

تاثیر اسپرمیدین بر میزان فعالیت برخی آنزیم ها و پروتئین کل در برگ گل رز

مهدی حسینی فرهی^۱، بهمن خلدبرین^۲

۱- دانشگاه آزاد اسلامی، واحد یاسوج، باشگاه پژوهشگران جوان و نخبگان، یاسوج، ایران. ۲- دانشگاه آزاد اسلامی، واحد علوم و تحقیقات فارس، گروه زیست شناسی، فارس، ایران.

*نویسنده مسئول: مهدی حسینی فرهی

چکیده

به منظور بررسی میزان فعالیت آنزیم آسی سی سنتاز، کلروفیلاز و ام جی - دچیلاناز، بیومارکر تخریبی مالون دی آلدئید و درصد پروتئین در برگ گل رز رقم دولس وینا، آزمایشی در قالب طرح بلوک های کامل تصادفی با چهار تیمار و سه تکرار در یک گلخانه هیدروپونیک تجاری در حومه یاسوج انجام گرفت. تیمارها شامل شاهد و اسپرمیدین در غلظت های ۰/۵، ۱ و ۱/۵ میلی مولار بود. آنزیم های آسی سی سنتاز، کلروفیلاز، ام جی دچیلاناز، بیومارکر تخریبی مالون دی آلدئید و درصد پروتئین اندازه گیری شد. نتایج بدست آمده نشان داد که کاربرد ۱/۵ میلی مولار اسپرمیدین باعث کاهش قابل توجه فعالیت آنزیم آسی سی سنتاز به مقدار ۹/۷۲ نانومول آسی سی در ساعت در میلی گرم پروتئین در مقایسه با برگ گیاهان تیمار نشده به مقدار ۲۹/۹۶ نانومول آسی سی در ساعت در میلی گرم پروتئین گردید. همچنین میزان فعالیت آنزیم کلروفیلاز و ام جی دچیلاناز در برگ با کاربرد اسپرمیدین به مقدار قابل توجهی کاهش نشان داد. مقدار بیومارکر تخریبی مالون دی آلدئید در برگ گیاهان تیمار نشده افزایش شدیدی در مقایسه با برگ گیاهان تیمار شده با اسپرمیدین نشان داد. اسپرمیدین باعث افزایش درصد پروتئین برگ به مقدار ۶/۱۲ در مقایسه با گیاهان شاهد به مقدار ۳/۷۹ درصد ماده خشک گردید.

کلمات کلیدی: اسپرمیدین، آسی سی سنتاز، کلروفیلاز، گل رز

مقدمه

پلی آمین ها به عنوان یک گروه جدید از مواد تنظیم کننده رشد گیاهی می باشند که باعث افزایش رشد شاخه، به علت افزایش تقسیم سلولی، همچنین افزایش بیوسنتز آنزیم ها، تنظیم کردن فرایندهای مختلف نمو، تمایزیابی، گلدهی، جنین زایی، ریشه زایی، رسیدن میوه و پیری می شود (محبوب و همکاران، ۲۰۱۱ و ماهورس و همکاران، ۲۰۱۱). عقیده بر این است که پلی آمین ها در گیاهان ویژگی ضد پیری دارند و کاربرد خارجی پلی آمین ها اغلب باعث تاخیر یا جلوگیری از پیشرفت پیری می گردد (سود و ناگار، ۲۰۰۳). پلی آمین ها می توانند بطور مستقیم رادیکال های تولید شده در طی پیری را از بین ببرند. مشخص شده که پیری در گیاهان بوسیله مجموعه ای تخریبی از قبیل افزایش RNAase، فعالیت پروتئاز، تجزیه و شکستن پروتئین ها و اسیدهای نوکلئیک، پیروکسیداسیون غشاء لیپیدی، فروپاشی غشاء های تیلاکوئیدی و کاهش کلروفیل همراه است (ادریورا، ۱۹۹۶). تیمار با پلی آمین های برون زاد از ظهور علائم پیری جلوگیری نموده یا آن را به تاخیر می اندازد. در خصوص نقش پلی آمین ها در پیری ثابت شده که در بسیاری از اندام های گیاهی پیری به طور کامل در ارتباط با کاهش میزان پلی آمین ها است. کاهش میزان پلی آمین ها و نیز کاهش فعالیت آرژنین دکربوکسلاز (ADC) در ارتباط نزدیک با الگوی ظهور علائم پیری می باشد. کاربرد پلی آمین ها به صورت برون زاد باعث تاخیر در پیری و یا پیشگیری از بروز علائم پیری مانند کاهش مقدار کلروفیل و پروتئین های حیاتی و یا کاهش غلظت RNA می گردد، لذا شروع پیری ممکن است ناشی از کاهش فعالیت آنزیم آورنتین دکربوکسیلاز ۱ و میزان پلی آمین ها باشد (گالستون و کاتور-ساوهوی، ۱۹۹۰). جلوگیری از پیروکسیداسیون چربی ها ممکن است به عنوان یکی از مکانیسم های مسئول اثرات ضد پیری پلی آمین ها باشد (بورلر و همکاران، ۱۹۹۷). گزارش شده که در گوجه فرنگی پلی آمین ها از نسخه برداری، تولید و فعالیت آنزیم آسی سی - سنتاز جلوگیری کرده و در نتیجه باعث کاهش سطوح آسی سی می شوند که در نهایت به کاهش فعالیت آنزیم آسی سی - اکسیداز و کاهش تولید اتیلن می انجامد (لی و همکاران، ۱۹۹۲).

¹ - Ornithine Decarboxylase(ODC)

مواد و روش‌ها

این پژوهش به صورت آزمایشی در قالب طرح بلوک‌های کامل تصادفی با چهار تیمار و سه تکرار و هر تکرار شامل ۲ بوته در یک گلخانه هیدروپونیک تجارتي پرورش رز در حومه یاسوج انجام گرفت. بدین منظور ابتدا بوته های دو ماهه گل رز ریشه دار شده رقم دولس ویتا از شرکت نگین فلات آریا خریداری و سپس در سیستم هیدروپونیک کارتن پلاست با محیط کشت پرلایت و کوکوپیت (۱:۱) کشت گردید. میانگین دمای گلخانه در طول روز بین 24 ± 4 و در شب 15 ± 2 درجه سانتی گراد و رطوبت نسبی حدود ۶۰-۴۰٪ بود. تیمارها شامل شاهد و اسپرمیدین در غلظت های ۰/۵، ۱ و ۱/۵ میلی مولار بود. آنزیم آسی سی- سنتتاز با روش جیانگ و همکاران (۱۹۹۴)، آنزیم ام جی- دیچلاتاز بر اساس روش کوستا و همکاران (۲۰۰۲) کلروفیلاز از روش هارپازساد و همکاران (۲۰۰۷)، مالون دی آلدیهاید با روش نیکبخت و همکاران (۱۳۸۶) و میزان پروتئین کل بر اساس روش پسرکی و همکاران (۲۰۰۵) اندازه گیری گردید. تجزیه و تحلیل داده ها با استفاده از نرم افزار آماری MSTAT-C، مقایسه میانگین ها با آزمون LSD انجام گرفت.

نتایج و بحث

نتایج حاصل از این پژوهش نشان داد که کاربرد اسپرمیدین از فعالیت آنزیم آسی سی سنتتاز جلوگیری کرده و باعث کاهش فعالیت آن گردید. کمترین میزان فعالیت آنزیم آسی سی سنتتاز در تیمار اسپرمیدین ۱/۵ میلی مولار به مقدار ۹/۷۲ نانومول آسی سی در گرم پروتئین و بیشترین آن در تیمار شاهد به مقدار ۲۹/۹۶ نانومول آسی سی در گرم پروتئین مشاهده گردید (شکل ۱). در پژوهشی، سود و ناگار (۲۰۰۳) نیز مکانیسم بازداشتن پیری توسط پلی آمین ها را مربوط به بازداشتن سنتز اتیلن توسط بازداشتن فعالیت ACC Synthase دانسته اند. میزان فعالیت آنزیم کلروفیلاز در برگ گیاهان محلول پاشی شده با اسپرمیدین کاهش قابل توجهی را نسبت به گیاهان تیمار نشده نشان داد به طوری که کمترین میزان فعالیت آنزیم کلروفیلاز به مقدار ۴/۸ (کلروفیلید بر گرم در دقیقه) در مقایسه با گیاهان محلول پاشی نشده به مقدار ۱۵/۳ (کلروفیلید بر گرم در دقیقه) بدست آمد (شکل ۲). بر اساس نتایج ارائه شده در شکل ۳ کاربرد اسپرمیدین باعث کاهش چشمگیر میزان فعالیت آنزیم ام جی- دیچلاتاز در برگ گردید به طوری که میزان فعالیت این آنزیم در برگ گیاهان تیمار نشده (شاهد) حدود ۲/۵ برابر گیاهان تیمار شده با اسپرمیدین بود. در مطالعه ای که بر روی دو گونه رز *R. damascena* و *R. bourboniana* انجام شد نشان داده شد که تاثیر پلی آمین ها در به تاخیر انداختن پیری برگ ها در دو گونه رز ممکن است در نتیجه تقابل با RNA و بازداشتن فعالیت آنزیم ها و یا سنتز آنزیم ها باشد (سود و ناگار، ۲۰۰۳). گیاهان تیمار شده با اسپرمیدین ۱/۵ میلی مولار کمترین میزان فعالیت بیومارکر تخریبی مالون دی آلدئید به مقدار ۲۸/۴ (میکرومول بر گرم وزن خشک) را در مقایسه با گیاهان شاهد به میزان ۹۷ (میکرومول بر گرم وزن خشک) نشان داد (شکل ۴). در واقع اسپرمیدین ۱/۵ میلی مولار حدود ۳ برابر میزان فعالیت بیومارکر تخریبی مالون دی آلدئید را در مقایسه با گیاهان تیمار نشده کاهش داد. در پژوهشی کاربرد پلی آمین ها (اسپرمین، اسپرمیدین و پوترسین) باعث کاهش نشت یونی و فعالیت مالون دی آلدئید گیاهچه های سویا گردید و پیشنهاد نمودند که پلی آمین ها باعث حفظ یکپارچه گی غشاء می گردد (عموآقایی و مقیم، ۲۰۱۱). در این پژوهش کاربرد اسپرمیدین باعث افزایش پروتئین کل برگ در مقایسه با شاهد گردید. اسپرمیدین ۱/۵ میلی مولار باعث افزایش میزان پروتئین برگ به مقدار ۶/۱۲ (درصد ماده خشک) در مقایسه با گیاهان تیمار نشده به میزان ۳/۷ درصد گردید. بنابراین علت حفظ بالاترین سطح پروتئین در تیمار اسپرمیدین با غلظت بالا، ممکن است به علت خاصیت چسبندگی پلی آمین ها به پروتئین و جلوگیری از تخریب پروتئین ها توسط آنزیم ها باشد. بنابراین می توان نتیجه گرفت که کاربرد اسپرمیدین باعث کاهش فعالیت آنزیم های موثر در پیری و تخریب بافت در برگ گل رز رقم دولس ویتا گردیده و همچنین باعث افزایش درصد پروتئین برگ می شود.

منابع

- نیکبخت، م.، م. کافی، م. بابالار، ن. اعتمادی، ح. ابراهیم زاده و پ. شیا. ۱۳۸۶. اثر هیومیک اسید بر جذب کلسیم و رفتار فیزیولوژیکی پس از برداشت گل ژبررا (*Gerbera jamesoni*). مجله علوم و فنون باغبانی ایران. ۸ (۴): ۲۳۷-۲۴۸.
- Amooghaie, R and S. Moghym. 2011. Effect of polyamines on thermotolerance and membrane stability of soybean seedling. African Journal of Biotechnology. 10(47): 9673-9679.
- Borrell, A., L. Carbonell., R. Farras., P. Puig - Parellads and A. F. Tiburcio. 1997. Polyamines inhibit lipid peroxidation in senescing Oat leaves. *Physiol. Plant.*, 99: 385-390.
- Costa, M. L., P. M. Civello., R. Chaves and C. A. Martinez. 2002. Characterization of Mg-dechelase activity obtained from *Fragaria ananasa* fruit. *Plant Physio Biochem.* 10: 111-118.
- Edreva A. 1996. Polyamiens in plants. *Bulg. J. Plant. Physiol.* 22(1-2), 73-101)
- Galston A,W and R. Kaur-Sawhney. 1990. Polyamines in plant physiology. *Plant Physiol.* 94: 406-410.
- Jiang W. B., S. Mayak and A. H. Halevy. 1994. The mechanism involved in ethylene – enhanced ethylene synthesis in carnations. *Plant Growth Regulation.* 14: 133-138.
- Harpaz-Saad, S., T. Azoulay., T. Arazi, E. Ben-Yaakov., A. Mett., Y.M. Shibolet., S. Hörtensteiner., D. Gidoni., A. Gal-On., E.E. Goldschmidt and Y. Eyal. 2007. Chlorophyllase is a rate-limiting enzyme in chlorophyll catabolism and is post translationally regulated. *Plant Cell.* 19:1007-1022.
- Lee, S. H and K. Y. Park. 1991. Compensatory aspects of the biosynthesis of spermidine in tobacco cells in suspension culture. *Plant Cell Physiol.* 32: 523-531.
- Mahgoub, M, H., N.G. Abd El Aziz and M.A. Mazhar. 2011. Response of *Dahlia pinnata* L. plant to foliar spray with putrescine and thiamine on growth, flowering and photosynthetic pigments. *American – Eurasian J. Agric and Environ, Sci.* 10(5):769-775.
- Mahros, K, M., M. B. El-Saady., M.H. Mahgoub., M. H. Afaf and M.I. El-Sayed. 2011. Effect of putrescine and uniconazole treatments on flower characters and photosynthetic pigments of *Chrysanthemum indicum* L. *Plant. Journal of American Science.* 7 (3): 399-408.
- Pessaraki, M.M., P.V. Morgan and J.J. Gilbert. 2005. Dry matter yield, protein synthesis, starch and fiber content of barley and wheat plants under two irrigation regimes. *J. Plant Nutr.* 28: 1227-1241.
- Sood, S and P.K. Nagar. 2003. The effect of polyamines on leaf senescence in two diverse rose species. *Plant Growth Regulation* 39: 155-160.

Influence of Spermidine on some enzymes activity and total protein in leaf of rose flower

M. Hosseini Farahi¹ and B. Kholdbarin²

1- Young Researchers Club, Yasouj Branch, Islamic Azad University, Yasouj, Iran. 2- Islamic Azad University, Science and Research Branch, Department of Biology, Fars, Iran.

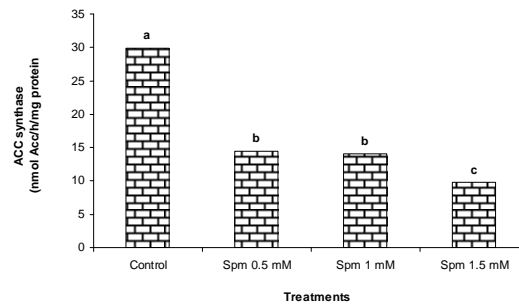
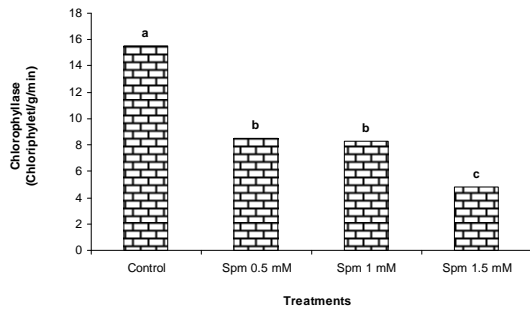
*Corresponding author: Mehdi Hosseini Farahi

Abstract

In order to study the effect of Spermidine (Spd) on activity of ACC synthase, Chlorophyllase, mg-dechlatage, Malondealdehyde (MDA) and total protein in leaf of rose flower CV Dolcvita, an experiment based on RCBD with four treatments and there replication was conducted in a hydroponic commercial greenhouse of Rose production in Yasouj county. Treatments were included control; Spm (0.5, 1 and 1.5 mM) Traits such as Acc synthase, mg-dechelatage, Chlorophyllase, MDA, and Total protein were measured. Results showed that application of Spd 1.5mM reduced the ACC synthase activity to 9.72 nmol Acc/h/mg p as compare to untreated plant (29.96 nmol Acc/h/mg p). Also, activities of Chlorophyllase and mg-dechelatage enzymes were reducing with Spd treatment. The content of MDA in untreated plants (control) was increased as compare to plant, s treated with Spd. So, Spd increased the total protein in leaf to 6.12 as compare to control plants with 3.79 (% dm).

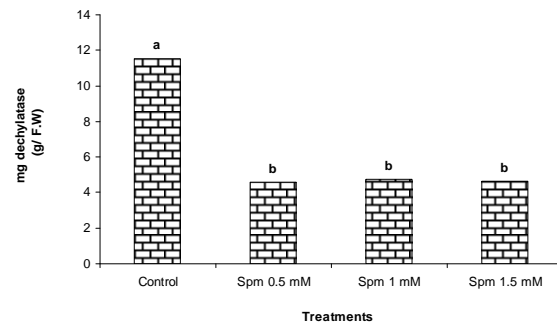
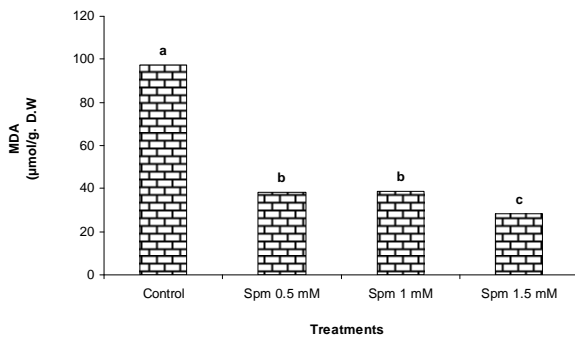
Keywords: Spermidine, ACC synthase, Chlorophyllase, mg-dechlatage, Rose flower.

اشکال



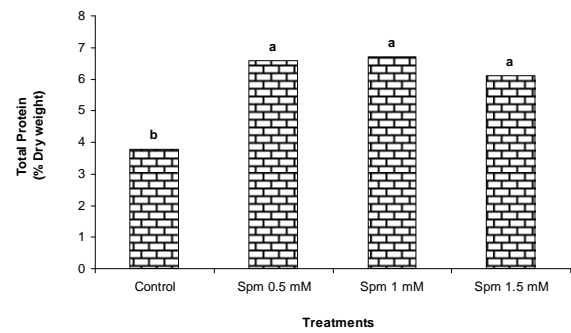
شکل ۲- اثر اسپرمیدین بر میزان آنزیم کلروفیلاز در برگ گل رز رقم دولس ویتا

شکل ۱- اثر اسپرمیدین بر میزان آنزیم آسی سی سنتاز در برگ گل رز رقم دولس ویتا



شکل ۴- اثر اسپرمیدین بر میزان مالون دی آلدنید در برگ گل رز رقم دولس ویتا

شکل ۳- اثر اسپرمیدین بر میزان آنزیم ام جی-دچیلاتاز در برگ گل رز رقم دولس ویتا



شکل ۵- اثر اسپرمیدین بر درصد پروتئین در برگ گل رز رقم دولس ویتا