مقایسه اثرات روش‌های تیمار بذری و مرحله رویشی سیستئین بر بهبود رشد گیاه ریحان بنفش (*Ocimum basilicum* L.) تحت تنش کبالت

محمودرضا آذرخش، زهرا اسرار و حکیمه منصوری*

گروه زیست شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه شهید باهنر، کرمان، ایران

(تاریخ دریافت: ۱۳۹۲/۰۴/۱۷؛ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۲/۰۷/۱۵)

چکیده:

در این تحقیق اثر اسید آمینه سیستئین در کاهش تنش فلز سنگین کبالت در گیاه ریحان بنفش (*Ocimum basilicum*) مورد بررسی قرار گرفت و پارامترهای وزن تر اندام هوایی و ریشه، سطح برگ، مقدار کلروفیل‌های a و b، کاروتنوئید، میزان آنتوسیانین، ترکیبات فنلی کل و محتوای قند احیا کننده اندازه‌گیری شد. تحقیق به صورت دو آزمایش جداگانه در دو گروه تیمار بذری و تیمار مرحله رویشی انجام شد. به این منظور از غلظت‌های ۰، ۵۰۰ و ۲۵۰۰ میکرومولار سیستئین و ۰، ۱۰۰ و ۵۰۰ میکرومولار کبالت استفاده شد. غلظت بالای کبالت باعث کاهش در رنگیزه‌های فتوسنتزی، سطح برگ، طول ریشه و ساقه، وزن تر ریشه و اندام هوایی، افزایش در قندهای احیا کننده، آنتوسیانین و محتوای فنل کل گردید. تیمار بذری سیستئین باعث کاهش در وزن تر ریشه و افزایش در قندهای احیا کننده ، آنتوسیانین و کلروفیل نسبت به گیاهانی شد که تنها با کبالت تیمار شده بودند. همچنین تیمار مرحله رویشی سیستئین باعث افزایش سطح برگ، وزن تر اندام هوایی و ریشه و کاهش کاروتنوئید و فنل کل گردید. نتایج حاصل از تیمارهای سیستئین در غلظت‌های متفاوت نشان داد که تیمار بذری سیستئین در غلظت‌های پایین کبالت تأثیر بیشتری نسبت به غلظت‌های بالای کبالت دارد در حالی که تیمار مرحله رویشی سیستئین در غلظت بالاتر کبالت تأثیر گذارتر است. با توجه به نتایج، سیستئین احتمالاً با کلاته کردن فلز و بیوسنتز فیتوکلاتین موجب کاهش تنش می‌شود.

واژه‌های کلیدی: ریحان، سیستئین، فلز سنگین، کبالت.

مقدمه:

کبالت، عنصری واسطه و یک جزء ضروری برای آنزیم‌ها و کوآنزیم‌های مختلف می‌باشد. بسته به غلظت و وضعیت کبالت در ریزوسفر و خاک، رشد و متابولیسم گیاهان در سطوح مختلفی تحت تأثیر قرار می‌گیرد (Palit *et al*., 1994). غلظت بالای کبالت برای انسان‌ها، گیاهان و حیوانات آبزی و خشکی‌زی سمی است (Nagpal *et al*., 2004). تنها نقش فیزیولوژیکی که تا کنون در گیاهان عالی به طور قطعی به کبالت نسبت داده شده، تثبیت نیتروژن در گیاهان متعلق به خانواده پروانه آسایان می‌باشد (Barker and Pilbeam, 2006). به طور کلی سطح متوسط کبالت در خاک ppm ۴۰-۳۰ بوده و بالاتر از آن باعث سمیت می‌شود (Hasan *et al*., 2011). غلظت زیاد کبالت باعث آسیب مورفولوژیکی به پلاستیدها و تغییر در

*نویسنده مسؤل، نشانی پست الکترونیکی: h_mansuori@yahoo.com

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2024-07-19]

[DOR: 20.1001.1.23222727.1392.2.6.7.1]

محتوای کلروفیل می‌گردد. کبالت مانع از تشکیل نشاسته و باعث تغییر در ساختار و تعداد کلروپلاست در واحد سطح برگ می‌شود. کبالت باعث مهار فعالیت PS II و از این رو واکنش هیل می‌گردد. اثرات سمی کبالت بر روی مرفولوژی شامل ریزش برگ، جلوگیری از جوانه‌زنی، بسته شدن پیش از موقع برگ در چرخه نیکتی ناستی و کاهش وزن است (Palit *et al.*, 1994). سیستئین به عنوان یک اسید آمینه در ساختار پروتئین‌ها شرکت می‌کند و علاوه بر این به عنوان یک پیش ماده برای مولکول‌های زیستی ضروری مانند ویتامین‌ها و کوفاکتورها، آنتی اکسیدان‌هایی مانند گلوتاتیون، و ترکیبات دفاعی ازقبیل بسیاری از گلوکوزینولات، تیونین‌ها یا فیتوالکسین‌ها عمل می‌کند (Alvarez *et al.*, 2012). سیستئین همچنین یک پیش ماده برای سنتز گلوتاتیون (GSH) است که یک تیول غالب غیر پروتئینی با نقش مهم در پاسخ به تنش گیاه است. گلوتاتیون در پاسخ گیاه به سطوح سمی فلزات سنگین دخیل است و پیش ماده فیتوکلاتین است، که پپتید درگیر سم‌زدایی فلزات سنگین می‌باشد. فیتوکلاتین‌ها به یون‌های سمی فلزات سنگین متصل می‌شوند و این کمپلکس‌ها توسط انتقال دهنده‌های نوع ABC (ATP-binding cassette transporters) که گروهی از پروتئین‌های غشایی در پروکاریوت‌ها و یوکاریوت‌ها هستند، به واکوئل منتقل می‌شوند. امروزه، آلودگی خاک و آب توسط فلزات سنگین و سمی باعث مشکلات برای محیط زیست و سلامت انسان شده است. پتانسیل حذف این فلزات سمی به وسیله تکنولوژی گیاه پالایی باعث علاقه به تحقیق و تفحص در مکانیسم‌های فیزیولوژیکی و مولکولی سازگاری گیاه به سطوح بالای فلزات سنگین است (Dominguez-Solis *et al.*, 2004). ریحان بومی آسیا (هند، پاکستان، ایران، تایلند و سایر کشورها) است (Makri and Kintzios, 2008). گیاه ریحان دارای آنتی اکسیدان‌های طبیعی است و به همین جهت می‌تواند یک محافظ در مقابل رادیکال‌های آزاد باشد (Tilebeni, 2011). ریحان در مناطق آب و هوایی دارای دمای ۲۷°C–۷، بارندگی سالیانه ۲m /۴–۰/۶ و خاک‌های دارای pH ۴/۳ تا ۸/۲ می‌روید (Makri and Kintzios, 2008). رزمارینیک اسید موجود در گونه‌های *Ocimum* خاصیت آنتی اکسیدانی دارند (Javanmardi *et al.*, 2003). ریحان منبع اسانس‌ها و ترکیبات آروماتیک است (Makri and Kintzios, 2008) و تاکنون تقریباً ۱۴۰ ترکیب متفاوت در اسانس گیاه ریحان شناسایی شده است (Radacsi *et al.*, 2010). در این پژوهش میزان تأثیر غلظت‌های مختلف آمینو اسید سیستئین و دو روش متفاوت اعمال تیمار آن بر کاهش اثرات تنش کبالت در گیاه ریحان مورد بررسی قرار گرفت. به این منظور، شاخص‌هایی مانند سطح برگ، وزن تر اندام هوایی و ریشه، میزان انواع رنگیزه‌ها (کلروفیل a ، b، کاروتنوئید)، میزان آنتوسیانین، ترکیبات فنلی کل و محتوای قندهای احیا کننده مورد سنجش قرار گرفت.

مواد و روش‌ها:

گیاه مورد مطالعه در این پژوهش، گیاه ریحان بنفش (*Ocimum basilicum*) رقم زراعی Purpurescens می‌باشد که متعلق به خانواده نعناعیان (Lamiaceae) است. برای این منظور ابتدا بذرهای یکسان با سدیم هیپوکلریت ۰/۵ درصد به مدت یک دقیقه ضدعفونی شده و سپس دو بار با آب مقطر شسته شدند. برای کشت گیاه، از گلدان‌های پلاستیکی با قطر ۱۵ سانتیمتر حاوی پرلیت استفاده شد. برای هر تیمار ۳ گلدان به عنوان ۳ تکرار در نظر گرفته شد. در هر گلدان ۲ بذر به عنوان ۲ نمونه کاشته شد. گلدان‌ها پس از کشت در گلخانه، تحت شرایط نوری (۱۶ : ۸) (نور/ تاریکی) با شدت نور ۱۴ کیلولوکس، رطوبت نسبی ۶۰ درصد و دمای نسبی ۲۸–۲۶ درجه سانتی‌گراد در روز و ۲۱–۱۹ درجه سانتی‌گراد در شب، قرار گرفتند و به منظور تأمین املاح مورد نیاز گیاه، گلدان‌ها هفته‌ای ۳ مرتبه با محلول غذایی هوگلند با رقت ۱/۲ و pH تقریبی ۵/۷ به مدت ۳۰ روز آبیاری شدند. تحقیق در دو آزمایش به صورت زیر انجام شد: در آزمایش

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2024-07-19]
[DOR: 20.1001.1.23222727.1392.2.6.7.1]

اول بذرها به مدت ۲۴ ساعت در محلول سیستئین با غلظت‌های ۰، ۵۰۰ و ۲۵۰۰ میکرومولار پیش تیمار شدند سپس توسط آب مقطر شسته شده و در محیط کشت پرلیت کشت داده شدند. پس از اینکه گیاهان به رشد کافی رسیدند (مرحله ۳ جفت برگی)، به مدت ۱۰ روز تحت تیمار نیترات کبالت با غلظت‌های ۰، ۱۰۰ و ۵۰۰ میکرومولار قرار گرفتند.

در آزمایش دوم بذرها ضدعفونی شده و ۲۴ ساعت در آب مقطر قرار گرفتند و سپس در محیط کشت پرلیت کشت داده شدند. برای این گیاهان تیمار مرحله رویشی سیستئین با کبالت انجام گرفت که بدین منظور سیستئین در غلظت‌های ۰، ۵۰۰ و ۲۵۰۰ میکرومولار در طول ۱۰ روز تیمار با نیترات کبالت (در غلظت‌های مشابه با آزمایش اول) سه مرتبه و به صورت هم‌زمان در مرحله ۳ جفت برگی صورت گرفت. بعد از ۱۰ روز نمونه‌ها برای آنالیزهای فیزیولوژیک و بیوشیمیایی برداشت شدند.

اندازه‌گیری وزن‌تر اندام هوایی و ریشه: برای تعیین وزن تر ریشه و اندام هوایی، وزن هر یک از نمونه‌ها در گروه‌های تیماری مختلف با ترازوی Sartorius مدل BPSIID با دقت ۰/۰۰۱ گرم اندازه گیری شد و بر اساس واحد گرم گزارش گردید.

اندازه‌گیری شاخص سطح برگ: جهت اندازه‌گیری سطح برگ آن را بر روی کاغذ میلی‌متری قرار داده و با مداد اطراف آن را خط کشیده و سپس با استفاده از پلانیمتر مساحت یابی انجام و بر اساس واحد سانتی‌متر مربع گزارش گردید.

رنگیزه‌های فتوسنتزی: اندازه‌گیری مقدار رنگیزه‌های فتوسنتزی با استفاده از روش Lichtenthaler (۱۹۸۷) انجام پذیرفت و غلظت رنگیزه‌ها بر حسب میکروگرم بر گرم وزن تر محاسبه گردید.

قندهای احیاکننده: برای اندازه‌گیری مقدار قندهای احیاکننده از روش Somogyi (۱۹۵۲) استفاده شد و نتایج بر حسب میلی‌گرم بر گرم وزن تر محاسبه و ارائه گردید.

ترکیبات فنلی کل: محتوای ترکیبات فنلی کل با استفاده از روش Fletcher and Kott (۱۹۹۹) انجام گرفت و با استفاده از منحنی استاندارد غلظت ترکیبات فنلی کل بر حسب میلی‌گرم بر گرم وزن تر محاسبه گردید.

آنتوسیانین: از روش Wagner (۱۹۷۹) جهت اندازه‌گیری مقدار آنتوسیانین‌های اندام هوایی استفاده شد. محاسبه غلظت آنتوسیانین با استفاده از ضریب خاموشی $M^{-1}cm^{-1}$ ۳۳۰۰۰ انجام و نتایج بر حسب میکرومول بر گرم وزن تر ارائه گردید.

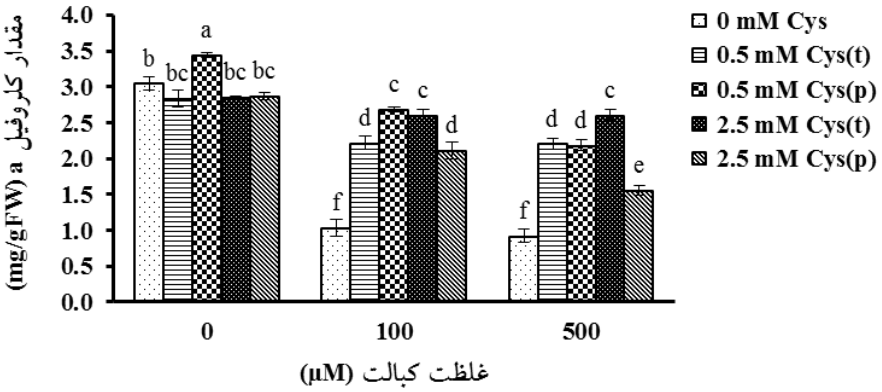
تجزیه و تحلیل آماری: این تحقیق در قالب یک آزمایش فاکتوریل با طرح کاملا تصادفی انجام شد. نتایج گزارش شده برای هر گروه تیماری میانگین سه تکرار می‌باشند. داده‌های حاصل از اندازه‌گیری پارامترها، با استفاده از نرم‌افزار SPSS تحت آنالیز واریانس یک طرفه قرار گرفتند و میانگین داده‌ها با آزمون دانکن مقایسه شدند. سطح $P < ۰/۰۵$ به عنوان سطح اختلاف معنی‌دار در نظر گرفته شد.

نتایج:

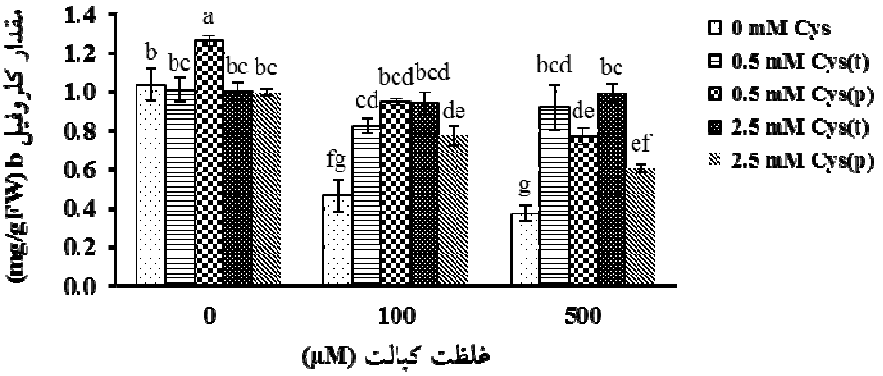
میزان کلروفیل و کاروتنوئید: کاربرد مقادیر ۱۰۰ و ۵۰۰ میکرومولار کبالت موجب کاهش معنی‌دار رنگیزه‌های فتوسنتزی شد و همچنین تیمار بذری سیستئین در غلظت۰/۵ میلی‌مولار باعث افزایش معنی‌دار رنگیزه‌ها در نمونه‌های بدون کبالت شد، در حالی که تیمار بذری و تیمار مرحله رویشی سیستئین در همه غلظت‌ها باعث افزایش معنی‌دار رنگیزه‌ها نسبت به گیاهانی شد که تنها با کبالت تیمار شده بودند (شکل ۱ و ۲ و ۳ و ۴). تأثیر سیستئین به صورت تیمار بذری در غلظت ۱۰۰ میکرومولار کبالت بیشتر از تأثیر آن در غلظت ۵۰۰ میکرومولار کبالت بود اما تیمار مرحله رویشی سیستئین در غلظت ۱۰۰ و ۵۰۰ میکرومولار کبالت تفاوت معنی‌داری نداشت.

میزان قندهای احیاکننده اندام هوایی: با افزایش غلظت کبالت محتوای قندهای احیاکننده اندام هوایی افزایش یافت (شکل ۵). کاربرد سیستئین در همه غلظت‌ها

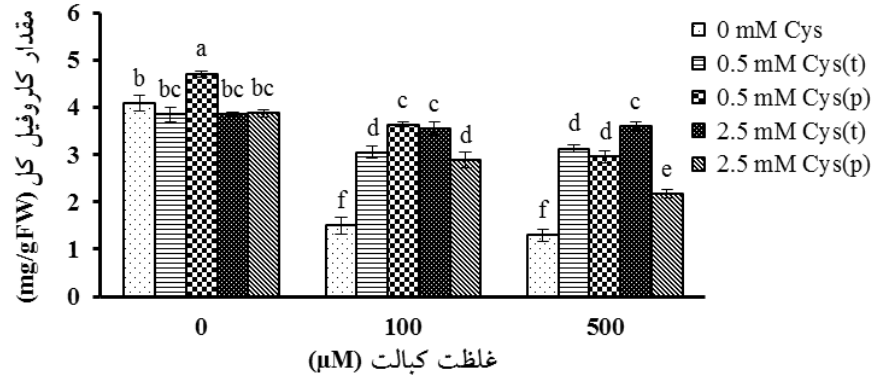
[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2024-07-19]
[DOR: 20.1001.1.23222727.1392.2.6.7.1]



شکل ۱ – اثر متقابل تیمارهای سیستئین و کبالت بر مقدار کلروفیل a. مقایسه میانگین‌ها بر اساس آزمون دانکن و با سه تکرار انجام شد. حروف یکسان بیانگر عدم اختلاف معنی‌دار بین میانگین‌ها در سطح $P \leq 0.05$ است.t : تیمار مرحله رویشی، p: تیمار بذری.



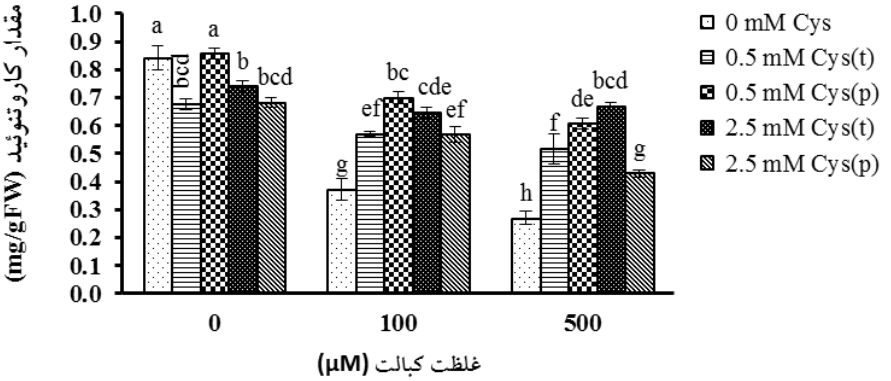
شکل ۲ – اثر متقابل تیمارهای سیستئین و کبالت بر مقدار کلروفیل b . مقایسه میانگین‌ها بر اساس آزمون دانکن و با سه تکرار انجام شد. حروف یکسان بیانگر عدم اختلاف معنی‌دار بین میانگین‌ها در سطح $P \leq 0.05$ است.t : تیمار مرحله رویشی، p: تیمار بذری.



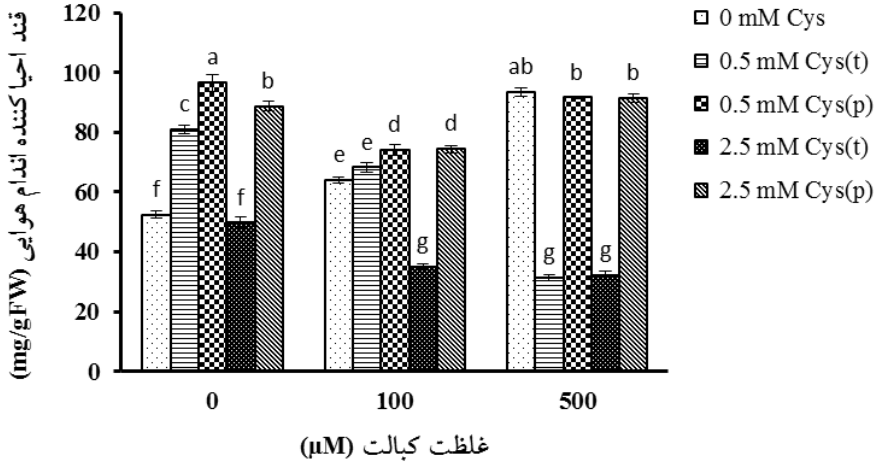
شکل ۳ – اثر متقابل تیمارهای سیستئین و کبالت بر مقدار کلروفیل کل. مقایسه میانگین‌ها بر اساس آزمون دانکن و با سه تکرار انجام شد. حروف یکسان بیانگر عدم اختلاف معنی‌دار بین میانگین‌ها در سطح $P \leq 0.05$ است.t : تیمار مرحله رویشی، p: تیمار بذری.

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2024-07-19]

[DOR: 20.1001.1.23222727.1392.2.6.7.1]



شکل ۴ - اثر متقابل تیمارهای سیستئین و کبالت بر مقدار کاروتنوئید. مقایسه میانگین‌ها بر اساس آزمون دانکن و با سه تکرار انجام شد. حروف یکسان بیانگر عدم اختلاف معنی‌دار بین میانگین‌ها در سطح $P \leq 0.05$ است.t: تیمار مرحله رویشی، p: تیمار بذری.

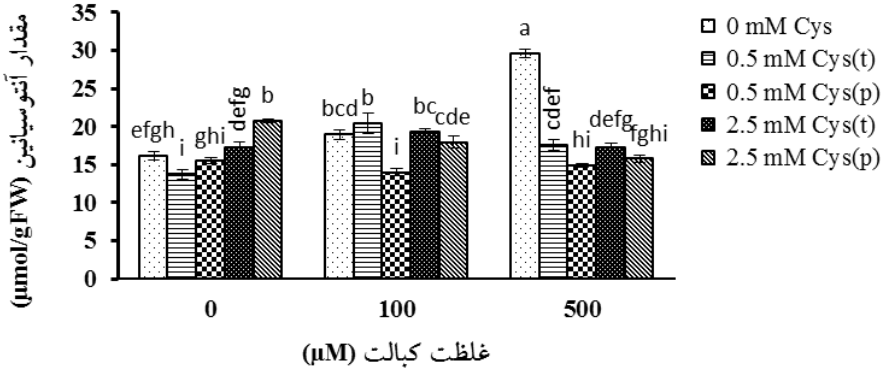


شکل ۵ - اثر متقابل تیمارهای سیستئین و کبالت بر مقدار قندهای احیاکننده اندام هوایی. مقایسه میانگین‌ها بر اساس آزمون دانکن و با سه تکرار انجام شد. حروف یکسان بیانگر عدم اختلاف معنی‌دار بین میانگین‌ها در سطح $P \leq 0.05$ است.t: تیمار مرحله رویشی، p: تیمار بذری.

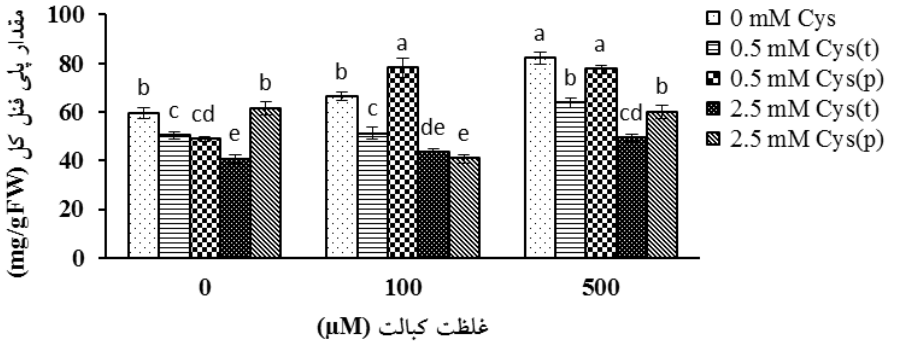
به‌جز ۲/۵ میلی‌مولار تیمار مرحله رویشی سیستئین باعث افزایش معنی‌دار محتوای قندهای احیا کننده در نمونه‌های بدون کبالت شد. همچنین تیمار مرحله رویشی سیستئین در همه غلظت‌ها به‌جز غلظت ۰/۵ میلی‌مولار در غلظت ۱۰۰ میکرومولار کبالت، باعث کاهش معنی‌دار قندهای احیا کننده نسبت به گیاهانی شد که تنها با کبالت تیمار شده بودند. تیمار مرحله رویشی و تیمار بذری سیستئین به‌جز غلظت تیمار مرحله رویشی ۲/۵ میلی‌مولار، باعث افزایش قندهای احیاکننده در نمونه‌های بدون کبالت شد.

آنتوسیانین: با افزایش غلظت کبالت محتوای آنتوسیانین به طور معنی‌داری افزایش یافت (شکل ۶). در نمونه‌های بدون کبالت غلظت ۰/۵ میلی‌مولار تیمار مرحله رویشی سیستئین باعث کاهش آنتوسیانین و غلظت ۲/۵ میلی‌مولار تیمار مرحله رویشی سیستئین باعث افزایش آنتوسیانین گردید. در غلظت ۵۰۰ میکرومولار کبالت، تیمار بذری و تیمار مرحله رویشی سیستئین باعث کاهش معنی‌دار آنتوسیانین نسبت به گیاهانی شد که تنها با کبالت تیمار شده بودند. اما در غلظت ۱۰۰ میکرومولار کبالت تنها تیمار بذری

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2024-07-19]
[DOR: 20.1001.1.23222727.1392.2.6.7.1]



شکل ۶ - اثر متقابل تیمارهای سیستئین و کبالت بر مقدار آنتوسیانین. مقایسه میانگین‌ها بر اساس آزمون دانکن و با سه تکرار انجام شد. حروف یکسان بیانگر عدم اختلاف معنی‌دار بین میانگین‌ها در سطح $P \leq 0.05$ است. t: تیمار مرحله رویشی، p: تیمار بذری



شکل ۷ - اثر متقابل تیمارهای سیستئین و کبالت بر مقدار پلی فنل کل. مقایسه میانگین‌ها بر اساس آزمون دانکن و با سه تکرار انجام شد. حروف یکسان بیانگر عدم اختلاف معنی‌دار بین میانگین‌ها در سطح $P \leq 0.05$ است. t: تیمار مرحله رویشی، p: تیمار بذری.

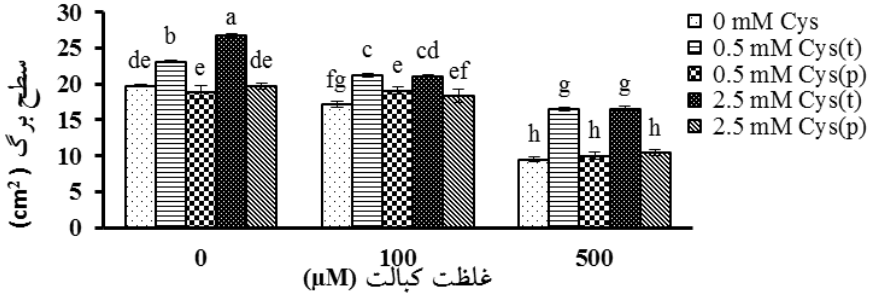
سیستئین در غلظت ۰/۵ میلی‌مولار باعث کاهش معنادار آنتوسیانین نسبت به گیاهانی شد که تنها با کبالت تیمار شده بودند.

فنل کل: بر اساس شکل ۷ تیمار ۵۰۰ میکرومولار کبالت موجب افزایش معنی‌دار محتوای فنل کل شد. سیستئین به‌جز در غلظت ۲/۵ میلی‌مولار تیمار بذری باعث کاهش محتوای فنل کل در نمونه‌های بدون کبالت شد. تیمار مرحله رویشی سیستئین در هر دو غلظت و تیمار بذری سیستئین در غلظت ۲/۵ میلی‌مولار باعث کاهش معنی‌دار فنل کل نسبت به گیاهانی شد که تنها با کبالت تیمار شده بودند.

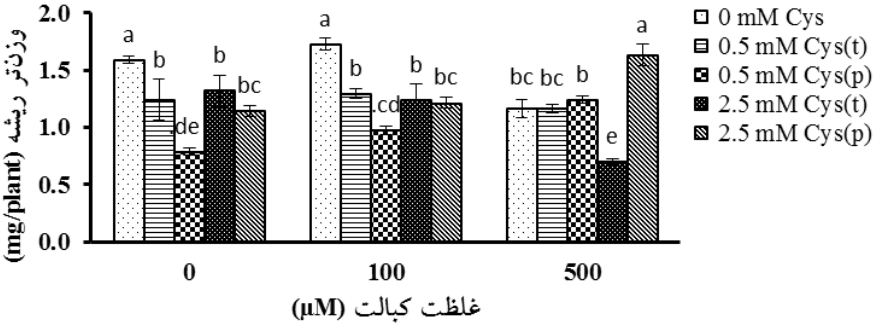
سطح برگ: کاربرد مقادیر ۱۰۰ و ۵۰۰ میکرومولار کبالت موجب کاهش معنی‌دار سطح برگ شد (شکل ۸). تیمار مرحله رویشی سیستئین باعث افزایش سطح برگ در گیاهان بدون کبالت گردید. همچنین تیمار مرحله رویشی سیستئین در هر دو غلظت ۰/۵ و ۲/۵ میلی‌مولار باعث افزایش معنی‌دار در سطح برگ شد اما تیمار بذری سیستئین تنها در غلظت ۰/۵ میلی‌مولار سیستئین و ۱۰۰ میکرومولار کبالت باعث افزایش معنی‌دار در سطح برگ شد.

وزن تر ریشه: غلظت ۵۰۰ میکرومولار کبالت موجب کاهش معنی‌دار وزن تر ریشه شد (شکل ۹). در گیاهان بدون تیمار کبالت، سیستئین باعث کاهش معنی‌دار وزن ریشه شد. در غلظت ۵۰۰ میکرومولار کبالت، تیمار بذری سیستئین در غلظت ۲/۵ میلی‌مولار باعث افزایش معنی‌دار در وزن تر ریشه شد. تیمار مرحله رویشی سیستئین در غلظت ۲/۵ باعث کاهش معنی‌دار وزن تر ریشه در تیمار ۵۰۰ میکرومولار کبالت نسبت به گیاهانی شد

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2024-07-19]
[DOR: 20.1001.1.23222727.1392.2.6.7.1]



شکل ۸ - اثر متقابل تیمارهای سیستئین و کبالت بر سطح برگ. مقایسه میانگین‌ها بر اساس آزمون دانکن و با سه تکرار انجام شد. حروف یکسان بیانگر عدم اختلاف معنی‌دار بین میانگین‌ها در سطح $P \leq 0.05$ است.t: تیمار مرحله رویشی، p: تیمار بذری.



شکل ۹ - اثر متقابل تیمارهای سیستئین و کبالت بر وزن تر ریشه. مقایسه میانگین‌ها بر اساس آزمون دانکن و با سه تکرار انجام شد. حروف یکسان بیانگر عدم اختلاف معنی‌دار بین میانگین‌ها در سطح $P \leq 0.05$ است.t: تیمار مرحله رویشی، p: تیمار بذری.

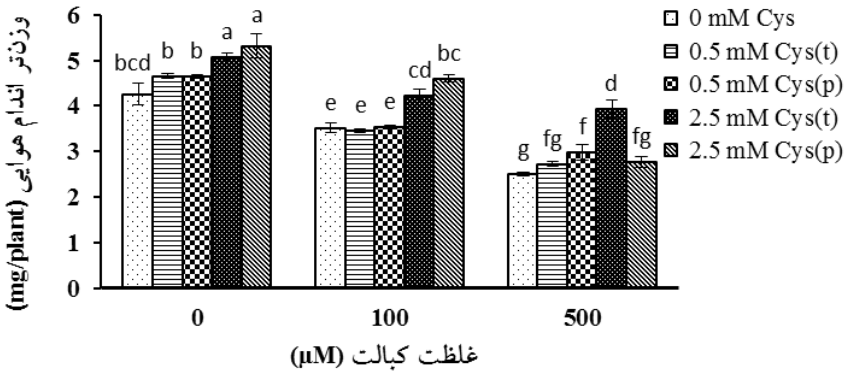
که تنها با کبالت تیمار شده بودند. همچنین تیمار مرحله رویشی و بذری سیستئین در همه غلظت‌ها باعث کاهش معنی‌دار وزن تر ریشه در غلظت ۱۰۰ میکرومولار کبالت نسبت به گیاهانی شد که تنها با کبالت تیمار شده بودند.

وزن تر اندام هوایی: کاربرد مقادیر ۱۰۰ و ۵۰۰ میکرومولار کبالت موجب کاهش معنی‌دار وزن تر اندام هوایی شد (شکل ۱۰). سیستئین در غلظت ۲/۵ میلی‌مولار باعث افزایش معنی‌دار وزن تر اندام هوایی در نمونه‌های بدون کبالت شد. تیمار مرحله رویشی سیستئین در غلظت ۲/۵ میلی‌مولار باعث افزایش معنی‌دار در وزن تر اندام هوایی نسبت به گیاهانی شد که تنها با کبالت تیمار شده بودند. همچنین تیمار بذری سیستئین در غلظت ۲/۵ باعث افزایش معنی‌دار وزن تر اندام هوایی در تیمار ۱۰۰ میکرومولار کبالت نسبت به گیاهانی شد که تنها با کبالت تیمار شده بودند.

بحث:

در پژوهش حاضر افزایش غلظت کبالت موجب کاهش معنی‌دار رنگیزه‌های فتوسنتزی گردید، در حالی که در حضور کبالت، تیمار مرحله رویشی و بذری سیستئین در همه غلظت‌ها باعث افزایش معنی‌دار رنگیزه‌های فتوسنتزی شد. رنگیزه‌های فتوسنتزی از مهم‌ترین فاکتورهای داخلی هستند، که در بعضی از موارد قادر به محدود کردن میزان فتوسنتز می‌باشند (Stoeva and Bineva, 2003). فلزات سنگین معمولاً محتوای کلروفیل کل و کلروفیل a و b را در گیاهان عالی کاهش می‌دهند (Prasad, 1998; Wani *et al.*, 2008) اما کاروتنوئید را کمتر تحت تأثیر قرار می‌دهند به همین علت معمولاً نسبت کلروفیل به کاروتنوئید کاهش می‌یابد (Prasad, 1998). کبالت باعث آسیب مرفولوژیکی به پلاستیدها و تغییر در محتوای کلروفیل می‌شود. همچنین باعث تغییر در ساختار و تعداد کلرو پلاست در واحد

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2024-07-19]
[DOR: 20.1001.1.23222727.1392.2.6.7.1]



شکل ۱۰ – اثر متقابل تیمارهای سیستئین و کبالت بر وزن تر اندام هوایی. مقایسه میانگین‌ها بر اساس آزمون دانکن و با سه تکرار انجام شد. حروف یکسان بیانگر عدم اختلاف معنی‌دار بین میانگین‌ها در سطح $P \leq 0.05$ است.t: تیمار مرحله رویشی، p: تیمار بذری.

سطح برگ می‌شود (Bajguz, 2010). کاهش در کلروفیل a، کلروفیل b، کلروفیل کل و کاروتنوئید در غلظت‌های بالای کبالت در گیاه *Vigna unguiculata*، *Arachis hypogaea* و *Phaseolus vulgaris* گزارش شده است (Jayakumar *et al*., 2009a; Vijayarengan, 2012; Zengin, 2013). همچنین غلظت بالای کبالت باعث کاهش وزن تر ریشه و اندام هوایی گردید. غلظت بالای سیستئین باعث افزایش وزن تر ریشه و اندام هوایی نسبت به گیاهانی شد که تنها با کبالت تیمار شده بودند. در نمونه-های بدون کبالت، سیستئین باعث کاهش وزن تر ریشه شد که احتمالاً سیستئین هورمون اکسین را در ریشه بالا برده و از این طریق از رشد ریشه ممانعت کرده است. کبالت در سطوح بالا ممکن است به وسیله سرکوب مستقیم تقسیم سلولی یا طویل شدن سلول یا ترکیبی از هر دو مانع رشد ریشه و ساقه شود و در نتیجه باعث محدود کردن جذب و انتقال مواد غذایی و آب و کمبود مواد معدنی شود (Jayakumar *et al*., 2007). کاهش در طول ریشه و ساقه و وزن ریشه و اندام هوایی در غلظت‌های بالای کبالت در گیاهان *Vigna unguiculata*، *Arachis hypogaea*، *Glycine max* و *Cicer arietinum* نیز گزارش گردیده است (Jayakumar *et al*., 2009a; Khan and Khan, 2010; Vijayarengan, 2012; Gad *et al*., 2013). در این تحقیق مقدار قندهای احیا کننده در گیاهان تیمار شده با کبالت در اندام هوایی افزایش یافت، در حالی که تیمار سیستئین در همه غلظت‌ها باعث کاهش معنادار قندهای احیاء کننده نسبت به گیاهانی شد که تنها با کبالت تیمار شده بودند. احتمالاً سیستئین با کلاته کردن فلز و سنتز گلوتاتیون باعث کاهش تنش اکسیداتیو و در نتیجه باعث کاهش در مقدار قندهای احیا کننده شده است. کاهش در قند کل در غلظت‌های بالای کبالت در گیاه *Vigna unguiculata* و کاهش در قندهای محلول در غلظت بالای کبالت در گیاه *Arachis hypogaea* و *Vigna Anguiculata* گزارش شده است (Gad, 2012; Vijayarengan, 2012; Gad *et al*., 2013). غلظت ۱۰۰ و ۵۰۰ میکرومولار کبالت باعث کاهش معنی دار سطح برگ شد (شکل ۸)، در حالی که تیمار مرحله رویشی در هر دو غلظت ۰/۵ و ۲/۵ میلی مولار سطح برگ را افزایش داد. اما تیمار بذری سیستئین اثر معناداری در سطح برگ نداشت. کاهش در سطح برگ در غلظت‌های بالای کبالت می‌تواند به سبب کاهش در تعداد سلول‌ها و همچنین به دلیل کاهش در ابعاد سلول باشد (Jayakumar *et al*., 2007). غلظت‌های بالای کبالت در گیاهان *Glycine max*، *Vigna unguiculata* و *Arachis hypogaea* نیز باعث کاهش سطح برگ شده است (Jayakumar *et al*., 2009a; Jayakumar *et al*., 2009b; Gad *et al*., 2013). غلظت بالای کبالت موجب افزایش معنی‌دار محتوای فنل کل شد،

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2024-07-19]
[DOR: 20.1001.1.23222727.1392.2.6.7.1]

در حالی که تیمار مرحله رویشی سیستئین در هر دو غلظت و تیمار بذری سیستئین در غلظت ۲/۵ میلی مولار باعث کاهش معنی‌دار فنل کل نسبت به گیاهانی شد که تنها با کبالت تیمار شده بودند. ترکیبات فنلی با مکانیسم‌های متعددی مثل جاروب کردن رادیکال‌های آزاد و قطع کردن واکنش‌های زنجیره وار اکسیداسیون، دادن هیدروژن، خاموش کردن اکسیژن یکتایی، شلات کردن یون‌های فلزی و یا قرار گرفتن به عنوان سوبسترای آنزیم‌های پراکسیداز نقش آنتی اکسیدانی خود را ایفا می‌کنند. احتمالاً سیستئین با کلاته کردن فلز و سنتز گلوتاتیون باعث کاهش تنش اکسیداتیو و در نتیجه باعث کاهش در محتوای فنل کل شده است. افزایش فنل کل در غلظت بالای کبالت در گیاه *coriandrum sativum* و *Arachis hypogaea* نیز گزارش شد (Gad, 2012; Gad and Kandil, 2012). با توجه به نتایج موجود در شکل ۶، تیمارهای کبالت موجب افزایش معنی‌دار محتوای آنتوسیانین شد، در حالی که در غلظت ۵۰۰ میکرومولار کبالت تیمار مرحله رویشی و بذری سیستئین در همه غلظت‌ها باعث کاهش معنی‌دار آنتوسیانین نسبت به گیاهانی شد که تنها با کبالت تیمار شده بودند. اما در غلظت ۱۰۰ میکرومولار کبالت تنها تیمار بذری سیستئین در غلظت ۰/۵ میلی مولار باعث کاهش معنی‌دار آنتوسیانین نسبت به گیاهانی شد که تنها با کبالت تیمار شده بودند. آنتوسیانین‌ها نیز با جاروب کردن گونه‌های فعال اکسیژن و کلاته کردن یون‌های فلزی از تنش اکسیداتیو جلوگیری می‌کنند. به نظر می‌رسد سیستئین توانسته از تنش اکسیداتیو جلوگیری کند و از این طریق باعث کاهش مقدار آنتوسیانین شده است. افزایش آنتوسیانین در غلظت بالای کبالت در گیاه *Hibiscus sabdariffa*، گزارش شده است (Eman *et al*., 2007). تاکنون پژوهش‌های کمی بر روی سیستئین انجام شده است و داده‌هایی از تأثیر این آمینو اسید روی اکثر شاخص‌های آزمایش شده در این پژوهش وجود ندارد. تنها آزمایش انجام شده بر روی گیاه جو نشان داد که سیستئین باعث افزایش کلروفیل و کاروتنوئید می‌شود (YI Hui-lan, 2007). سیستئین کلاته کننده قوی یون‌های فلزات سنگین است (Zagorchev *et al.*, 2013) و نشان داده شد که سیستئین در کمپلکس سازی با کبالت درگیر است (Oven *et al.*, 2002). افزایش در سیستئین آزاد در پاسخ به فاکتورهای متنوع تنش‌های غیر زیستی گزارش شده است (Zagorchev *et al.*, 2013). در اکثر مطالعات این افزایش همراه با افزایش غلظت گلوتاتیون گزارش شده است که از این می‌توان نتیجه گرفت که اساساً سیستئین برای بیوسنتز ترکیبات غنی از سولفور با فعالیت ضد تنشی مانند گلوتاتیون و پروتئین‌های مربوط به تنش، نیاز است (Zagorchev *et al.*, 2013). تحت تنش فلز سنگین، مقدار بیوسنتز سیستئین برای سنتز گلوتاتیون و فیتوشلاتین افزایش می‌یابد (Rao *et al.*, 2006). قرار دادن سلول‌های گیاه *Crotalaria cobalticola* در معرض غلظت ۱۰ میلی مولار کبالت به مدت ۷ روز، باعث ۳۱ برابر شدن محتوای سیستئین آزاد شد (Oven *et al.*, 2002). همچنین افزایش در سیستئین آزاد در دو گیاه غیر تجمع دهنده *Silene cucubalus* و *Rauvolfia serpentine* (به ترتیب ۹ و ۱۲ برابر) در پاسخ به غلظت یک میلی مولار کبالت مشاهده شد که نشان دهنده نقش سیستئین در کمپلکس با یون کبالت می‌باشد (Oven *et al.*, 2002; Rao *et al.*, 2006).

نتیجه‌گیری کلی:

با توجه به نتایج به دست آمده می‌توان نتیجه گرفت که پیش تیمار بذر با سیستئین می‌تواند در غلظت‌های پایین کبالت مؤثر باشد ولی تأثیر زیادی بر غلظت‌های بالای کبالت ندارد، در حالی که تیمار سیستئین در غلظت‌های بالای کبالت هم تأثیر گذار بوده و برای کاهش سمیت در غلظت‌های بالای کبالت مناسب‌تر است. بنابراین استفاده از اسید آمینه سیستئین برای کاهش تنش فلز سنگین کبالت توصیه می‌شود. احتمالاً سیستئین با کلاته کردن فلز و سنتز گلوتاتیون باعث کاهش تنش اکسیداتیو شده است.

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2024-07-19]

[DOR: 20.1001.1.23222727.1392.2.6.7.1]

منابع:

Alvarez, C., Angeles, B. M., Romero, L. C., Gotor, C. and Garcia, I. (2012) Cysteine homeostasis plays an essential role in plant immunity. New Phytologist 193: 165–177

Bajguz, A. (2010) An enhancing effect of exogenous brassinolide on the growth and antioxidant activity in *Chlorella vulgaris* cultures under heavy metals stress. Environmental and Experimental Botany 68: 175–179

Barker, A. V. and Pilbeam, D. J. (2006) Handbook of Plant Nutrition 499–515

Dominguez-Solis, J. R., Lopez-Martin, M. C., Ager, F. J., Ynsa, M. D., Romero, L. C. and Gotor, C. (2004) Increased cysteine availability is essential for cadmium tolerance and accumulation in *Arabidopsis thaliana*. Plant Biotechnology Journal 2: 469–476

Eman, E., Gad, N. and Badran, M. (2007) Effect of Cobalt and Nickel on plant growth, yield and flavonoids content of *Hibiscus sabdariffa* L. Australian Journal of Basic and Applied Sciences 1: 73–78

Fletcher, R. and Kott, L. S. (1999) Phenolics and cold tolerance of *Brassica napus*. 10th International Rapeseed Congress, Canberra, Australia.

Gad, N. (2012) Physiological and chemical response of groundnut (*Arachis hypogaea*) to cobalt nutrition. World Applied Sciences Journal 20: 327–335

Gad, N. and Kandil, H. (2012) Influence of cobalt nutrition on coriander (*Cariandrum sativum* L.) Herbs yield quantity and quality. Journal of Applied Sciences Research 8: 5184–5189

Gad, N., Mohammed, A. M. and Bekbayeva, L. K. (2013) Response of cowpea (*Vigna anguiculata*) to cobalt nutrition. Middle-East Journal of Scientific Research 14: 177–184

Hasan, S. A., Hayat, S., Wani, A. S. and Ahmad, A. (2011) Establishment of sensitive and resistant variety of tomato on the basis of photosynthesis and antioxidative enzymes in the presence of cobalt applied as shotgun approach. Brazilian Journal of Plant Physiology 23: 175–185

Javanmardi, J., Stushnoff, C., Locke, E. and Vivanco, J. M. (2003) Antioxidant activity and total phenolic content of Iranian *Ocimum* accessions. Food Chemistry 83: 547–550

Jayakumar, K. and Jaleel, C. A. (2009) Uptake and accumulation of cobalt in plants: a study based on exogenous cobalt in soybean. Botany Research International 2: 310–314

Jayakumar, K., Jaleel, C. A., Chang-xing, Z. and Azooz, M. M. (2009a) Cobalt induced variations in growth and pigment composition of *Arachis hypogaea* L. College of Plant Science and Technology, Qingdao Agricultural University 2: 74–77

Jayakumar, K., Jaleel, C. A. and Vijayarengan, P. (2009b) Effect of different concentrations of cobalt on pigment contents of soybean. Botany Research International 2: 153–156

Jayakumar, K., Jaleel, C. A and Vijayarengan, P. (2007) Changes in growth, biochemical constituents, and antioxidant potentials in radish (*Raphanus sativus* L) under cobalt stress. Turkish Journal of Biology 31: 127–136

Khan, M. R. and Khan, M. M. (2010) Effect of varying concentration of nickel and cobalt on the plant growth and yield of chickpea. Australian Journal of Basic and Applied Sciences 4: 1036–1046

Lichtenthaler, H. K. (1987) Chlorophylls and carotenoids: Pigments of photosynthetic biomembranes. Methods in Enzymology 148: 350–382

Makri, O. and Kintzios, S. (2008) *Ocimum sp*.(basil): Botany, cultivation, pharmaceutical properties, and biotechnology. Journal of Herbs, Spices and Medicinal Plants 13: 123–150

Nagpal, N. K., Section, W. P., Branch, C. C. and Protection, A. (2004) Technical report, water quality guidelines for cobalt. 7197: 4–10

Oven, M., Grill, E. , Golan-Goldhirsh, A., Kutchan, T. M. and Zenk, M. H. (2002) Increase of free cysteine and citric acid in plant cells exposed to cobalt ions. Phytochemistry 60: 467–474

Palit, S., Sharma, A. and Talukder, G. (1994) Effects of cobalt on plants. The Botanical Review 60: 149–181

Prasad, M. N. V. (1998) Metal- biomolecule complexes in plants: Occurrence, functions, and applications. Analusis 26: 25–28

Radacsi, P., Inotai, K., Sarosi, S., Czovek, P., Bernath, J. and Nemeth, E. (2010) Effect of water supply on the physiological characteristic and production of basil (*Ocimum basilicum* L.). European Journal of Horticultural Science 75: 193–197

Rao, K. V. M., Raghavendra, A. S. and Reddy, K. J. (2006) Physiology and molecular biology of stress tolerance in plants. Springer, The Netherlands.

Somogyi, M. (1952) Notes on sugar determination. Journal of Biological Chemistry 195: 19–23

Stoeva, N. and Bineva, T. (2003) Oxidative changes and photosynthesis in oat plants grown in As-contaminated soil. Bulgarian Journal of Plant Physiology 29: 87–95

Tilebeni, H. G. (2011) Review to basil medicinal plant. International Journal of Agronomy and Plant Production 2: 5–9

Vijayarengan, P. (2012) Changes in growth, biochemical constituents and antioxidant

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2024-07-19]

[DOR: 20.1001.1.23222727.1392.2.6.7.1]

Environmental Contamination and Toxicology 81: 152–8

Yihuilan, L. J. (2007) Protective effects of cysteine against SO_2- induced oxidative damage in barley. Journal of Shanxi University 30: 270–273

Zagorchev, L., Seal, C. E., Kranner, I. and Odjakova, M. (2013) A central role for thiols in plant tolerance to abiotic stress. International Journal of Molecular Sciences 14: 7405–32

Zengin, F. (2013) Physiological behavior of bean (*Phaseolus vulgaris* L.) Seedlings under metal stress. Biological Research 46: 79–85.

potentials in cowpea (*Vigna unguiculata* (L.) Walp.) under cobalt stress. International Journal of Research in Environmental Science and Technology 2: 74–82

Wagner, G. J. (1979) Content and vacuole/extravacuole distribution of neutral sugars, free amino acids, and anthocyanin in protoplasts. Plant Physiology 64: 88–93

Wani, P. A., Khan, M. S. and Zaidi, A. (2008) Effects of heavy metal toxicity on growth, symbiosis, seed yield and metal uptake in pea grown in metal amended soil. Bulletin of

[Downloaded from jispp.iut.ac.ir on 2024-07-19]

[DOR: 20.1001.1.23222727.1392.2.6.7.1]