پاسخ‌های بیوشیمیایی گیاهچه سیلن تحت دو تیمار دمایی طی زمان‌های مختلف

عطیه اورعی، علی تهرانی فر*، زهرا قربانی
گروه علوم باغبانی و مهندسی فضای سبز، دانشکده کشاورزی، دانشگاه فردوسی مشهد
نویسنده: مسئول *tehranifar@um.ac.ir*

چکیده

باهدف بررسی اثر دماهای مختلف بر گیاه زینتی سیلن آزمایشی به صورت اسپلیت پلات بر مبنای طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار در دانشگاه فردوسی مشهد در سال ۱۳۹۹ اجرا شد. فاکتورهای آزمایش شامل دو سطح دمایی (۱۰، ۱۵ درجه سانتی‌گراد) و سه سطح زمانی (۲، ۴ و ۶ ساعت) بودند. نتایج نشان داد که باگذشت زمان ۶ ساعته بر میزان کلروفیل a، b و کل در دو تیمار دمایی ۱۰ و ۱۵ درجه سانتی‌گراد افزوده شد. از طرفی میزان فعالیت آنتی‌اکسیدانی در دمای ۱۰ نسبت به ۱۵ درجه سانتی‌گراد باگذشت زمان بیشتر افزایش یافت. میزان پرولین تا ۴ ساعت در دمای ۱۵ بیشتر از دمای ۱۰ درجه سانتی‌گراد بود اما بعد از ۴ ساعت این روند در دمای ۱۰ درجه روندی صعودی داشت. میزان مالون دی آلدهید و ترکیبات فنولی نیز در دمای ۱۰ درجه باگذشت زمان روندی صعودی به ثبت رسانیدند اما وزن خشک گیاه تحت تأثیر فاکتورهای دمایی قرار نگرفت. با توجه به نتایج، میزان رشد گیاه سیلن تا ۶ ساعت قرارگیری در دمای ۱۰ درجه با افزایش فعالیت آنتی‌اکسیدانی، ترکیبات فنولی و پرولین، تحت تأثیر قرار نمی‌گیرد.

واژه‌های کلیدی: سیلن، رنگ‌دانه‌ها، فعالیت آنتی‌اکسیدانی، ترکیبات فنولی

مقدمه

سیلن گیاهی یک ساله یا چند ساله مقاوم به سرما هست که در علفزارهای خشک یا نیمه‌خشک فقیر از مواد مغذی و حتی در سطح متوسط رشد می‌کند این‌یک گونه مداوم در منطقه مدیترانه است، بیشتر در ماسه‌های ساحلی و سنگ‌ها که به‌طور عمده با شن پوشیده شده‌اند، رشد می‌کنند. برگ‌های آن سبز متمایل به آبی خاکستری است و پوشش مناسبی در بهار و تابستان ایجاد می‌کند (قاسمی و قهساره، ۱۳۸۹).

گیاهان دارای دامنه‌های دمایی مشخصی برای رشد و نمو بهینه می‌باشند که در خارج از آن، تولید و پراکنش آنها محدود می‌شود .در همین زمینه، تغییرات دمایی به‌عنوان یک عامل تنش‌زا در محیط پیرامون گیاهان می‌تواند سرعت فرآیندهای بیوشیمیایی سلول‌ها را به‌طور متفاوتی تحت تأثیر قرار دهد میزان دوام گیاهان در چنین دمایی، بستگی به ظرفیت و توانایی آنها به خوگیری به دما، مرحله‌ی نمو، نوع اندام، کمینه یا بیشینه دمای دریافت کرده و طول دوره آن دما دارد (جانکا و همکاران، ۲۰۱۰). تولید گونه‌های فعال اکسیژن در کلروپلاست و میتوکندری گیاهان تحت تنش‌های دمایی از مهم‌ترین اثرات نامطلوب این تنش‌ها است که می‌تواند اختلال در متابولیسم سلول از طریق پراکسیداسیون لیپیدهای غشا، اکسیده شدن پروتئین ها، خسارت به اسیدهای نوکلئیک و درنهایت مرگ سلول‌ها را در پی داشته باشد اختلال در تولید کلروفیل و آسیب به کلروپلاست نیز، از تحت تنش (ROS) دیگر آسیب‌های گونه‌های فعال اکسیژن و تنش‌های دمایی است .گیاهان برای کاهش این اثرات نامطلوب و کنترل سطح ROS، محافظت سلول‌ها، مکانیزه‌های حفاظتی مختلفی ازجمله سیستم آنتی‌اکسیدانی آنزیمی و غیر آنزیمی دارند. از آنتی‌اکسیدان‌های غیر آنزیمی هم می‌توان به اسید آسکوربیک، ترکیبات فنولی و فلاونوئیدی اشاره کرد که نقش مؤثر آنها در تحمل به تنش‌ها تأکید شده است (جکسون و همکاران، ۲۰۰۹). امروزه به دلیل تغییرات اقلیمی و دمایی رشد گیاهان زینتی در فضای سبز دستخوش تغییرات اساسی شده است. لذا این پژوهش به‌منظور اثر دو دمای رشدی در طی زمان‌بر پاسخ‌های بیوشیمیایی و رشدی گیاه سیلن اجرا شد.

مواد و روش‌ها

این آزمایش به‌صورت اسپلیت پلات در قالب طرح کاملاً تصادفی با سه تکرار در دانشکده کشاورزی دانشگاه فردوسی مشهد در سال ۱۳۹۹ انجام شد. فاکتورهای آزمایش شامل دو سطح دمایی (۱۰، ۱۵ درجه سانتی‌گراد) و سه سطح زمانی (۲، ۴ و ۶ ساعت) بودند. بذور در سینی‌های نشاء در ماه آبان ماه کشت شدند سپس گیاهان در دی‌ماه به گلدان‌های پلاستیکی در مرحله گیاهچه ای منتقل شدند، سپس بعد از یک هفته در دو دمای ۱۵ و ۱۰ درجه سانتی‌گراد به مدت ۲، ۴ و ۶ ساعت قرار گرفتند. در انتها میزان کلروفیل، فعالیت آنتی‌اکسیدانی، پرولین، مالون دی آلدهید، ترکیبات فنولی و وزن خشک اندازه‌گیری شد.

سنجش رنگ‌دانه‌های فتوسنتزی: میزان کلروفیل به روش پیشنهادی آرنون (۱۹۴۹) اندازه‌گیری شد. بدین ترتیب که ۰/۲ گرم برگ‌تر با استن سائیده شد. سپس حجم محلول شفاف رویی به حجم ۲۵ میلی‌لیتر رسید. محلول حاصل به مدت ۱۰ دقیقه در دور ۴۰۰۰ سانتریفیوژ گردید و سپس جذب نوری محلول رویی جهت تعیین میزان کلروفیل در طول‌موج‌های ۵۱۰، ۶۴۵، ۶۶۳ نانومتر به‌وسیله اسپکتروفتومتر قرائت گردید. درنهایت میزان کلروفیل a، b وکلروفیل کل، برحسب میلی‌گرم درگرم بافت تر برگ محاسبه شد.

بررسی فعالیت آنتی رادیکالی به روش DDPH: ۰/۱ میلی‌لیتر از عصاره به ۵ میلی‌لیتر محلول ۰/۱ میلی مولار رادیکال آزاد DDPH در متانول افزوده شد. جذب محلول در طول‌موج ۵۱۷ نانومتر خوانده شد (بوریتس و بوکار، ۲۰۰۰). برای سنجش پراکسیداسیون لیپیدهای غشا، غلظت مالون دی آلدهید به‌عنوان محصول پراکسیده شدن اسیدهای چرب غشاها به روش هلس و پارکر (۱۹۶۸) اندازه‌گیری شد. ۰/۵ همراه با پنج میلی‌لیتر تری کلرو استیک اسید سانتریفیوژ شد. به محلول رویی، ۵ میلی‌لیتر محلول‌تری کلرو استیک اسید حاوی تیوباربیتوریک اسید اضافه و در دمای ۹۵ درجه قرار گرفت. سپس توسط اسپکتروفتومتر در طول‌موج ۶۰۰ قرائت شد. میزان پرولین با روش بیتس و همکاران (۱۹۷۳) اندازه‌گیری شد.

میزان فنل کل با روش فولین سیکالتو مورد ارزیابی قرار گرفت. این روش عصاره متانولی استخراج شده را با ۱۲۵ میکرو لیتر معرف فولین مخلوط کرده و پس از پنج دقیقه در دمای ۳۵ درجه سانتی‌گراد، ۱۰۰ میکرو لیتر محلول هفت درصد بیکربنات سدیم به آن اضافه شد .مقدار جذب مخلوط واکنش، پس از ۱۲۰ دقیقه نگهداری در شرایط بدون نور در طول‌موج ۷۶۵ نانومتر با دستگاه اسپکتروفتومتر خوانده شد. درنهایت صفت وزن خشک شاخه اندازه‌گیری شدند.

نتایج و بحث

نتایج نشان داد که اثرات متقابل دما و زمان‌بر صفات کلروفیل (کلروفیل a، b وکلروفیل کل)، فعالیت آنتی‌اکسیدانی، پرولین، مالون دی آلدئید، فنول به‌طور معنی‌داری مؤثر بود (جدول ۱)، میزان کلروفیل a، b و کل در دمای ۱۵ در جه سانتی‌گراد تا ۴ ساعت از دمای ۱۰ درجه سانتی‌گراد بیشتر بود اما بعد از گذشت ۴ ساعت تفاوت معنی‌داری بین تیمارهای دمایی مشاهده نشد و میزان کلروفیل a، در دمای ۱۰ و ۱۵ درجه سانتی‌گراد در زمان ۶ نسبت به ۴ ساعت به ترتیب، ۸۸ و ۱۵۰ درصد افزایش یافت. در بررسی کلروفیل b نتایج نشان داد بین دو دمای ۱۰ و ۱۵ درجه سانتی‌گراد تفاوت معنی‌داری مشاهده نشد اما باگذشت زمان، شاخص روندی صعودی را به ثبت رسانید. بیشترین میزان کلروفیل در زمان ۶ ساعت و کمترین میزان طی ۲ ساعت در هر دو تیمار دمایی مشاهده شد. فعالیت آنتی‌اکسیدانی نیز باگذشت زمان روندی صعودی داشت اما بیشترین میزان فعالیت در دمای ۱۰ درجه طی ۶ ساعت و کمترین این شاخص در دمای ۱۵ درجه سانتی‌گراد طی ۲ ساعت به ثبت رسید. میزان پرولین در دو تیمار دمایی تا دمای ۴ درجه سانتی‌گراد نسبت به شاهد تفاوت معنی‌داری نداشت اما باگذشت زمان تا ۶ ساعت این شاخص در دمای ۱۰ و ۱۵ درجه سانتی‌گراد به ترتیب ۷۲ و ۳۳ درصد افزایش یافت. حداقل میزان مالون دی آلدهید در دمای ۱۵ درجه سانتی‌گراد بعد از ۲ ساعت مشاهده شد و باگذشت زمان میزان این شاخص در دو تیمار به حداکثر رسید اما باگذشت زمان تا ۶ ساعت این شاخص در دمای ۱۵ درجه سانتی‌گراد کاهش یافت اما در ۱۰ درجه سانتی‌گراد تغییری ننمود. ازنظر وزن خشک تفاوت معنی‌داری بین تیمارهای دمایی در طی زمان‌های مختلف به ثبت نرسید.

جدول ۱-اثر دما و زمان‌بر کلروفیل، فعالیت آنتی‌اکسیدانی، پرولین، مالون دی آلدهید، ترکیبات فنولی گیاه سیلن

	زمان	کلروفیل a	کلروفیل b	کلروفیل کل	فعالیت آنتی‌اکسیدانی	مالون دی آلدئید	پرولین	ترکیبات فنولی
دما (درجه سانتی‌گراد)								
۱۰	۲	۰/۱۳۱bc	۰/۰۶۵a	۰/۱۹۷bc	۱۰/۴۳d	۵۵/۶b	۱۸c	۳/۱۳d
	۴	۰/۱۸۵b	۰/۰۷۹b	۰/۲۶۵b	۱۷/۱۳b	۶۱/۲a	۱۹/۸c	۳/۴c
	۶	۰/۳۴۱a	۰/۱۱۹a	۰/۴۶۰a	۱۹/۴۳a	۶۰/۷a	۳۱a	۴/۳a
۱۵	۲	۰/۰۸۱c	۰/۰۶۴c	۰/۱۴۵c	۹/۲۵e	۳۶/۲c	۱۹c	۳/۱d
	۴	۰/۱۵۳bc	۰/۰۷۸b	۰/۲۳۲b	۱۵/۱۱c	۵۸/۹a	۲۰/۸۳c	۳/۱d
	۶	۰/۳۸۶۶a	۰/۱۲۲a	۰/۵۰۹a	۱۷/۵b	۵۴b	۲۵/۳۳b	۴/۰b
سطح معنی‌داری								
دما		ns	ns	ns	**	**	**	**
زمان		**	*	*	**	**	**	**
دما× زمان		*	*	*	*	**	**	*

حروف یکسان بیانگر عدم وجود اختلاف معنی‌دار در سطح احتمال ۵ در صد می‌با شد. **، * و ns به ترتیب معنی‌داری در سطح یک و پنج در صد و عدم معنی‌داری می‌باشد

در آزمایش اخیر بعد از گذشت ۶ ساعت تفاوت معنی‌داری بین دماهای ۱۵ و ۱۰ درجه سانتی‌گراد ازنظر میزان کلروفیل مشاهده نشد. به نظر می‌رسد چون سیلن گیاهی مقاوم به سرما می‌باشد و دمای ۱۰ درجه سانتی‌گراد دمایی بحرانی نمی‌باشد، تفاوتی در بین دماها ازنظر تغییر کلروفیل به ثبت نرسیده است. دماهای کمتر از ۱۰ درجه سانتی‌گراد موجب کاهش میزان کلروفیل می‌شود و در دماهای یخزدگی بیوسنتز کلروفیل متوقف می شود (لیو و همکاران، ۲۰۱۲، ژائو و همکاران، ۲۰۲۰). در آزمون حذف رادیکال‌های آزاد با استفاده از روش DPPH، رادیکال‌های DPPH با آنتی‌اکسیدان‌ها یا دیگرگونه‌های رادیکالی که دهنده‌ی هیدروژن هستند، واکنش داده و به شکل احیاشده درمی‌آیند و بدین ترتیب، میزان جذب کاهش می‌یابد (دمیرسی و همکاران، ۲۰۰۷). افزایش فعالیت آنتی‌اکسیدانی در دمای کمتر می‌تواند به علت افزایش مقدار فنل در این دما باشد که مطابق با آزمایش اسدی صنم و همکاران (۱۳۹۴) می‌باشد. نتایج نشان داد که میزان مالون دی آلدهید در دمای کمتر افزایش یافت. علت این افزایش را می‌توان از طرفی ناشی از تشکیل رادیکال‌های فعال اکسیژن و از طرف دیگر کافی نبودن قدرت دفاعی آنتی‌اکسیدانی ازجمله آنزیمی برای حذف این رادیکال‌ها دانست. رادیکال‌های آزاد بسیار واکنش‌گر بوده و به علت میل ترکیبی زیادی که با لیپیدها سبب تخریب چربی‌ها و تخریب غشای سلولی می‌شوند (آلن و آورت، ۲۰۰۱). میزان پرولین با کاهش دما نیز افزایش یافت که این همبستگی در نتایج محققین دیگر به ثبت رسیده است. به نظر می‌رسد گیاهان در دمای پایین‌تر با تولید این ترکیبات ثانویه (پرولین) اثرات منفی کاهش دما را تخفیف داده‌اند زیرا تنظیمات اسمزی باعث کاهش دمای یخزدگی شیره سلولی می‌گردد (اورعی و همکاران، ۲۰۱۸). از طرفی فنل های گیاهی متابولیت های ثانویه‌ی گیاهی هستند که در شرایط مطلوب محیطی از مسیر شیکمیک اسید و از متابولیسم فنیل پروپانوئید سنتز می‌شوند ولی تنش‌های محیطی مختلف، مقدار آن‌ها را در سلول‌ها تغییر می‌دهند. مکانیسم عمومی ترکیبات فنلی در جهت فعالیت آنتی‌اکسیدانی، حذف رادیکال‌های آزاد لیپید و جلوگیری از تجزیه هیدروپروکسیدازها به رادیکال‌های آزاد می‌باشد افزایش میزان فنل کل در آزمایش حاضر را می‌توان، به جلوگیری از خسارت اکسیداتیو در سیلن توسط ROS و مالون دی آلدئید اشاره نمود (رازعلی و همکاران، ۲۰۰۸).

منابع:

قاسمی قهساره، م.وکافی، م.۱۳۸۹. گلکاری علمی و عملی جلد اول، ناشر مولف

Allen, D. J., Ort, D. R. 2001. Impacts of chilling temperatures on photosynthesis in warm-climate plants. Trends In Plant Science, 6: 36-41.

Demirci, B., Kosar, M., Demirci, F., Dinc, M., Baser, K. H. C. 2007. Antimicrobial and antioxidant activities of the essential oil of *Chaerophyllum libanoticum* Boiss. Food Chemistry, 105: 1512-1525.

Jackson, M. B., Ishizawa, K., Ito, O. 2009. Evolution and mechanisms of plant tolerance to flooding stress. Annals of Botany, 103: 137-42.

Janska, A., Marsik, P., Zelenkova, S., Ovesna, J. 2010. Cold stress and acclimation what is important for metabolic adjustment? Plant Biology, 12: 395-405.

Liu, X.-G., Xu, H., Zhang, J.-Y., Liang, G.-W., Liu, Y.-T., Guo, A.-G. 2012. Effect of low temperature on chlorophyll biosynthesis in albinism line of wheat (*Triticum aestivum*) FA85. Physiologia Plantarum, 145: 384–394.

Oraee, A., Tehranifar, A., Nezami, A., Shoor, M. 2018. Effects of drought stress on cold hardiness of non-acclimated viola (Viola × wittrockiana "Iona Gold with Blotch") in controlled conditions. Scientia Horticulturae, 238: 98–106.

Razali, N., Razab, R., Mat Junit, S., Abdulaziz, A. 2008. Radical scavenging and reducing properties of extracts of cashew shoots (*Anacardium occidentale* L). Food Chemistry, 111: 38–44.

Zhao, Y., Han, Q., Ding, C., Huang, Y., Liao, J., Chen, T., Feng, S., Zhou, L., Zhang, Z., Chen, Y., Yuan, S., Yuan, M. 2020. Effect of Low Temperature on Chlorophyll Biosynthesis and Chloroplast Biogenesis of Rice Seedlings during Greening. International journal of molecular sciences, 21: 1390.

Biochemical responses of *Silene vulgaris* seedlings under two temperature treatments at different times

Atiyeh Oraee, Ali Tehranifar*, Zahra Ghorbani
Department of Horticultural Science and Landscape, Ferdowsi University of Mashhad, Mashhad, Iran
*Email: *tehranifar@um.ac.ir*

Abstract

The aim of this study was to investigate the effect of different temperatures on the ornamental silene plant, an experimental split plot based on a completely randomized design with three replications was conducted at the Ferdowsi University of Mashhad in 2020. Experimental factors included two temperature levels (10, 15 ° C) and three time levels (2, 4, and 6 hours). The results showed that after 6 hours, the amount of chlorophyll a, b, and total significantly increased in two temperature treatments of 10 and 15 ° C. On the other hand, the level of antioxidant activity at 10 ° C increased more than 15 ° C over time. The amount of proline in 15 ° C was higher than 10 ° C for up to 4 hours, but after 4 hours, this trend had an increasing trend at 10 ° C. The amount of malondialdehyde and phenolic compounds at 10 ° C also recorded an increasing trend over time, but the dry weight of the plant was not affected. According to the results, up to 6 hours of exposure to 10 ° C with increasing antioxidant activity, phenolic compounds, and proline, the growth rate of the silene plant is not affected.

Keywords: Silene vulgaris pigments, antioxidant activity, phenolic compounds