

اثر متیل ژاسمونات، اتیلن و بر همکنش آنها بر جوانه زنی بذر و برخی پارامترهای بیوشیمیایی دانه رست‌های کلزا (*Brassica napus L.*)

ندا حسیبی^۱، خسرو منوچهری کلانتری^۱، مریم مظاهری^۳ و عفت السادات احمدی موسوی^۴

۱- کرمان، دانشگاه شهید باهنر کرمان، دانشکده علوم، بخش زیست شناسی

۲- بم، دانشگاه پیام نور

۳- اصفهان، دانشگاه پیام نور

۴- کرمان، مرکز بین المللی علوم تکنولوژی پیشرفته و علوم طبیعی

تاریخ دریافت ۸۵/۵/۲۸ تاریخ پذیرش: ۸۶/۴/۹

چکیده

ژاسموناتها (ژاسمونیک اسید و متیل استر آن، متیل ژاسمونات) گروه جدیدی از تنظیم کننده های رشد گیاهی محسوب می‌شوند که در بسیاری از مراحل فیزیولوژیکی گیاه شرکت کرده و نقش دفاعی در گیاه ایفا می‌کنند. در این تحقیق اثر متیل ژاسمونات و اتیلن بر روی جوانه زنی بذر و نقش آن بر پراکسیداسیون لیپیدها، مقدار کلروفیل a، b و کلروفیل کل، کاروتنوئید و پروتئین دانه رست کلزا مورد بررسی قرار گرفت. بذرهای کلزا در گلدان‌های حاوی ماسه، رس و خاک برگ به نسبت ۱ به ۱ به ۲ کاشته شد. دانه رست‌های ۱۳ روزه بمدت ۳ روز با متیل ژاسمونات (۱۰۰ μM) محلول‌پاشی شد و سپس بمدت ۴۰ ساعت تحت تیمار اتیلن (۷۰ و ۵۰ ppm) قرار گرفت. دانه رست‌های شاهد با آب مقطر محلول‌پاشی شد. آنالیز داده ها از طریق نرم افزار SPSS و Mstac و مقایسه میانگین‌ها با آزمون LSD انجام گرفت. نتایج حاصل از بررسی جوانه زنی نشان داد که متیل ژاسمونات، باعث کاهش جوانه‌زنی شده و تیمار اتیلن باعث افزایش جوانه زنی می‌شود. در تیمار توام اتیلن و متیل ژاسمونات، اتیلن تا حدودی اثر بازدارندگی متیل ژاسمونات را بر طرف نمود. همچنین نتایج حاصل از بررسی دانه رست نشان داد که افزایش پراکسیداسیون لیپید که در دانه رست تحت تیمار اتیلن مشاهده می‌شود در تیمار با متیل ژاسمونات کاهش معنی داری نشان می‌دهد که نشان دهنده کاهش خسارت اکسیداتیو در این گروه می‌باشد. مقدار کلروفیل a، b و کلروفیل کل و پروتئین طی تیمار اتیلن کاهش یافته اما تیمار با متیل ژاسمونات از کاهش این پارامترها در دانه رست های تحت تیمار با اتیلن جلوگیری می‌کند. بیشترین مقدار کاروتنوئید در تیمار توام اتیلن و متیل ژاسمونات دیده می‌شود. حاصل آنکه متیل ژاسمونات باعث محدود شدن جوانه زنی بذر می‌شود، اما در مراحل بعدی رشد دانه رست باعث بهبود وضع دانه رست تحت تیمار با اتیلن خواهد شد.

واژه های کلیدی: اتیلن، جوانه زنی، خسارت اکسیداتیو، متیل ژاسمونات، کلزا

* نویسنده مسئول، تلفن تماس: ۰۳۴۱-۳۲۲۲۰۳۰، پست الکترونیک: Email: n_hasibi@yahoo.com

مقدمه

یک ماده معطر از اسانس یاسمن (*Jasmonium grandiflorum*) و چند گونه دیگر جدا کردند [برگرفته از منابع ۹ و ۲۷]. در ابتدا ژاسموناتها بعنوان بازدارنده رشد شناخته، اما امروزه بدلیل قابلیت آن در افزایش بروز

ژاسموناتها ترکیبات غیر اشباع مشتق شده از سیکلوپنتان لینولیک اسید می‌باشند و ساختمانی شبیه به ایکوزانوئیدها در پستانداران دارند [۱۹]. داموئل و همکاران در سال ۱۹۶۲ اولین کسانی بودند که متیل استر ژاسمونیک اسید را بعنوان

۱ - ۲ منتقل گردید برای هر تیمار ۳ گلدان بعنوان ۳ تکرار در نظر گرفته شد. بعد از گذشت ۱۳ روز از جوانه زنی بذر ابتدا بمدت ۳ روز با متیل ژاسمونات ($100 \mu\text{M}$) در اواخر روز محلول پاشی شد، به قدری که سطح برگ خیس شود و دانه رست‌های شاهد با آب مقطر محلول پاشی شوند.

بعد از آن جهت تیمار اتیلن به مخزن‌هایی به ابعاد $45 \times 40 \times 90$ سانتی‌متر از جنس PMMA (هواندی شده) منتقل شدند. قبل از تیمار حجم اتیلن مخزن‌ها تعیین شد و حجم گلدان‌ها از آنها کسر گردید. پس از بسته شدن درب مخزن‌ها توسط سوباسیلی که در روی درب مخزن نصب شده بود اتیلن در سه سطح (70 ، 50 ، و 0) با استفاده از سرنگ به درون مخزن‌ها تزریق گردید. تیمار دهی بمدت ۴۰ ساعت ادامه داشت و هر ۲۴ ساعت به منظور هوادهی مخزن مدت ۱۰ دقیقه درب مخزن‌ها باز و دوباره درب آنها محکم بسته شد و اتیلن با همان غلظت ذکر شده مجدداً تزریق گردید.

تیمارهای مورد استفاده عبارت بودند از:

۱- شاهد: که با آب مقطر بمدت ۳ روز محلول پاشی شد.

۲- 50 ppm : که با آب مقطر بمدت ۳ روز محلول پاشی شد و سپس بمدت ۴۰ ساعت تحت تیمار 50 ppm اتیلن قرار گرفت.

۳- 70 ppm : که با آب مقطر بمدت ۳ روز محلول پاشی شد و سپس بمدت ۴۰ ساعت تحت تیمار 70 ppm اتیلن قرار گرفت.

۴- MeJa: که با متیل ژاسمونات با غلظت ۱۰۰ میکرو مول بمدت ۳ روز محلول پاشی شد.

۵- $50 \text{ ppm} + \text{MeJa}$: که با متیل ژاسمونات با غلظت ۱۰۰ میکرو مول بمدت ۳ روز محلول پاشی شد و سپس بمدت ۴۰ ساعت تحت تیمار 50 ppm اتیلن قرار گرفت.

زن‌های اختصاصی در گیاهان مورد توجه واقع شده است [۱۰]. گزارش شده است که این ترکیبات خسارت ناشی از سرما، کم آبی و ... را کاهش می‌دهند [۱۷ و ۳۱].

تنش‌های محیطی همچون یخ زدگی، خشکی، استرس آبی باعث ایجاد یکسری پیامبرهای ثانویه می‌شوند که در نهایت در تولید اتیلن در گیاه نقش دارند [۱۳]. اتیلن باعث کاهش رشد، کاهش فتوسنتز، پیری زودرس و مرگ سلولی می‌شود [۲۸ و ۸]. گزارش شده است که تنش‌های محیطی همچون اوزون منجر به تشکیل گونه های اکسیژن فعال می‌شود و این گونه‌های اکسیژن فعال اتیلن تولید می‌کنند. اتیلن ایجاد شده نیز باعث افزایش تولید گونه های اکسیژن فعال شده و در نهایت باعث مرگ سلولی می‌شود، این در حالیست که متیل ژاسمونات از اثر اتیلن بر تشکیل گونه های اکسیژن فعال جلوگیری می‌کند [۳۰]. متیل ژاسمونات مقدار تجمع مالون دآلدئید حاصل از پراکسیداسیون لیپیدهای غشا را تحت شرایط تنش کاهش می‌دهد [۱۶]. تنش‌های محیطی باعث خسارت به گیاه و کاهش محصول می‌شود. با توجه به اینکه همه این تنش‌ها باعث ایجاد تنش اکسیداتیو و تولید اتیلن می‌شوند، بنابراین برای روشن شدن تاثیر متیل ژاسمونات بر کاهش خسارت ایجاد شده توسط اتیلن و ایجاد مقاومت در گیاه کلزا، متیل ژاسمونات و اتیلن بصورت برون‌زا مورد استفاده قرار گرفت و پارامترهایی همچون رنگیزه های فتوسنتزی، مقدار مالون دآلدئید و پروتئین اندازه گیری شد.

مواد و روشها

در این تحقیق از گیاه کلزا (*Brassica napus L.*) استفاده شد. بذرهای این گیاه از مرکز تحقیقات کشاورزی کرج تهیه گردید.

کشت و تیمار گیاه:

پس از جدا کردن بذرهای یکسان از نظر اندازه، این بذرها به گلدان‌های حاوی ماسه، رس و خاک برگ به نسبت ۱ -

برای اندازه گیری مقدار پروتئین از روش لوری استفاده شد [۲۰] و برای رسم منحنی استاندارد آلومین گاوی مورد استفاده قرار گرفت. نتایج بر اساس میلی گرم به گرم وزن تر گزارش شد.

سنجش پراکسیداسیون لیپید:

طبق این روش ۰/۲ گرم از بافت تازه برگ وزن و در هاون چینی حاوی ۵ میلی لیتر تری کلرو استیک اسید (TCA) ۰/۱ در صد سائیده شد. عصاره حاصل با سانتیفوژ بمدت ۵ دقیقه در ۱۰۰۰۰ g سانتیفوژ شد. به ۱ میلی لیتر از محلول رویی حاصل از سانتیفوژ، ۴ میلی لیتر محلول TCA، ۲۰ در صد که حاوی ۰/۵ در صد تیوباربتوریک اسید (TBA) بود اضافه شد. مخلوط حاصل بمدت ۳۰ دقیقه در دمای ۹۵ درجه سانتیگراد حمام آبگرم حرارت داده شد. سپس بلافاصله در یخ سرد و دوباره مخلوط بمدت ۱۰ دقیقه در ۱۰۰۰۰ g سانتیفوژ شد. شدت جذب این محلول با استفاده از اسپکتروفتومتر در طول موج ۵۳۲ نانومتر خوانده شد. ماده مورد نظر برای جذب در این طول موج کمپلکس قرمز (MDA-TBA) است، جذب بقیه رنگیزه های غیر اختصاصی در ۶۰۰ نانومتر تعیین و از این مقدار کسر گردید. برای محاسبه غلظت MDA از ضریب خاموشی معادل $155 \text{ mM}^{-1} \text{ cm}^{-1}$ استفاده شد [۱۲].

محاسبه در صد جوانه زنی بذر تحت تیماراتیلین و

متیل ژاسمونات

در این مرحله ابتدا کاغذ صافی را درون ظروف پتری قرار داده پس از جدا کردن بذرهای یکسان مقدار ۱۰ میلی لیتر از محلول مربوطه (آب مقطر و متیل ژاسمونات به غلظت $100 \mu\text{M}$) تهیه و به پتریها اضافه شد در هر ظرف پتری ۲۰ بذر یکسان کشت داده شد و برای هر تیمار ۳ تکرار تهیه شد. بذرها با فاصله روی کاغذ صافی درون ظروف پتری قرار گرفت. پس از کاشت بذرها، پتریها، بدون در، تحت شرایط نوری ۱۶/۸ ساعت (تاریکی / نور) در دمای 16 ± 2 / 25 ± 2 درجه سانتیگراد بمدت ۳ روز در درون دسیکاتور

۶- $70 \text{ ppm} + \text{MeJA}$: که با متیل ژاسمونات با غلظت ۱۰۰ میکرو مول بمدت ۳ روز محلول پاشی شد و سپس بمدت ۴۰ ساعت تحت تیمار 70 ppm اتیلن قرار گرفت. بعد از اعمال تیمار سنجش کلروفیل، کاروتنوئید، پروتئین و بررسی پراکسیداسیون لیپیدها از نمونه ها انجام شد.

سنجش میزان کلروفیل و کاروتنوئید:

برای سنجش میزان کلروفیل و کاروتنوئید از روش Lichtenthaler (۱۹۸۷) [۱۸] استفاده شد. بر این اساس ۰/۲ گرم برگ تر با ترازوی دقیق آزمایشگاهی با دقت ۰/۰۰۱ گرم وزن شد و در هاون چینی که حاوی ۵ میلی لیتر استن ۸۰ درصد بود خوب سائیده شد. محتوای هاون روی کاغذ صافی واتمن شماره ۱ که در قیف شیشه ای قرار داشت ریخته و صاف گردید. سپس ۵ میلی لیتر دیگر استن به آن اضافه شد و حجم محلول به ۱۵ میلی لیتر رسانده شد. این محلول حاوی کلروفیل a, b و کاروتنوئید است. ۳ میلی لیتر از این محلول در کووت ریخته شد و شدت جذب آن در طول موج های $663/2$ و $646/8$ و 470 نانومتر با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر خوانده شد. برای تنظیم دستگاه اسپکتروفتومتر از استن ۸۰ درصد بعنوان شاهد استفاده شد. غلظت این رنگیزه ها با استفاده از فرمول های زیر محاسبه گردید:

$$\text{Chl.a (mg.ml}^{-1}\text{)} = 12/25 A_{663/2} - 2/79 A_{646/8}$$

$$\text{Chl.b (mg.ml}^{-1}\text{)} = 21/51 A_{646/8} - 5/10 A_{663/2}$$

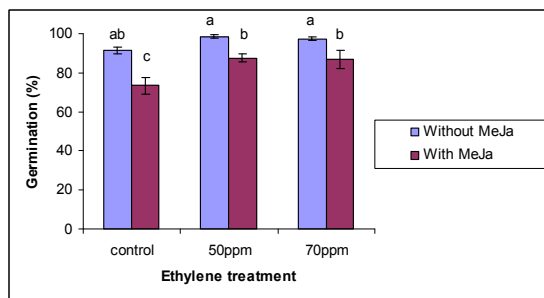
$$\text{Chl.T (mg.ml}^{-1}\text{)} = \text{Chl.a} + \text{Chl.b}$$

$$\text{Cx+c (mg.ml}^{-1}\text{)} = (1000 A_{470} - 1/8 \text{ Chl.a} - 85/02 \text{ Chl.b}) / 198$$

که در این فرمول Chl.a , Chl.b , Chl.T و Cx+c به ترتیب غلظت کلروفیل a, کلروفیل b, کلروفیل کل و کاروتنوئیدها (شامل کاروتن ها و گزاتوفیل ها) می باشد. غلظت بر حسب $\mu\text{g/ml}$ عصاره گیاهی تعیین شد.

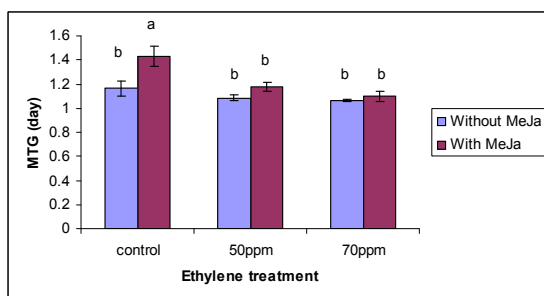
سنجش پروتئین:

نتایج حاصل از تاثیر تیمارهای اتیلن، متیل ژاسمونات و بر هم کنش این دو هورمون بر جوانه زنی بذرهای گیاه کلزا نشان می دهد که جوانه زنی در تیمار متیل ژاسمونات نسبت به بذرهای شاهد، بطور معنی داری کاهش می یابد (نمودار ۱). در تیمار توام اتیلن و متیل ژاسمونات، جوانه زنی نسبت به بذرهای تحت تیمار متیل ژاسمونات، افزایش نشان می دهد. همچنین میانگین زمان لازم برای جوانه زنی در تیمار متیل ژاسمونات افزایش یافت اما در تیمار توام اتیلن و متیل ژاسمونات میانگین زمان لازم جهت جوانه زنی نسبت به بذرهای تحت تیمار محلول متیل ژاسمونات، کاهش نشان می دهد (نمودار ۲).



نمودار ۱: اثر تیمار اتیلن و متیل ژاسمونات بر درصد جوانه زنی دانه های گیاه کلزا

برای هر تیمار سه تکرار در نظر گرفته شد. مقایسه میانگینها با آزمون LSD انجام گرفت و حروف غیرمشترک معرف تفاوت معنی دار در سطح ۵ درصد است.



نمودار ۲: اثر تیمار اتیلن و متیل ژاسمونات بر میانگین زمان جوانه زنی دانه های گیاه کلزا

برای هر تیمار سه تکرار در نظر گرفته شد. مقایسه میانگینها با آزمون LSD انجام گرفت و حروف غیرمشترک معرف تفاوت معنی دار در سطح ۵ درصد است. $MTG =$ میانگین زمان لازم برای جوانه زنی (دانه)

با حجم مشخص قرار گرفت و بمنظور جلوگیری از نشت گاز از کمی وازلین استفاده شد. پس از اطمینان از بسته بودن درب دسیکاتورها مقدار ۵۰ ppm و ۷۰ ppm اتیلن با سرنگ از طریق سوباسیل هایی که نصب شده روی درب دسیکاتور بدون آن تزریق گردید. جهت یکنواختی میزان اتیلن ورودی به دسیکاتور چندین بار سرنگ پر و خالی شد. تعداد بذرهای جوانه زده در هر پتری هر ۲۴ ساعت یک مرتبه شمارش و در صد جوانه زنی بذر ها در هر پتری با استفاده از رابطه زیر بدست آمد [۱].

$100 \times \text{تعداد کل بذر ها} / \text{تعداد بذر جوانه زده} = \text{در صد جوانه زنی}$

محاسبه میانگین زمان لازم برای جوانه زنی MTG تحت تیمار اتیلن و متیل ژاسمونات:

برای محاسبه MTG از رابطه زیر استفاده شد [۱].

$$MTG = ((N_1 T_1) + (N_2 T_2) + (N_3 T_3)) / N'$$

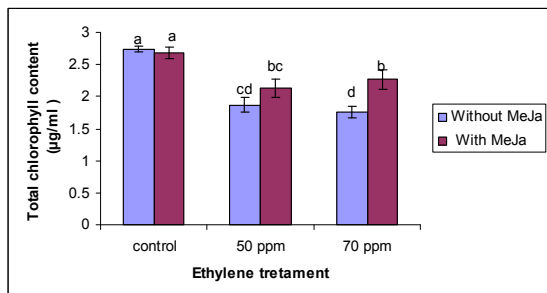
که در این فرمول N_1, N_2 و ... تعداد بذرهای جوانه زده در روز اول، دوم و ... است. T_1, T_2 و ... شمارش روز اول، دوم و ... است و N' تعداد کل بذرهای جوانه زده می باشد.

محاسبات آماری:

آنالیز آماری در این پژوهش بر اساس طرح کامل تصادفی انجام شد. برای ارزیابی اثر دو تیمار بر صفت مورد نظر داده های بدست آمده با استفاده از نرم افزار SPSS و Mstatc تحت آنالیز واریانس دو طرفه قرار گرفت و مقایسه میانگینها با آزمون LSD و با ضریب اطمینان ۹۵ درصد انجام شد.

نتایج

مرحله جوانه زنی بذر گیاه کلزا:



نمودار ۵: اثر تیمار اتیلن و متیل ژاسمونات بر مقدار کلروفیل کل دانه رست کلزا

برای هر تیمار سه تکرار در نظر گرفته شد. مقایسه میانگینها با آزمون LSD انجام گرفت و حروف غیرمشترک معرف تفاوت معنی دار در سطح ۵ درصد است.

مقدار کاروتنوئید دانه رست های کلزای تحت تیمار اتیلن، بطور چشمگیری بیشتر از شاهد است (شکل ۶). تیمار های مختلف اتیلن و متیل ژاسمونات نشان می دهد که مقدار کاروتنوئیدها در تیمار متیل ژاسمونات توام با اتیلن نسبت به تیمار اتیلن با همان افزایش چشمگیری دارد.

پراکسیداسیون لیپیدها:

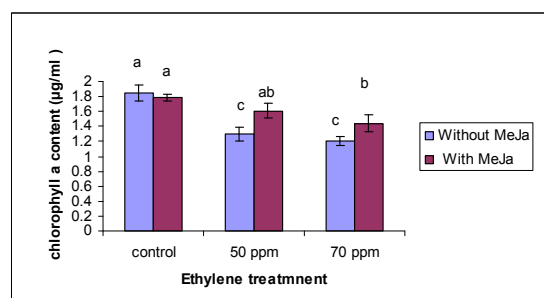
مالون دآلدئید شاخصی از پراکسیداسیون لیپیدها در نظر گرفته شده است. در این آزمایش افزایش مقدار مالون دآلدئید تحت تیمار اتیلن معنی دار است و بیشترین مقدار در دانه رست های مشاهده می شود که تحت تیمار ۷۰ ppm اتیلن قرار داشتند، که در مقایسه با دانه رست های تحت شرایط عادی (گروه شاهد) حدود ۶۰ درصد بیشتر است. کاربرد متیل ژاسمونات باعث کاهش مقدار پراکسیداسیون لیپیدها و در نتیجه کاهش معنی دار مقدار مالون دآلدئید در دانه رست های تحت تیمار اتیلن در مقایسه با همان تیمار بدون متیل ژاسمونات شد که نشان دهنده خسارت اکسیداتیوی کمتر در دانه رست های تیمار شده با متیل ژاسمونات است (نمودار ۷).

مقدار پروتئین:

نتایج حاصل از اندازه گیری پروتئین نشان می دهد که مقدار پروتئین موجود در دانه رست های تحت تیمار اتیلن

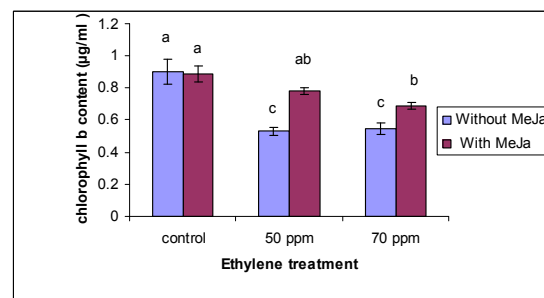
مقدار کلروفیل و کاروتنوئید:

مقدار کلروفیل a و کلروفیل b در دانه رست های کلزای تحت تیمار اتیلن کاهش معنی داری در مقایسه با دانه رست هایی تحت شرایط عادی می شود، شد. اتیلن کلروفیل کل را هم در مقایسه با شاهد کاهش می دهد (نمودارهای شماره ۳، ۴ و ۵). کاربرد متیل ژاسمونات با غلظت ۱۰۰µM در دانه رست های تحت تیمار اتیلن باعث افزایش معنی دار مقدار کلروفیل a، b و کلروفیل کل در مقایسه با تیمار اتیلن بدون متیل ژاسمونات می شود.



نمودار ۳: اثر تیمار اتیلن و متیل ژاسمونات بر مقدار کلروفیل a دانه رست کلزا

برای هر تیمار سه تکرار در نظر گرفته شد. مقایسه میانگینها با آزمون LSD انجام گرفت و حروف غیرمشترک معرف تفاوت معنی دار در سطح ۵ درصد است.



نمودار ۴: اثر تیمار اتیلن و متیل ژاسمونات بر مقدار کلروفیل b دانه رست کلزا

برای هر تیمار سه تکرار در نظر گرفته شد. مقایسه میانگینها با آزمون LSD انجام گرفت و حروف غیرمشترک معرف تفاوت معنی دار در سطح ۵ درصد است.

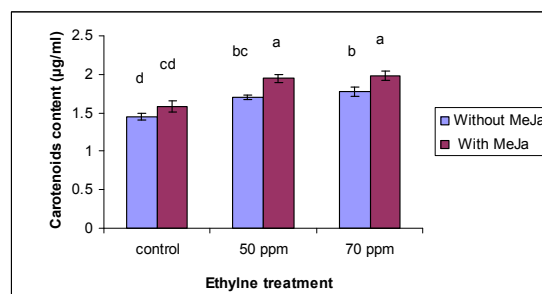
برای هر تیمار سه تکرار در نظر گرفته شد. مقایسه میانگینها با آزمون LSD انجام گرفت و حروف غیرمشترک معرف تفاوت معنی دار در سطح ۵ درصد است.

بحث و نتیجه گیری

گزارشات متعددی وجود دارد که اتیلن در جوانه زنی دانه نقش دارد. Atta-Aly گزارش داده است که سرعت جوانه زنی در بذره‌های تیمار شده با اتیلن افزایش می‌یابد [۵]. Ajmal khan و همکاران در سال ۲۰۰۴ گزارش داده‌اند که تیمار بذره‌های *Ceratoides lanata* با اتیلن، تنش ناشی از شوری را روی جوانه زنی کاملاً بهبود می‌بخشد [۳].

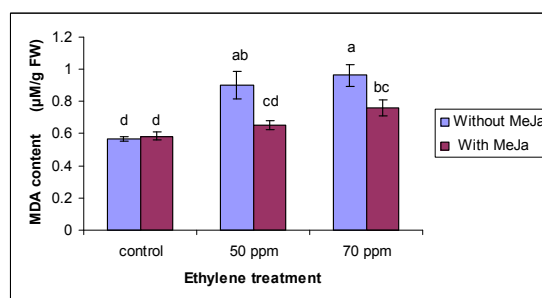
گزارش شده است که متیل‌ژاسمونات باعث مهار تولید اتیلن شده و از این طریق جوانه زنی را کاهش می‌دهد [۲۴]. در تحقیقی دیگر اثر متیل ژاسمونات روی جوانه زنی آفتابگردان مشابه با اثر ABA روی جوانه زنی دانه ارزیابی شده است [۷]. همانطور که نمودار ۱ و ۲ نشان می‌دهد، بطور کلی تیمار با متیل‌ژاسمونات باعث کاهش معنی‌داری درصد جوانه زنی می‌شود، اما میانگین زمان لازم برای جوانه زنی را در این پژوهش تغییر نمی‌دهد. گزارش شده است که کاهش مقدار اتیلن می‌تواند بدلیل کاهش مقدار آمینوسیکلوپروپان کربوکسیلیک اسید (ACC) در بافت لپه‌ی تیمار شده با متیل‌ژاسمونات باشد [۲۴]. نتایج مشابهی در بذره‌های کاهو، آفتابگردان، تاج خروس، ترب و کتان دیده شده است [۱۴، ۱۵، ۱۷ و ۲۴]. گزارش‌هایی مبنی بر این وجود دارد ژاسمونات با اثر بر ACC اکسیداز مایع تبدیل ACC به اتیلن می‌شود، اما اثر آن بر ACC سنتاز نسبت به ACC اکسیداز بیشتر است [۲۴]. در نتیجه کاهش در درصد جوانه زنی در تیمارهای توام متیل‌ژاسمونات و اتیلن احتمالاً ناشی از اثر متیل‌ژاسمونات بر ACC سنتاز و ACC اکسیداز می‌باشد. متیل ژاسمونات با مهار بیوسنتز اتیلن، باعث کاهش میزان اتیلن تولیدی در بذرها می‌گردد و این کاهش باعث مهار جوانه زنی می‌شود [۲۴] البته

کاهش معنی داری نسبت به دانه رست های شاهد دارد (نمودار ۸). تیمار توام اتیلن و متیل‌ژاسمونات باعث تعدیل کاهش مقدار پروتئین شد که این افزایش نسبت به تیمار اتیلن با ضریب اطمینان ۹۵ درصد معنی دار است.



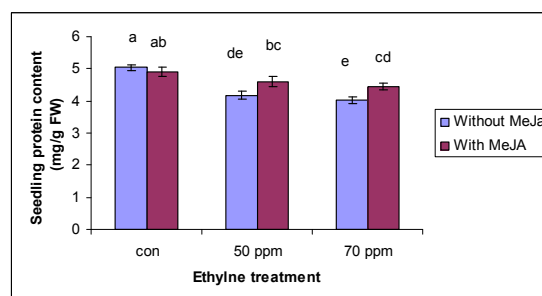
نمودار ۶: اثر تیمار اتیلن و متیل‌ژاسمونات بر مقدار کاروتنوئید دانه رست کلزا

برای هر تیمار سه تکرار در نظر گرفته شد. مقایسه میانگینها با آزمون LSD انجام گرفت و حروف غیرمشترک معرف تفاوت معنی دار در سطح ۵ درصد است.



نمودار ۷: اثر تیمار اتیلن و متیل‌ژاسمونات بر مقدار مالون دآلدئید دانه رست کلزا

برای هر تیمار سه تکرار در نظر گرفته شد. مقایسه میانگینها با آزمون LSD انجام گرفت و حروف غیرمشترک معرف تفاوت معنی دار در سطح ۵ درصد است.



نمودار ۸: اثر تیمار اتیلن و متیل‌ژاسمونات بر مقدار پروتئین دانه رست کلزا

گزارشی نیز وجود دارد که ژاسموناتها با کاهش حساسیت دانه به ABA، جوانه زنی دانه را تحریک می کند [۱۰].

کلروزه شدن، پیری و ریزش برگها از نشانه های اتیلن می باشد. کلروزه شدن بدلیل کاهش در رنگیزه های فتوسنتزی پدید می آید. نتایج تحقیق حاضر نشان داد که اتیلن موجب کاهش کلروفیل می شود. گزارشات مشابهی مبنی بر کاهش مقدار کلروفیل در دانه رست تریچه و گل کلم تحت تیمار اتیلن وجود دارد [۱۱، ۶، ۸، ۲، ۱۳]. مطالعه این اثر روی گل کلم در سال ۲۰۰۳ نشان می دهد که در تیمار گیاهان با اتیلن میزان کلروفیل a کاهش می یابد. کاهش در مقدار کلروفیل ناشی از تحریک کاتابولیسیم کلروفیل و در نتیجه متلاشی شدن کلروفیل می باشد. اتیلن با تحریک فعالیت کلروفیلاز و پراکسیداز باعث افزایش سرعت زرد شدن کلم می شود [۱۱] همچنین باعث کاهش کلروفیل مخصوصا کلروفیل b در دانه رست تریچه شده است [۲]. سایر آنزیم های اکسیداتیو همانند کلروفیل اکسیداز و پراکسیداز در کاتابولیسیم کلروفیل نقش دارند [۸ و ۱۱]. بنابراین کاهش مشاهده شده را شاید بتوان مربوط به افزایش فعالیت کلروفیلاز و پراکسیداز دانست و احتمالا" در تیمار توام اتیلن و متیل ژاسمونات، متیل ژاسمونات از تاثیر اتیلن بر روی آنزیم های کلروفیلاز و پراکسیداز جلوگیری می کند و گزارشهایی نیز وجود دارد مبنی بر این که اتیلن در بیوسنتز کاروتنوئیدها نقش دارد، و جهش در رسپتور اتیلن باعث می شود که بیوسنتز کاروتنوئیدها کاهش یابد [۴]. همچنین مقدار کاروتنوئید در گیاهان تحت تیمار اتیلن، خشکی و دما نسبت به گیاهان تنها تحت تیمار خشکی و دما تفاوتی دیده نمی شود [۲۳]. در بعضی گیاهان مقدار کاروتنوئیدها مخصوصا" آنترآگزانتین و زآگزانتین در تیمار متیل ژاسمونات تغییری نمی کند [۲۱]. تیمار متیل ژاسمونات همچنین در دانه رست ذرت تحت تنش کم آبی موجب افزایش کاروتنوئیدها می شود [۱۷]. نتایج این تحقیق نشان می دهد که متیل ژاسمونات بتنهایی تاثیری بر مقدار کاروتنوئیدها ندارد

اما در تیمار توام باعث افزایش کاروتنوئیدها می شود. بنابراین بنظر می رسد کلزا برای اینکه خسارت حاصل از تنش اکسیداتیو را کاهش دهد، بر میزان کاروتنوئیدهای خود افزوده تا بتواند اثرات ناشی از اتیلن را بهتر تحمل کند.

یکی از پاسخ های گیاهان به تنش های محیطی افزایش سنتز پپتیدها و پروتئین ها است. این گروه شامل فیتوکلاتها، هوموفیتوکلاتها، متالوپروتئین های گیاهی، پروتئین های مرتبط با پاتوژن، پروتئین های HSP (Heat shock protein) و آنزیم های دخیل در دفاع آنتی اکسیدانی می باشد [۲۶]. مشخص شده است که بعد از تیمار با اتفون (یک ترکیب آزاد کننده اتیلن) پروتئین هایی مشابه با پروتئین های حاصل از حمله پاتوژن به گیاه، تجمع پیدا می کند در حالی که پروتئین های مهم سلولی نظیر رویسکو بیشتر متلاشی می شود [۲۹]. در تحقیق حاضر مقدار پروتئین تحت تیمار اتیلن کاهش می یابد (نمودار ۸). بنابراین احتمال دارد که تخریب پروتئین، بیشتر از سنتز آن باشد و از آنجائیکه رویسکو بیشترین مقدار پروتئین را در گیاه تشکیل می دهد، بنابراین چنانچه این پروتئین شکسته شود کاهش در مقدار پروتئین مشهود خواهد بود. تیمار روی دانه رست های تحت تیمار اتیلن با متیل ژاسمونات باعث تخفیف کاهش پروتئین می شود. از طرفی مشخص شده است که متیل ژاسمونات باعث افزایش آنزیم های آنتی اکسیدان در توت فرنگی [۳۱] و دانه رست ذرت [۱۷] می شود. بنابراین احتمال دارد که متیل ژاسمونات باعث سنتز بیشتر آنزیم های آنتی اکسیدانی در گیاهان تحت تیمار با اتیلن شده و در نتیجه از تخریب پروتئین های ضروری گیاه توسط اتیلن، جلوگیری کرده است.

در گیاه جعفری مشاهده شده است هنگامیکه در معرض اتیلن برونزا قرار گیرد مالون دالدئید افزایش می یابد [۲۲]. نمودار ۷ نیز افزایش معنی دار مقدار مالون دالدئید در دانه رست های تحت تیمار با اتیلن را نشان می دهد. اتیلن

چرب غیراشباع نسبت به اسیدهای چرب اشباع موجب پایداری غشا و کاهش پراکسیداسیون غشا می شود همچنین متیل ژاسمونات در میوه گوجه فرنگی مانع فعالیت لیپواکسیژناز و یا القاء سنتز لینولنیک اسید از لینولئیک اسید می شود [برگرفته از ۳۱].

در بررسی اثر متیل ژاسمونات بر دانه رست های ذرت، دو وارسته مقاوم و حساس تحت تنش کم آبی مشاهده شده است که در وارسته مقاوم، متیل ژاسمونات فعالیت آسکوربیک اسید را افزایش می دهد. اما در وارسته حساس تغییری ایجاد نمی شود. بنظر می رسد افزایش تحمل در وارسته مقاوم نتیجه افزایش فعالیت آنزیم های آنتی اکسیدانی بوسیله متیل ژاسمونات است [۱۷]. در دانه رست های برنج تحت شرایط سرما، متیل ژاسمونات باعث بقا بیشتر دانه رست ها شده و صدمات ناشی از سرما بروی غشا و همچنین نشت یونی کاهش می یابد [۱۶]. در پیش تیمار متیل ژاسمونات در گیاهان تحت تیمار با پاراکوات میزان بالای پراکسید هیدروژن و در نتیجه پراکسیداسیون لیپیدها کاهش یافته و میزان نشت یونی و مالون دآلدئید نیز کاهش نشان می دهد [۲۵]. نمودار ۷ نیز نشان می دهد که متیل ژاسمونات افزایش پراکسیداسیون غشا در دانه رست های تحت تیمار اتیلن را کمتر می شود.

بنابراین نتایج حاصل نشان می دهد که متیل ژاسمونات ممکن است با القا تعدادی از پروتئین های خاص غشا را در مقابل تنش محافظت کرده و اثرات ناشی از اتیلن بر پیری زودرس را بهبود بخشد.

همچنین باعث افزایش مالون دآلدئید در گیاهان تحت تیمار تنش خشکی و دما نیز شده است [۲۳]. Munne-Bosch و همکاران در سال ۲۰۰۴ بیان کردند که اتیلن از طریق اثر بر گونه های اکسیژن فعال و کاهش دفاع آنتی اکسیدانی باعث افزایش رادیکال های آزاد اکسیژن می گردد که نتیجه آن افزایش پراکسیداسیون لیپیدها و در نهایت مرگ سلولی است [۲۳].

همچنین بعضی از تنظیم کننده های رشد از جمله متیل ژاسمونات روی سیستم آنتی اکسیدانی تاثیر دارد. Wang در سال ۱۹۹۹ در بررسی گیاه توت فرنگی نشان داد که در تنش کم آبی انواع گونه های اکسیژن فعال تشکیل می شود و فعالیت کاتالاز، سوپراکسید دیسموتاز و میزان آسکوربیک اسید کاهش، اما فعالیت پراکسیداز افزایش می یابد. اما تیمار همان گیاهان با متیل ژاسمونات به طور محسوسی فعالیت کاتالاز و سوپراکسید دیسموتاز و میزان آسکوربیک اسید را افزایش و فعالیت پراکسیداز را کاهش می دهد که نشان دهنده فعال شدن سیستم آنتی اکسیدانی در تیمار با متیل ژاسمونات است. همچنین تیمار با متیل ژاسمونات پراکسیداسیون لیپیدهای غشایی را کاهش می دهد [۳۱]. مطالعات انجام شده روی میوه سبز گوجه فرنگی نشان داده است که کاربرد متیل ژاسمونات در میوه سبز گوجه فرنگی بمیزان زیادی غلظت لینولنیک اسید را افزایش و مقدار لینولئیک اسید را کاهش می دهد که میزان افزایش محتوای لینولنیک اسید به لینولئیک اسید بین ۴/۵ تا ۷/۷ برابر است بنابراین متیل ژاسمونات با افزایش اسیدهای

منابع

۱. مهدویان، ک. ۱۳۸۵. تاثیر باندهای مختلف اشعه ماوراء بنفش بر عوامل فیزیولوژیکی و ریخت شناسی فلفل (*Capsicum annuum*). مجله زیست شناسی. (۱) ۱۹: ۴۳-۵۳.
2. Adachi, M., Tsuzuki, E. and Shimokawa, K. 1996. Effect of ethylene on degreening of intact radish (*Raphanus sativus* L.) cotyledons. *Scientia Horticulturae*. 65(1): 1-9.
3. Ajmal khan, M., Gul, B. and Weber, D. 2004. Action of plant growth regulation and salinity on seed germination of *Ceratoides lanata*. *Canadian Journal of Botany*. 82: 37-42.
4. Alba, R., Payton, P., Fei, Z., Mcquinn, R., Debbie, P. and Martin, G. 2005. Transcriome

- and selected metabolite analyses reveal multiple points of ethylene control during tomato fruit development. *The plant cell*. 17:2954-2965.
5. Atta-Aly, M. A., Brecht, J. K. and Huber, D. J. 2000. Ripening of fruit locule gel tissue in response to ethylene. *Postharvest Biology and Technology*. 19(3): 239-244
 6. Balota, M., Cristescu, C., Payne, W. A., Hekkert, S., Laarhoven, L. and Harren, F.J. 2004. Ethylene Production of Two Wheat Cultivars Exposed to Desiccation, Heat, and Paraquat-Induced Oxidation. *Crop Science*. 44:812-818.
 7. Corbineau, F., Rudnicki, R.M. and Come, D. 1988. The effects of methyl jasmonate on sunflower (*Helianthus annuus L.*) seed germination and seedling development. *Plant Growth Regulation*. 7: 157-169.
 8. Costa, M., Civello, P., Chaves, G. and Martinez, G. 2005. Effect of ethephon and 6-benzylaminopurine on chlorophyll degrading enzymes and a peroxidase-linked chlorophyll bleaching during post-harvest senescence of broccoli (*Brassica Oleraceae L.*). *Postharvest Biology and Technology*. 35: 191-199.
 9. Creelman, R. and Mullet, J. E. 1995. Jasmonic acid distribution and action in plants: regulation during development and response to biotic and abiotic stress. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 92: 4114-4119.
 10. Creelman, R. and Mullet, J.E. 1997. Biosynthesis and action of Jasmonate in plant. *Annu. Rev. Plant physiol. Plant Mol. Biol.* 48: 355- 381.
 11. Gong, Y. and Mattheis, J. 2003. Effect of ethylene and 1-methylcyclopropene on chlorophyll catabolism of broccoli florets. *Plant Growth Regulation*. 40(1): 33-38.
 12. Heath, R. L. and Packer, L. 1969. Photoperoxidation in isolated chloroplast. I Kinetics and stoichiometry of fatty acid peroxidation. *Arch, Biochem Biophys*. 125: 189-198.
 13. Jordan, W., Morgan, P. and Davenport, T. 1972. Water stress enhances Ethylene-mediated leaf abscission in Cotton. *Plant physiol*. 50:759-758.
 14. Kepczynski, J. and Bialecka, B. 1994. Stimulatory effect of ethephone, ACC, gibrellin A₃ and A₄₊₇ on germination of methyl jasmonate inhibited *Amaranthus caudatus L.* seeds. *Plant Growth Regulation*. 14: 211-216.
 15. Kepczynski, J., Bialecka, B. and Kepczynska, E. 1999. Ethylene biosynthesis in *Amaranthus caudatus* seeds in response to methyl jasmonate. *Plant Growth Regulation*. 28: 59-65.
 16. Lee, T., Lur, H., Lin, Y. and Chu, C. 1996. Physiological and biochemical changes related to methyl jasmonate induced chilling tolerance of rice (*Oryza sativa L.*) seedling. *Plant, Cell and Environment*. 19(1): 65.
 17. Li, L., Van Staden, J. and Jager, A.K. 1998. Effects of plant growth regulators on the antioxidant system in seedlings of two maize cultivars subjected to water stress. *Plant Growth Regulation* 25: 81-87.
 18. Lichtenthaler, H. K. 1987. Chlorophyll and carotenoids: pigments of photosynthetic biomembranes. *Method in Enzymology*. 148: 350-382.
 19. Liechti, R., Geffler, A. and Farmer, E. 2006. Jasmonate signaling pathway. *Science Stke*. 322:cm2
 20. Lowry, O. H., Roseberough, N. J., Farr, A. L. and Randall, R. J. 1951. Protein measurement with folin – phenol reagent. *Journal of Biology Chemistry*. 193: 265-275.
 21. Maksymiec, W. and Krupa, Z. 2002. Jasmonic acid and heavy metals in Arabidopsis plants- a similar physiological response to both stressors. *Journal of Plant Physiology*. 159: 509-515.
 22. Meirs, S., Philosophhadass, S. and Aharoni, N. 1992. Ethylene increased accumulation of fluorescent lipid-peroxidation products detected during Parsley by a newly developed method. *Journal of the American Society For Horticultural Science*. 117: 128-132.
 23. Munne-Bosch, S., Penuelas, J., Asensio, D. and Llusia, J. 2004. Airborne ethylene may alter antioxidant protection and Reduce tolerance of Holm Oak to heat and drought Stress. *Plant Physiology*. 136: 2937-2947.
 24. Nojavan-Asghari, M. and Ishizawa, K. 1998. Inhibitory effects of Methyl Jasmonate on the germination and ethylene production in Cocklebur Seeds. *Journal of Plant Growth Regulation*. 17: 13 – 18.
 25. Popova, L., Ananieva, V., Hristova, V., Christov, K., Georgieva, K., Alexieva, V. and Stoinova, Zh. 2003. Salicylic acid-and Methyl jasmonate-induced protection on photosynthesis to paraquat oxidative stress. *Bulg. J. Plant Physiol. Special issue*. 133-152.

26. Przymusinski, R., Rucinska, R. and Gwozdz, E. 2004. Increased accumulation of pathogenesis-related proteins in response of lupin roots to various abiotic stresses. *Environmental and Experimental Botany*. 52: 53-61.
27. Sembedner, G. and Parthier B. 1993. The biochemistry and the physiological molecular action of jasmonate. *Annu. Rev. plant physiol. Plant mol. Boil.* 44: 569-589.
28. Tang, D., M.Christiasen, K. and Innes, W. 2005. Regulation of plant disease resistance, stress responses, cell death and ethylene signaling in Arabidopsis by the EDR1 protein kinas. *plant physiology*. 138: 1018-1026.
29. Vera, P. and Conejero, V. 1990. Effect of ethephon on protein degradation and the accumulation of pathogenesis-related (PR) proteins in tomato leaf discs. *Plant Physiol.* 92: 227-233.
30. Wang, L.C., Li, H. and Ecker, J. 2002. Ethylene biosynthesis and signaling networks. *The plant cell*. S131-S151.
31. Wang, S.Y. 1999. Methyl jasmonate reduces water stress in strawberry. *Journal of plant growth regulation*. 18: 127-134.

The effects of methyl jasmonate, ethylene and their interaction on seed germination and some chemical parameters of canola (*Brassica napus L.*) Seedling

Hasibi N.^{1,2}, M. Kalantari Kh.¹, Mazaheri M.³, Ahmadi Mousavi E.⁴

1 - Biology Dept., Faculty of Science, Shahid Bahonar University, Kerman, I.R. of IRAN

2 - Payam noor University, Bañ.R. of IRAN

3 - Payam noor University, Isfahan, I.R. of IRAN

4 - International center for science, High technology and environmental science' Kerman, I.R. of IRAN

Abstract

Jasmonates (Jasmonic acid and its methyl ester, methyl jasmonate) are a new group of plant growth regulator that involve in many morphology and physiological processes and have role of defense in plants. In this research the effects of methyl jasmonate and ethylene on seed germination and the effect of methyl jasmonate on lipid peroxidation and content of chlorophyll, carotenoids and protein were investigated in canola seedling. Seeds of *Brassica napus L.* were sown in plastic pots containing sand, clay and peat in proportion of 1:1:2. After 13 days, seedlings were sprayed with methyl jasmonate (100 μ M) for 3 days then treated with ethylene (50, 70 ppm) for 40 hours. Control plants were sprayed with distilled water only. Data were analyzed using SPSS and Mstatc and averages were compared by LSD test. The results indicated that methyl jasmonate inhibited seed germination but ethylene induced seed germination. Our results also showed that ethylene neutralized effects of methyl jasmonate on inhibition of seed germination and methyl jasmonate mitigated ethylene-induced lipid peroxidation, revealing that less oxidative damage occurred in this group. Chlorophyll and protein content were significantly decreased under ethylene treatment but methyl jasmonate reverse these effects. Results suggested that methyl jasmonate inhibited seed germination but it improved seedling growth under ethylene treatment.

Keywords: *Brassica napus L.*, ethylene, germination, methyl jasmonate, oxidative damage