالیسیلیک اسید (DNS) اضافه شد تا فعالیت آنزیم متوقف شود. به لوله های کنترل، ابتدا ۵۰۰ میکرولیتر DNS سپس ۲۵۰ میکرولیتر نشاسته اضافه شد. همزمان نمونه های استاندارد مالتوز، به همان صورت که برای سنجش نشاسته تهیه شد، تهیه گردید. سپس تمامی نمونه ها همزمان در حمام آب جوش به مدت ۵ دقیقه قرار گرفت و پس از سرد شدن، ۵۰ میلی لیتر آب مقطر به آن اضافه شده و کاملاً هم زده شد. سپس جذب نمونه ها در طول موج ٥٤٠ نانومتر توسط دستگاه اسپکتروفتومتر قرائت شد و در نهایت میزان فعالیت آنزیم بر حسب میلی مول در دقیقه در گرم وزن تر برگ محاسبه گردید.

سنجش پروتئین کل: برای تعیین غلظت پروتئین کل از روش Bradford (۱۹۷۹) استفاده شد و حجم مناسبی از عصاره حاوی ۱۰۰ میکرولیتر پروتئین از عصاره استفاده شد، سپس جذب نمونه ها در طول موج ۵۹۵ نانومتر خوانده شد. غلظت پروتئین کل بر اساس مقایسه با منحنی استاندارد تهیه شده با سرم آلبومین گاوی ((BSA (mg/ml به عنوان استاندارد محاسبه شدند.

سنجش محتوای کاروتنوئید کل: برای اندازه‌گیری کاروتنوئید کل از روش Lichtenthaler (۱۹۹٤) استفاده شد. به این منظور یک دیسک برگی از هر بوته تهیه و به مدت ٤۸ ساعت در پنج میلی‌لیتر استن ۸۰ درصد قرار داده شد. سپس با هاون چینی ساییده شد. مخلوط به دست آمده به مدت ۱۵ دقیقه در دمای چهار درجه سانتی گراد، با ۳۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفیوژ شدند. عصاره استونی شفاف جدا شد. سپس مقدار جذب محلول در طول موج‌های ٤۷۰، ٦٤٦/۸ و ٦٦۳/۲ نانومتر با استفاده از اسپکتروفتومتر (CamSpec M501 Single BeamUV/Visile) قرائت شد. کاروتنوئید کل از رابطه ۳ برحسب میکروگرم در سانتی‌متر مربع سطح برگ محاسبه شد:

رابطه ۳:

$$Car.T = (1000\ A_{470} - 1.82\ Chl.a - 85.02\ Chl.b)/(198 \times V/A)$$

در این رابطه V: حجم استن مورد استفاده به میلی‌لیتر و A: سطح دیسک برداشت شده از برگ به سانتی‌متر مربع است.

تجزیه و تحلیل آماری: نتایج آزمایش ها به کمک نرم افزار SPSS مورد تحلیل آماری قرار گرفت، برای مقایسه میانگین داده ها از آزمون دانکن و آزمون آنووا استفاده شد. از نرم افزار Excel برای رسم نمودارها استفاده شد.

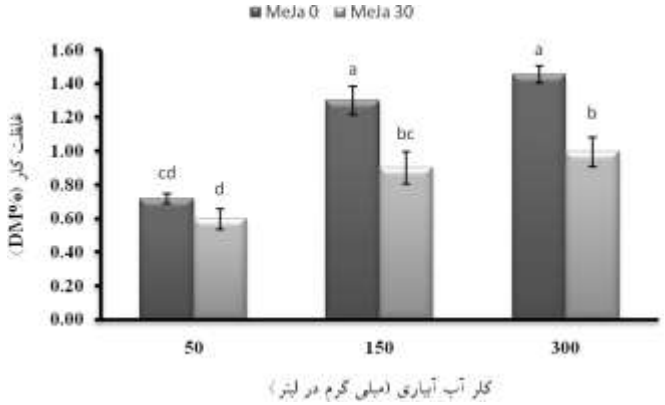
نتایج و بحث:

غلظت یون کلر: نتایج حاصل از این آزمایش نشان داد که تغییرات درصد کلر در غلظت های مختلف کلر آب آبیاری و متیل جاسمونات در برگ های بالایی در سطح احتمال یک درصد معنی دار است. بر اساس مقایسه میانگین داده های بدست آمده (شکل ۱)، افزایش کلر آب آبیاری تا تیمار ۳۰۰ میلی گرم در لیتر موجب افزایش محتوای یون کلر در برگ ها شده است. کاربرد متیل جاسمونات خارجی با غلظت ۳۰ میکرومولار در سه نوبت افشانه برگی میزان تجمع کلر را در برگ های کاهش داد و این کاهش در تیمار های ۱۵۰ و ۳۰۰ میلی گرم در لیتر کلر آب آبیاری معنی دار بود.

کلر یک عنصر هالوژن گروه چهارم جدول تناوبی، با عدد اتمی۱۷ و میانگین جرم اتمی ۳۵/۵ است. تنها حالت اکسایش پایدار کلر به صورت آنیون تک ظرفیتی کلر است. توتون گیاهی کلر دوست است و تجمع کلر به سرعت و به مقدار زیاد در آن صورت می گیرد. افزایش این یون در گیاه اغلب در کوتاه مدت تحمل می‌شود، امّا در بلند مدت باعث کاهش رشد و تقسیم سلولی و به دنبال آن تولید برگ‌های کوچک و ضخیم می‌شود (Zhao *et al.*, 2005). همچنین کلر یک ماده غذایی کم

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2025-07-12]

[DOR: 20.1001.1.23222727.1397.7.26.5.4]



شکل ۱- اثر غلظت های کلر آب آبیاری و متیل جاسمونات بر میزان تجمع کلر در برگ های گیاه توتون رقم کوکر۳٤۷ اختلاف غیر معنی دار بر اساس آزمون دانکن با حروف مشترک نشان داده شده است (P<0.01)

مصرف ضروری برای بیشتر گیاهان است و حداقل نیاز به کلر برای رشد محصول ۱ گرم بر گیلوگرم وزن خشک گیاه پیشنهاد شده است (Marschner, 2012). این مقدار به طور کلی به وسیله بارندگی تأمین می شود و گیاهان دارای کمبود کلر به ندرت در کشاورزی یا طبیعت مشاهده می شوند. اگرچه غلظت زیاد کلر بافت می تواند برای گیاهان زراعی سمی باشد و ممکن است کشاورزی را در مناطق شور محدود کند، تأثیر یون کلر در رشد گیاه به نوع گیاه بستگی دارد. غلظت کلر بالاتر از ۱۰ میلی گرم بر گرم وزن خشک گیاه موجب کاهش رشد، کیفیت و ارزش تجاری برگ و ایجاد خصوصیات نامطلوب در برگ خشک می‌شود (Li *et al.*, 1994). بر اساس نتایج موجود با افزایش غلظت کلر آب آبیاری، محتوای کلر برگ های مختلف گیاه توتون رقم کوکر ۳٤۷ به طور خطی افزایش یافت و بیشترین مقدار کلر در تیمار ۳۰۰ مشاهده شد که این یافته با نتایج تحقیقات بسیاری از محققان از جمله حجتی و همکاران (۱۳۸۸)، تیزهوش و همکاران (۱۳۹۰) در گیاه توتون و Ruiz و همکاران (۱۹۹۹) مطابقت دارد. آن ها گزارش کردند که افزایش غلظت کلر آب آبیاری حاصل از کلرید کلسیم موجب افزایش مقادیر کلر در بخش های مختلف گیاه از جمله برگ ها می شود. همچنین صدرزمانی و همکاران (۱۳۹۳) در سنجش میزان عنصر کلر و کلسیم در گیاه توتون رقم کوکر ۳٤۷، تحت تأثیر سطوح مختلف تیمار کلرید کلسیم در آب آبیاری به این نتیجه رسیدند که تفاوت معنی داری در غلظت کلسیم در اندام های برگ، ساقه و ریشه نمونه های مورد آزمایش مشاهده نشد. از سوی دیگر غلظت آنیون کلر در اندام های برگ، ساقه و ریشه تحت اثر تیمار کلرید کلسیم به کار رفته تفاوت معنی داری را نشان داد و افزایش معنی دار غلظت کلر در ریشه و اندام هوایی مشاهده شد. امروزه کاربرد برخی تنظیم کننده‌های رشد مانند جاسمونیک اسید یا مشتق متیله‌ی آن به منظور بهبود شرایط تنش در گیاهان گسترش یافته است. استفاده از جاسمونیک اسید خارجی می‌تواند در گیاه اثرات فیزیولوژیک زیادی ایجاد کند (Munns *et al.*, 2006). بر اساس نتایج موجود (شکل ۱) کاربرد متیل جاسمونات خارجی (۳۰ میکرومولار) در سه نوبت افشانه برگی موجب کاهش معنی دار مقادیر کلر در برگ های در تیمارهای کلر ۱۵۰ و ۳۰۰ میلی گرم در لیتر کلر آب آبیاری شد. بر اساس تحقیقات بسیاری از جمله سلیمی و همکاران (۱۳۹۰) و چاوشی و همکاران (۱۳۸۸) متیل جاسمونات نیز مانند سایر هورمون های گیاهی در غلظت های خاصی در بهبود شرایط گیاه موثر است. Chin و همکاران (۱۹۹۱) گزارش کردند که توانایی کلسیم در تعدیل آثار مخرب شوری به وسیله مهار جذب سدیم نشان داده شده است. تیزهوش و همکاران (۱۳۹۱) در تعیین تأثیر متیل جاسمونات بر میزان غلظت کلسیم تحت تیمارهای مختلف کلرید کلسیم (۵۰، ۱۵۰

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2025-07-12]
[DOR: 20.1001.1.23222727.1397.7.26.5.4]

و ۳۰۰ میلی گرم در لیتر) در گیاه توتون رقم کوکر ۳۴۷ (شرایط مشابه به تحقیق حاضر) به این نتیجه رسیدند که افزایش کلر آبیاری در شرایط عدم حضور متیل جاسمونات، میزان تجمع کلسیم را افزایش یافت که بیشترین تجمع کلسیم در تیمار ۳۰۰ میلی گرم در لیتر مشاهده شد، کاربرد متیل جاسمونات تجمع کلسیم را نسبت به تیمارهای بدون متیل جاسمونات فقط در تیمار ۳۰۰ میلی گرم در لیتر کاهش معنی داری مشاهده شد و در تیمارهای ۵۰ و ۱۵۰ میلی گرم در لیتر تأثیر معنی داری نداشت (کد پژوهشی پایان نامه ٦٦٥٤). وجود بیش از یک درصد کلر در توتون موجب کاهش کیفیت توتون می شود. کلسیم نیز به میزان ۱ تا ۲/۵ درصد موجب بهبود کیفیت برگ گیاه توتون می شود، در حالی که بیشتر از این مقدار انعطاف پذیری برگ گیاه توتون را کم می کند و موجب کاهش کیفیت گیاه توتون می شود. بارگیری کلر به آوند چوب یک مکانیسم غیر فعال است که توسط کانال های آنیونی انجام می‌گیرد که این کانال ها توسط هورمون آبسیزیک اسید تنظیم می‌شوند. با توجه به مشترک بودن بخشی از مسیر عملکرد متیل جاسمونات و آبسیزیک اسید مانند بسته شدن روزنه ها و تحریک ریزش برگ ها و همچنین اثرگذاری متیل جاسمونات بر روی ژن هایی که اسید آبسیزیک را کد می کند، احتمالاً متیل جاسمونات خارجی با اثر بیوسنتز آبسیزیک اسید و به دنبال آن اثر بر کانال های آنیونی موجب کاهش انتقال کلر به اندام هایی هوایی و برگ‌ها شده است (Gilliham and Tester, 2005).

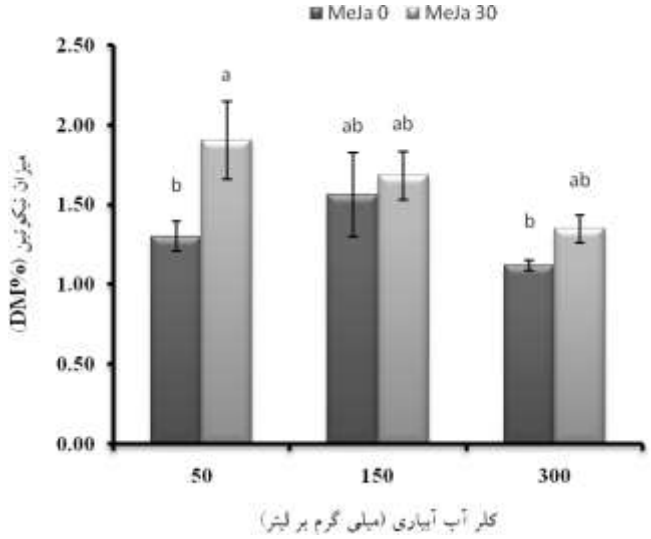
درصد نیکوتین برگ: تغییرات درصد نیکوتین برگ ها در غلظت های مختلف کلر آب آبیاری و متیل جاسمونات خارجی در شکل ۲ نشان داده شده است. اثر کلر آب آبیاری و متیل جاسمونات بر میزان نیکوتین برگ های میانی در سطح احتمال پنج درصد معنی دار است. بر اساس مقایسه میانگین داده ها، افزایش کلر آب آبیاری تا تیمار ۳۰۰ میلی گرم در لیتر در میزان درصد نیکوتین برگ ها تأثیر معنی داری ایجاد ننمود. کاربرد متیل جاسمونات خارجی با غلظت ۳۰ میکرومولار باعث افزایش درصد نیکوتین برگ ها شده است و بیشترین میزان تجمع نیکوتین در تیمار کلر ۵۰ با حضور متیل جاسمونات مشاهده شد. در نتیجه افزایش غلظت کلر آب آبیاری تا تیمار کلر ۳۰۰ اثر معنی داری بر غلظت نیکوتین برگ های میانی ایجاد نکرد. Karaivazoglou و همکاران (۲۰۰٦) بیان کردند که اثر کلر روی غلظت نیکوتین؛ کم، ناپایدار و وابسته به نوبت برداشت و نوع واریته است. نتایج ناپایدار و اثرات خفیف مشابهی از کلر روی محتوی نیکوتین در توتون های ویرجینیا، بارلی و مریلند به وسیله سایر محققین گزارش شده است (McCants and Woltz 1967; Collins and Hawks, 1993; Mulchi, 1982). نیکوتین ساختاری مشابه سیتوکینین ها (مشتقات آدنین) داشته و در مریستم نوک ریشه ساخته می شود. بنابراین، افزایش رشد ریشه در توتون بعد از مصرف ترکیبات نیتروژنی سبب افزایش تولید سیتوکینین و نیکوتین در ریشه و انتقال به شاخه ها می‌شود. کاربرد خارجی متیل جاسمونات در تیمار کلر ۵۰ باعث افزایش معنی دار غلظت نیکوتین برگ شد (شکل ۲). به نظر می رسد متیل جاسمونات با افزایش معنی دار غلظت نیترات برگ در تیمار کلر ۵۰ موجب بهبود رشد و سنتز نیکوتین در تیمار کلر ۵۰ شده است.

غلظت نشاسته برگ و فعالیت آنزیم آلفا آمیلاز: اثر غلظت های مختلف کلر آب آبیاری و متیل جاسمونات بر غلظت نشاسته برگ های میانی در سطح احتمال یک درصد معنی دار است. بر اساس مقایسه میانگین داده (شکل۳)، افزایش کلر آب آبیاری تا تیمار ۳۰۰ میلی گرم در لیتر باعث افزایش معنی دار نشاسته برگ شده است. کاربرد متیل جاسمونات خارجی با غلظت ۳۰ میکرومولار باعث کاهش معنی دار نشاسته در تیمار ۳۰۰ میلی گرم در لیتر شد. بیشترین میزان نشاسته در تیمار ۳۰۰ میلی گرم در لیتر کلر بدون کاربرد متیل جاسمونات مشاهده شد.

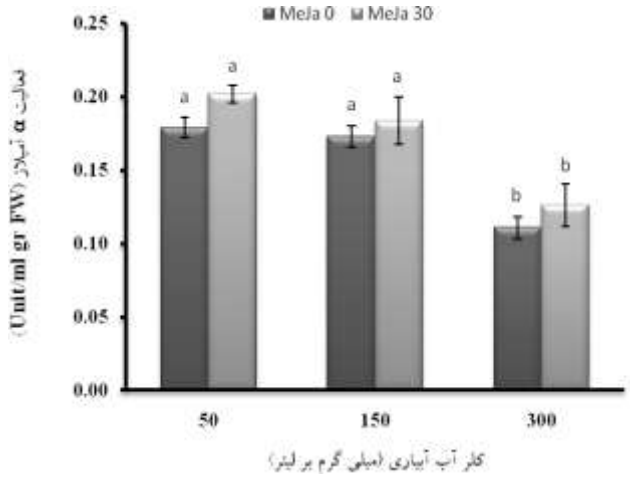
در بررسی فعالیت آنزیم آلفا آمیلاز، اثر غلظت های مختلف کلر آب آبیاری و متیل جاسمونات بر میزان فعالیت آنزیم آلفا آمیلاز برگ در سطح احتمال یک درصد معنی دار است. بر اساس مقایسه میانگین داده ها (شکل ۳)، اگرچه با افزایش کلر

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2025-07-12]

[DOR: 20.1001.1.23222727.1397.7.26.5.4]



شکل ۲- اثر غلظت های کلر آب آبیاری و متیل جاسمونات بر میزان نیکوتین برگ های توتون رقم کوکر۳٤۷، اختلاف غیر معنی دار بر اساس آزمون دانکن با حروف مشترک نشان داده شده است (P<0.05)

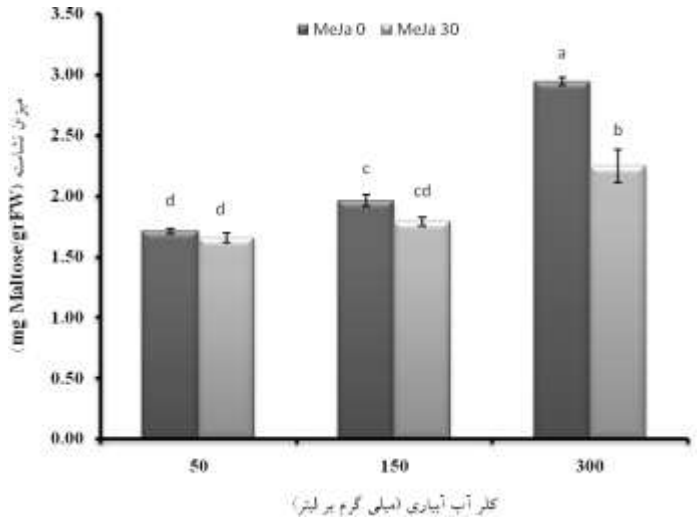


شکل ۳- اثر غلظت های کلر آب آبیاری و متیل جاسمونات بر میزان فعالیت آنزیم آلفا آمیلاز برگ های توتون رقم کوکر ۳٤۷، اختلاف غیر معنی دار بر اساس آزمون دانکن با حروف مشترک نشان داده شده است (P<0.01)

تا تیمار ۱۵۰ میلی گرم در لیتر فعالیت آنزیم آلفا آمیلاز تغییر معنی داری مشاهده نشد، امّا فعالیت آنزیم در تیمار کلر ۳۰۰ کاهش معنی داری یافت. همان طور که مشاهده می شود کاربرد متیل جاسمونات خارجی با غلظت ۳۰ میکرومولار نیز تفاوت معنی داری بر میزان فعالیت آنزیم آلفاآمیلاز در تیمارهای مختلف کلر آب آبیاری ایجاد نکرد.

کربوهیدارت هایی مانند قندها و نشاسته در تنش شوری تجمع می یابند و عمل مهم آن ها محافظت اسمزی، ذخیره کربن و جاروب کردن رادیکال های آزاد می باشد که تنش شوری باعث تغییر ساختار آنها می شود (Singh et al, 2000). همچنین می توان تغییر در مقدار نشاسته در تنش را به علت ایجاد اختلال در فعالیت آنزیم های کلیدی در سنتز نشاسته (ADP-گلوکز پیرو فسفوریلاز و استارچ سینتتاز) دانست (Ho, 1988). سیلوا و همکاران (۲۰۰۳) اعلام کردند افزیش شوری موجب افزایش کربوهدرات ها می‌شود، در حالی که افزودن کلسیم باعث کاهش میزان کربوهیدرات ها را در برگ و ریشه گیاه جو می‌شود (جهانی و همکاران، ۱۳۹۰). هوکز معتقد است که تجمع کلر اضافی در برگ ها (به خصوص در

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2025-07-12]
[DOR: 20.1001.1.23222727.1397.7.26.5.4]



شکل ٤- اثر غلظت های کلر آب آبیاری و متیل جاسمونات بر میزان نشاسته برگ های توتون رقم کوکر۳٤۷
اختلاف غیر معنی دار بر اساس آزمون دانکن با حروف مشترک نشان داده شده است (P<0.01)

بالاترین غلظت کلر یعنی تیمار ۳۰۰) متابولیسم قندها را مختل می سازد و رطوبت پذیری برگ ها را افزایش می دهد. در نتیجه انبار کردن برگ را مشکل می سازد و فعالیت کپک ها را افزایش می دهد (قمری، ۱۳۸۹). آمیلاز ها از مهم‌ترین آنزیم های گیاهی هستند که نقش کلیدی در فرآیندهای انرژی زایی و رشد گیاهان بخصوص در مراحل اولیه رشد ایفا می کنند. این آنزیم ها می تواند مولکول های درشت نشاسته را به مولکول های کوچکتری مانند مالتوز و گلوکز تجزیه کنند (Ebermann and Praznik, 1975). نتایج این تحقیق نشان داد (شکل های ۳ و ٤)، با افزایش غلظت کلر آب آبیاری تا تیمار ۳۰۰ میلی گرم در لیتر، محتوای نشاسته برگ های میانی افزایش و فعالیت آنزیم آلفا آمیلاز در برگ های میانی در سطح احتمال یک درصد کاهش یافت. کریمی و همکاران (۱۳۸٤)، مشاهده کردند محتوای نشاسته بافت های برگی در گونه *Atriplex verrucifera* که تحت تیمارهای مختلف شوری بودند تا غلظت ۲۰۰ میلی مولار افزایش معنی داری یافت، امّا غلظت بیشتر از ۲۰۰ میلی مولار کاهش محتوای نشاسته دیده شد. Gao و همکاران (۱۹۹۸) نشان دادند، مقدار نشاسته در برگ های گوجه فرنگی تحت اثر شوری افزایش یافت. Saeedipour و Moradi (۲۰۱۱) در دو رقم گندم تحت تنش خشکی افزایش شدید غلظت نشاسته را مشاهده کردند که در رقم مقاوم افزایش غلظت بیشتر بود. بر اساس گزارش Parida و همکاران (۲۰۰٤) در تنش شوری، مقدار نشاسته در بخش های هوایی برنج بدون تغییر باقی ماند. در این راستا کاهش فعالیت آنزیم آلفا آمیلاز تحت تنش شوری به دنبال کاهش تحرک و تجزیه نشاسته در برنج مشاهده شد (Lin and Kao, 1995). حیدری ریکان و همکاران (۱۳۸۵) در گیاه جو تحت تنش شوری گزارش کردند که با افزایش تنش شوری فعالیت آنزیم آلفا آمیلاز به طور معنی داری کاهش می یابد. نتایج مطالعات فرهودی (۱۳۹۱) نشان داد که فعالیت آنزیم آلفا آمیلاز در گیاه کلزا تحت تنش شوری کاهش می یابد. کاهش فعالیت آنزیم آلفا آمیلاز در گیاهچه *Abelmoschus esculentus* تحت تأثیر تنش شوری باعث کاهش رشد این گیاهچه شد (Dkhil and Denden, 2010). Sangeetha (۲۰۱۳)، کاهش ۵۰ درصدی فعالیت آنزیم آمیلاز را در گیاه ذرت تیمار شده با ۱۰۰ میلی مولار سدیم کلرید گزارش کرد. همچنین نتایج Muscolo و همکاران (۲۰۰۳) دیگر تحقیقات نیز نشان می دهند فعالیت آمیلازها در غلظت های بالای شوری حاصل از کلرید سدیم در دانه رست های عدس کاهش می یابد. کاهش فعالیت آنزیم آلفا آمیلاز با تجمع معنی دار نشاسته در تیمار کلر ۳۰۰ با توجه به اینکه این آنزیم مسئول تجزیه نشاسته است دور از انتظار نیست. به نظر می رسد بین میزان

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2025-07-12]
[DOR: 20.1001.1.23222727.1397.7.26.5.4]

فعالیت آمیلازها و میزان نشاسته در تنش شوری حاصل از یون کلر ارتباط وجود دارد. کاربرد متیل جاسمونات خارجی با کاهش معنی دار نشاسته (شکل ٤) و عدم تأثیر معنی دار بر فعالیت آنزیم آلفا آمیلاز (شکل ۳) در تیمار کلر ۳۰۰ همراه بود. Satvir و همکاران (۱۹۹۸) در بررسی اثر شوری (۷۵ میلی مولار) و جیبرلین (٦ میکرومولار) بر جوانه زنی گیاه نخود مشاهده کردند که کاربرد جیبرلین باعث افزایش فعالیت آنزیم و کاهش نشاسته شد که مطابق یافته های پژوهش حاضر می باشد. همانطور که اشاره شد جاسمونات ها در القا سنتز جیبرلین نقش دارند (Jinrong, 2009). شاید بتوان گفت متیل جاسمونات با کاهش معنی دار نشاسته موجب حفظ پتانسیل اسمزی و کاهش خطر دهیدراتاسیون سلولی در غلظت های بالای کلر را فراهم آورده است.

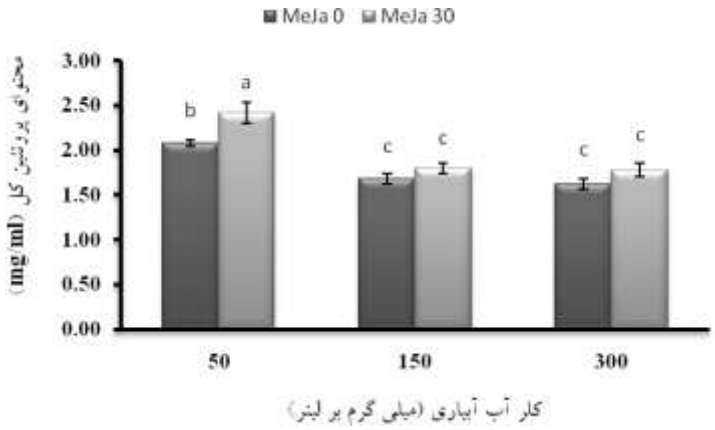
محتوای پروتئین کل: محتوای پروتئین کل برگ های توتون در غلظت های مختلف کلر آب آبیاری و متیل جاسمونات خارجی در شکل ۵ نشان داده شده است. بر اساس نتایج حاصل اثر کلر آب آبیاری و متیل جاسمونات بر میزان پروتئین در سطح احتمال یک درصد معنی دار است. مقایسه میانگین داده ها نشان داد که افزودن کلر به آب آبیاری تا میزان ۳۰۰ میلی گرم در لیتر موجب کاهش پروتئین کل برگ شده است. کاربرد متیل جاسمونات خارجی با غلظت ۳۰ میکرومولار موجب افزایش معنی داری محتوای پروتئین کل برگ در تیمار ۵۰ میلی گرم در لیتر کلر آب آبیاری شده است، ولی بر تیمارهای ۱۵۰ و ۳۰۰ کلر آب آبیاری تأثیر معنی داری نداشته است. بیشترین میزان پروتئین کل نیز در تیمار کلر ۵۰ در حضور متیل جاسمونات دیده شد. گیاهان برای مقاومت در برابر تنش ها از جمله شوری ممکن است بیان ژن و پروتئین های خود را تغییر دهند. تغییر در میزان بیان پروتئین ها یکی از پاسخ های متابولیکی گیاه در تنش های محیطی می باشد که از لحاظ کیفی و کمی با پروتئین هایی که در غیاب تنش بیان می شوند، متفاوت هستند (Sangeetha, 2013). زمانی که گیاه تحت تنش قرار می گیرد بیان پروتئین های مختلف متفاوت می باشد، به طوری که در برخی از گیاهان بعضی از پروتئین های محلول از قبیل آنزیم های آنتی اکسیدانی در پاسخ به تنش به صورت معنی داری افزایش می یابد و از طرف دیگر مشاهده شده است که شوری سنتز برخی از پروتئین ها را در برخی از گیاهان کاهش داده و هیدرولیز آن ها را افزایش می دهد که منجر به افزایش محتوای اسید های آمینه آزاد می شود (Kozlowski, 1997). اگر تنش طولانی شود می تواند روی سنتز پروتئین تأثیر بگذارد و سرانجام کاهش آن را موجب شود. گاه برای زنده ماندن در شرایط تنش، گیاهان پروتئین ها را ذخیره می کنند تا سلول ها را از تأثیرات تنش محافظت کنند. در پژوهش حاضر نیز مشاهده شد، با افزایش کلر آب آبیاری تا تیمار ۳۰۰ محتوای پروتئین کل در برگ های میانی کاهش یافت. گزارش های پژوهشگران نشان می دهد که به طور کلی تنش های مختلف باعث کاهش سنتز پروتئین کل در اندام های گیاهانی مانند جو (Helal and Mengel, 1979)، توتون (Ben-Zioni *et al.*, 1967) و پنبه (Pessarakli and Tucker, 1985) شده است، در پاسخ گیاهان توتون *Plumbaginifolia* به تنش شوری حاصل از ۲۵۰ میلی مولار کلرید سدیم، کاهش معنی داری در غلظت پروتئین کل مشاهده شد (Riahy and Ehsanpour, 2013). کاربرد متیل جاسمونات خارجی باعث افزایش معنی دار محتوای پروتئین کل در تیمار کلر۵۰ گردید. یافته های Abdelgawad و همکاران (۲۰۱٤) مبنی بر افزایش محتوای پروتئین کل در گیاه ذرت (*Zea maize* L.) با متیل جاسمونات در تنش خشکی با نتایج این پژوهش مطابقت دارد.

محتوای کاروتنوئید: مقایسه میانگین داده‌ها در شکل ٦ نشان می دهد با افزایش غلظت یون کلر تا تیمار ۳۰۰، محتوای کاروتنوئید کل تغییر معنی‌داری ایجاد نشد. به کارگیری متیل جاسمونات به شکل افشانه به میزان ۳۰ میکرومولار محتوای کاروتنوئیدها را با سطح معنی‌دار یک درصد افزایش داد. بیشترین مقدار کاروتنوئید کل در تیمار کلر ۵۰ میکرومولار مشاهده شد.

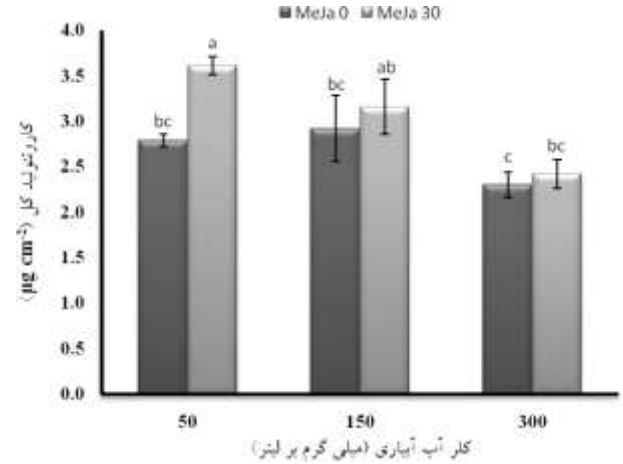
رنگیزه‌های کاروتنوئیدی علاوه بر انتقال انرژیِ برانگیختگی در فتوسنتز، برای ساختارهای فتوسنتزی نقش حفاظتی دارند.

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2025-07-12]

[DOR: 20.1001.1.23222727.1397.7.26.5.4]



شکل ۵- اثر غلظت های کلر آب آبیاری و متیل جاسمونات بر میزان پروتئین کل در برگ های توتون رقم کوکر ۳٤۷، اختلاف غیر معنی دار بر اساس آزمون دانکن با حروف مشترک نشان داده شده است (P<0.01)



شکل ٦- اثر غلظت های مختلف یون کلر و متیل جاسمونات بر محتوای کاروتنوئید کل در برگ های توتون رقم کوکر۳٤۷، اختلاف غیر معنی‌دار بر اساس آزمون دانکن با حروف مشترک نشان داده شده است (P<0.01)

این رنگیزه‌ها به عنوان آنتی اکسیدان غیر آنزیمی از پراکسیده شدن لیپیدها و تنش اکسیداتیو جلوگیری می‌کنند. همچنین این ترکیبات انرژی زیادی را از فتوسیستم های I و II به صورت واکنش‌های شیمیایی بی ضرر دفع کرده و موجب محافظت غشای کلروپلاستی می‌شوند. نتایج پژوهش حاضر نشان داد به کارگیری متیل جاسمونات خارجی با غلظت ۳۰ میکرومولار موجب افزایش معنی‌دار رنگیزه‌های کاروتنوئیدی در تیمار کلر ۵۰ میکرومولار شد که این نتیجه، دلیل دیگری مبنی بر نقش تعدیل کنندگی متیل جاسمونات در شرایط تنش شوری است. کاروتنوئیدها توسط اکسیژن یکتایی اکسید می‌شوند و می‌توانند تولید گونه های فعال اکسیژن را کاهش دهند (Koryo, 2006). تیمار با متیل جاسمونات با افزایش دادن فعالیت سیستم آنتی اکسیدانی (اعم از آنزیمی و غیر آنزیمی) می‌تواند موجب حذف رادیکال‌های آزاد و کاهش تنش اکسیداتیو در گیاهان شود (Wang, 1999) که در پژوهش حاضر در تیمار ۵۰ کلرید کاهش تنش به واسطه این امر رخ داده است.

نتیجه گیری کلی:

با توجه به نتایج به دست آمده از پژوهش، چنین به نظر می رسد که تنش واقعی در تیمار ۳۰۰ کلر آب آبیاری اتفاق افتاده که افزایش میزان تولید نشاسته و محتوای کلر که احتمالاً به علت سمیت ایجاد شده توسط کلر می باشد؛ کاهش میزان

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2025-07-12]

[DOR: 20.1001.1.23222727.1397.7.26.5.4]

فعالیت آنزیم آلفا آمیلاز و کاهش محتوای پروتئین کل برگ ها در اثر سمیت کلر رخ داده است و تغییری در میزان نیکوتین و محتوای کاروتنوئید برگ گیاه توتون صورت نگرفت. کاربرد متیل جاسمونات خارجی موجب افزایش نیکوتین، پروتئین کل و محتوای کاروتنوئید در تیمار ۵۰ کلر آب آبیاری شد که احتمالاً کاربرد متیل جاسمونات با غلظت ۳۰ میکرومولار در غلظت های پایین تر کلر می تواند آسیب هایی حاصل از تنش را بهبود بخشد.

منابع:

تیزهوش جلالی، م.ر.، سرمد، ج.، نورسته نیا، ا.، زواره، م. و مشتاقی، م. (۱۳۹۱) بررسی اثر متیل جاسمونات بر توتون رقم کوکر ۳۴۷ به غلظت های مختلف یون کلر. کارشناسی ارشد، دانشگاه گیلان. رشت، ایران (کد پژوهشی ٦٦٥٤).

جهانی، ص.، لاهوتی، م. و عباسی، ف. (۱۳۹۰) اثر برهم کنش Na^{+}-Ca^{2+} بر تغییرات قندهای محلول و میزان عدد کلروفیل متر در گیاه جو (*Hordeum Vulgare* L. cv. Reyhan). اولین همایش ملی راهبردهای دستیابی به کشاورزی پایدار، دانشگاه پیام نور استان خوزستان، خوزستان.

چاوشی، م. آروین، م و کلانتری، خ. (۱۳۸۸) مطالعه اثر متیل ژاسمونات بر رنگیزه های فتوسنتزی، پروتئین، یونهای سدیم و پتاسیم و برخی پارامترهای رشد در گیاه گلرنگ تحت تنش شوری. مجله زیست شناسی ایران. ۳: ۳۹۷-٤۰۸.

حجتی نجف آبادی، ج. (۱۳۸۹) اثر یون کلر بر پارامترهای رشد و متابولیسم کربن و نیتروژن در گیاهان توتون رقم کوکر ۳٤۷. کارشناسی ارشد، دانشگاه گیلان. رشت، ایران.

حسیبی، ن. منوچهری کلانتری، خ. مظاهری، م و احمدی موسوی، ع. (۱۳۸۷) اثر متیل جاسمونات و برهم کنش آنها بر جوانه زنی بذر و برخی عامل های بیوشیمیایی دانه رست های کلزا(*Brassica napus* L.) زیست شناسی ایران، ۲۱(۲): ۲۱۵-۲۰٦.

حیدری ریکان، م.، حیدری، ر. و جامعی، ر. (۱۳۸۵) بررسی مقاومت به شوری و خشکی چهار رقم جو (*Hordeum vulgaris* L.) در مرحله جوانه زنی، پژوهش و سازندگی در زراعت و باغبانی، ۷٤: ۱۳٤-۱٤۲.

دادفر، د. (۱۳٦۰) روش های تجزیه مواد مختلف در توتون. انستیتو توتون ایران، مرکز ارومیه.

سلیمی، ف.، شکاری، ف.، عظیمی، م. و زنگانی، ا. (۱۳۹۰) نقش متیل جاسمونات در بهبود مقاومت به شوری از طریق تاثیر بر برخی خصوصیات فیزیولوژیک در گیاه بابونه آلمانی(*Matricaria chamomilla* L.). تحقیقات گیاهان دارویی و معطر ایران، ٤(٥٤): ۷۰۰-۷۱۱.

صدرزمانی، ک.، سرمد، ج.، زواره، م. و مشتاقی، م. (۱۳۹۳) اثر غلظت های مختلف کلر آب آبیاری بر عملکرد و شاخص های رشد گیاه توتون (*Nicotiana tabacum* L.). مجله فرآیند و کارکرد گیاهی، جلد ۳، شماره ۹، ۱۲۳-۱۳۲.

فرهودی، ر. (۱۳۹۱) اثر تنش شوری بر فعالیت آنزیم آلفا آمیلاز، نشت پذیری غشای سلولی و رشد گیاهچه ارقام کلزا، مجله فرآیند و کارکرد گیاهی، ۱:۱٤-۲۵.

قمری، م.ن. (۱۳۹۰) اثر کلراید در تنظیم آب روی کمیت و کیفیت در سه نوع توتون زراعی. پایان نامه کارشناسی ارشد دانشگاه آزاد اسلامی قائمشهر، مازندران، ایران.

کریمی، ق.، قربانلی، م.ل.، حیدری شریف آباد، ح. و عصاره، م.ح. (۱۳۸٤) بررسی مکانیسم های مقاومت به شوری در گونه مرتعی *Atriplex verrucifera*، پژوهش و سازندگی در منابع طبیعی، ۷۳: ٤۲-٤۸.

Abdelgawad, Z. A., Khalafaallah, A. A. and Abdallah, M. M. (2014) Impact of Methyl Jasmonate on Antioxidant Activity and Some Biochemical Aspects of Maize Plant Grown under Water Stress Condition. Agricultural Sciences 5: 1077-1088.

Ben-Zioni, A., Itali C. and Vaadia, Y. (1967) Water and salt Stress, kinetin and protein synthesis in tobacco leaves. Plant Physiology 42: 361-365.

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2025-07-12]

[DOR: 20.1001.1.23222727.1397.7.26.5.4]

Bradford, M. M. (1976) A rapid and sensitive method for the Quantitation of microgram of protein utilizing of protein- day binding. Analytical Biochemistry 72: 248-54.

Byrt, C. S., Platten, J. D., Spielmeyer, W., James, R. A. and Lagudah, E. S. (2007) HKT1;5-like cation transporters linked to Na+ exclusion loci in wheat, Nax2 and Kna1. Plant Physiology 143:1918-1928.

Chin, C. T., Shetty, K., Mortimer, M. and Oser, C. S. (1991) Calcium induced salt tolerance in Rhizobium leguminosarum biovar vicias strain C1204b. Federation of European Microbiological Societies Microbiology Letters 83(2): 219-224.

Collins, W. K., and Hawks, S. N. J. (1993) Principles of flue-cured tobacco production. Raleigh, NC: North Carolina State University.

Coresta (1994) Determination of total alkaloids (as nicotine) in tobacco by continuous flow analysis. Coresta recommended method No 35.

Dkhil, B. B. and Denden, M. (2010) Salt stress induced changes in germination, sugars, starch and enzyme of carbohydrate metabolism in *Abelmoschus esculentus* L. (Moench.) seeds. African Journal of Agricultural Research 5: 1412-1418.

Ebermann, R. and Praznik, W. (1975) Bestimmung der molekulargewichtsverteilung in nativen starken durch gelchromatographie. Food Science and Technology 27: 329-333.

Emami, A. (1996) Methods of plant analysis. Soil and Water Agricultural Research Institute, Tehran (in Persian).

Fedina, I. S. and Benderliev, K. M. (2000) Response of secondesmus incrassatulus to salt stress as affected by methyl jasmonate. Biologia Plantarum 43(4): 625-627.

Gao, Z. F., Sag, M. and Lips, S. H. (1998) Carbohydrate metabolism in leaves and assimilate partitioning in fruits of tomato (*Lycopersicum sculentum* L.) as affected by salinity. Plant Science 135: 149-159.

Gilliham, M. and Tester, M. (2005) The regulation of anion loading to the maize root xylem. Plant Physiology 137: 819-28.

Helal, H. M. and Mengel K. (1979) Nitrogen metabolism of young barley plants as effected by NaCl-salinity and potassium chloride. Plant Soil 51: 457-462.

Ho, L. C. (1988) Metabolism and compartmentation of imported sugars in sink organs in relation to sink strength. Annual review of plant physiology and plant molecular biology 39: 355-378.

Jing, G., Qiuying, P., Lihua, W., Ping, Y., Nan, L. and Xiufeng, Y. (2012) Proteomic identification of MYC2-dependent jasmonate-regulated proteins in *Arabidopsis thaliana*. Proteome Science 10:57.

Jinrong, P. (2009) Gibberellin and Jasmonate Crosstalk during Stamen Development. Journal of Integrative Plant Biology 51(12): 1064–1070.

Karaivazoglou, N. A., Papakosta, D. K., and Divanidis, S. (2006) Effect of chlotide in irrigation water on oriental (sun-cured) tobacco. Jurnal of Plant Nutrition, 29:1431-1431.

Kim, S. K., Kim, J. T., Jang, S. W., Lee, S. C., Lee, B. H. and Lee, I. J. (2005) Exogenous effect of gibberellins and jasmonate on tuber enlargement of *Dioscorea opposita*. Agronomy Research 3: 39-44.

Koryo, H. W. (2006) Effect of salinity on growth, photosynthesis and solute composition of the potential cash corp halophyte plantago. Environmental and Experimental Botany 56(2): 136-149

Kozlowski, G., Buchala, A. and M´etraux, J. P. (1999) Methyl jasmonate protects Norwayprotects Norwayprotects Norway spruce (*Picea abies* (L.) Karst.) seedlings against Pythium against Pythium ultimum Trow. Physiological and Molecular Plant Pathology 55: 53-58.

Kozlowski, T. T. (1997) Response of woody plants to flooding and salinity. Tree Physiology Monograph 1:1-24.

Larcher, W. (2001) Physiological plant ecology. Springer-verlag Berlin Heidelberg New York Germany.

Layten, D. D. and Nielsen, M. T. (1999) Tobacco production, chemistry and technology. Blackwell science, New York.

Levitt, J. (1972) Physiological Ecology, A Series of Monographs Texts and Treatises. Academic press London.

Li, L. T., Yuan, D. H., and Sun, Z. J. (1994) Influence of a Cl^- containing fertilizer on Cl concentration in tobacco leaves. J. Southwest Agric. Univ. in Chinese, 16(4): 415–418.

Lichtenthaler, K. H. (1994) Chlorophyll and carotenoids of photosynthetic biomembrances. Methods in Enzymology 148: 350-382.

Lin, C. H. and Kao, C. H. (1995) NaCl Stress in rice seedling: Starch mobilization and the influence of gibberellic acid on seedling growth. Botanical Bulletin- Academia Sinica Taipei Journal 36: 169–173.

Luchsinger, W. W. and Cornesky, R. A. (1962) Reducing power by the dinitrosalicylic method. Analytical Biochemistry 4: 346-347.

Mahajan, S. and Tuteja, N. (2007) Cold, salinity and drought stresses: An Overview .Archives of Biochemistry and Biophysics 444 :139-158.

Marschner, H. (1995) Mineral Nutrition of Higher Plants, 2nd., Pp. 889. Academic Press, Sn Diego, CA.

Marschner, H. (2012) Mineral Nutrition of Higher Plants, 3nd., Pp. 672. Academic Press, Sn Diego, CA.

Cuglielminetti, L., Yamaguchi, J., Perata, P. and Alpi A. (1995) Amylolytic Activities in Cereal Seeds under Aerobic and Anaerobic Conditions. Plant Physiology 109: 1069-1076.

McCants, C. B. and Woltz, W. G. (1967) Growth and mineral nutrition of tobacco. Advances in Agronomy 19: 211-265.

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2025-07-12]

[DOR: 20.1001.1.23222727.1397.7.26.5.4]

Mulchi, C. L. (1982) Chloride effects on agronomic, chemical and physical properties of Maryland tobacco. I. Response to chloride applied to the soil. Tobacco Regulatory Science Journal 26: 113–116.

Munns, R. and Tester, M. (2008) Mechanism of salinity tolerance. The Annual Review of Plant Biology 59: 651-681.

Munns, R., James, A. and Lauchi A. (2006) Approaches to increasing the salt tolerance of wheat and other cereals. Journal of Experimental Botany 57: 1025-1043.

Muscolo, A., Panuccio M. R. and Sidari, M. (2003) Effect of salinity on growth, carbohydrate metabolism and nutritive (properties of kikuyu grass (*Pennisetum clandestium* Hochst). Plant Science physiology 160(4): 395-401.

Parida, A. K, Das, A. B., Mittra, B. and Mohanty, P. (2004) Salt-stress induced alterations in protein profile and protease activity in the mangrove, Bruguiera parviflora. Zeitschrift für Naturforschung C 59: 408-414.

Riahy, M. and Ehsanpour, A. A. (2013) Effect of salinity on growth, chlorophyll, carbohydrate and protein contents of transgenic Nicotiana Plumbaginifolia over expressing P5CS gene. E3 Journal of Environmental Research and Management 4(1): 0163-0170.

Rossato, L., Le Dantec, C., Laine, P. and Ourry, A. (2002) Nitrogen storage and remobilization in Brassica napus L. during the growth cycle: identification and immunolocalization of a putative taproot storage glycoprotein. Journal of Experimental Botany 53 (367): 265-275

Ruiz, J. M., Rivero, R. M., Garcıa, P. C., Baghour, M. and Romero, L. (1999) Role of $CaCl_2$ in nitrate assimilation in leaves and root of tobacco plants (*Nicotiana tabacum* L.). Plant Science 141: 107-115.

Saeedipour S. and Moradi F. (2011) Relationship between abscisic acid (ABA) concentration and some physiological traits in two wheat cultivars differing in post-anthesis drought-resistance. African Journal of Biotechnology 10(72):16219-16227.

Sangeetha R. (2013) Effect of salinity induced stress and its alleviation on the activity of amylase in the germinating seeds of Zea mays. International Journal of Basic Life Sciences 1(1): 1-9.

Satvir, K., Anil, K. G. and Narinder, K. (1998) Gibberellin A3 reverses the effect of salt stress in chickpea (*Cicer arietinum* L.) seedlings by enhancing amylase activity and mobilization of starch in cotyledons. Plant Growth Regulation 26: 85-90.

Singh, S. K., Sharma, H. C., Goswami, A. M., Datta, S. P. and Singh, S. P. (2000) In vitro growth and leaf composition of grapevine cultivars as affected by sodium chloride. Biologia Plantarum 43: 283-286.

Wample, R. L. and Davis, R. W. (1983) Effect of flooding on starch accumulation in chloroplast of sunflower (*Helianthus annus* L). Plant Physiology 73: 195-198.

Wang, S. Y. (1999) Methyl jasmonate reduces water stress in strawberry. Plant Growth Regulation 18: 127-134.

Yamashita, K., Kasai K., Yamamoto, Y. and Matsumoto, H. (1994) Stimulation of plasmamembrane H^+-transport activity in barley roots by salt stress possible role of increase in chloride permeability. Soil Science Plant Nutrition 40:555-63.

Zhao, J., Davis L. C. and Verpoorte R. (2005) Elicitor signal transduction leading to production of plant secondary metabolites. Biotechnology Advances 23: 283–333.

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2025-07-12]

[DOR: 20.1001.1.23222727.1397.7.26.5.4]