اثر متیل جاسمونات بر خصوصیات مورفولوژیکی و فیزیولوژیکی گیاه نائین‌هاوندی (*Andrographis paniculata* L.)

الناز محمدیان[1]، گیتی برزین[2]، داریوش طالعی[3]

1- دانشجوی کارشناسی ارشد فیزیولوژی گیاهی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد اسلامشهر.

2- دکترای فیزیولوژی گیاهی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد اسلامشهر.

3- مرکز تحقیقات گیاهان دارویی، دانشگاه شاهد تهران.

Email: Elnazmohamadian85@gmail.com

چکیده

این تحقیق با هدف بررسی اثر متیل جاسمونات بر ویژگی‌های مورفولوژیکی و فیزیولوژیکی گیاه دارویی نائین هاوندی در سال ۱۳۹۴ در آزمایشگاه مرکز تحقیقات گیاهان دارویی دانشگاه شاهد واقع در اتوبان تهران–قم به اجرا در آمد. آزمایش به صورت طرح بلوک کامل تصادفی با یک فاکتور و ۳ تکرار انجام شد. فاکتور آزمایشی شامل کاربرد متیل جاسونات بود که به صورت محلول پاشی در ۵ سطح: صفر به عنوان شاهد ، ۷۵، ۱۵۰، ۲۲۵، ۳۰۰ میکرومولار، بر روی گیاهان نائین هاوندی در مرحله ساقه رفتن و قبل از گلدهی انجام شد. این آزمایش به صورت گلدانی در گلخانه پژوهشی دانشگاه شاهد با استفاده از بذور نائین هاوندی موجود در مرکز تحقیقات گیاهان دارویی دانشگاه شاهد صورت گرفت. نتایج تحقیق نشان داد که کاربرد خارجی متیل جاسمونات بر روی صفات مورفولوژیکی و فیزیولوژیکی گیاه نائین هاوندی اثر معنی‌داری داشت. به طوری که استفاده از متیل جاسمونات تا ۱۵۰ میکرومولار باعث افزایش وزن تر و خشک اندام هوایی و حجم ریشه در گیاه نائین هاوندی شد ولی غلظت بالاتر یعنی ۲۲۵ و ۳۰۰ میکرو مولار میانگین این صفات را نسبت به سطح ۱۵۰ میکرومولار کاهش داد. نتایج آزمایش همچنین نشان داد که محلول پاشی متیل جاسمونات اثر معنی‌داری بر محتوای فلاونوئید و انزیم کاتالاز داشت. به طوری که متیل جاسمونات تا غلظت ۱۵۰ میکرومولار، محتوای فلاونوید را افزایش داد و بعد از آن از میزان فلاونوید کاسته شد. در مورد آنزیم کاتالاز هم با توجه به نتایج، کاربرد ۳۰۰ میکرومولار متیل جاسمونات نسبت به بقیه تیمارها عمکرد بهتری داشت و سطح شاهد (عدم کاربرد متیل جاسمونات) دارای کمترین فعالیت آنزیم کاتالاز بود. بنابراین با توجه به نتایج این تحقیق به نظر می‌رسد که غلظت‌های کم متیل جاسمونات (۷۵ و ۱۵۰ میکرومولار) بتواند در بهبود شرایط رشدی گیاه مؤثر واقع شود. البته این مطلب به مطالعه و بررسی بیشتری نیاز دارد.

کلمات کلیدی: فلاونوئید، کاتالاز، متیل جاسمونات، نائین هاوندی

مقدمه

جاسمونات‌ها گروه جدیدی از تنظیم کننده‌های رشد گیاهی محسوب می‌شوند که در بسیاری از فرآیندهای فیزیولوژیک گیاه شرکت و نقش تدافعی در گیاه ایفا می‌کنند [10]. متیل جاسمونات اولین بار از گیاه *Jasminum grandiflorum* استخراج شد. جاسمونات‌ها به طور معمول در برگ‌های جوان، گل‌ها و میوه‌ها به وفور یافت می‌شوند و در پاسخ گیاه به تنش‌های زنده و محیطی نیز نقش مهمی ایفا کرده و موجب کاهش خسارات ناشی از تنش‌های زنده و محیطی در گیاه هدف می‌شود [4]. مشخص شده است که جاسمونات‌ها به عنوان یک خانواده جدید از هورمون‌های گیاهی نقش مهمی در تنظیم فرایند رشد و نمو گیاه دارند [1]. جاسمونیک اسید و متیل استر آن (متیل جاسمونات) ترکیبات مشتق شده

از سیکلوپنتان لینولنیک اسید می‌باشند. جاسمونات‌ها از مسیر اکتادکانوئید ساخته می‌شوند که در این مسیر لینولنیک اسید به جاسمونیک اسید تبدیل می‌شود [6]. جاسمونات‌ها مشابه سایر هورمون‌های گیاهی، اثرات بیولوژیکی متنوعی دارند، کاربرد آن‌ها موجب پیری، ریزش برگ، پیچش، بسته شدن روزنه، سنتز بتاکاروتن، سنتز اتیلن و ممانعت از رشد ریشه می‌گردد. جاسمونات‌ها به عنوان ترکیبات پیام رسان کلیدی در فرآیند القاء که منجر به تجمع متابولیتهای ثانویه می‌شود، معرفی شده-اند [12]. همچنین نشان داده شده است که کاربرد متیل جاسمونات در محیط کشت سلول‌های تنباکو باعث افزایش شدت فعالیت میتوزی شده است [2]. گزارش دیگری حاکی از آن است که متیل جاسمونات باعث افزایش شدید محتوای پروتئین در ریشه و ساقه کلزا گردیده است [2]. از طرفی اهمیت گیاهان دارویی سبب شده است که هر ساله تعداد بیشتری از کشاورزان با تغییر نوع کشت از زراعتهای معمول به کشت گیاهان دارویی، به سمت تولید این دسته از گیاهان روی آورند [8]. گیاه داروئی نائین هاوندی (*Andrographis paniculata* L.) نیز گیاهی دارویی یک ساله از خانواده پاخرسیان Acanthacea میباشدکه دارای برگ های بدون کرک، صاف، ساده و با گل های سفید می باشد. نائین هاوندی به عنوان یک گیاه دو جنسه و خودگشن شناخته شده است [11]. این گیاه سرشار از ترکیبات فعال با خواص دارویی می باشد. عصاره این گیاه حاوی سه ترکیب عمده یعنی دیترپنوئیدها (diterpenes)، فلاونوئیدها (flavonoids) و استیگمااسترولها (stigmasterols) با ترکیبات فعال شناخته شده به نامهای آندروگرافولاید (andrographolide)، نئوآندروگرافولاید (neoandrographolide) و داکسی آندروگرافولاید (14deoxy-11,12 didehydroandrographolide–) می باشد. اندام های هوایی این گیاه به خصوص برگ با دامنه وسیعی از خواص دارویی از جمله ضد HIV، ضد H1N1، ضد سرطان، ضد هپاتیت، ضد اسهال مورد استفاده قرار می گیرد[11]. با توجه به اینکه یکی از جنبه‌های افزایش ترکیبات موثره گیاهان دارویی را می توان کاربرد مواد تنظیم کننده گیاهی دانست. بنابراین با توجه به اینکه متیل جاسمونات بر بسیاری از فرآیندهای بیوشیمیایی و فیزیولوژیکی گیاه تاثیر میگذارند و بر اساس بررسی منابع انجام شده مطالعات کمی در خصوص محلول پاشی اسید جاسمونیک و ارزیابی اثر آن بر خصوصیات کمی و کیفی اسانس گیاهان دارویی و معطر انجام شده است، این آزمایش با هدف بررسی اثر متیل جاسمونات بر ویژگی‌های مورفولوژیکی و فیزیولوژیکی گیاه دارویی نائین هاوندی انجام گرفت.

مواد و روش‌ها

تحقیق حاضر به منظور بررسی اثر متیل جاسمونات بر ویژگی‌های مورفولوژیکی و فیزیولوژیکی گیاه دارویی نائین هاوندی در سال ۱۳۹۴ در آزمایشگاه مرکز تحقیقات گیاهان دارویی دانشگاه شاهد واقع در اتوبان تهران–قم به اجرا در آمد. آزمایش به صورت طرح بلوک کامل تصادفی با یک فاکتور و ۳ تکرار انجام شد. فاکتور آزمایشی شامل کاربرد متیل جاسونات بود که به صورت محلول پاشی در ۵ سطح: صفر به عنوان شاهد ، ۷۵، ۱۵۰، ۲۲۵، ۳۰۰ میکرومولار، بر روی گیاهان نائین هاوندی در مرحله ساقه رفتن و قبل از گلدهی انجام شد. این آزمایش به صورت گلدانی در طی ماه‌های آبان، آذر، دی، بهمن و اسفند ۱۳۹۴ در گلخانه پژوهشی دانشگاه شاهد با استفاده از بذور نائین هاوندی موجود در مرکز تحقیقات گیاهان دارویی دانشگاه شاهد صورت گرفت. جامعه آماری برای این پژوهش شامل ۱۵ گلدان بودند که در هر گلدان ۵ گیاه کشت می‌شود و نمونه برداری و اندازه گیری صفات موردنظر از بین گیاهان هر گلدان به صورت تصادفی انتخاب شد. مراحل انجام آزمایش به این صورت بود که ابتدا بذور نائین هاوندی که در داخل پتری دیش‌ها جوانه‌دار شده بودند در مرحله دو برگی اولیه به گلدان‌های جیفی و بعد از ۶ هفته گیاهچه‌ها از گلدان‌های جیفی به گلدان‌های پلاستیکی حاوی خاک، پیت موس، ماسه منتقل شدند. بذرها تا مرحله دو برگی با آب مقطر آبیاری شد و بعد از این مرحله از محلول غذایی کود کامل جهت تغذیه گیاهان استفاده

شد. در مرحله چهار برگی اعمال متیل جاسمونات به مدت ۴۵ روز شروع شد. محلول پاشی در هنگام غروب آفتاب انجام شد تا از آفتاب سوختگی برگ‌ها جلوگیری شود. همچنین محلول پاشی به صورت روزانه تا زمانی که کل گیاهان با محلول به خوبی آغشته شود، ادامه داشت. بعد از اتمام آزمایش و قبل از گلدهی صفات ارتفاع گیاه، ارتفاع از سطح خاک تا نوک بلندترین شاخه بر حسب سانتی متر به وسیله خط کش انجام گرفت، برای وزن تر از ترازو استفاده شد، اندازه‌گیری وزن خشک اندام هوایی بدین صورت انجام گرفت که ابتدا اندام هوایی در پاکت‌های کاغذی که بدین منظور تهیه شده بود قرار داده شد و به مدت سه روز در آون قرار گرفت و سپس اندازه گیری وزن خشک انجام شد. برای اندازه‌گیری کاتالاز از روش Sairam and Saxena (2000) و برای اندازه گیری میزان مالون دی آلدئید از روش Ohkaw *et al*, 1979 استفاده شد. تجزیه واریانس و مقایسه میانگین تیمارها به روش دانکن با استفاده از نرم افزار آماری SPSS انجام شد. شکل‌ها با استفاده از نرم‌افزار Excel رسم گردید.

نتایج

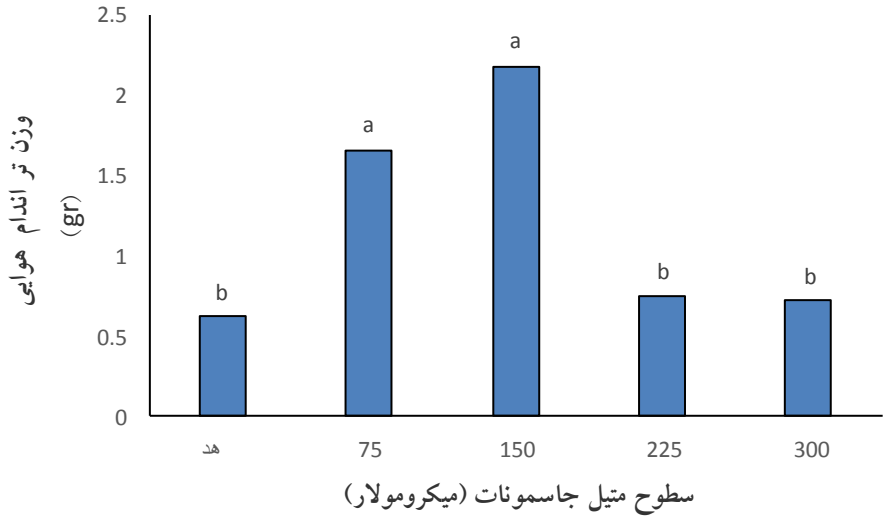
وزن تر اندام هوایی

نتایج تجزیه واریانس (جدول ۱) نشان داد اثر تیمار برای صفت وزن تر اندام هوایی ($p<۰/۰۱$) معنی‌دار شد. با توجه به نتایج مقایسه میانگین (شکل ۱) کاربرد متیل جاسمونات تا غلظت معینی باعث افزایش وزن تر اندام هوایی در گیاه نائین هاوندی شد ولی از آن سطح به بعد میانگین این صفت کاهش یافت. به طوری که با افزایش سطح متیل جاسمونات تا ۱۵۰ میکرومولار میانگین وزن تر اندام هوایی به طور معنی‌داری افزایش یافت و بیشترین میانگین این صفت (۲/۱۸ گرم) برای این سطح از متیل جاسمونات بدست آمد ولی افزایش سطح متیل جاسمونات به ۲۲۵ و ۳۰۰ میکرومولار باعث کاهش وزن تر اندام هوایی نسبت به سطح ۱۵۰ میکرو مولار شد. کمترین میانگین این صفت نیز مربوط به سطح شاهد (عدم کاربرد متیل جاسمونات) بود.

جدول ۱. تجزیه واریانس اثر متیل جاسمونات بر خصوصیات مورفولوژیکی و فیزیولوژیکی گیاه نائین‌هاوندی

		میانگین مربعات (MS)						
s.o.v	**df**	**ارتفاع گیاه**	**وزن تر اندام هوایی**	**وزن خشک اندام هوایی**	**حجم ریشه گیاه**	**فلاونوئید**	**مالون دی آلدئید**	**کاتالاز**
R	**2**	2.74^{ns}	0.014^{ns}	0.001^{ns}	0.017^{ns}	0.425^{ns}	0.001^{ns}	0.002^{ns}
T	**4**	22.642^{ns}	1.45**	0.243**	0.833**	0.361^{*}	0.002^{ns}	0.029^{**}
Erorr	**8**	11.894	.082	.010	.121	0.380	0.001	0.003

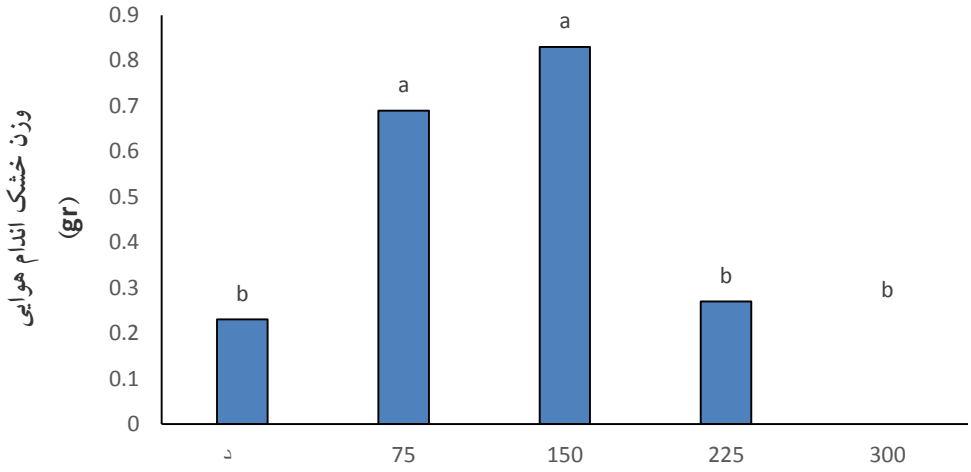
ns، * و ** به ترتیب غیر معنی‌دار، معنی‌دار در سطح احتمال پنج و یک درصد.



شکل ۱. اثر سطوح متیل جاسمونات بر وزن تر اندام هوایی گیاه نائین هاوندی

وزن خشک اندام هوایی

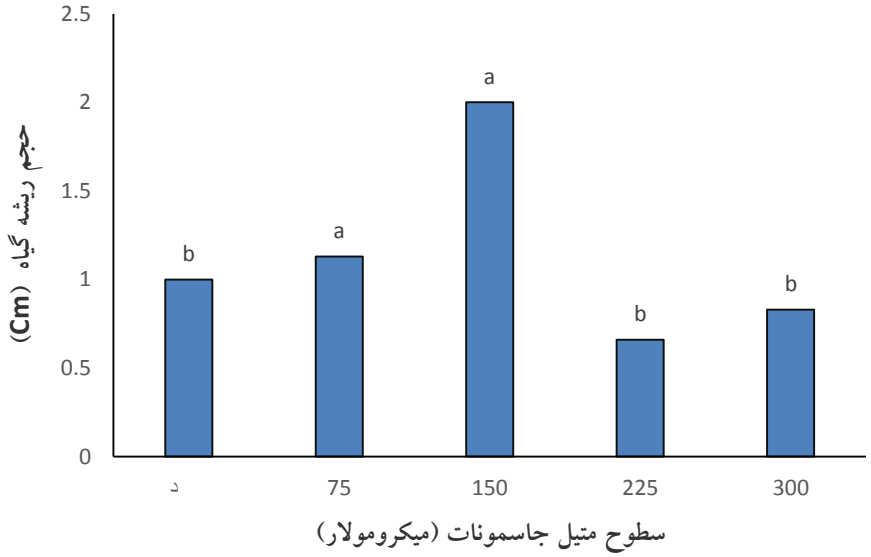
وزن خشک اندام هوایی تحت تأثیر تیمار ($p<۰/۰۱$) معنی‌دار شد (جدول ۱).به طوری که همانند وزن تر اندام هوایی کاربرد متیل جاسمونات تا سطح ۱۵۰ میکرومولار، وزن خشک اندام هوایی را افزایش داد و بالاترین میانگین این صفت (۰/۸۳ گرم) برای این سطح از متیل جاسمونات حاصل شد که با سطح ۷۵ میکرو مولار از لحاظ آماری اختلاف معنی‌داری نداشت. میانگین وزن خشک اندام هوایی برای سطوح ۲۲۵ و ۳۰۰ میکرومولار نسبت به سطح ۱۵۰ میکرو مولار کاهش یافت. کمترین وزن خشک اندام هوایی (۰/۲۳ گرم) نیز برای سطح شاهد بدست آمد که با سطوح ۲۲۵ و ۳۰۰ میکرومولار در گروه یکسانی قرار داشت (شکل ۲).



شکل ۲. اثر سطوح متیل جاسمونات بر وزن خشک اندام هوایی گیاه نائین هاوندی

حجم ریشه

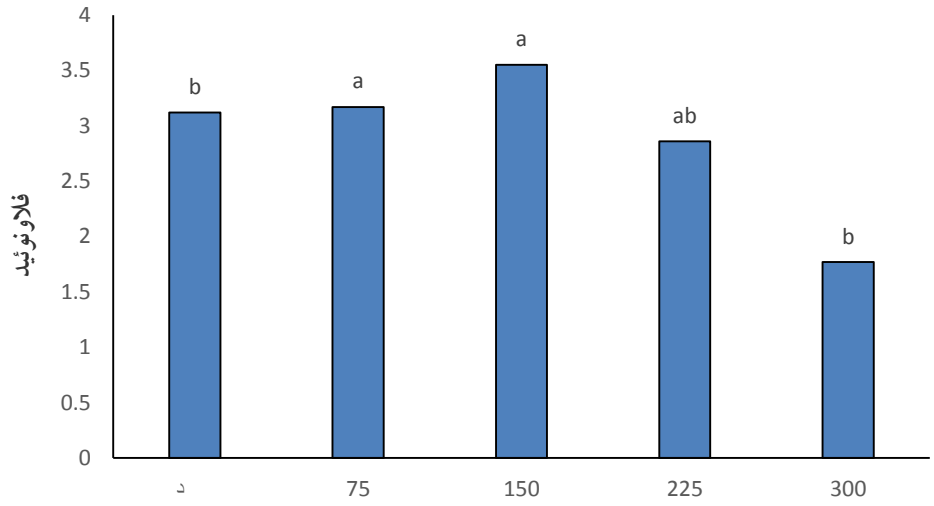
با توجه به تجزیه واریانس داده‌ها (جدول ۱) تیمار به کار برده شده در آزمایش برای حجم ریشه گیاه معنی‌دار شد ($p<۰/۰۱$). سطح ۱۵۰ میکرومولار متیل جاسمونات دارای بیشترین میانگین حجم ریشه (۲ سانتی‌متر) بود که با سطح ۷۵ میکرومولار اختلاف معنی‌داری نداشت. کمترین میانگین حجم ریشه (۰/۶۶ سانتی‌متر) نیز برای سطح ۲۲۵ میکرو مولار متیل جاسمونات بدست آمد که با سطوح شاهد و ۳۰۰ میکرومولار اختلاف معنی‌داری نداشت و در گروه یکسانی قرار داشت (شکل ۳).



شکل ۳. اثر سطوح متیل جاسمونات بر حجم ریشه گیاه نائین هاوندی

فلاونوئید

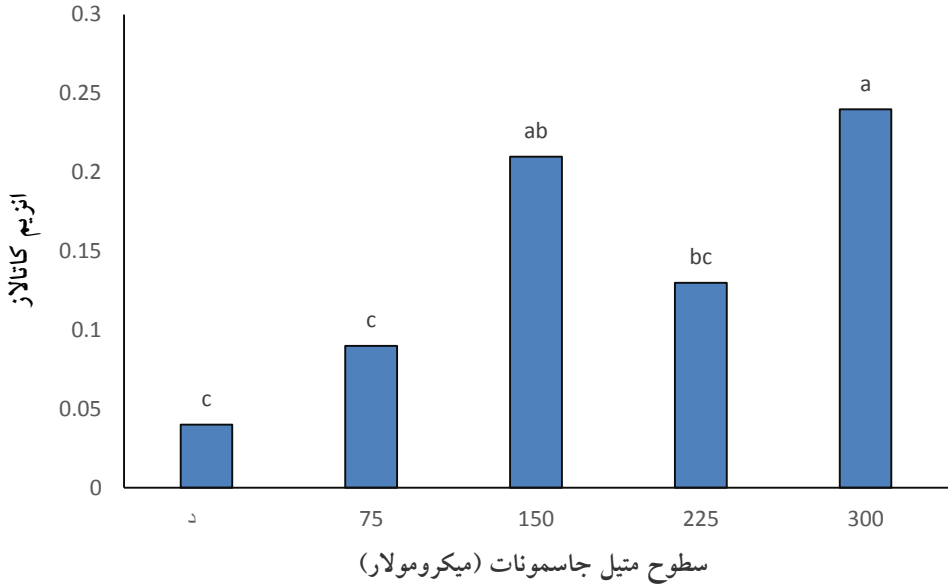
بررسی نتایج تجزیه واریانس (جدول ۱) نشان داد فلاونوئید تحت تأثیر تیمار ($p<۰/۰۵$) معنی‌دار شد. با توجه به نتایج مقایسه میانگین (شکل ۴) کاربرد متیل جاسمونات تا سطح ۱۵۰ میکرومولار میزان فلاونوئید را افزایش داد ولی از این سطح به بعد هرچه کاربرد متیل جاسمونات افزایش یافت (سطوح ۲۲۵ و ۳۰۰ میکرومولار) از میزان فلاونوئید کاسته شد. به طوری که بیشترین میزان فلاونوئید (۳/۵۵) برای سطح ۱۵۰ میکرومولار جاسمونات و کمترین آن (۱/۷۷) برای سطح ۳۰۰ میکرومولار متیل جاسمونات بدست آمد.



شکل ۴. اثر سطوح متیل جاسمونات بر محتوای فلاونوئید گیاه نائین هاوندی

کاتلاز

بر اساس نتایج حاصل از تجزیه واریانس داده‌ها (جدول ۱) تیمار مورد استفاده شده اثر معنی‌داری بر آنزیم کاتالاز ($p<۰/۰۱$) داشت. بیشترین میزان فعالیت آنزیم کاتالاز (۰/۲۴) مربوط به سطح ۳۰۰ میکرومولار متیل جاسمونات بود که با سطح ۱۵۰ میکرومولار اختاف معنی‌داری نداشت. کمترین آن (۰/۰۴) نیز برای سطح شاهد بدست آمد (شکل ۵).



شکل ۵. اثر سطوح متیل جاسمونات بر فعالیت آنزیم کاتالاز گیاه نائین هاوندی

بحث

در آزمایش حاضر مشاهده شد که کاربرد خارجی متیل جاسمونات روی صفات مورفولوژیک اندازه گیری شده در گیاه نائین هاوندی تاثیر گذار است. به طوری که استفاده از متیل جاسمونات تا ۱۵۰ میکرومولار باعث افزایش وزن تر و خشک اندام هوایی و حجم ریشه در گیاه نائین هاوندی شد ولی غلظت بالاتر یعنی ۲۲۵ و ۳۰۰ میکرو مولار میانگین این صفات را نسبت به سطح ۱۵۰ میکرومولار کاهش داد. مطابق آزمایش حاظر در بررسی تاثیر متیل جاسمونات روی کنگر فرنگی (*Cynara scolymus* L.) در ۴ سطح (۰، ۱/۲۲، ۲/۴۳، ۴/۸۸ نانومولار) گزارش شد که پایین‌ترین غلظت متیل جاسمونات (۱/۲۲ نانومولار) به طور قابل توجهی ارتفاع گیاه، سطح برگ، وزن و طول برگ تازه، وزن تر و خشک سیستم ریشه ای را افزایش داد و بالاترین غلظت متیل جاسمونات (۴/۸۸ نانومولار) وزن تر و خشک برگ، طول سیستم ریشه ای و ارتفاع گیاه را کاهش داد. این نتایج بیان می‌دارد که هورمون متیل جاسمونات در غلظت های پایین موثرتر است و به طور ویژه بر سیستم ریشهای تاثیرگذار است [3]. نتایج آزمایش همچنین نشان داد که محلول پاشی متیل جاسمونات اثر معنی‌داری بر فلاونوئید و انزیم کاتالاز داشت. به طوری که متیل جاسمونات تا غلظت ۱۵۰ میکرومولار، فلاونوید را افزایش داد و بعد از آن از میزان فلاونوید کاسته شد. در مورد آنزیم کاتالاز هم با توجه به نتایج، کاربرد ۳۰۰ میکرومولار متیل جاسمونات نسبت به بقیه تیمارها عمکرد بهتری داشت و سطح شاهد (عدم کاربرد متیل جاسمونات) دارای کمترین فعالیت آنزیم کاتالاز بود. در بیشتر گزارش‌ها تیمار با متیل جاسمونات باعث القاء و افزایش بیوسنتز ترکیبات ثانویه شده است و در گزارش‌های محدودی نیز کاهش تولید متابولیت‌ها را سبب می‌شود. افزایش ترکیبات فنولیک و فلاونوئیدی کل در ریشه‌های گیاه شیرین بیان در کاربرد متیل جاسمونات روی گیاهچه‌های این گیاه گزارش شده است. همچنین در بررسی اثر متیل جاسمونات، نشان داده شده است که در شرایط تیمار با متیل جاسمونات فعالیت آنزیم سوپراکسیددیسموتاز، آسکوربات پراکسیداز، کاتالاز و پراکسیداز در گیاه آرابیدوپسیس افزایش پیدا کرده است [5].

نتیجه‌گیری

نتایج نتایج این تحقیق نشان داد که گیاه نائین هاوندی برای غلظتهای مختلف به کاربرده شده در این آزمایش عکس-العمل متفاوتی نشان داد. به طوری که استفاده از این ماده تا غظت ۱۵۰ میکرومولار باعث بهبود وزن تر و خشک گیاه و افزایش حجم ریشه گیاه نائین هاوندی شد. ولی بیشتر از آن میانگین صفات را کاهش داد. همچنین این روند اثر گذاری متیل جاسمونات برای فلاونوئید نیز دیده شد ولی در مورد آنزیم کاتالاز بالاترین فعالیت این آنزیم برای سطح ۳۰۰ میکرومولار متیل جاسمونات بدست آمد. بنابراین با توجه به نتایج این تحقیق به نظر می‌رسد که غلظت‌های کم متیل جاسمونات (۷۵ و ۱۵۰ میکرومولار) بتواند در بهبود شرایط رشدی گیاه مؤثر واقع شود. البته این مطلب به مطالعه و بررسی بیشتری نیاز دارد.

مراجع

1. *Abdala, G., Miersch, O., Kramell, R,. Vigliocco, A., Agostini, E., Forchetti, G. and Alemano, S, Jasmonate and octadecanoid occurrence in tomato hairyroots. Endogenous level changes in response to NaCl. Plant Growth Regulation, 2003 40: 21-27.*
2. *Capitani, F., Biondi, S., Falasca, G., Ziosi, V., Balestrazzi, A., Carbonera, D., Torrigiani, P. and Altamura, M, Methyl jasmonate disrupts shoot formation in tobacco thin cell layers by over-inducing mitotic activity and cell expansion. Planta, 2005, 220: 507-519*
3. *Closas, L. M., Toro, F. J., Calvó, G. and Pelacho, A. M, Effect of Methyl Jasmonate on the first developmental stages of globe artichoke. International Society for Horticultural Science. Acta Horticulturae 660 5th International Congress on Artichoke. Bari, Ital, 1999.*
4. *Creelman R. A. and Mullet J. E, Jasmonic acid distribution and action in plants: Regulation during development and response to biotic and abiotic stress. Proceedings of the National Academy of Sciences USA, 1995 92:4114-4119.*
5. *Jung, S, Effect of chlorophyll reduction in Arabidopsis thaliana by methyl jasmonate or norflurazon on antioxidant systems. Journal of plant physiology and Biochemistry, 42, 2004,: 231-255.*
6. *Leon, J. and Sanchez-Serrano, J. J, Molecular biology of jasmonic acid biosynthesis in plants. Plant Physiology and biochemistry, 37, 1999: 373-380.*
7. *Ohkawa, H., N. Ohishi, Y. Yagi , Assay of lipid peroxides in tissues by thiobarbituric acid reaction. Ann. Biochem, 95, 1979: 51-358.*
8. *Sairam, R.K., and Saxena, D. C, Oxidative stress and antioxidant in wheat genotypes: possible mechanism of water stress tolerance, J, Agronomy and Crop Sci, 184, 2000: 55-61.*
9. *Sharma SN, Sinha RK, Sharma DK, Jha Z, Assessment of intra-specific variability at morphological, molecular and biochemical level of Andrographis paniculata (Kalmegh), Curr Sci96(3), 2009:402–408.*
10. *Srivastava, L. M, Plant growth and development. Hormones and environment. Academic Press, New York, 2002.*
11. *Valdiani, A., A.K. Mihdzar, S.G. Tan, D. Talei, M.A. Puad, S. Nikzad, Nain-e Havandi (Andrographis paniculata) present yesterday, absent today: A plenary review on underutilized herb of Iran's pharmaceutical plants. Mol Biol Rep, 39, 2012: 5409-5424.*
12. *Yu, K. W., Gao, W., Hahn. E. J. and Paek, K.Y, Jasmonic acid improves ginsenoside accumulation in adventitious root culture of Panax ginseng C.A. Meyer. Biochemical Engineering Journal, 11, 2002:211–5.*