



کد مقاله: **Heca15-01610171**

اثر نیتریک اکساید (NO) بر برخی ویژگی‌های بیوشیمیایی گیاه دارویی سرخارگل *Echinacea purpurea* (L.) Moench تحت تنش شوری

سیده محدثه محمدی^{۱*}، ولی‌اله رامته^۲، مهیار گرامی^۳، سمانه اسدی صنم^۴ و مجید خوشروز^۵
دانشجوی کارشناس ارشد مؤسسه غیرانتفاعی سنا، ساری،^۲ عضو هیئت علمی مرکز تحقیقات و آموزش کشاورزی و منابع طبیعی مازندران، ساری،^۳ عضو هیئت علمی مؤسسه غیرانتفاعی سنا^۴ مؤسسه تحقیقات جنگل‌ها و مراتع کشور، سازمان تحقیقات، آموزش و ترویج کشاورزی، تهران،^۵ کارشناس ارشد بیوتکنولوژی مؤسسه سنا ایران
*M_mohammadi525@yahoo.com

چکیده

به منظور مطالعه اثر سطوح مختلف سدیم نیتروپروساید (SNP) به عنوان دهنده نیتریک اکساید (NO) بر برخی ویژگی‌های بیوشیمیایی گیاه دارویی سرخارگل طی تنش شوری، آزمایشی به صورت فاکتوریل و در قالب طرح کاملاً تصادفی انجام گرفت. تیمارهای آزمایشی شامل چهار سطح SNP (۰، ۰/۱، ۰/۲ و ۰/۴ میلی‌مولار) و سه سطح شوری (۰، ۷۵ و ۱۵۰ میلی‌مولار کلرید سدیم) بود. نتایج این مطالعه نشان داد که تیمار ۰/۴ میلی‌مولار SNP سبب افزایش میزان کلروفیل و کارتنوئید تحت تنش شوری و شرایط نرمال گردید و با افزایش شوری از میزان کلروفیل و کارتنوئید کاسته شد. بیشترین مقدار فنل کل و MDA در بالاترین سطح شوری به دست آمد. در کل می‌توان استفاده از SNP را به عنوان دهنده NO برای بهبود آثار منفی شوری در این مرحله از رشد گیاه (گیاهچه‌ای) به کار برد.
کلمات کلیدی: سدیم نیتروپروساید، کارتنوئید، فنول

مقدمه

سرخارگل (*Echinacea purpurea*) گیاهی علفی و چندساله متعلق به تیره Asteraceae بوده که منشأ آن شمال آمریکا گزارش شده است [۱]. در آمریکا، از سرخارگل برای تقویت سیستم ایمنی بدن به ویژه پیشگیری یا درمان سرماخوردگی استفاده می‌شود.

تنش شوری مراحل مختلف رشد گیاه را تحت تأثیر قرار می‌دهد. حساس‌ترین مرحله رشد از نظر تنش شوری در بیشتر گونه‌های گیاهی، مراحل اولیه رشد می‌باشد و بیشتر پژوهش‌های مربوط به این زمینه نیز، در همین مرحله از رشد انجام گرفته است [۲]. سدیم نیتروپروساید^۱ (SNP) یک ترکیب رهاکننده نیتریک اکساید^۲ (NO) است که نقش آن در گیاهان، موضوع پژوهش‌های مهم قرار گرفته است. NO یک رادیکال آزاد فعال زیستی و یک مولکول پیام‌رسان است که در بسیاری از واکنش‌های گیاهان مانند واکنش به پاتوژن‌ها، جوانه‌زنی دانه، پیری و رسیدگی میوه نقش برجسته‌ای داشته است [۳].

^۱ sodium nitroprusside

^۲ nitric oxide



Agriculture Development, Healthy Earth

۳۰ دی ماه ۱۳۹۴



سازمان مهندسی
کشاورزی و منابع طبیعی
استان البرز

کلروپلاست از اجزای مهم گیاه است که تحت تأثیر تنش شوری و خشکی قرار می‌گیرد و این تنش‌ها می‌توانند موجب هیدرولیز شدن پروتئین‌های تیلاکوئیدی و کاهش مقدار کلروفیل شوند [۴]. کارتنوئیدها هم از رنگیزه‌های کلیدی و مهم آنتی‌اکسیدانی در گیاهان به شمار می‌روند که به تخریب اکسیداتیو حساس هستند [۵]. ترکیب آلدئیدی ناشی از پراکسیده شدن لیپیدهای غشا، با اندازه‌گیری مالون‌دی‌آلدئید (MDA) سنجش و برآورد شده است که به عنوان یک معرف برای بررسی میزان خسارت به غشا در شرایط تنش مورد استفاده قرار می‌گیرد [۶]. از طرفی، ترکیبات فنلی جزئی از مواد محلول سلولی هستند که اثرهای خسارت‌زای تنش را تعدیل می‌کنند. تجمع این ترکیبات در گیاهان متحمل به شوری، از راهکارهای مهار فعالیت رادیکال‌های فعال اکسیژن و محافظت غشای سلول از آسیب‌های تنش شوری محسوب می‌شود [۶]. با توجه به بررسی‌های انجام شده، پژوهش کنونی به منظور بررسی تأثیر NO خارجی به عنوان یک آنتی‌اکسیدان مؤثر و تأثیر مطلوب آن در کاهش تنش اکسیداتیو در افزایش مقاومت گیاهچه‌های سرخارگل در بستر شور، اجرا شد.

مواد و روش‌ها

این آزمایش به صورت فاکتوریل و در قالب طرح کاملاً تصادفی با چهار تکرار انجام گرفت. تیمارهای آزمایشی شامل چهار مقدار سدیم نیتروپروساید (SNP) با غلظت ۰، ۰/۱، ۰/۲ و ۰/۴ میلی‌مولار SNP و سه بستر شوری ۰، ۷۵ و ۱۵۰ میلی‌مولار محلول کلرید سدیم (NaCl) بود. از آب خالص استریل هم، به عنوان شاهد برای سطح صفر SNP و سطح صفر شوری استفاده شد. گیاهچه‌های سرخارگل در گلدان‌های پلاستیکی یک لیتری حاوی پرلیت نشاکاری و ۲۰ میلی‌لیتر محلول غذایی هوگلند نیز دوبار در هفته برای تأمین مواد غذایی به گلدان‌ها اضافه شد. اعمال تیمارها این‌گونه بود که پس از آماده‌سازی محلول‌ها برای هر تیمار، ۱۰ میلی‌لیتر از محلول هوگلند را با ۱۰ میلی‌لیتر از تیمار مورد نظر ترکیب و به حجم ۲۰ میلی‌لیتر رسانده و سپس یک روز در میان به گیاهان اضافه شدند. پس از دو هفته از اعمال تیمارها، برگ‌های یکنواخت دو گیاه در هر تکرار برای ارزیابی مقدار کلروفیل و کارتنوئید از روش Lichtenthaler [۷]، غلظت مالون‌دی‌آلدئید به عنوان محصول پراکسیده شدن اسیدهای چرب غشا به روش Heath و Packer [۸] و مقدار فنل کل با روش Meyers و همکاران [۹] جمع‌آوری شدند. محاسبات آماری و رسم شکل‌ها به ترتیب با استفاده از نرم‌افزار SAS و Excel انجام شد. مقایسه میانگین تیمارها با آزمون حداقل تفاوت معنی‌دار (LSD) انجام و $P < 0.05$ به عنوان سطح معنی‌دار بودن اختلاف‌ها در نظر گرفته شد.

نتایج و بحث

کلروفیل برگ:

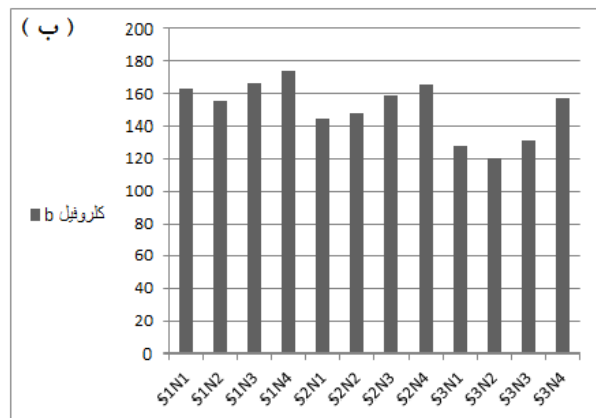
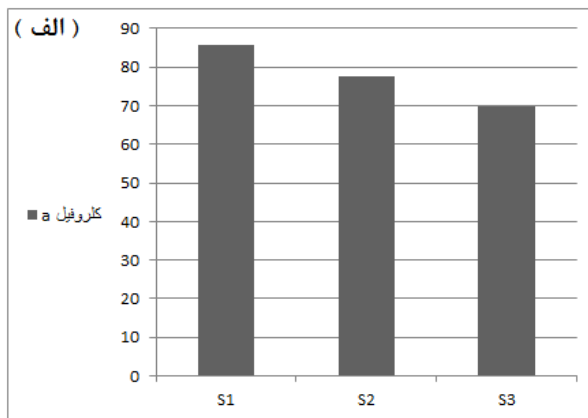
با توجه به نتایج تجزیه واریانس داده‌ها، تنش شوری سبب کاهش معنی‌دار مقدار کلروفیل a شده است. بر مبنای نتایج به دست آمده از مقایسه میانگین داده‌ها، بیشترین میزان کلروفیل a مربوط به تیمار شاهد بود. کمترین میزان کلروفیل a هم، در سطح بالای شوری (۱۵۰ میلی‌مولار) مشاهده شد (شکل ۱-الف).

با توجه به نتایج آزمایش، اثر برهم‌کنش تیمارهای شوری \times SNP بر محتوای کلروفیل b معنی‌دار شده است. بیشترین مقدار کلروفیل b در تیمار برهم‌کنش S1N4 (سطح صفر شوری و ۰/۴ میلی‌مولار SNP) اندازه‌گیری شد (شکل ۲). کمترین مقدار آن نیز، در تیمار برهم‌کنش S3N2 (سطح ۱۵۰ میلی‌مولار شوری و ۰/۱ میلی‌مولار SNP) به دست آمد. برپایه این نتایج، شوری زیاد موجب کاهش و سطح بالای SNP موجب افزایش مقدار کلروفیل برگ سرخارگل شد (شکل ۱-ب).

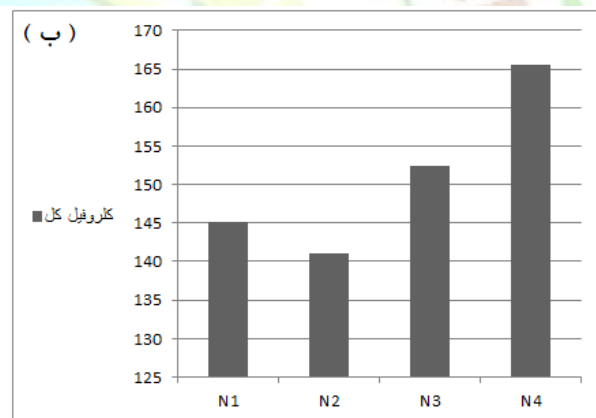
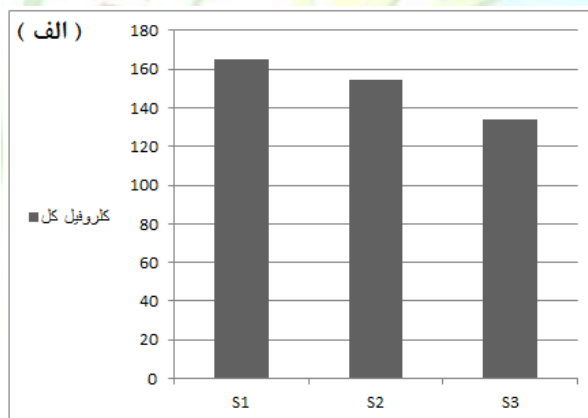


Agriculture Development, Healthy Earth

۳۰ دی ماه ۱۳۹۴



شکل ۱- (الف) اثر ساده سطوح شوری بر محتوای کلروفیل a برگ. (ب) اثر برهم کنش تیمارهای شوری و SNP بر محتوای کلروفیل b برگ (S1 تا S3 به ترتیب سطح ۰، ۰/۱، ۰/۲ و ۰/۴ میلی مولار محلول NaCl؛ N1 تا N4 به ترتیب سطح ۰، ۰/۱، ۰/۲ و ۰/۴ میلی مولار محلول SNP)



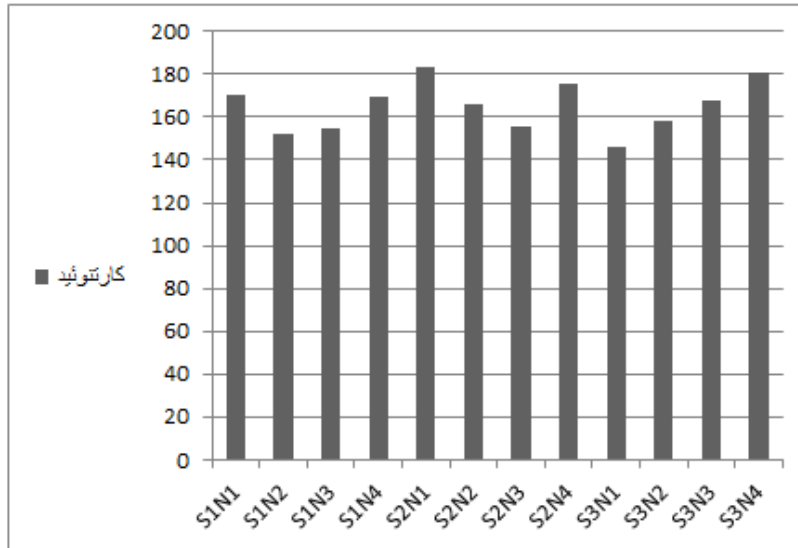
شکل ۲- (الف) اثر ساده تیمارهای شوری بر محتوای کلروفیل کل. (ب) اثر ساده تیمارهای شوری و SNP بر محتوای کلروفیل کل برگ (S1 تا S3 به ترتیب سطح ۰، ۰/۱، ۰/۲ و ۰/۴ میلی مولار محلول NaCl؛ N1 تا N4 به ترتیب سطح ۰، ۰/۱، ۰/۲ و ۰/۴ میلی مولار محلول SNP)

با توجه به نتایج تجزیه واریانس، اثر ساده تیمارهای شوری و SNP بر محتوای کلروفیل کل معنی دار بود. بیشترین مقدار کلروفیل کل در شرایط غیر شور (شاهد) و سطح ۰/۴ میلی مولار SNP به دست آمد (شکل ۲). در این راستا، Tu و همکاران [۱۰] و Boyarshinov و Asfova [۱۱] در گندم به افزایش میزان کلروفیل تحت تنش‌های محیطی با کاربرد SNP اشاره کردند. ترکیب ۰/۱ میلی مولار SNP با جلوگیری از تخریب کلروفیل و پروتئین‌های محلول به خصوص روبیسکو پیری را در برگ‌های جدا شده گندم به تأخیر انداخت [۱۰].

کارتونوئید برگ:

در این آزمایش، برهم کنش شوری \times SNP بر محتوای کارتونوئید برگ معنی دار بود. تیمار ۰/۴ میلی مولار SNP توانست اثر شوری را بهبود بخشد و بیشترین میزان کارتونوئید را در بین تیمارهای تنش دیده پس از شاهد (سطح صفر SNP) بدست آورد (شکل ۳). این افزایش میزان کارتونوئید در سطوح بالای شوری بوده است. این نتایج موافق با نتایج Yonis و همکاران

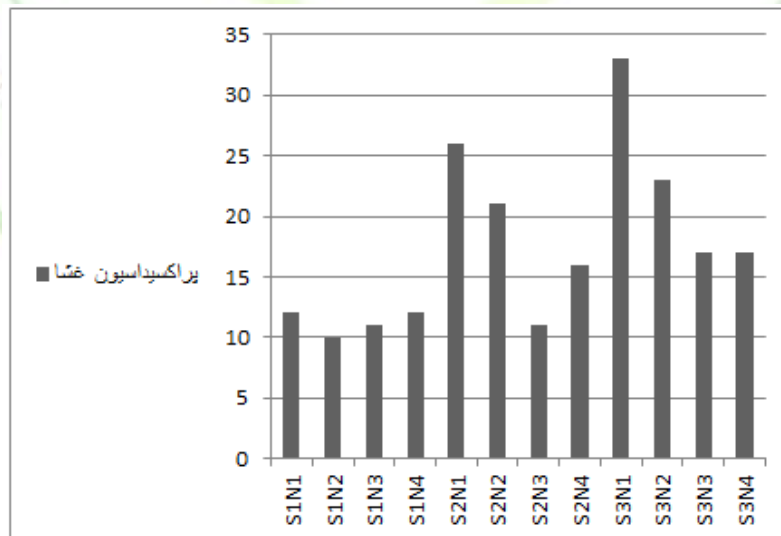
[۱۲] است که افزایش کارتنوئید را با افزایش شوری بیان کردند. کارتنوئیدها نقش حفاظتی در مقابل تنش اکسیداتیو القا شده دارند و باعث کاهش اثرات سمی رادیکال‌های آزاد می‌شوند.



شکل ۳- اثر برهم‌کنش تیمارهای شوری و SNP بر محتوای کارتنوئید برگ

میزان MDA:

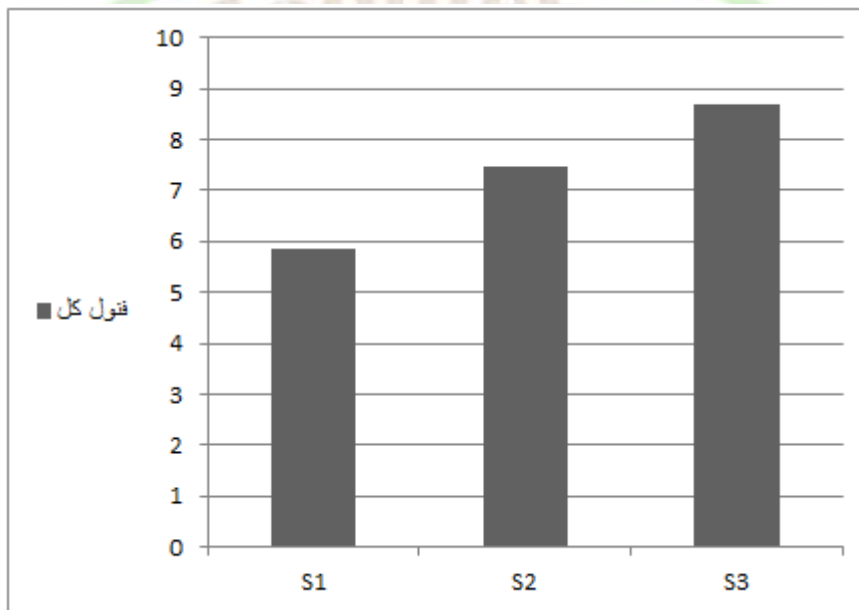
نتایج آزمایش اثر معنی‌دار برهم‌کنش تیمارهای شوری \times SNP را بر میزان MDA نشان داد. سطوح بالای شوری موجب افزایش میزان MDA شد به طوری که بالاترین مقدار آن در سطح ۱۵۰ میلی‌مولار شوری به دست آمد (شکل ۴). در این آزمایش، اثر SNP به عنوان دهنده NO بر میزان MDA قابل توجه نبود. در دیگر پژوهش‌ها هم، با افزایش غلظت کلرید سدیم در زیره سبز [۱۳] و سیاهدانه [۱۴]، میزان MDA نسبت به شاهد افزایش یافت.



شکل ۴- اثر برهم‌کنش تیمارهای شوری و SNP بر محتوای کارتنوئید برگ

فنل کل:

نتایج تجزیه واریانس این آزمایش، افزایش معنی‌دار تنش شوری بر محتوای فنل کل برگ سرخارگل را نشان داد (شکل ۵). با این حال برهم‌کنش تیمار شوری \times SNP بر مقدار این ترکیب معنی‌دار نبود. رضایت‌مند و همکاران [۱۵] گزارش کردند که، میزان فنل کل گیاه درمنه کوهی تحت تنش شوری افزایش یافت. هم‌چنین بیان شد که، با افزایش غلظت NO میزان فنل کل در گیاه بادرنجبویه نیز افزایش یافت [۱۶]. افزایش مقدار این ترکیب، احتمالاً به دلیل نقش آنتی‌اکسیدانی آن‌ها در برابر ROS هاست. بسیاری از ترکیبات فنلی از پالایندهاى بسیار کارآمد پراکسید هیدروژن و رادیکال‌های هیدروکسیل و متوقف‌کننده زنجیره‌های پراکسیداسیون لیپید هستند.



شکل ۵- اثر ساده سطوح شوری بر محتوای فنل کل برگ (S1, S2 و S3 به ترتیب سطح ۰، ۷۵ و ۱۵۰ میلی‌مولار محلول NaCl)

نتیجه‌گیری

با توجه به نتایج به‌دست آمده می‌توان نتیجه گرفت که گیاهچه‌های سرخارگل به تنش شوری تحمل پایینی دارد. بیشترین میزان کلروفیل (کلروفیل b و کل) و کارتنوئید در تیمار ۰/۴ میلی‌مولار SNP تحت تنش شوری و شرایط نرمال مشاهده شد. بیشترین مقدار فنل کل و MDA در بالاترین سطح شوری به دست آمد. در کل می‌توان استفاده از SNP را به عنوان دهنده NO برای بهبود آثار منفی شوری در این مرحله از رشد گیاه (گیاهچه‌ای) به کار برد.

سپاسگزاری

بدینوسیله از جناب آقای دهقان به دلیل مساعدت ایشان در امر تدوین مقاله نهایت تشکر و سپاسگزاری را دارم.

منابع

- [1]- McGrogan R. L., 1968, The taxonomy of the genus *Echinacea* (Compositae). University science bulletin, vol. 48, pp 113-142.
 [2]- Zekri M. and Parsons C. R., 1990, Comparative effect of NaCl and polyethel glycol on root distribution growth and stomatal conductance of sour orange seedling. Plant and soil, vol. 129, pp 137-143.



- [3]- Beligni M. V. and Lamattina L., 2000, Nitric oxide stimulates seed germination and de-etiolation, and inhibits hypocotyl elongation. three light inducible responses in plants. *Planta*, vol. 210, pp 215-221.
- [4]- Martin B. and Torres A. R., 1992, Effects of water deficits stress on photosynthesis, its components and component limitation and on water use efficiency in wheat. *Journal of Plants Physiology*, vol. 100, pp 733-739.
- [5]- Simkin A. J., Moreau H., Kun M., Pagny G., Lin C., Tanksley, S. and McCarthy J., 2008, An investigation of carotenoid biosynthesis in *Coffea canephora* and *Coffea Arabica*. *Journal of plant physiology*, vol. 165, pp 1087-1106.
- [6]- Singh A. K., 2004, The physiology of salt tolerance in four genotypes of chickpea during germination. *Journal of Agricultural Science and Technology*, vol. 6, pp 87-93.
- [7]- Lichtenthaler H. K., 1987, Chlorophylls and carotenoids, pigments of photosynthetic biomembranes- Methods in *Enzymology*, vol. 148, pp 350-389.
- [8]- Heath L. R. and Packer L., 1968, Photoperoxidation in isolated chloroplasts. I. Kinetics and stoichiometry of fatty acid peroxidation. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, vol. 125, pp 189-198.
- [9]- Meyers K. J., Watkins C. B., Pritts M. P. and Hai-Liu R., 2003, Antioxidant and antiproliferative activities of strawberries. *Agricultural and Food Chemistry*, vol. 51, pp 6887-6892.
- [10]- Tu J., Shen W. B. and Xu L. L., 2003, Regulation of nitric oxide on the aging process of Wheat leaves. *Act. Bot. Sin*, vol. 45, pp 1055-1062.
- [11]- Boyarshinov A. V. and Asfova E. V., 2011, Stress responses of Wheat leaves to dehydration participation of endogenous NO and effect of sodium nitroprusside. *Russian Journal of plant physiology*, vol. 58, pp 1034-1039.
- [12]- Yonis M. E., Abbas M. A., Shukry W. M., 1993, Effect of salinity of growth and metabolism of *Phaseolus vulgaris*. *Biologia Plantarum*, vol. 35, pp 417-424.
- [13]- مهلقا قربانلی، فریده احمدی، اعظم منفرد و غلامحسین بخشی خانیکی، ۱۳۸۹، اثر تنش شوری و برهمکنش آن با آسکوربات بر میزان فعالیت آنزیمهای کاتالاز، آسکوربات پراکسیداز، پرولین و مالوندیآلدهید در گیاه زیره سبز (*Cuminum*) *Cuminum* L. چهار هفته بعد از جوانه زنی، فصلنامه علمی پژوهشی تحقیقات گیاهان دارویی و معطر ایران، جلد ۲۸، شماره ۱.
- [14]- سوسن احمدپور دهکردی و حمیدرضا بلوچی، ۱۳۹۱، اثر پرایمینگ بذر بر آنزیمهای آنتی اکسیدانی و پراکسیداسیون لیپید غشای سلول گیاهچه‌های سیاهدانه (*Nigella sativa* L.) تحت تنش شوری و خشکی، *مجله الکترونیک تولید گیاهان زراعی*، جلد ۵، شماره ۴.
- [15]- زهرا رضایت‌مند، رمضان‌علی خاوری‌نژاد و غلامرضا اصغری، ۱۳۹۲، اثر سالیسیلیک بر برخی شاخص‌های فیزیولوژیکی و بیوشیمیایی گیاه درمنه کوهی (*Artemisia aucheri* Boiss) تحت تنش شوری.
- [16]- صدیقه اسماعیل‌زاده بهابادی، آیت‌اله رضایی نودهی و شهلا نجفی، ۱۳۹۲، اثر نیتریک اکساید بر میزان رشد و برخی شاخص‌های فیزیولوژیکی گیاهچه‌های بادرنجبویه کشت شده در شرایط *In vitro*، *مجله سلول و بافت*، جلد ۶، شماره ۲.