Archive of SID

تغییر در روند متابولیسمی در طول تنش های غیر زیستی (شوری، خشکی و حرارت) در گیاه چای (*Camellia sinessis*)

پروانه راهداری
دانشگاه آزاد اسلامی واحد تنکابن، گروه زیست گیاهی، تنکابن، ایران، صندوق پستی: ۱۵۵
rahdari_parvaneh@yahoo.com

چکیده

تنش های محیطی شامل زیستی، غیرزیستی و یا آنتروپوژنیک می باشند. عوامل زیستی مانند حشرات، بیماری های قارچی و علفهای هرز مسئول از دست دادن تقریباً ۲۰٪ پتانسیل برداشت در بیشتر گونه های گیاهی می شوند. عوامل غیرزیستی شامل تابش بالا، سرما، خشکی، سیلاب، شوری و عدم تعادل عناصر غذایی در بیشتر گیاهان تأثیرگذار می باشد. خشکی عموماً مخرب ترین عامل می باشد. بعضی از این عوامل تنش به آهستگی و تدریجی برروی شرایط رشدگیاه تأثیر می گذارد. از این رو گیاهان مکانیسم‌هایی را برای اجتناب از تنش فراهم می سازند،آنها نیاز به ارگانیسمهایی برای سازگاری و مکانیسم های محدود کننده ای برای دوری از تنش دارند. تنشهای آنتروپوژنیک باعث آلودگی هوا وخاک، تابش اشعه UV-B، تغییرات آب و هوایی و غیره می‌شود. مطالعه حاضر برروی چگونگی تنشهای غیرزیستی متعدد برروی متابولیسم گیاه چای انجام گرفته است. در میان تنشهای غیرزیستی، خشکی، شوری، درجه حرارت مورد توجه قرار گرفت. به دنبال تیمارهای متعدد برگها جدا شدند و برای تعیین مقدار ترکیبات فنلی، پروتئین و پرولین آنالیز شدند. در بررسی حاضر در پاسخ به تنش حرارت (۵۵، ۴۵،۵۰، ۴۰ درجه سانتی گراد) مقدار ترکیبات فنلی به طور متوالی کاهش پیدا نمود. در حالی که در دو تنش دیگر یک افزایش اولیه به دنبال یک کاهش در میزان ترکیبات فنلی مشاهده شد. در تنش حرارت بعد از ۴۵ درجه سانتی گراد یک کاهش در میزان پرولین وجود داشت. میزان پروتئین به دنبال تنش حرارت کاهش نشان داد و در تنش های دیگر یک کاهش به دنبال افزایش اولیه مشاهده گردید که این تغییرات به لحاظ آماری در $p<0.05$ معنی دار بود. درنتیجه مشخص شد که گیاه چای تنشهای غیرزیستی را با تغییر مسیرهای متابولیکی و تغییر در تولید متابولیتهای مناسب برای پایداری گیاه در برابر تنش تحمل می نماید.

کلمات کلیدی: چای، تنش غیرزیستی، ترکیبات فنلی، پرولین و پروتئین.

www.SID.ir

Archive of SID

مقدمه

منابع خاکی قابل کشت محدود است، تقریباً از ۱۵ میلیون هکتار از سطح زمین ها فقط ۲۲ درصد از لحاظ کشاورزی اهمیت دارند (۲). این زمین های مفید ۸۵ درصد به عنوان زمین های کم حاصلخیز یا با حاصلخیزی متوسط تقسیم بندی می‌شوند. تنشهای محیطی منجر به کاهش بازده محصولات می شود، تنشهای محیطی شامل زیستی، غیرزیستی وآنتروپوژنیک می باشند. تنشهای زیستی شامل حشرات، بیماریهای قارچی و علفهای هرز مسئول از بین رفتن ۲۰ درصد از پتانسیل کشت می شود. تنش‌های غیر زیستی مانند بارندگی زیاد، سرما، خشکی، سیل، شوری و عدم تعادل عناصرغذایی ممکن است با تغییر کم یا تدریجی بر روی شرایط رشد گیاه تاثیر بگذارند. از این رو گیاهان موجوداتی هستند پایدار که مکانیسم‌های محدود کننده ای برای اجتناب از تنش دارند. آنها نیاز دارند که مکانیسم های سازگاری برای اجتناب از تنش به منظور حفاظت خود و تحمل تنش ایجاد نمایند. تنش های آنتروپوژنیک باعث آلودگی خاک و هوا، رسوب های اسیدی، تابش اشعه UV-B، تغییرات آب و هوایی و ... می‌شوند.کمبود آب در حضور بیشتر اشکال تنش غیرزیستی مانند خشکی، درجه حرارت پایین و زمانیکه خاک دارای غلظت بالای یون است شدت می یابد. تغییرات در بیان ژنها نیز در پاسخ فیزیولوژیکی در تنش آب و سایر تنشها مشاهده است پاسخ تنش گیاه بسته به مرحله نموی گیاه در معرض تنش متفاوت است خشکی و شوری تاثیر معکوس در باروری گیاه دارند بخشی از کمبود آب شوری زیاد است که منجر به اثر سمی سدیم به دنبال آبیاری طولانی مدت است (۴). افزایش این اثرات محیطی یکی از نگرانی های مهم برای تولیدات کشاورزی در آینده است. چای (*camellia sinessis*) در اوایل قرن حاضر توسط کاشف السلطنه به ایران وارد شد و در سواحل دریای خزر که دارای خاک غیر آهکی و از نظر خاک تا اندازه ای درجه حرارت مناسب چای می‌باشد کاشته شد. چای مناطق سرد را تحمل نمی کند. از نظر آب و هوایی درختچه های چای مناطق خیلی گرم و مرطوب را دوست دارد و در مناطق نزدیک به استوا که گرم و مرطوب هستند رشد چای بسیار است. محصول چای در مزارع با ارتفاع کم و هم سطح دریا دارای کیفیت بالایی نیست و چای با کیفیت بالا در ارتفاعات ۲۰۰۰-۱۵۰۰ متری این مناطق بدست می آید. گیاه چای دارای مکانیسم هایی برای مقاومت یا دوری از تنش های گوناگون با درجه معین می باشد.

با کشت گیاه چای در شرایط آب و هوایی متعدد دور از زیستگاه طبیعی، این گیاه موضوع تنشهای زیستی و غیر زیستی و آنتروژنیک شده است. تغییرات آب و هوایی اساسی که رشد و بازدهی چای را تحت تأثیر قرار می دهد شامل درجه حرارت، میزان آب، میزان بارندگی می باشد (۳).

www.SID.ir

Archive of SID

مواد و روش ها

روش کشت:

این طرح در سال ۱۳۸۵ در محل دانشگاه آزاد واحد سوادکوه انجام پذیرفت.

بذرهای ضد عفونی شده گیاه چای (*Camellia sinesis L*) به روش کشت گلدانی (در هر گلدان یک عدد گیاه) در شرایط آزمایشگاهی تحت تاثیر تنش های حرارتی مختلف (۴۰، ۴۵، ۵۰، ۵۵ درجه سانتیگراد) به مدت ۳ ساعت در روز، تنش شوری (۰/۱، ۰/۲ مولار NaCl) و تنش خشکی (۰/۰۰۱، ۰/۰۱ مولار پلی اتیلن گلیکول) قرار گرفت. دانه رست‌های همگن بعد از مرحله یک برگی به گلدانها منتقل شدند. از محیط کشت هوگلند برای تغذیه گیاه استفاده شد و مدت تیمار دهی ۵۰ روز بود و سپس آنالیزهای بیوشیمیایی از برگهای گیاه انجام گرفت. هفته ای یک بار محلول های غذایی هوگلند با اعمال تنش های مذکور تعویض می شدند. pH محلول‌های غذایی ۷ – ۶/۵ نگهداری می‌شد. شدت تابش نور ۲۵۰ – ۲۰۰ وات بر متر مربع بود. تعداد تکرارها برای هر تیمار تنش ۴ عدد بود.

آنالیز شیمیایی :

ترکیبات فنلی :

استخراج ترکیبات فنلی با استفاده از روش (Cheryld) انجام گرفت. سنجش ترکیبات فنلی بر اساس اکی والان‌های کافئیک اسید اندازه گیری شد که با استفاده از معرف فولین انجام گردید.

پرولین ها: با متد Bates و همکاران میزان پرولین‌ها در برگ سنجیده شد (۱).

پروتئین ها: آنالیز کمی پروتئین ها با استخراج پروتئین های محلول برگ در بافر فسفات انجام شد و با استفاده از روش لوری مورد ارزیابی قرار گرفت (۶).

جزئیات مربوط به نحوه استخراج در متدهای مربوطه در رفوش آمده است.

محاسبات آماری:

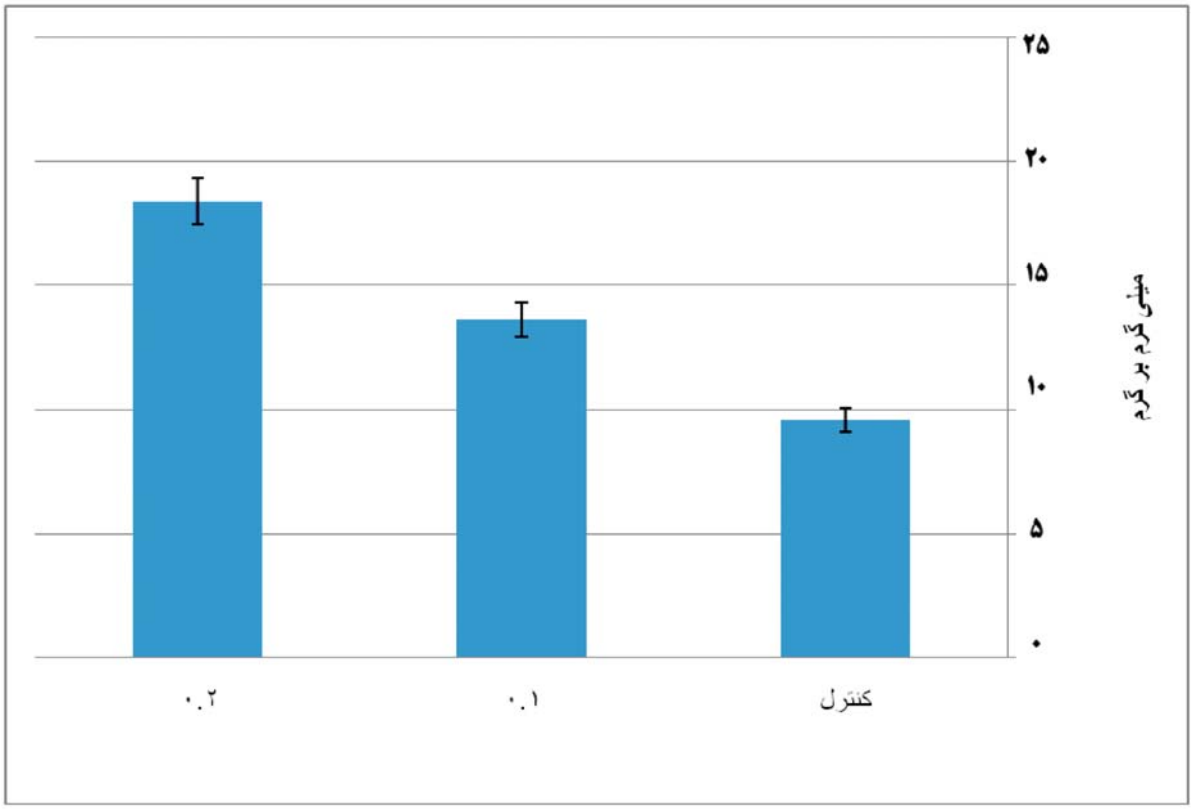
جهت بررسی های آماری، نتایج به شاخص هایی مانند میانگین آماری و خطای معیار (SE) مورد بررسی قرار گرفت. آنالیز داده های تیماری از طریق آنالیز واریانس یک عاملی با نرم افزار آماری SPSS صورت گرفت. نتایج در $p<۰/۰۰۱$، $p<۰/۰۱$ و $p<۰/۰۵$ مورد بررسی قرار گرفت.

نتایج

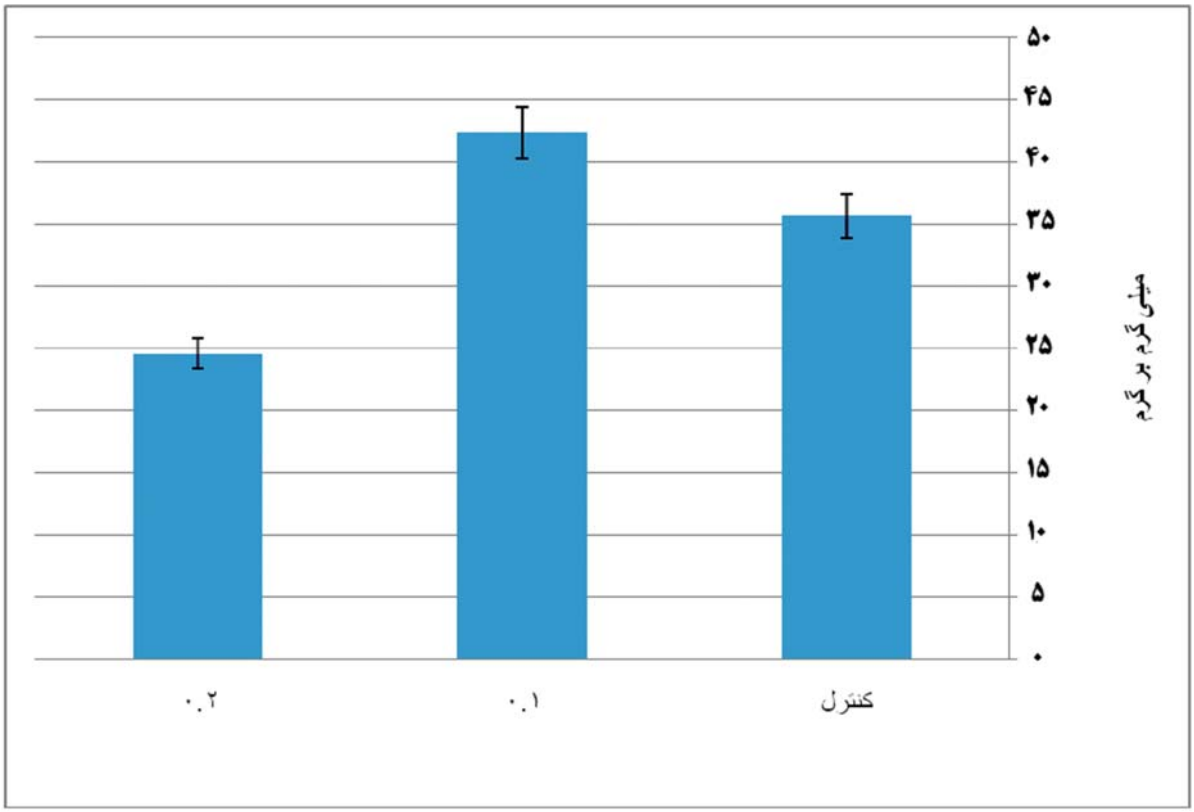
در پاسخ به تنش حرارت میزان ترکیبات فنلی از ۴۰ تا ۵۵ درجه سانتیگراد کاهش تدریجی نشان داد که در ($p<۰/۰۵$) معنی دار بود. در تنش خشکی میزان ترکیبات فنلی افزایش داشت، البته در غلظت ۰/۰۱ مولار پلی اتیلن گلیکول نسبت به ۰/۱ مولار افزایش معنی‌دارتری نسبت به کنترل مشاهده شد. در هر دو غلظت این افزایش معنی دار بود. در تنش شوری در غلظت ۰/۱ مولار نمک NaCl افزایش معنی دار بود اما در غلظت ۰/۲ مولار افزایش معنی داری به لحاظ آماری مشاهده نشد.

www.SID.ir

Archive of SID



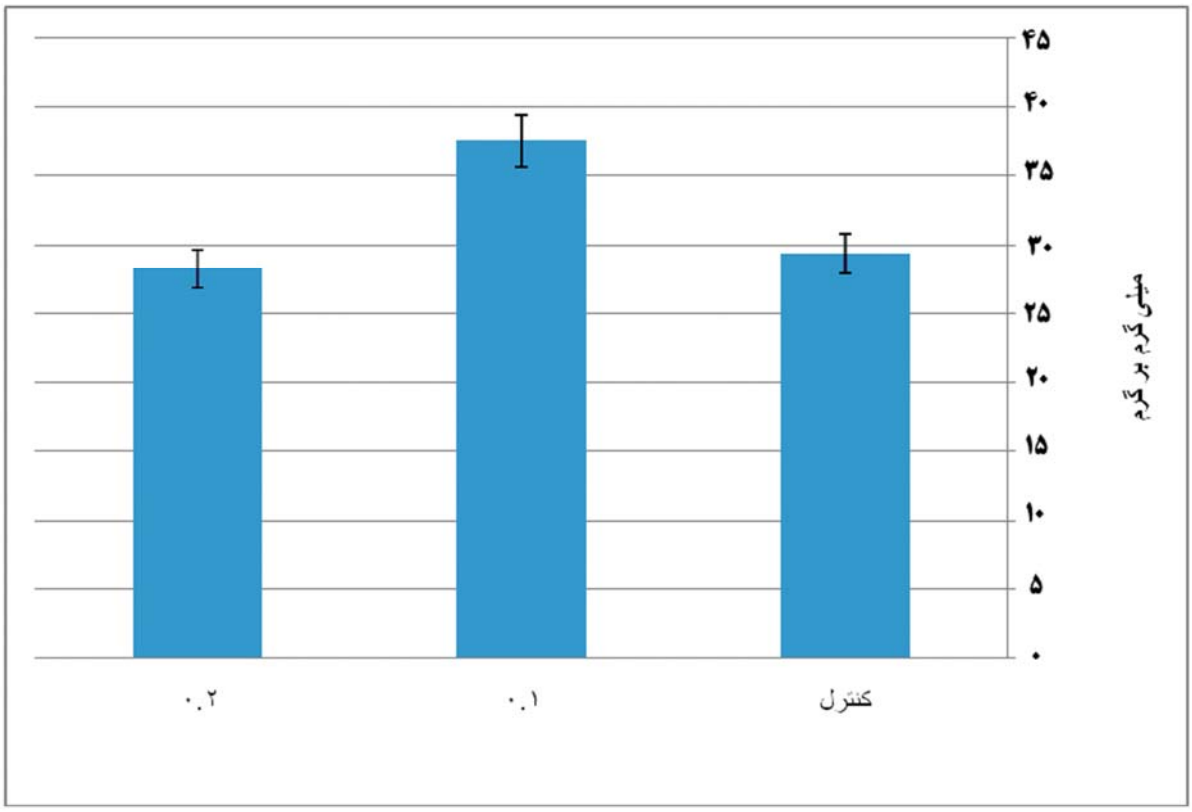
نمودار۱: میزان پرولین در تیمارهای تنش شوری



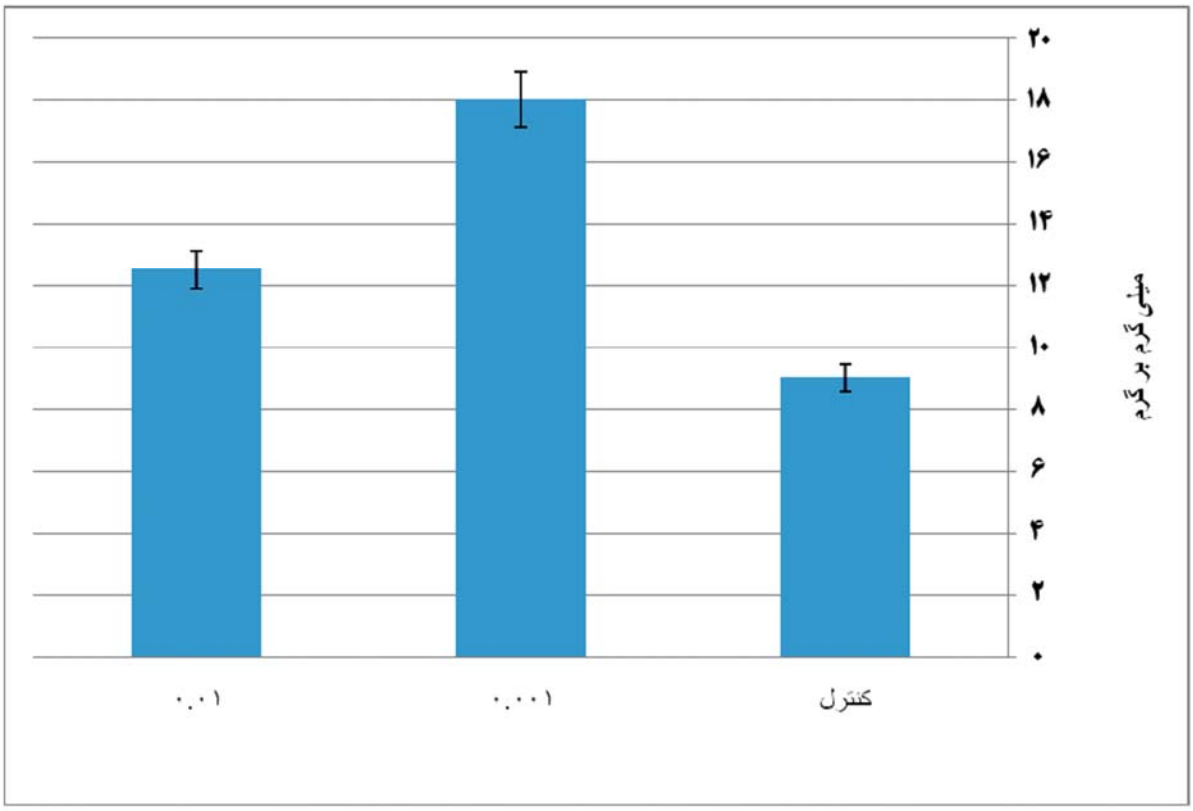
نمودار۲: میزان پروتئین در تیمارهای تنش شوری

www.SID.ir

Archive of SID



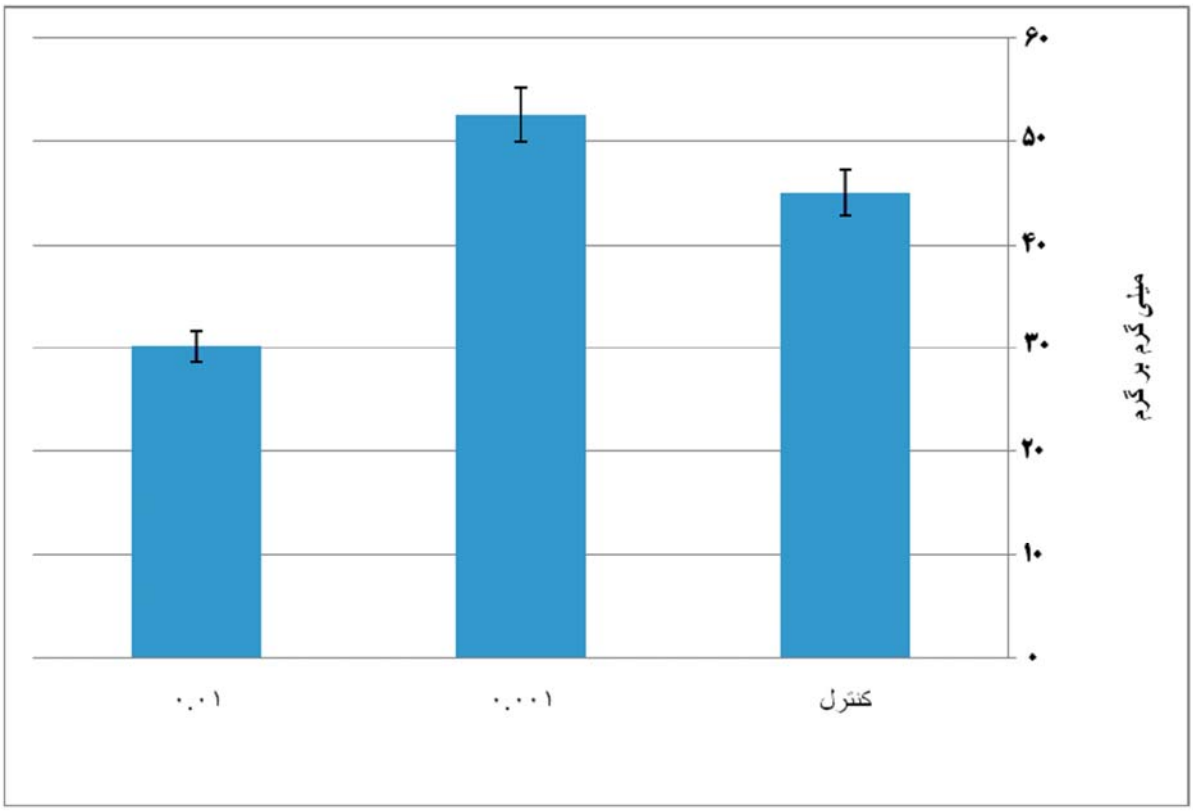
نمودار۳: میزان ترکیبات فنلی در تیمارهای تنش شوری



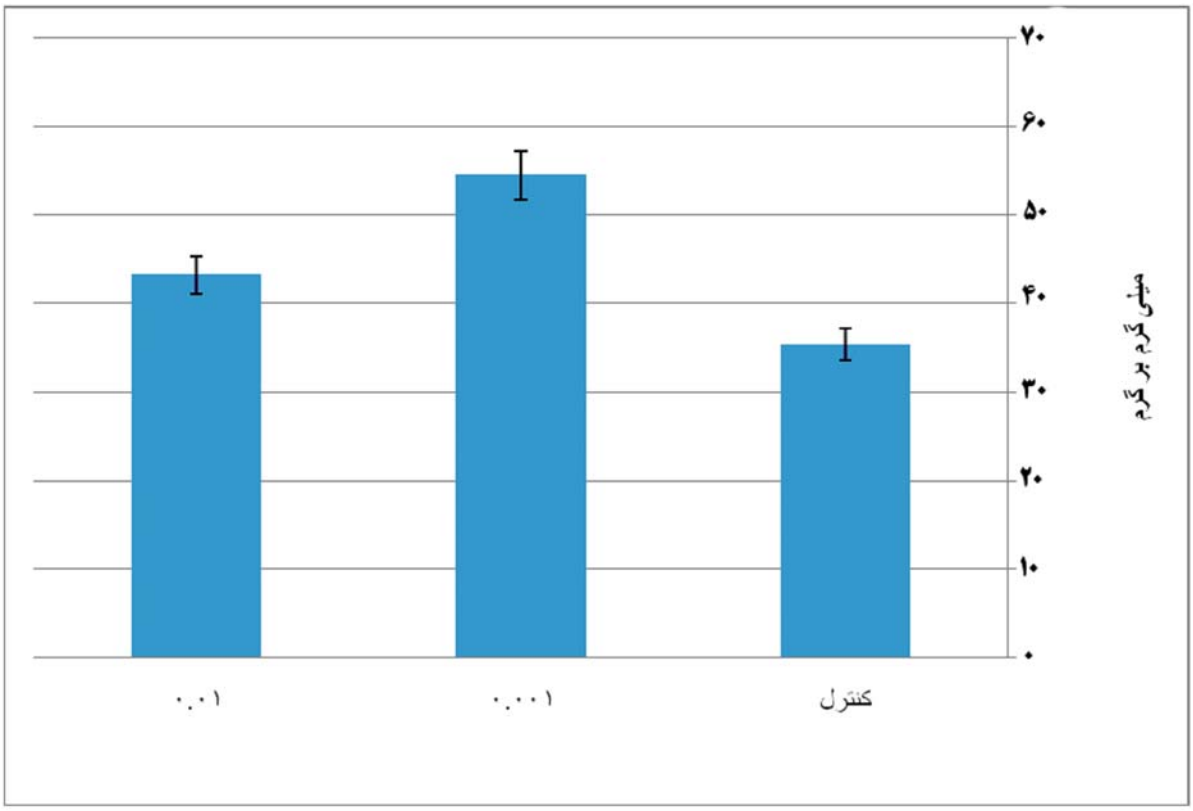
نمودار۴: میزان پرولین در تیمارهای تنش خشکی

www.SID.ir

Archive of SID



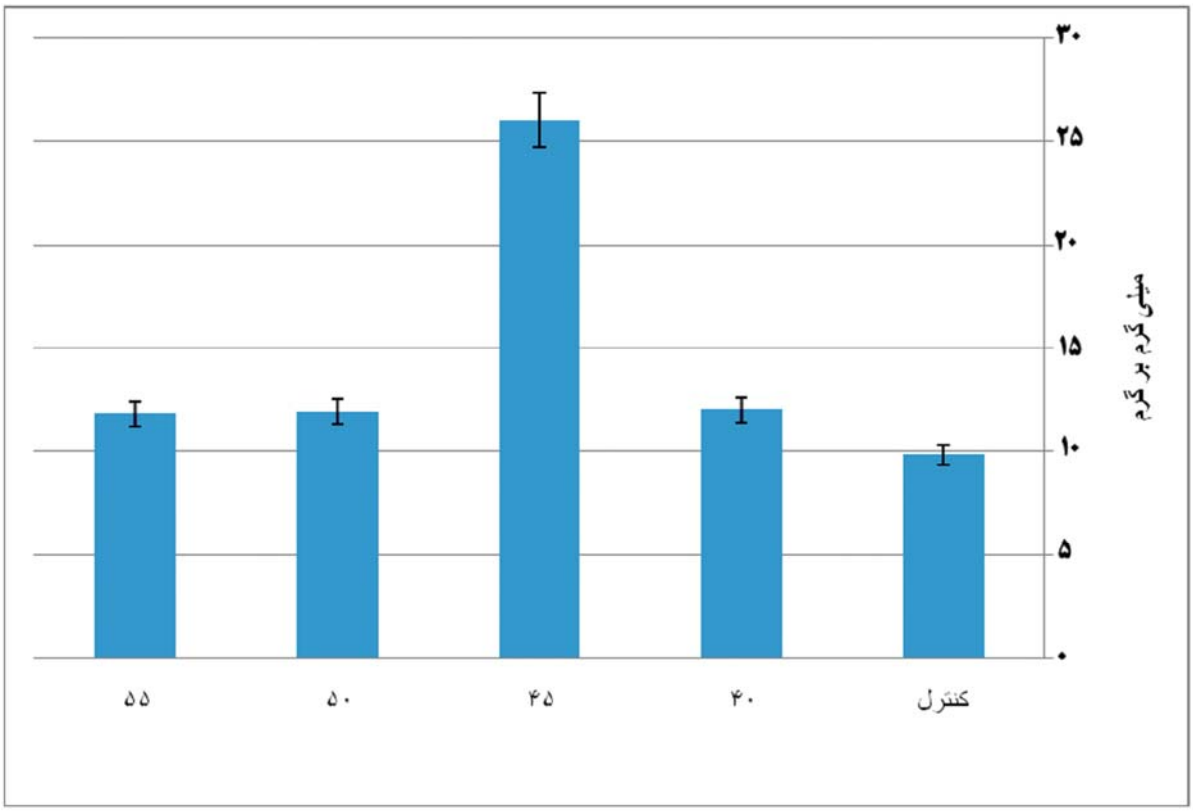
نمودار ۵: میزان پروتئین در تیمارهای تنش خشکی



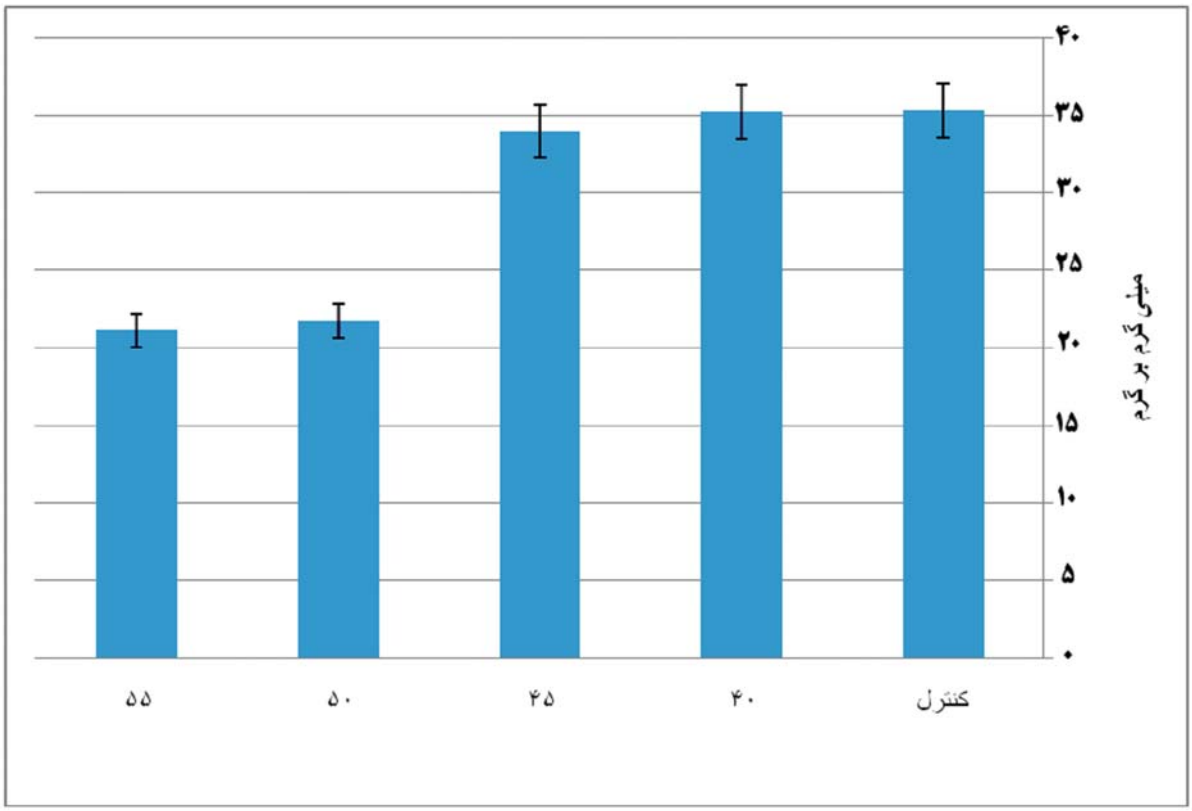
نمودار ۶: میزان ترکیبات فنلی در تیمارهای تنش خشکی

www.SID.ir

Archive of SID



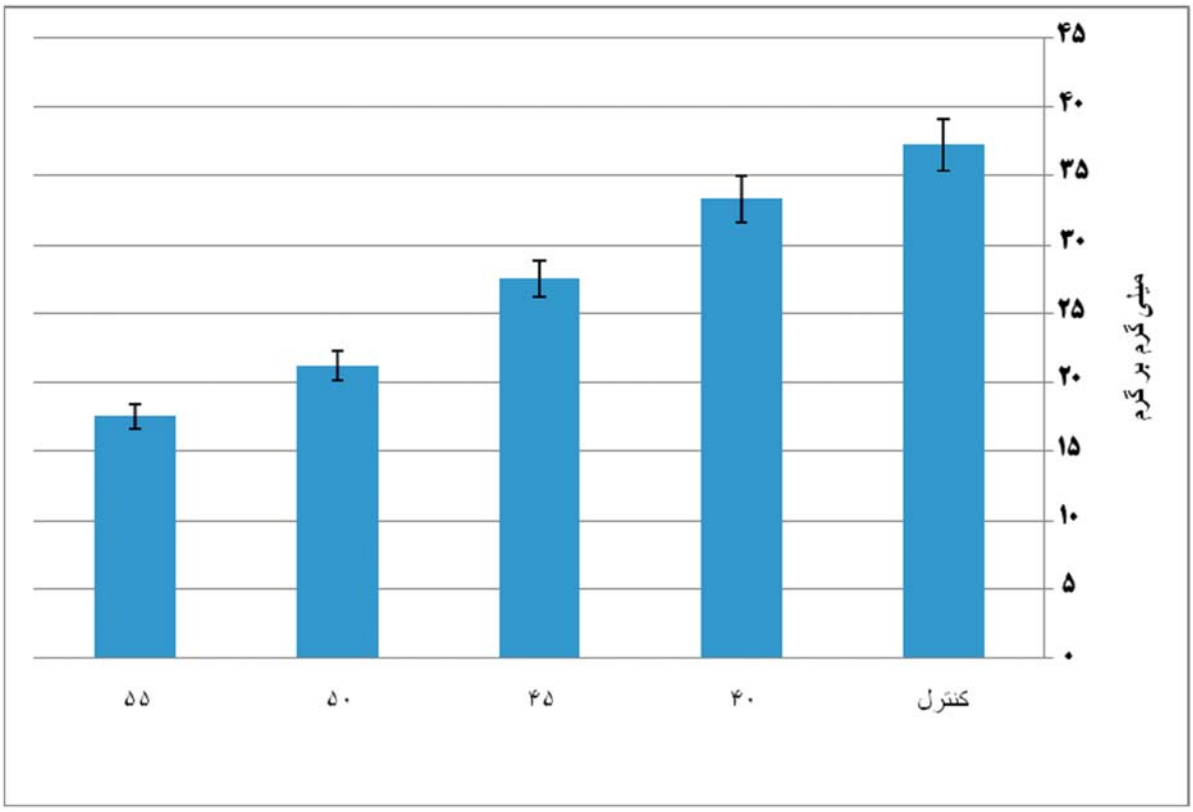
نمودار ۷: میزان پرولین در تیمارهای تنش حرارت



نمودار۸: میزان پروتئین در تیمارهای تنش حرارت

www.SID.ir

Archive of SID



نمودار۹: میزان ترکیبات فنلی در تیمارهای تنش حرارت

بحث

یک مکانیسم تطبیقی کلیدی در بسیاری از گیاهانی که تحت تنشهای ناشی از عوامل غیرزیستی از قبیل شوری، کمبودآب و دمای بالا رشد یافته اند. تجمع یکسری ترکیبات آلی خاص با وزن مولکولی پائین تحت عنوان اسمولیت های سازگار کننده می باشد (۹).

ترکیبات اسمولیت شامل قندها، پلی الها، آمینواسیدها، آمونیوم سه تایی و چهارتایی و ترکیبات سولفونیوم می باشند. پلی فنلها گروهی از ترکیبات آلی هستند که در پاسخ به تنشهای متعدد در گیاه افزایش می یابد (۵). مطالعات اخیر بر روی گیاه چای نسبت به تنشهای متعدد نشان داده که این گیاه تغییر غلظت پلی فنلها به تنش پاسخ می دهد (۳).

میزان ترکیبات فنلی در این تحقیق در هر سه تیمار درجه حرارت (۴۰،۴۵،۵۰ درجه سانتی گراد) کاهش یافت ولی در تیمار شوری و کم آبی یک افزایش اولیه و به دنبال آن یک کاهش در میزان ترکیبات فنلی مشاهده گردید. تغییر فعالیت ترکیبات فنلی مربوط به تأثیر عامل تنش زاد بر فعالیت آنزیم فنیل آلانین آمونیالیاز که یک آنزیم کلیدی درجه بیوسنتز فنلها است می باشد. ترکیبات فنلی گروهی از مولکولهای آنتی اکسیدان هستند که جهت تخریب انواع اکسیژن واکنش پذیر درگیاهان تحت تنش افزایش می‌یابند. علاوه بر مولکولهای آنتی اکسیدان، آنزیمهای آنتی اکسیدان نیز در شرایط تنش زیاد می شوند.

www.SID.ir

Archive of SID

مقدار پرولین در تنشهای متعدد افزایش پیدا می‌کند. نقش پرولین در حفاظت گیاه علیه تنشهای اسمتیک به خوبی اثبات شده است (۸).

پرولین یکی از اسمولایت های عمومی مناسب در گیاهان تحت تنش است و به مقدار زیاد تجمع می یابد که در این مورد هم سنتز پرولین و هم غیر فعال شدن تخریب آن به بالا رفتن مقدار بالای آن کمک می کند.

اسمولیت های گوناگون هنگام بروز تنش نمکی در گیاهان هالوفیت افزایش می یابد که از جمله پرولین،پروتئین، گلایسین بتائین و قند های محلول را می توان نام برد.

در تنشهای کم آبی یکی از مکانیسمهای مقاومت تجمع محلولها درگونه های مقاوم است. گیاهان حساس کمتر قادر به تجمع محلولها هستند اما پرولین می تواند در بیشتر موجودات به دنبال تنش کم آبی یافت شود و تجمع پرولین به دنبال ذخیره کربن و نیتروژن در شرایط تنش منجر به رشد کمتر می شود (۴).

در شرایط تنش اعم از خشکی، شوری و دمای بالا گیاهان استراتژیهای آنزیمی، هورمونی، فیزیولوژی و ساختاری متعددی به کار می گیرند.که تجمع اسمولیتها و ترکیبات فنلی یکی از مکانیسمهای مقاومت در شرایط تنش محسوب می شوند.

میزان پروتئینها با افزایش دما در گیاه کاهش پیدا نمود که به دلیل شدن ساختمان آنها در دمای بالا می‌باشد. درشرایط تنش دمای بالا پروتئنهای خاص شوک گرمایی Hsps افزایش می یابد. میزان پروتئین‌ها در تنش شوری وکم آبی با یک افزایش و به دنبال آن یک کاهش در شرایط تنش سخت تر مشاهده گردید. افزایش شوری و کم آبی باعث اختلال در بسیاری از مسیرهای بیوسنتزی و متابولیسمی می گردد و میزان پروتئنها در گیاه شرایط تنش بالا کاهش می یابد.

در شرایط تنش ۰/۰۱ مولار خشکی و ۰/۱ مولار شوری میزان تولید پروتئینها ی وآنزیم های خاص افزایش می یابد.

سپاسگزاری

بدینوسیله از همکاری صمیمانه مدیریت موسسه تحقیقات چای لاهیجان که در انجام این تحقیق ما را یاری نمودند تشکر و قدردانی به عمل می آید.

منابع

1. Bates, H.S.; Waldren, R.P. and Treare, I.D., 1973. Rapid estimation of free praline for water stress determination. Plant Soil 39:205-207.
2. Buring, P., 1989. Availabilitiy of agricultural lands for crop and licestock production in food and National Resources (Eds. D. pimetal and C. W. Curtis) pp.70-85 Academic press U.S.A.
3. Chakraborty, U. and Chakraborty, N., 2003. Biochemical changes in tea leaves induced by Helopeltis theivora Wat. J. Hill Ress. 16: 61-65.
4. Hans. J.; Bohnert and richad. G., 1996. Strategies for engineering water stress tolerance inplauts Elsevier science 14. 89.97
5. Leinhosov. and Bergmann, H., 1995. Changes in the yield lignin content and proteins of barely induced drought stress. Angew Bot. 69. 206. 210.
6. Lowry, O.H.; Rosebrough, N.J.; Farr, A. L. and Randall, R.J., 1951. Protein measurement with folin phenol reagent. J. Chem. 193: 265-275
7. Schutzendubrd, A., 2002. Plant responses to abiotic stresses: heavy metal – induced oxidative stress and protection by mycorrhization. J.Exp. Bot. 53: 1351-1365.

www.SID.ir

Archive of SID

8. Yoshiba, Y.; Kiyosne, T.; Nakashima, N. and Shinozaki., 1997. Regulation of the levels of praline as osmolyte in plants under water stress. Pant Cell physiol. 38: 1095 – 1102.

9. Whahid, A., Gelanis, A.M., Foolad, M.R., 2007. Heat tolerance in plant Enviromental and experi mental BoTany.61:199-22.

www.SID.ir