Archive of SID

به‌زراعی کشاورزی
دوره ۱۸ ■ شماره ۱ ■ بهار ۱۳۹۵
صفحه‌های ۱۱۵-۱۰۳

تأثیر غلظت‌های مختلف متیل جاسمونات بر فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانت و محتوی پروتئین کل ریحان

ابراهیم بروکی میلان[۱]، لیلا حسنی[۱]، بابک عبدالهی مندولکانی [۲*]، رضا درویش‌زاده[۲]، فاطمه خردمند[۳]، عباس حسنی[۴]

۱. دانشجوی کارشناسی ارشد گروه اصلاح و بیوتکنولوژی گیاهی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه ارومیه
۲. دانشیار گروه اصلاح و بیوتکنولوژی گیاهی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه ارومیه
۳. استادیار گروه بیوشیمی بالینی، دانشکده پزشکی، دانشگاه علوم پزشکی ارومیه
۴. دانشیار گروه علوم باغبانی، دانشکده کشاورزی، دانشگاه ارومیه

تاریخ وصول مقاله: ۱۳۹۳/۱۱/۲۰ تاریخ پذیرش مقاله: ۱۳۹۴/۰۲/۲۰

چکیده

به منظور بررسی اثر غلظت‌های مختلف متیل‌جاسمونات (صفر، ۰/۱ و ۰/۵ میلی‌مولار) بر فعالیت آنزیم‌های پلی‌فنل‌اکسیداز، فنیل‌آلانین-آمونیالیاز، کاتالاز، آسکوربات پراکسیداز، گایاکول پراکسیداز و میزان پروتئین کل در ریحان، آزمایشی در قالب طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار در گلخانه دانشگاه ارومیه، در سال ۱۳۹۲ اجرا شد. میزان فعالیت آنزیم‌ها صفر، ۲۴، ۴۸ و ۷۲ ساعت بعد از محلول‌پاشی متیل جاسمونات بر برگ‌های گیاهان سالم در مرحله گلدهی کامل اندازه‌گیری شد. تجزیه آماری داده‌ها با در نظر گرفتن غلظت متیل جاسمونات به عنوان عامل اصلی و زمان بعد از محلول‌پاشی به عنوان عامل فرعی به صورت طرح اسپلیت پلات در زمان انجام گرفت. نتایج تحقیق حاضر نشان داد بیشترین فعالیت آنزیم‌های فنیل آلانین آمونیالیاز و گایاکول پراکسیداز به ترتیب در غلظت‌های ۰/۵ و ۰/۱ میلی‌مولار و ۴۸ و ۷۲ ساعت بعد از محلول‌پاشی می‌باشد. اثر غلظت‌های مختلف متیل جاسمونات بر میزان فعالیت آنزیم‌های کاتالاز، آسکوربات پراکسیداز و پلی‌فنول اکسیداز و پروتئین کل معنی‌دار بود ($P\leq ۰/۰۱$). براساس نتایج مقایسات میانگین، غلظت ۰/۵ میلی‌مولار بیشترین تأثیر را در افزایش فعالیت آنزیم‌های کاتالاز، آسکوربات پراکسیداز و پروتئین کل داشت. فعالیت آنزیم کاتالاز در زمان‌های مختلف پس از محلول‌پاشی اختلاف معنی‌داری نشان داد ($P\leq ۰/۰۵$)، به‌طوری‌که ۴۸ و ۷۲ ساعت پس از محلول‌پاشی میزان فعالیت این آنزیم افزایش معنی‌داری داشت. بنابراین، می‌توان بیان نمود که کاربرد متیل‌جاسمونات با غلظت ۰/۵ میلی‌مولار در افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانت و پروتئین کل مؤثر است.

کلیدواژه‌ها: آسکوربات پراکسیداز، ریحان، فنیل آلانین آمونیالیاز، کاتالاز، گایاکول پراکسیداز، گلدهی کامل

* نویسنده مسئول
Email: b.abdollahi@urmia.ac.ir

www.SID.ir

Archive of SID

۱. مقدمه

ریحان (*Ocimum basilicum* L.) به راسته لامیال‌ها[1] و تیره‌نعناعیان تعلق دارد و به عنوان گیاه دارویی، ادویه‌ای و همچنین به صورت سبزی تازه مورد استفاده قرار می‌گیرد. مواد مؤثره پیکره رویشی این گیاه برای معالجه نفخ شکم و بی‌اشتهایی، کمک به هضم غذا و همچنین برای درمان برخی ناراحتی‌های قلبی استفاده می‌شود. اسانس ریحان خاصیت ضدقارچی و ضدباکتریایی داشته و کنترل‌کننده حشرات نیز می‌باشد. همچنین، اسانس آن در صنایع غذایی، آرایشی و بهداشتی و عطرسازی کاربردهای فراوانی دارد [۲۲]. ریحان در میان گیاهان معطر به خاطر حضور ترکیبات فنیل پروپانوئیدی نظیر استراگول، اوژنول و مشتقاتشان یا ترپنوئیدهایی مانند مونوترپن الکل لینالول، متیل سینامات و لیمونن از ارزش اقتصادی بالایی برخوردار است [۲۸]. بزرگترین محل تجارت اسیموم باسیلیکوم ایالات متحده، ژاپن و کشورهای اروپایی می‌باشد [۱۸].

هرگاه مسیر اصلی انتقال الکترون در مواجهه گیاه با تنش‌های محیطی مسدود گردد، انتقال الکترون در مسیر فرعی جریان یافته و سبب احیای ناقص اکسیژن و تولید انواع اکسیژن فعال می‌گردد. انواع اکسیژن فعال برخلاف اکسیژن اتمسفری از میل ترکیبی بسیار زیادی جهت واکنش با تمامی بیومولکول‌های حیاتی سلول برخوردارند [۱].

سلول‌های گیاهی جهت مقابله با اثرات مخرب انواع اکسیژن فعال از یک سری مکانیسم‌های دفاعی بهره می‌برند که آنها را قادر می‌سازد تا با جمع‌آوری کامل انواع اکسیژن فعال و احیای آنها به آب از آسیب به بیومولکول‌های حیاتی پیش‌گیری نمایند. مکانیسم‌های دفاعی سلول از آنتی‌اکسیدان‌ها (نظیر اسکوربات، گلوتاتیون، کاروتنوئیدها) و آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان (نظیر، کاتالاز، گایاکول پراکسیداز و اسکوربات پراکسیداز) تشکیل شده است [۵].

محرک‌ها، ترکیباتی با منشاء زیستی (پلی‌ساکاریدها و گلیکوپروتئین‌ها) و غیرزیستی (سالسیلیک اسید و متیل جاسمونات) هستند که از طریق القای پاسخ‌های دفاعی باعث بیوسنتز و انباشت متابولیت‌های ثانویه می‌شوند [۲۸]. متیل جاسمونات به عنوان یک محرک می‌تواند تولید آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانت را در گیاهان القاء کند. یک ویژگی تقریباً بی‌نظیر پاسخ‌های گیاهی به پاتوژن‌های ناسازگار یا محرک‌ها، فعال‌سازی متابولیسم فنیل پروپانوئید می‌باشد که در آن فنیل آلانین آمونیالیاز[2]، اولین مرحله از مسیرهای کلیدی متابولیسم تولید فنیل پروپانوئید را کاتالیز می‌کند. مسیرهای فرعی منجر به سنتز ترکیباتی می‌شود که عملکردهای متفاوتی در گیاهان دارند، به‌ویژه در دفاع نظیر تقویت و ترمیم دیواره سلولی، فعالیت ضدمیکروبی و به عنوان ترکیبات پیام‌رسان مانند سالسیلیک اسید عمل می‌کنند [۱۶]. آنزیم فنیل‌آلانین آمونیالیاز در اثر دآمیناسیون به اسید ترانس سینامیک تبدیل می‌شود و سپس توسط سینامات ۴-هیدروکسیلاز، اسید p-کوماریک ایجاد می‌شود، اسید p-کوماریک طی مراحلی به چاویکول و اوژنول تبدیل می‌شود که از اجزای تشکیل‌دهنده اسانس ریحان محسوب می‌شود. در حال حاضر، مطالعات وسیعی روی سیستم‌های دفاع ضداکسنده در زمان پیری و شرایط نامساعد محیطی صورت گرفته است، اما نتایج حاصل متفاوت می‌باشد. لذا فعالیت تعدادی از ضداکسنده‌ها در بعضی از گونه‌ها کاهش می‌یابد، فعالیت همان ضداکسنده‌ها در گونه‌های دیگر افزایش یافته و یا بدون تغییر باقی می‌ماند. تیمار با متیل جاسمونات باعث تسریع تجمع هیدروژن پراکسید[3] در برگ‌های گوجه‌فرنگی می‌شود [۲۵].

جاسمونیک اسید و مشتقات و پیش‌سازهای آن تحت عنوان جاسمونات‌ها شناخته می‌شوند. در دهه ۱۹۶۰،

1. Lamiales

2. Phenylalanine ammonia lyase
3. Hydrogen peroxide

www.SID.ir

Archive of SID

جاسمونات به عنوان متابولیت‌های ثانویه در اسانس گیاه گل یاس (گونه‌ای از جنس جاسمین)[1] شناسایی شد. متیل جاسمونات با فرمول شیمیایی $C_{13}H_{20}O_3$ به صورت مایعی بی‌رنگ می‌باشد که به عنوان یکی از هورمون‌های گیاهی در تنظیم بیان ژن، تنظیم مسیر متابولیت‌ها، ایجاد پاسخ‌های دفاعی و تولیدمثل مؤثر می‌باشند [۲۷].

در بررسی گیاه موریندا الیپتیکا[2] در اثر تیمار با متیل جاسمونات ۵۰ میکرومولار، فعالیت آنزیم کاتالاز بعد از یک روز افزایش و سه و شش روز بعد کاهش یافت، درحالی‌که فعالیت آسکوربات پراکسیداز روز اول بعد از محلول‌پاشی تغییر زیادی نشان نداد، ولی در روز سوم افزایش و در روز ششم فعالیت این آنزیم کاهش نشان داد. در گزارشی دیگر، در همین گیاه غلظت ۱۰۰ میکرومولار متیل جاسمونات تا روز سوم میزان فعالیت آنزیم کاتالاز را افزایش داد [۲۷]. همچنین، تیمار با متیل جاسمونات با غلظت یک میکروگرم در میلی‌لیتر در کشت سوسپانسیون سلولی گیاه پیرورایا میریفیکا[3]، فعالیت آنزیم کاتالاز را در روز سوم بعد از محلول‌پاشی به حداکثر میزان آن رساند [۲۹]. متیل جاسمونات بر فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانت در گیاه آرابیدوپسیس، کلزا و بادام زمینی مؤثر بوده است [۵]. از آنجایی‌که تحقیقات اندکی در رابطه با نقش متیل جاسمونات‌ها به عنوان القاءکننده مقاومت و فعال‌سازی آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانت و پروتئین کل در ریحان انجام شده است و متیل جاسمونات به عنوان یک مولکول حیاتی در گیاهان، بسیاری از واکنش های فیزیولوژیکی گیاه را تغییر می‌دهد. بنابراین، هدف از انجام پژوهش حاضر، بررسی تأثیر غلظت‌های مختلف متیل جاسمونات بر میزان فعالیت آنزیم-های آنتی‌اکسیدانت و پروتئین کل در زمان‌های مختلف بعد از محلول‌پاشی در گیاه ریحان می‌باشد.

1. *Jusmin* Sp.
2. *Morinda elliptica*
3. *Pueraria mirifica*

مواد و روشها

کشت گیاه و تیمار متیل جاسمونات

به منظور بررسی اثر غلظت‌های مختلف متیل جاسمونات بر فعالیت آنزیم‌های کاتالاز، پلی‌فنل اکسیداز، فنیل آلانین آمونیالیاز، آسکوربات پراکسیداز، گایاکول پراکسیداز و میزان پروتئین کل در رقم 'کشکنی لولوی'[4] ریحان (اسیموم باسیلیکوم) و بررسی فعالیت آنزیم‌ها در زمان‌های مختلف بعد از محلول‌پاشی، آزمایشی گلدانی به صورت طرح اسپلیت پلات در زمان در قالب طرح پایه کاملاً تصادفی در سه تکرار، در گلخانه تحقیقاتی دانشکده کشاورزی دانشگاه ارومیه، در تابستان سال ۱۳۹۲ اجرا گردید. گلدان‌های مورد استفاده از نوع پلاستیکی با قطر دهانه ۳۰ و ارتفاع ۲۵ سانتی‌متر بودند. در کف گلدان‌ها به مقدار مساوی از شن درشت (جهت انجام زهکشی) ریخته شد و از سوراخ بودن ته گلدان اطمینان حاصل شد. سپس گلدان‌ها با نسبت دو نسبت خاک مزرعه الک شده، یک نسبت ماسه و یک نسبت گیاخاک پر شد. پس از یک آبیاری سطحی با اسپری که به منظور مرطوب شدن سطح خاک بود، تعداد ۲۰ تا ۳۰ سوراخ در سطح خاک ایجاد شد و بذرها در عمق یک سانتی‌متری فرو برده شد و پس از کشت، آبیاری انجام شد. تا زمان جوانه‌زنی، گلدان‌ها هر روز آبیاری می‌شدند و پس از جوانه‌زنی هر دو روز یک بار آبیاری انجام گرفت. دمای روزانه گلخانه ۲۵ تا ۳۰ و دمای شبانه ۲۰ تا ۲۵ و فشار حدود ۸۳۰ پاسکال و شدت نور ۸۰۰۰ تا ۱۰۰۰۰ لوکس بود. پس از سبز شدن، بوته‌ها در طی چند مرحله تنک گردیده و نهایتاً در داخل هر گلدان هفت بوته نگهداری شد.

۴۵ روز پس از رشد، هنگامی که گیاهان به مرحله گلدهی کامل رسیدند، سه غلظت از متیل جاسمونات (صفر، ۰/۱ و ۰/۵ میلی‌مولار) به‌طور جداگانه در بطری یک

4. Keshkeni luvelou

www.SID.ir

Archive of SID

لیتری تهیه شد. تقریباً هر بطری یک لیتری برای محلول‌پاشی ۸ گلدان استفاده شد. محلول‌های تهیه شده به صورت اسپری بر روی برگ‌های گیاهان پاشیده شد، به‌طوری‌که کل برته به محلول آغشته شد. برای محلول‌پاشی شاهد از آب دو بار تقطیر استفاده شد. نمونه‌برداری از برگ‌های انتهایی و جوان، در ۴ زمان صفر، ۲۴، ۴۸ و ۷۲ ساعت پس از محلول‌پاشی انجام گرفت و نمونه‌ها به دمای ۸۰- درجه سانتی‌گراد انتقال داده شد [۲۷ و ۲۹].

سنجش میزان پروتئین کل

تعیین میزان پروتئین محلول با روش برادفورد انجام گردید [۱۰]. به منظور تهیه محلول استاندارد از آلبومین سرم گاوی استفاده شد و میزان جذب نمونه‌ها و محلول‌های استاندارد در طول موج ۵۹۵ نانومتر توسط اسپکتروفتومتر قرائت شد. میزان پروتئین خام پس از

رسم منحنی استاندارد به‌دست آمده و به صورت میلی‌گرم درصد گرم وزن تر بیان گردید.

اندازه‌گیری فعالیت آنزیم‌ها

برای تهیه عصاره گیاهی از روش کنگ و سالتیویت[1] با اندکی تغییرات استفاده شد [۱۹]. از سه میلی‌لیتر بافر شامل (بافر تریس-اسید هیدروکلریک ۰/۰۵ مولار با اسیدیته ۷/۵، کلرید منیزیم سه میلی‌مولار و EDTA یک میلی‌مولار) و ۰/۵ گرم بافت برگی استفاده شد و هموژنات ۲۰ دقیقه با سرعت ۵۰۰۰ دور در دقیقه سانتریفیوژ گردید. محلول رویی حاصله به عنوان عصاره خام برای اندازه‌گیری فعالیت آنزیم کاتالاز مورد استفاده قرار گرفت. سنجش فعالیت آنزیم کاتالاز (CAT; EC: 1.11.1.6) با استفاده از روش آدیزل[2] انجام گرفت [۶]. مخلوط واکنش شامل ۲/۵ میلی‌لیتر بافر فسفات (۵۰ میلی‌مولار با اسیدیته ۷)، ۰/۲ میلی‌لیتر هیدروژن پراکسید یک درصد و ۰/۳ میلی‌لیتر عصاره استخراجی بود. فعالیت آنزیم کاتالاز در طول موج ۲۴۰ نانومتر محاسبه شد. برای سنجش میزان فعالیت از ضریب خاموشی ۴۳/۶ میلی‌مولار بر سانتی‌متر استفاده شد.

سنجش فعالیت آنزیم پلی‌فنل اکسیداز (1.14. 18. 1 : PPO;EC) با استفاده از روش اوپدهیا[3] با اندکی تغییرات انجام شد [۳۰]. یک گرم از بافت تر برگ به همراه نه میلی‌لیتر بافر فسفات ۰/۱ مولار با اسیدیته ۸/۶ در هاون سرد ساییده شد. هموژنات حاصل با استفاده از پارچه تنظیف چهار لایه صاف و به مدت ۲۰ دقیقه در دمای چهار درجه سانتی‌گراد و در ۱۰۰۰۰ دور سانتریفیوژ شد. سپس عصاره استخراج شده برای سنجش مورد استفاده قرار گرفت. مخلوط سنجش فعالیت آنزیم محتوی ۱/۹۵ میلی‌لیتر بافر فسفات با اسیدیته ۸/۶، یک میلی‌لیتر کافئیک اسید ۲۰ میلی‌مولار و ۵۰ میکرولیتر عصاره استخراج شده بود. جذب نمونه‌ها پس از اضافه کردن عصاره طی یک دقیقه در طول موج ۴۲۰ نانومتر خوانده شد. برای سنجش میزان فعالیت آنزیم ضریب خاموشی ۲۴/۹ میلی‌مولار بر سانتی‌متر درنظر گرفته شد.

سنجش فعالیت آنزیم فنیل آلانین آمونیالیاز (4.3.1.5: PAL;EC) با استفاه از روش کار و میشرا[4] با اندکی تغییرات انجام شد [۲۰]. دو گرم از نمونه‌های برگی به همراه هشت میلی‌لیتر بافر بورات ۵۰ میلی‌مولار با اسیدیته ۸/۵، محتوی پنج میلی‌مولار بتا مرکاپتواتانول و پلی‌وینیل پیرولیدین دو درصد در هاون سرد ساییده شد. هموژنات

1. Saltiveit and Kang

2. Adigzel
3. Upadhya
4. Kar and Mishra

www.SID.ir

Archive of SID

حاصل با استفاده از پارچه تنظیف چهار لایه صاف گردید و به مدت ۲۰ دقیقه در دمای چهار درجه سانتی‌گراد و در ۱۰۰۰۰ دور سانتریفیوژ شد. سپس، عصاره استخراج شده برای سنجش مورد استفاده قرار گرفت. به پنج میلی‌لیتر از محلول رویی ۰/۵۵ L-فنیل آلانین ۱۰۰ میلی‌مولار اضافه شد و به مدت ۶۰ دقیقه در دمای ۴۰ درجه سانتی‌گراد قرار گرفت و با تشکیل سینامیک اسید مورد سنجش قرار گرفت. فعالیت آنزیم با استفاده از تغییر جذب در طول موج ۲۹۰ نانومتر و با استفاده از ضریب خاموشی سینامیک اسید و برحسب میکرومولار ترنس سینامیک اسید در دقیقه به ازای یک میلی‌گرم پروتئین محاسبه گردید.

سنجش فعالیت آنزیم آسکوربات پراکسیداز (ASC; EC: 1.11.1.11) با استفاده از روش آسادا و ناکانو[1] انجام شد [۷]. برای سنجش میزان فعالیت آنزیم اسکوربات پراکسیداز ۲۵۰۰ میکرولیتر بافر فسفات، ۱۰۰ میکرولیتر بافر اسکوربات پراکسیداز، ۲۰۰ میکرولیتر کاتالاز و ۱۰۰ میکرولیتر از عصاره گیاهی را در سل ریخته و میزان جذب طی مدت یک دقیقه در طول موج ۲۹۰ نانومتر محاسبه گردید. در این روش، ضریب خاموشی ۲/۸ میلی‌مولار بر سانتی‌متر در نظر گرفته شد.

برای بررسی فعالیت آنزیم گایاکول پراکسیداز (G-POX ; EC 1.11.1.7) از روش آسادا استفاده شد [۸]. در این روش، از ۲۵۰۰ میکرولیتر بافر فسفات ۵۰ میلی‌مولار با اسیدیته ۷، ۱۰۰ میکرولیتر گایاکول یک درصد، ۱۰۰ میکرولیتر کاتالاز یک درصد و ۱۰۰ میکرولیتر عصاره گیاهی استفاده و میزان جذب در مدت یک دقیقه در طول موج ۴۲۰ نانومتر محاسبه شد. در این روش، ضریب خاموشی ۶/۲ میلی‌مولار بر سانتی‌متر در نظر گرفته شد.

تجزیه داده‌ها

برای آنالیز داده‌ها غلظت متیل جاسمونات به عنوان فاکتور اصلی و زمان پس از محلول‌پاشی به عنوان فاکتور فرعی درنظر گرفته شد. بنابراین، تجزیه داده‌ها براساس طرح اسپلیت پلات در زمان انجام گرفت. قبل از انجام تجزیه واریانس نرمال بودن داده‌ها و اشتباهات مدل با استفاده از نرم‌افزار MINITAB (نسخه ۱۴) مورد بررسی قرار گرفت. تجزیه واریانس و مقایسه میانگین داده‌ها به روش دانکن، در سطح احتمال یک درصد با استفاده از نرم‌افزار آماری SAS (نسخه ۹/۱) انجام گرفت.

نتایج و بحث

نتایج تجزیه واریانس نشان داد که اثر متقابل غلظت در زمان بر میزان فعالیت آنزیم‌های فنیل آلانین آمونیالیاز و گایاکول پراکسیداز معنی‌دار و بر سایر صفات معنی‌دار نیست (جدول ۱). اثر غلظت‌های مختلف متیل جاسمونات بر میزان فعالیت آنزیم‌های کاتالاز، آسکوربات پراکسیداز و پلی فنول اکسیداز و پروتئین کل معنی‌دار بود. اثر زمان‌های مختلف پس از محلول‌پاشی متیل جاسمونات بر میزان فعالیت آنزیم کاتالاز معنی‌دار ($P\leq ۰/۰۵$) و بر سایر صفات تأثیر معنی‌داری نداشت.

در گیاهان تیمار شده با متیل جاسمونات، میزان پروتئین کل افزایش یافت. به‌طوری‌که اختلاف معنی‌داری بین غلظت‌ها وجود داشت. بیشترین میزان پروتئین کل در غلظت ۰/۵ میلی‌مولار متیل جاسمونات مشاهده شد (شکل ۱). افزایش میزان پروتئین کل ممکن است به خاطر تجمع پروتئین‌های پاسخ‌دهنده به استرس یا تنش باشد، زیرا گیاه، متیل جاسمونات را به عنوان تنش یا استرس می‌شناسد و بسته به غلظت و اندازه تنش به آن پاسخ می‌دهد [۹].

1. Nakano and Asada

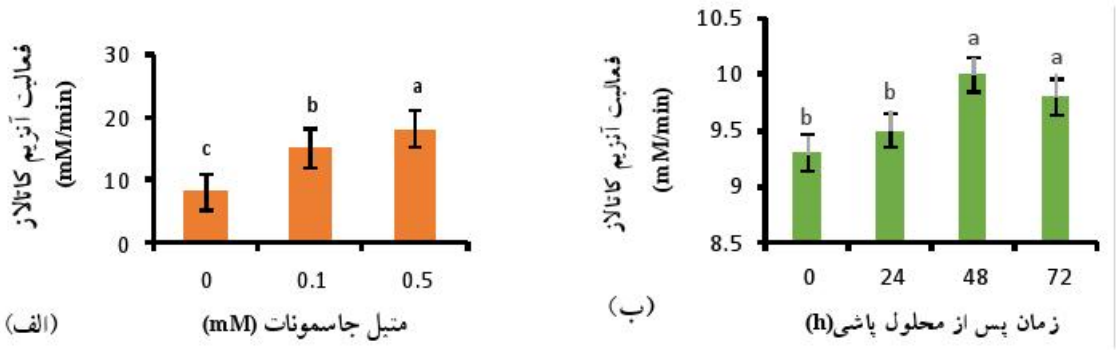
www.SID.ir

Archive of SID

www.SID.ir

Archive of SID

به‌طوری‌که در این غلظت میزان فعالیت آنزیم کاتالاز به میزان ۴۳/۹ درصد نسبت به گیاه شاهد افزایش یافت. کاتالاز اولین آنزیم پاد اکساینده است که شناسایی شده است. آنزیم‌های کاتالاز به صورت هموتترامریک هستند و باعث تجزیه پراکسید هیدروژن به آب و اکسیژن می‌شوند. کاتالازها به طور عمده در سیتوزول، میتوکندری و پراکسیزوم‌ها یافت می‌شوند [۱۲]. در تحقیق حاضر، بیشترین میزان فعالیت این آنزیم ۴۸ و ۷۲ ساعت پس از محلول‌پاشی بود (شکل ۲ - ب) که احتمالاً به خاطر بالا بودن میزان رادیکال‌های آزاد در گذر زمان، فعالیت آنزیم افزایش پیدا می‌کند. با اعمال تیمار متیل جاسمونات، میزان پراکسیداسیون غشاء افزایش یافته و رادیکال‌های آزاد زیاد می‌شوند [۴] و افزایش فعالیت آنزیم کاتالاز، گیاه را از اثرات مضر آنها محفوظ نگه می‌دارد.



شکل ۲. شکل الف: تأثیر غلظت‌های متیل جاسمونات بر فعالیت آنزیم کاتالاز
شکل ب: تأثیر زمان‌های مختلف پس از محلول‌پاشی بر فعالیت آنزیم کاتالاز در ریحان
(حروف غیریکسان نشان‌دهنده وجود اختلاف معنی‌دار در سطح یک درصد می‌باشد.)

افزایش فعالیت این آنزیم به خاطر عملکرد آنتی‌اکسیدانتی آن نیز می‌باشد، زیرا هنگام تنش، میزان رادیکال‌های آزاد گیاه افزایش یافته و گیاه برای فرار از سیمت رادیکال‌های آزاد، فعالیت این آنزیم را افزایش می‌دهد. در شرایط تیمارهایی نظیر متیل جاسمونات، افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدانت و محتوای بالای آنتی‌اکسیدان‌های غیرآنزیمی برای تحمل گیاه به تنش بسیار مهم است تا گیاه را از اثرات مضر آن‌ها در امان نگه دارد [۲۳]. انواع اکسیژن‌های فعال تحت شرایط تنش و فعالیت اکسیداتیو قوی تولید می‌شوند و به طور معمول، می‌توانند همه انواع مولکول‌های زیستی را مورد تهاجم قرار دهند [۱۳]. در گیاهچه‌های شیرین بیان، متیل جاسمونات با غلظت دو میلی‌مولار طی ۲۴ ساعت در اندام هوایی و غلظت یک و دو میلی‌مولار متیل جاسمونات در ۴۸ ساعت پس از تیمار در ریشه‌ها، فعالیت کاتالاز را افزایش می‌دهد [۴].

متیل جاسمونات بر فعالیت آنزیم پلی‌فنول اکسیداز اثر مثبت دارد و فعالیت آن‌را افزایش می‌دهد. بیشترین فعالیت این آنزیم، در غلظت ۰/۱ میلی‌مولار مشاهده شد و با افزایش غلظت، فعالیت آنزیم کاهش یافت (شکل ۳).

www.SID.ir

Archive of SID

www.SID.ir

Archive of SID

www.SID.ir

Archive of SID

www.SID.ir

Archive of SID

برخلاف برخی گزارشات، در مطالعه حاضر اثر زمان برای صفات پروتئین کل و فعالیت آنزیم‌های پلی‌فنول اکسیداز و آسکوربات پراکسیداز معنی‌دار نبود. شاید یکی از دلایل احتمالی آن تفاوت در گیاه مورد مطالعه، غلظت‌ها و زمان‌های مورد بررسی باشد. اگر زمان‌های بعد از محلول‌پاشی افزایش می‌یافت، احتمالاً اثر عامل زمان بر صفات مذکور معنی‌دار می‌شد. در بقیه آنزیم‌ها یا زمان معنی‌دار بوده و یا اثر مقابل غلظت در زمان معنی‌دار بوده است. به‌طورکلی، براساس نتایج حاصل از این تحقیق مشخص گردید که متیل جاسمونات ۰/۵ میلی‌مولار در افزایش فعالیت آنزیم‌های کاتالاز، پروتئین کل، آسکوربات پراکسیداز و فنیل آلانین آمونیالیاز و تیمار ۰/۱ میلی‌مولار در افزایش فعالیت آنزیم پلی‌فنول اکسیداز و گایاکول پراکسیداز مؤثر می‌باشد و احتمالاً متیل جاسمونات در گیاه ریحان نیز مانند سایر گیاهان به عنوان یک محرک عمل کرده و سیستم آنتی‌اکسیدانی مخصوصاً آنزیم فنیل آلانین آمونیالیاز که آنزیم کلیدی در مسیر تولید ترکیبات فنیل پروپانوئیدی می‌باشد را در این گیاه فعال می‌کند.

منابع

۱. اسفندیاری ع، تاجیک ط، شکرپور م و برادران فیروزآبادی م (۱۳۸۹) اثرات مخرب انواع اکسیژن فعال بر توان دفاعی سلول با افزایش سن برگ در گندم. تولید گیاهان زراعی. ۳: ۲۱۹-۲۲۷.

۲. رؤف فرد ف، شریفی م، امیدبیگی ر، سفیدکن ف، بهمنش م و احمدی ن (۱۳۹۳) اثر متیل جاسمونات بر آنزیم‌های متابولیسمی و مواد فنلی در گیاه دارویی آگاستاکه (*Agastache foeniculum* [Pursh] Kuntze). تحقیقات گیاهان دارویی و معطر ایران. ۳: ۳۶۱-۳۶۹.

۳. سید رحمانی ر و معالی امیری ر (۱۳۹۲) مسیر سیگنال‌دهی ROS و نقش آن در تنش‌های محیطی. ژنتیک در هزاره سوم. ۲: ۳۵۸۸-۳۶۰۳.

۴. شبانی ل و احسان‌پور ع (۱۳۸۸) القای آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان، ترکیبات فنولیک و فلاوونوئید در کشت در شیشه شیرین بیان با استفاده از متیل جاسمونات و سالسیلیک اسید. زیست‌شناسی ایران. ۲۲(۴): ۶۹۱-۷۰۳.

۵. کرامت ب و دانشمند ف (۱۳۹۱) نقش دوگانه متیل جاسمونات بر عملکردهای فیزیولوژیک در گیاه سویا. فرآیند و کارکرد گیاهی. ۱: ۲۷-۳۸.

6. Adigzel A, Gulluce M, Sengul M, Ogutcu H and Karaman I (2005) Antimicrobial Effects of *Ocimum basilicum* (Labiatae).Turkish Journal of Biology. 29: 155-160.

7. Asada K and Nakano Y (1981) Hydrogen peroxide is scavenged by ascorbate-specific peroxidase in spinach chloroplast. Plant Cell Physiology. 22(5): 867-880.

8. Asada K (1999) The water-water cycle in chloroplasts: scavenging of active oxygen and dissipation of excess photons. Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology. 50: 601-639.

9. Babar Ali M, Yu KW, Hahn EJ and Paek KY (2006) Methyl jasmonate and salicylic acid elicitation induces ginsenosides accumulation, enzymatic and non-enzymatic antioxidant in suspension culture Panax ginseng roots in bioreactors. Biotic and Abiotic Stress. 25: 613-620.

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

www.SID.ir

Archive of SID

11. Chaoui A, Mazhoudi S, Ghorbal MH and Ferjani E (1997) Cadmium and zinc of lipid peroxidation and effect on antioxidant enzyme activites in bean (*Phaseolus vulgaris* L.). Plant Science. 127: 139-14.

12. Dat J, Vandenabeele S, Vranova E, Van M, Inzé D and Breusegem F (2000) Dual action of the active oxygen species during plant stress responses. Cell Molecular Biology Life Science. 57: 779-795.

13. Drazkiewicz M, Skorzynska P and Krupa Z (2004) Copperinduced oxidative stress and antioxidant defense in *Arabidopsis thaliana*. Biology of Metals. 17: 379-387.

14. Geyter N, Gholami A, Goormachtig S and Goossens A (2012) Transcriptional machineries in jasmonate-elicited plant secondary metabolism. Trends in Plant Science. 17: 1445-1457.

15. Hampel D, Mosandl A and Wust M (2005) Induction of de novo volatile terpene biosynthesis via cytosolic and plastidial pathways by methyl jasmonate in foliage of *Vitis vinifera* L. Journal of Agricultural and Food Chemistry. 53: 2652-2657.

16. Hammerschmidt R (1999) Phytoalexins: what have we learned after 60 years? Annual Review of Phytopathology. 37: 285-306.

17. Heredia JB and Cisneros-Zevallos L (2009) The effect of exogenous ethylene and methyl jasmonate on PAL activity, phenolic profiles and antioxidant capacity of carrots (*Daucus carota*) under different wounding intensities. Postharvest Biology and Technology. 51(2): 242-249.

18. Jung S (2004) Effect of chlorophyll reduction in Arabidopsis thaliana by methyl jasmonate or norflurazon on antioxidant systems. Journal of Plant Physiology and Biochemistry. 42: 231-255.

19. Kang H and Saltiveit M (2002) Chilling tolerance of maize, cucumber and rice seedling (leaves and roots) and differentially affected by salicylic acid. Physiologia Plantarum. 115: 571-576.

20. Kar M and Mishra D (1976) Catalase, peroxidase, and polyphenol oxidase activities during rice leaf senescence. Plant Physiology. 57: 315-319.

21. Kim DY, Bovet M, Maeshima E and Lee Y (2007) The *ABC transporter AtPDR8* is a cadmium extrusion pump conferring heavy metal resistance. Plant Journal. 50: 207-218.

22. Marotti M, Dellacecca V, Piccaglia R and Glovanelli E (1997) Agronomic and chemical evaluation of three varieties of *Foeniculum vulgare* Mill. Acta Horticulturae. 331: 63-69.

23. Nasibi F (2010) Effect of different concentrations of sodium nitroprusside (SNP) pretreatment on oxidative damages induced by drought stress in tomato plant. Plant Biology. 9: 36-74.

24. Nejhad Askari K, Moradi P and Farzami Sepehr M (2013) Use of soluble Methyl jasmonate on increase of lifetime after harvesting mushroom *(Agaricusbisporus)*. International Research Journal of Applied and Basic Sciences. 6(4): 424-427.

25. Orozco C, Narvaez V and Ryan C (2001) Hydrogen peroxide as a second messenger for the induction of defense genes in tomato to wounding, systemin, and methyl jasmonate. Plant and Cell. 13: 179-191.

26. Petrov VD and Breusegem FV (2012) Hydrogen peroxide-a central hub for information flow in plant cells. Cell Biology. 14: 1093-1206.

27. Saisavoey T, Thongchul N, Sangvanich P and Karnchanatat A (2014) Effect of methyl jasmonate on isoflavonoid accumulation and

www.SID.ir

Archive of SID

antioxidant enzymes in *Pueraria mirifica* cell suspension culture. Journal of Medicinal Plant Research. 8(9): 401-407.

28. Santos Soares AMA, Souza TF, Jacinto T and Machado OLT (2010) Effect of Methyl Jasmonate on antioxidative enzyme activities and on the contents of ROS and H_2O_2 in *Ricinus communis* leaves. Brazilian Society of Plant Physiology. 22(3): 151-158.

29. Taile HA, Rahman S and Radwan S (2010) Potential Activity of Basil Plants as a Source of Antioxidants and Anticancer Agents as Affected by Organic and Bio-organic Fertilization. Notulae Botanicae Horti Agrobotanici Cluj-Napoca. 38: 119-127.

30. Upadhyaya H and Panda K (2004) Responses of *Camellia sinensis* to drought and rehydration. Biology Plantarum. 48: 597-600.

www.SID.ir