مجله پژوهشهای گیاهی (مجله زیست شناسی ایران) جلد ۳۶، شماره ۴، ۱۴۰۲
مقاله پژوهشی، صفحات ۳۵۰-۳۴۲ DOI: 10.22034/jpr.2023.2323

اثر آلودگی محیطی دوده روی تغییر کربوهیدراتها وفعالیت آنزیمهای وابسته در منبع (SOURCE)، ساقه ومقصد(SINK) در گیاه ملیسا MELISA OFFICINALIS

حیدرعلی مالمیر* و الهام کاویانی مقدس

ایران، همدان، دانشگاه بوعلی سینا، گروه زیست شناسی

تاریخ دریافت: ۱۴۰۱/۱۲/۱۴ تاریخ پذیرش: ۱۴۰۲/۰۷/۰۳

چکیده

اندامهای منبع و مقصد نقش مهمی درتوازن بین تولید و مصرف قند دارند. دراین آزمایش متابولیسم کربوهیدراتها و فعالیت آنزیم های مرتبط با آنها در برگهای جوان (مقصد)، پیر(منبع) و ساقه گیاه ملیس بعد از اینکه گیاه متعدد در تیمار دوده قرارگرفت بررسی شد. نتایج نشان داد دوده مقدارساکارز ورباسکوز را در ساقه و مقصد کاهش و در منبع افزایش داد $P\leq0.05$. مقدار قندهای ورباسکوز، گلوکز، فروکتوز در مقصد بیشترین مقدار را دارند و دوده آنها را کاهش داد $P\leq0.05$. قندی های مانند نشاسته، رافینوز و مالتوز با دوده دهی در مقصد افزایش و در منبع و ساقه کاهش یافتند $P\leq0.05$. میزان قندهای استاکیوز، ساکارز و ورباسکوز در ساقه بیشتر از منبع و مقصد است و دوده مقدار آنها را کاهش داده $P\leq0.05$ و میزان قندهای محلول با دودهی در مقصد افزایش یافت. با مقایسه چند قندیها دوده دهی مقدارساکارزو استاکیوز را بیشتر از مالتوز، رافینوز و ورباسکوز تغییرداده $P\leq0.05$ و دوده فعالیت آنزیم SS را در مقصد ابتدا افزایش سپس کاهش یافت $P\leq0.05$. رگرسیون بین فعالیت آنزیم SS و سنتز ساکارز در منبع ۰,۶۵=R^2 همبستگی با روند افزایشی نشان داد. رگرسیون بین فعالیت آنزیم SPS و سنتز ساکارز در منبع ۰,۵۲ =R^2همبستگی با روند افزایشی نشان داد. به نظر می رسد افزایش ساکارز در منبع با فعالیت آنزیم SPS در منبع مرتبط است. به همین دلیل مقدار ساکارز در منبع و ساقه کاهش یافت. یا شاید متابولیسم ساکارز در مقصد بیشترآسیب دیده است که یا فعالیت آنزیم SS از الگویی تعادل بین میزان سنتز و مصرف ساکارز پیروی می کند. دوده فعالیت آنزیم اینورتاز اسیدی AI را در منبع کاهش و در مقصد افزایش داد، همچنین دوده فعالیت آنزیم اینورتاز بازی Alk را در منبع و مقصد کاهش داد $P\leq0.05$، این دو آنزیم در شکستن ساکارز دخالت دارند. به نظر می رسد افزایش فعالیت آنزیم اینورتاز اسیدی AI با کاهش مقدار ساکارز درمقصد مرتبط باشد. نتایج نشان داد در ساقه مقدار قندهای استاکیوز، ساکارز ورباسکوز بیشتر ازسایر قندها است و دوده مقدار آنها را سریع کاهش داده است $P\leq0.05$. از طرفی دوده قندهای ذخیره ای در مقصد را افزایش داده است. بنابراین دوده با اختصاص منابع کربن به متابولیتهای ثانویه بصورت قندهای ذخیره ای در مقصد میزان رشد را کاهش داده است.

واژه های کلیدی: دوده، کربوهیدراتها درمنبع و مقصد، آنزیمای وابسته به کربوهیدراتها

* نویسنده مسئول، تلفن: ۰۸۱۱۸۲۵۷۴۰۲ ، پست الکترونیکی: Malmir1970@gmail.com

مقدمه

آلودگی هوا یک تنش محیطی جدی برای محصولات گیاهی است. آلودگی هوا سبب تغییرات بیوشیمیایی و فیزیولوژیک برگشت‌پذیر و غیربرگشت پذیری در گیاهان می شود. تحقیقات نشان داده گیاهان با کاهش سطح برگ و بیوماس، کاهش فعالیت فتوسنتزی و کاهش مواد خشک به آلودگی هوا پاسخ می دهند. آلودگی اتمسفری به درجات متفاوت در گیاهان روی جابجایی مواد بین بخشهای مختلف ریشه و بخشهای هوایی و ساقه موثر است (۱). گیاهان بطور نسبی از نظر عملکرد فرایندها به بخشهای مختلف محل تولید و مصرف تقسیم می شوند.

DOI: 10.22034/jpr.2023.2323 مقاله پژوهشی، صفحات ۳۵۰-۳۴۲

محل تولید که نقش منبع یا source دارند شامل قسمتهای ازگیاه هستند که مواد غذایی تولید می‌کنند. بخشهای دیگری از گیاه هست که این مواد را مصرف و یا ذخیره می کنند، این قسمتها محل مصرف یا Sink نامیده می‌شوند. جابجایی مواد بین منبع و مقصد اهمیت زیادی روی رشد گیاهان دارد. یکی از مهمترین فرایند فیزیولوژیکی که با تنش آلودگی هوا ارتباط دارد فعالیت منبع درتشکیل کربوهیدرات می باشد. تنش آلودگی هوا از طریق تأثیر بر عوامل روزنه ای و غیرروزنه ای در بافتهای منبع مخصوصاً برگها باعث کاهش تشکیل کربوهیدرات آنها و در نتیجه کاهش قدرت منبع در تولید تشکیل کربوهیدرات و در نهایت کاهش عملکرد می شود (۲و ۱۴). در فرایند فتوسنتز قند ساخته می شود. در واقع مسیری است که به وسیله آن تمام موجودات زنده فتوسنتزکننده Co2 را در نهایت به کربوهیدرات تبدیل می کنند. در گیاهان کربوهیدراتها به اشکال مختلف مانند نشاسته، قندهای الکلی، ساکارز و انواع قندها را برای ذخیره به مدت طولانی یا برای تولید انرژی مصرف می کنند. البته بعضی از گیاهان مقادیر زیادی پروتئین یا روغن را نیز تولید می کنند. برخی از واکنش ها در درون کلروپلاست رخ می دهند در حالیکه در موارد دیگر این واکنشها در سیتوپلاسم سلول انواع بافتهای که ازقندهای ساخته شده و صادر شده از کلروپلاست صورت می‌گیرد (۲۱). پلی ساکاریدها فراوان ترین ترکیبات گیاهی هستند، با وجود این اهمیت آنها از نظر فراوانی نیست، بلکه اهمیت آنها به واسطه فرایندها و کارکردهای است که انجام می‌دهند. چون این ترکیبات منبع انرژی برای رشد و نمو هستند. ازطرفی موجب سنتز ترکیبات متعدد ساختاری دیواره سلولی گیاه می شوند. ساکاریدها حد واسط های تولید می‌کنند که برای سنتز ترکیبات مختلف سلولی مانند هورمونها، پروتئین و چربی بکار می‌روند. ذخایرقندی در گیاهان متفاوت است و در بیشتر گیاهان به صورت ساکارز (دوقندی)، رافینوز(سه قندی)، ورباسکوز(چهارقندی) و استاکیوز (پنج قندی) و نشاسته (چند قندی) می باشند (۲۰). ساکارز نقش مرکزی در متابولیسم کربوهیدرات‌ها در گیاهان ایفا می‌کند. با در نظرگرفتن موقعیت ساکارز به عنوان قند انتقالی مکانیسم های وجود دارد که از یک سو تولید ساکارز در منبع با تهیه فرآورده فتوسنتزی در کلروپلاست و در سیتوپلاسم از سویی دیگر با درخواستهای فرایند مقصد تنظیم می کند. شکستن ساکارز به ویژه در دو شرایط اهمیت دارد، به این صورت که ساکارز شکل اصلی انتقال کربن در بیشتر گیاهان است که کربن را به بافتهای مقصد انتقال می دهد. بعضی از مقاصد انتقال ساکارز بافتهای هستند که منابع کربن ساکارز را ذخیره می کنند. بنابراین قبل از مصرف باید شکسته شوند و به ترکیبات ذخیره تبدیل شوند. بنابراین شکستن ساکارز یا در سیتوپلاسم و یا در اپوپلاست صورت می گیرد. برخی گیاهان اسیمیلاتها را به صورت قندهای الکلی یا الیگوساکاریدهای خانواده استاکیوز و رافینوز از برگها به اندامهای مقصد صادر می شوند. آنزیمهای متعددی در تشکیل و شکستن قندها دخالت دارند. ساکارز در سیتوپلاسم از منبع هگزوز منو فسفات از طریق فعالیتهای سه آنزیم سنتز می‌شود. این سه، آنزیم عبارتند از UDP-گلوکزپیروفسفریلاز، ساکارزفسفات سنتتاز و ساکارزفسفاتاز را می‌سازند. در واکنش شکستن ساکارز نیز دو آنزیم دخالت دارند. آنزیم ساکارز سنتتاز هست که تولید UDP-گلوکز فروکتوز می‌کند. آنزیم دیگر انورتازها هستند که ساکارز را شکسته و تولید فروکتوز و گلوکز می نمایند. انواع انورتاز وجود دارند که از نظر فعالیت pH بهینه و محلشان درسلول متفاوت هستند.یکی انورتازقلیایی است که بیشینه فعالیت آن درpH =۷ است ودرسیتوپلاسم وجود دارد (۱۵و۱۶). **آنزیمی که قند استاکیوز را سنتز می کند استاکیوزسنتتاز نام دارد. فعالیت این آنزیم نقش مهمی در قسمت بندی میزان کربن بین دو فرآورده آن یعنی قند ساکارز و استاکیوز دخالت دارد. تشکیل استاکیوزیک روند پیچیده است به این صورت که ابتدا آنزیم قند رافینوز را توسط α-**

DOI: 10.22034/jpr.2023.2323 مقاله پژوهشی، صفحات ۳۵۰-۳۴۲

گالاکتوسیداز هیدرولیز کرده که نتیجه آن قند ساکارز و مالتوز تشکیل می شود (۹). عوامل آلاینده با شدت و ضعف روی گیاهان تأثیر دارند. در اکثر موارد نوع ماده آلاینده، غلظت آلاینده، میزان حساسیت گیاه در مقابل مواد آلاینده، نحوه ترکیبات و تجمع با سایر مواد آلایندها، مرحله رشد اندام‌های گیاه و وضعیت اندام‌های کربن گیری مانند روزنه‌ها دخالت دارند (۱۹). دراین تحقیق گیاه بادرنجبویه یا ملیس (*Melissa officinalis*) بخاطر خواص دارویی و نقش ترکیبات قندی که در کیفیت ماده موثر دارویی گیاه دخالت دارد، بطوریکه چای بادرنجبویه ویژگی‌های آنتی اکسیدانی دارد و قند خون را تنظیم می‌کند. از طرف دیگر شرایط رویشی مناسب گیاه انتخاب شد. کیفیت ماده موثر گیاهان دارویی که در درمان بیماری مهم هست و به این مکانیسم بر می‌گردد که پس از ساخته شدن قندها در فرایند فتوسنتز چقدر این کربن تثبیت شده صرف رشد و نمو گیاه می شود. چقدر به ریشه و یا چقدر از این مواد صرف تشکیل ساقه یا بنیان گذاری برگ های جدید می شود. از طرف دیگر چقدر از کربن تثبیت شده به مصرف مواد دیگراصطلاحاً به متابولیتهای ثانویه اختصاص پیدا می‌کند. انتظار هست با افزایش تنش اختصاص منابع به انواع قندها تغییر کند و بخش بیشتری از مواد به متابولیتهای ثانویه اختصاص یابد. بنابراین اختصاص منابع کربن در کمیت و کیفیت قندها در بخشهای منبع، ساقه و مقصد بسیار مهم است. برگهای پیر که طول عمر بیشتری دارند و در تولیـــد کربوهیدرات نقش دارند به عنوان منبع، ساقه سیستم انتقال و نوک ساقه و برگهای جوان به عنوان مقصد در نظر گرفته شده است. در این تحقیق اثر دوده دهی مدت‌دار به صورت متناوب روی تغییرات مقدار انواع قندها و فعالیت آنریمهای SPS، SS، AI، ALKI وSTS که در ساختن و شکستن کربوهیدراتها روی گیاه ملیس در منبع و مقصد مورد بررسی قرارگرفت.

مواد و روشها

آزمایش در سال ۹۵-۹۴ در باغ گیاهان دارویی استان همدان انجام شد. دراین آزمایش گازوئیل، نفت کوره و چوب را در بخاری با هم مخلوط و سوزانده و دوده تولید شد با کیسه پلاستیکی جمع آوری شد. گیاهان ملیس در داخل گلخانه پلاستیکی تحت تیمار دوده قرارگرفتند، بطوریکه غلظت دوده در طول آزمایش برای تمام تیمارها یکسان بود. همه گلدانها به غیراز نمونه شاهد تحت تیمار دوده قرارگرفت، نمونه اول بعد از گذشت ۳ ساعت، نمونه های بعدی در زمانهای ۶، ۹، ۱۲، ۱۵ و ۱۸ ساعت از داخل محفظه خارج شد و در هوای آزاد قرارگرفتند. دراین آزمایش نمونه ها سه بار به ترتیب با زمانهای ذکر شده به فاصله ۵ روز تیمار شدند و پس از ۲۰ روز همه نمونه‌ها برداشت شده و پارامترهای مورد نظر اندازه گیری شد.

نمونه برداری گیاهی: گیاهان ۲۰ روز پس از تیمار، به طور کامل برداشت شدند، سپس با آب مقطر سه بار شستشو داده شده و برگهای جوان (مقصد)، برگهای پیر(منبع) و ساقه از هم جدا شدند. از هر نمونه ۵ گرم وزن تر جدا شده و برای اندازه گیری، ساکارز فسفات سنتاز sucrose phosphate synthetize (SPS)، ساکارز سنتتاز sucrose synthetize (SS)، اینورتازها acid invertase and alkaline invertase (اینورتاز اسیدی و قلیایی)، استاکیوز سنتتازstachiose snthetase(STS)، و کربوهیدرات های غیرساختاری (گلوکز و فروکتوز=یک قندی ساکارزولاکتوزو مالتوز=دو قندی رافینور=سه قندی استاکیوز=چهارقند ورباسکوز=۵ قندی) استفاده شد.

استخراج آنزیم های SPS (EC 2.4.1.14) و (EC 2.4.1.13)SS از ماده گیاهی: از روش Winter و همکاران (2000) برای استخراج آنزیم‌های SPS (EC 2.4.1.14) و SS(EC 2.4.1.13) از ماده گیاهی استفاده شد. مقدار ۰/۵ گرم نمونه های گیاهی برداشت شده در هاون در دمای ۰ درجه سانتی گراد در بافر Hepes-NaOH (۵۰ میلی مولار، pH=7.5) تهیه شده به نسبت ۱:۵ (حجم/

DOI: 10.22034/jpr.2023.2323
مقاله پژوهشی، صفحات ۳۵۰-۳۴۲

وزن)، که حاوی $MgCl_2$ (۵ میلی‌مولار)، Na-EDTA (۱ میلی‌مولار)، DTT (۲/۵ میلی‌مولار)، BSA (۰/۵ میلی گرم در ۱ میلی لیتر) و X100=triton به نسبت (۰/۰۵درصد در واحد حجم/ حجم) کاملاً له شدند. بعد از صاف کردن نمونه‌ها با پارچه ململ لوله های فالکون حاوی مخلوط نمونه در دور ۱۳۵۰۰ به مدت ۱۰ دقیقه سانتریفوژ شدند. عصاره به دست آمده برای اندازه گیری فعالیت آنزیمهای (SPS، SS) و پروتئین محلول با استفاده از روش برادفورد (۱۹۷۶) در یخچال نگهداری شدند (۲۰).

سنجش فعالیت آنزیم SPS (EC 2.4.1.14) و (EC 2.4.1.13)SS: روش winter و همکاران(2000) برای سنجش فعالیت ساکارز فسفات سنتاز مورد استفاده قرارگرفت. دراین روش میزان تشکیل ساکارز وابسته به میزان واکنش Fru6P با UDP-Glc در حضور آنزیم SPS هست. ابتدا یک لوله آزمایش برداشته مقدار ۱۵ میکرولیتر از بافر Hepes-NaOH (۵۰ میلی مولار با pH= 7/5)، ۵ میکرولیتر MgCl2 (۱۵ میلی مولار)، ۱۰ میکرولیتر Fru6P (۲۵ میلی‌مولار)، ۱۰ میکرولیتر Glc6P (۲۵ میلی‌مولار) ۱۰ میکرولیتر UDP-Glc (۲۵ میلی‌مولار)، و ۴۰ میکرولیتر عصاره استخراج شده اضافه می کنیم و با آب مقطر به حجم ۱۰۰ میکرولیتر رسانده در حمام آب گرم با دمای ۳۰ درجه سانتیگراد گذاشته می شود. مخلوط واکنش به مدت ۳۰ دقیقه در دمای ۳۷ درجه سانتیگراد انکوبه شد. سپس با افزودن ۷۰ میکرولیتر KOH ۳۰ درصد (w/v) واکنش خاتمه یافت. برای نمونه شاهد از محلوط آنزیمی با KOH در ۰ دقیقه استفاده شد. منحنی استاندارد رسم و میزان فعالیت آنزیم براساس مقدار تشکیل ساکارز در نمونه مجهول تعیین شد. فعالیت ساکارز سنتتاز مطابق با نمونه تعیین شد، فقط در مخلوط واکنش از فروکتوز (۲۵ میلی مولار) به جای Fru6P استفاده شد. برای نمونه شاهد از محلوط آنزیمی ساکارز سنتتاز با KOH در ۰ دقیقه استفاده شد. منحنی استاندارد رسم و میزان فعالیت آنزیم براساس مقدار تشکیل ساکارز در نمونه مجهول تعیین شد.

استخراج اینورتازاسیدی(EC 3.2.1.26) و اینورتاز قلیایی (EC 3.2.1.27): مقدار ۵ /۰گرم از نمونه گیاهی سرد شده در هاون روی یخ سرد با استفاده از بافر آسیاب شد. بافر جهت استخراج متشکل از K_2HPO_4,KH_2PO_4 (M 0 /2 با pH=7) و۲- مرکاپتو اتانول (۲۰ میلی مولار مطابق روش Marshal و همکاران (۱۹۸۸) تهیه و استخراج شد (۱۵). محتویات استخراج شده با پارچه ململ صاف شدند، سپس به لوله‌های فالکون منتقل و مخلوط نمونه را به مدت ۱۰ دقیقه در ۳۵۰۰۰ دور سانتریوفوز گردید. محتویات جهت اندازه‌گیری پروتئین محلول و فعالیت آنزیم در یخچال گذاشته شد.

اندازه گیری فعالیت آنزیم اینورتازاسیدی(EC 3.2.1.26) و قلیایی (EC 3.2.1.27): برای اندازه فعالیت اینورتاز اسیدی و قلیایی از روش marshal و همکاران (۱۹۸۸) استفاده شد (۱۵). برای سنجش فعالیت آنزیم اسید اینورتاز ابتدا یک لوله آزمایش برداشته مقدار ۰/۶ میلی لیتر بافر استات سدیم (۰/۱ M، pH=4.5) و ۰/۲ میلی لیترساکارز (۰/۷۵ M) به داخل لوله آزمایش ریخته سپس مقدار ۰/۲ میلی لیتر از عصاره بدست آمده را به لوله آزمایش اضافه می کنیم و در حمام آب گرم با دمای ۳۰ درجه سانتیگراد گذاشته می شود. به مدت ۳۰ دقیقه اجازه داده شد تا واکنش ادامه یابد و در ادامه براساس روش miao (۲۰۰۷) با افزودن ۱ میلی‌لیتر معرف اسید دی‌نیتروسالیسیلیک به محتویات لوله‌ها واکنش متوقف شد (۱۲). در این واکنش قندهای احیاء آزاد شده و مقدار گلوکز آزاد شده تعیین شدند. به جای بافر استات سدیم از بافر استات پتاسیم (K_2HPO_4 (pH = 7.0 ،M ۰/۱) استفاده شد.

سنجش آنزیم STS و پروتئین: برای اندازه فعالیت آنزیم STS از روش هابر و همکاران (۱۹۹۰) استفاده شد. فعالیت STS به طور معمول در مخلوط‌های واکنشی که حاوی ۵۰ میلی‌میلی لیتر Hepes-NaOH (pH= 7/0)، ۱ میلی‌میلی لیتر DTT، ۱۰ میلی‌میلی لیتر گالاکتینول، ۵۰ میلی لیتر رافینوز و

مقاله پژوهشی، صفحات ۳۵۰-۳۴۲
DOI: 10.22034/jpr.2023.2323

۳ تا ۳۰ pkat فعالیت آنزیمی در حجم نهایی ۶۰ میکرولیتر بودند، تعیین شد. محتویات در دمای ۳۰ درجه سانتی گراد به مدت ۳۰ دقیقه انکوبه شدند و به مدت ۵ دقیقه جوشانده و واکنش پایان یافت. پس از سانتریفیوژ، مایع رویی با استفاده از رزین های تبادل یونی (Dowex 50-100 mesh: 50WX8، H+-form؛ X81، فرمت فرمت، Sigma) یونیزه شد. تشکیل استاکیوز توسط HPLC با تشخیص آمپرومیلی لیتریک پالسی (DX 500، Dionex، Sunnyvale، CA) بر روی ستون Carbopac PA10 (۲۵۰ × ۴ میلی‌میلی لیتر، Dionex) با ۱۰۰ میلی‌میلی لیتر NaOH به عنوان شوینده با سرعت جریان ۱ میلی‌لیتر دقیقه بررسی شد. (۳۰ درجه سانتیگراد). برای تعیین فعالیت GOS، آماده سازی آنزیمی با ۲۰ میلی میلی لیتر d-ononitol و ۱۰ میلی میلی لیتر گالاکتینول انکوبه شدند. محصولات واکنش توسط HPLC با تشخیص آمپرومیلی لیتریک پالسی بر روی ستون Carbopac MA1 (۲۵۰ × ۴ میلی‌میلی لیتر، دیونکس) با ۱۰۰ میلی‌میلی لیتر NaOH با سرعت جریان ۰/۴ میلی‌لیتر در دقیقه در دمای ۲۰ درجه سانتیگراد جدا شدند. هویت محصولات واکنش توسط GC-MS بررسی شد. غلظت پروتئین با BSA به عنوان استاندارد، با استفاده از روش اتصال رنگ برادفورد (آزمایش پروتئین، Bio-Rad) برآورد شد.

تعیین مقدار کربوهیدرات های غیر ساختاری: برای اندازه مقدار انواع قندها به روش HPLC با درجه بالا به روش Gobbet (۲۰۰۲) انجام شد (۷). برای هریک از تیمارها مقدار۳۰ گرم از برگهای پیر، جوان و ساقه گیاه ملیس بصورت همگن در^{o}C 3-2 با ۰/۱ میلی لیتر بافر Tris-HCl (pH= 7/6) حاوی ۰/۳ میلی لیتر مانیتول، MgCl2 0.01، EDTA 0.02 میلی لیتر، سیستئین–HCl 0.02 میلی لیتر،۰/۰۲ میلی لیتر DIECA و ۱۰ درصد TritonX-100 در آسیاب همگن شد. سپس نمونه ها از طریق دو لایه پارچه ململ صاف شدند. نمونه صاف شده در۱۵۰۰۰ دور به مدت ۱۵ دقیقه سانتریفیوژ شدند. پس از این مرحله، ۲۰ درصد (v/v) گلیسرول به محلول اضافه شد و نمونه ها با در نیتروژن مایع به سرعت منجمد شدند. پس از خروج از نیتروژن مایع از عصاره اتانولی هریک از نمونه ها برای تفکیک و اندازه‌گیری قندهای استاکیوز، ورباسکوز، رافینوز، فروکتوز، گلوکز، ساکارز و مالتوز در برگ و ریشه با استفاده از دستگاه (HPLC, Germany, Knuer) با ستون (EURO H Kat) در دمای ستون ۲۵ درجه سانتیگراد و فاز متحرک آب میلی‌کیو با واکنش شیمیایی ۲ با جریان ۰/۷ میلی لیتر بر دقیقه و دتکتور RI اندازه گیری شد. جمع آوری و پردازش millennium داده های کروماتوگرافی توسط نرم افزار Excel انجام شد. برای تجزیه آزمون آماری از نرم افزار SPSS ورژن ۲۰ و برای بررسی نتایج از آزمون آنالیز واریانس استفاده شد.

نتایج

مقایسه مقدار قند ها در برگهای پیر(source) ، جوان (sink)و ساقه: اندازه گیریهای مقدار کربوهیدراتها متناسب با استانداردها در کروماتوگرام تعیین شد و نتایج نشان داد با افزایش زمان دوده دهی قندها به صورت متفاوت در برگهای پیر، جوان و ساقه تغییر یافتند که در بیشتر موارد معنی دار است.

مالتوز: مقدار قند مالتوز در برگهای پیر بیشتر از برگهای جوان و ساقه $P\leq0.05$ (شکل۱) است. با افزایش زمان دوده دهی میزان قند مالتوز در برگهای پیر به شدت افزایش یافت $P\leq0.05$. تغییر مقدار مالتوز در ساقه و برگهای جوان معنی دار نبود.

فروکتوز: مقدار قند فروکتوز در برگهای جوان بسیار بیشتر از برگهای پیر و ساقه است $P\leq0.05$ (شکل۲). با افزایش زمان دوده دهی مقدار قند فروکتوز در برگهای جوان به شدت کاهش یافت $P\leq0.05$. با افزایش زمان دوده دهی مقدار فروکتوز در برگهای پیر کاهش یافت $P\leq0.05$. تغییر فروکتوز در ساقه ناچیز است.

DOI: 10.22034/jpr.2023.2323 مقاله پژوهشی، صفحات ۳۵۰-۳۴۲

گلوکز: مقدار گلوکز در برگهای جوان بسیار بیشتر از برگهای پیرو مقدار گلوکز ساقه بسیار ناچیز است P≤0.05(شکل۳). با افزایش زمان دوده دهی مقدار قند گلوکز در برگهای جوان و پیر به شدت کاهش یافت P≤0.05، و این کاهش در جوان بیشتر از برگهای پیر است P≤0.05.

استاکیوز: مقدار قند استاکیوز در ساقه بسیار بیشتر از برگهای پیر و جوان است P≤0.05 (شکل۴). با افزایش زمان دوده دهی مقدار قند استاکیوز در ساقه کاهش یافت P≤0.05. با افزایش زمان دوده دهی مقداراستاکیوز در برگهای پیر و جوان کاهش یافت P≤0.05.

رافینوز: مقدار رافینوز در برگهای پیر بیشتر از ساقه و در ساقه بیشتر از برگهای جوان است P≤0.05 (شکل۵). با افزایش زمان دوده دهی مقدار قند رافینوز در برگهای جوان افزایش یافت P≤0.05، در حالیکه مقدار رافینوز در برگهای پیر و ساقه کاهش یافت که این کاهش در ساقه بیشتر از برگهای پیر است P≤0.05.

ساکارز: مقدار ساکارز در ساقه بسیار بیشتر از برگهای پیرو جوان است P≤0.05 (نمودار-۶). با افزایش زمان دوده دهی مقدار قند ساکارز در ساقه کاهش یافت P≤0.05. با افزایش زمان دوده دهی مقدار ساکارز در برگهای پیر کاهش و در برگهای جوان افزایش یافت P≤0.05.

ورباسکوز: مقدار ورباسکوز در برگهای جوان بسیار بیشتر از ساقه و در ساقه بیشتر از برگهای پیر است P≤0.05(شکل۷). با افزایش زمان دوده دهی مقدار قند ورباسکوز در برگهای پیر، جوان و ساقه کاهش یافت P≤0.05، بطوریکه این کاهش در برگهای پیر بیشتر از برگهای جوان و ساقه است P≤0.05.

مقایسه انواع قندها درمقصد: با مقایسه مقدار انواع قندها در مقصد به ترتیب فروکتوز= گلوکز> ساکارز> رافینوز> استاکیوز است (شکل۸). با افزایش زمان دوده دهی مقدار قند گلوکزو فروکتوز در مقصد افزایش یافت P≤0.05. در صورتیکه ساکارز کاهش یافت P≤0.05. مقایسه انواع قندها درساقه (با افزایش زمان دوده دهی مقدار انواع قندها در ساقه) کاهش یافت (شکل۹). مقایسه انواع قندها در منبع با افزایش زمان دوده دهی مقدارهمه قندها به شدت در منبع کاهش یافت P≤0.05. (شکل۱۰).

نشاسته: مقدار نشاسته در برگهای پیر بسیار بیشتر از برگهای جوان و ساقه است P≤0.05 (شکل۱۱). باافزایش زمان دوده دهی مقدار نشاسته در برگهای پیر به شدت کاهش یافت P≤0.05. با افزایش دوده دهی مقدار نشاسته در برگهای جوان به مدت ۱۲ ساعت دوده دهی تغییری نداشت سپس در ادامه با افزایش زمان دوده دهی ۱۵ تا ۱۸ ساعت کاهش یافت P≤0.05.

فعالیت آنزیم SPS: میزان فعالیت آنزیم SPS در برگهای پیر بیشتراز برگهای جوان است P≤0.05 (شکل۱۲). باافزایش زمان دوده دهی تا ۹ ساعت فعالیت آنزیم SPS در برگهای پیر و جوان افزایش یافت P≤0.05، و این افزایش در برگهای پیر بیشتر از برگهای جوان است P≤0.05. با ادامه افزایش زمان دوده دهی فعالیت آنزیم SPS در برگهای پیر وجوان کاهش یافت P≤0.05.

فعالیت آنزیمSS: میزان فعالیت آنزیمSS دربرگهای جوان بسیار بیشتراز برگهای پیر است P≤0.05 (شکل۱۳). با افزایش زمان دوده دهی تا۱۲ ساعت فعالیت آنزیم SS در برگهای جوان افزایش یافت P≤0.05، سپس با افزایش زمان دوده دهی ۱۵ تا ۱۸ ساعت این فعالیت کاهش یافت P≤0.05. با افزایش زمان دوده دهی فعالیت آنزیم SS در برگهای پیر روند کاهشی داشت.

فعالیت آنزیم اسید اینورتازAI: میزان فعالیت آنزیمAI دربرگهای جوان بسیار بیشتراز برگهای پیر است P≤0.05 (شکل۱۴). با افزایش زمان دوده دهی تا ۶ساعت فعالیت آنزیم AI در برگهای جوان افزایش یافت P≤0.05. سپس با افزایش زمان دوده دهی از۶ تا ۱۲ ساعت فعالیت آنزیم AI دربرگهای جوان کاهش یافت P≤0.05. با افزایش زمان دوده

مقاله پژوهشی، صفحات ۳۵۰-۳۴۲
DOI: 10.22034/jpr.2023.2323

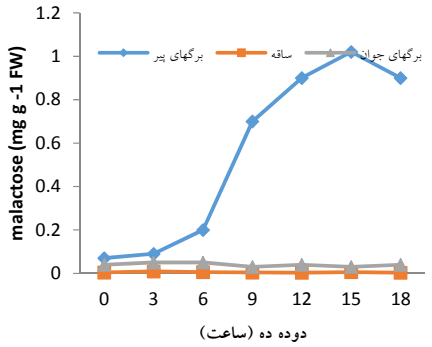
دهی فعالیت آنزیم AI در برگهای پیر روند افزایشی دارد P≤0.05.

فعالیت آنزیم اینورتاز قلیایی alkaline in: میزان فعالیت آنزیم alkaline in دربرگهای جوان بیشتراز برگهای پیر است P≤0.05 (شکل۱۵). با افزایش زمان دوده دهی فعالیت آنزیم alkaline in در برگهای پیر و جوان افزایش افزایش یافت P≤0.05.

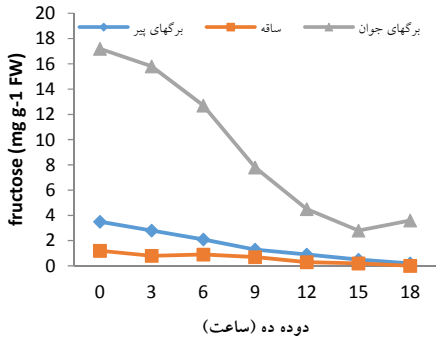
فعالیت آنزیمSTS: میزان فعالیت آنزیمSTS در برگهای پیر بسیار بیشتراز برگهای جوان است P≤0.05 (شکل۱۶). با افزایش زمان دوده دهی تا ۴ساعت فعالیت آنزیم STS در برگهای پیر افزایش یافت P≤0.05. سپس با افزایش زمان دوده دهی از۶ تا ۱۲ ساعت فعالیت آنزیمSTS دربرگهای پیر کاهش یافت P≤0.05. با افزایش زمان دوده دهی فعالیت آنزیم STS در برگهای جوان روند افزایش داشت P≤0.05 .

بحث و نتیجه گیری

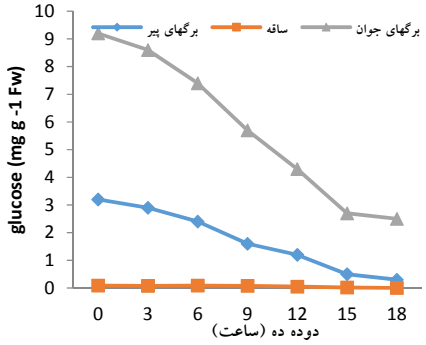
تغییر غلظت کربوهیدراتها در منبع (source) و مقصد (sink) و سیستم انتقال: گزارشهای زیادی نشان داده اثرات آلاینده های هوا روی گیاهان دامنه وسیعی از آسیبها را در بر می گیرد و بطور عمده بیشتر روی فرایند فیزیولوژیکی مرتبط با متابولیسم کربن تأثیر گذارهستند. آلاینده های جوی میزان فتوسنتز در واقع تثبیت کربن را باتوجه به روند رشد گیاه کاهش می دهند (۱۱).



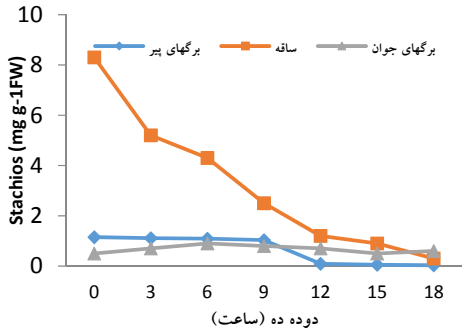
شکل۱- اثر دوده دهی روی تغییرات قند مالتوز sd=۰.۱۸



شکل۲- اثر دوده دهی روی تغییرات قند فروکتوز sd=۲.۳

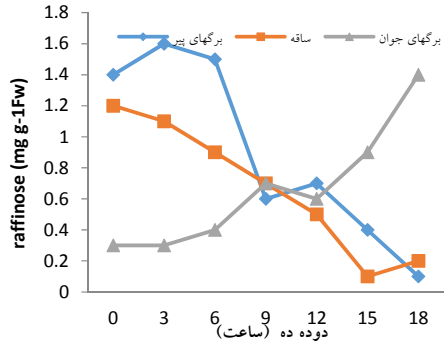


شکل۳- اثر دوده دهی روی تغییرات قند گلوکز sd=۰.۹۴

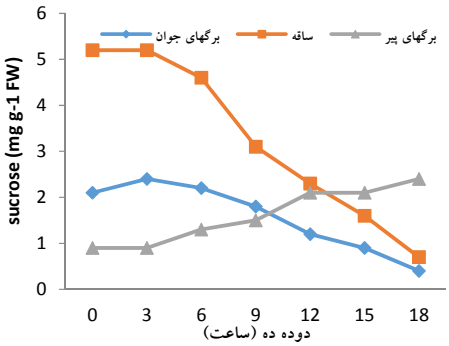


شکل۴- اثر دوده دهی روی تغییرات قند استاکیوز sd=۰.۷۸

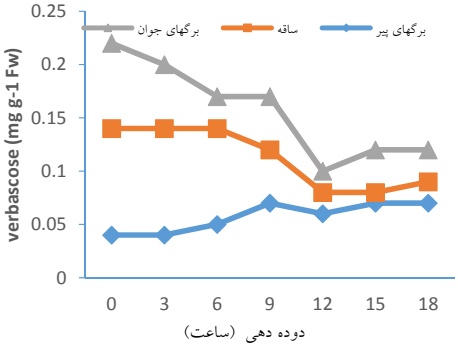
DOI: 10.22034/jpr.2023.2323
مقاله پژوهشی، صفحات ۳۵۰-۳۴۲



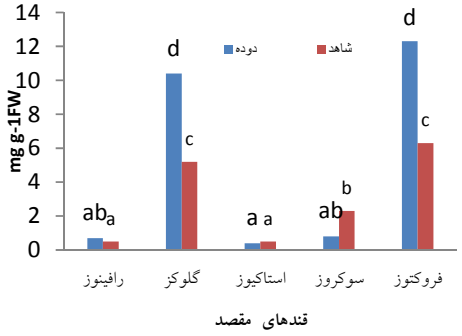
شکل۵- اثر دوده دهی روی تغییرات قند رافینوز sd=۰.۱۵



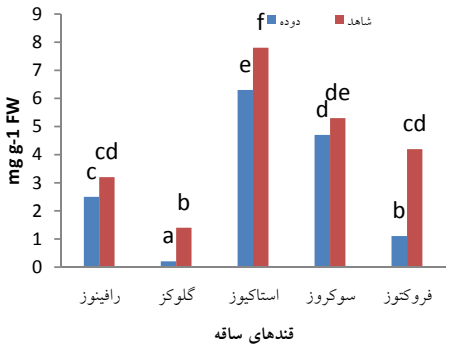
شکل۶- اثر دوده دهی روی تغییرات قند ساکارز sd=۱.۰۵



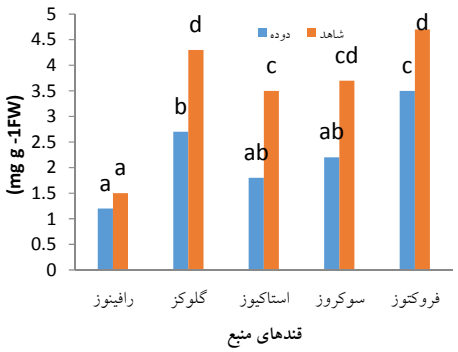
شکل۷- اثر دوده دهی روی تغییرات قند ورباسکوز sd=۰.۰۲



شکل۸- تغییر قندها در برگهای جوان (مقصد)



شکل۹- تغییر مقدار قندها در ساقه



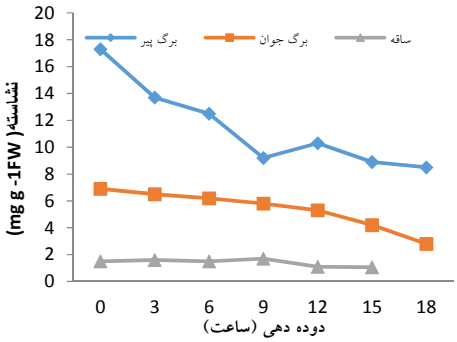
شکل۱۰- تغییر قندها در برگهای پیر (منبع)

نتایج این تحقیق نشان داد با افزایش زمان آلودگی مقدار قندهای شش کربنه یا مونوساکارید شامل فروکتوز و گلوکز که با هم مجموع قندهای محلول را تشکیل می دهند، در منبع و مقصد کاهش می یابد. با مقایسه این دو قند مقدار فروکتوز در منبع و مقصد بیشتر از گلوکز است. تغییر مقدار این دو قند در منبع تقریباً مساوی ولی در مقصد مقدار فروکتوز بسیار بیشتر ازگلوکز است که با نتایج Bu chi و همکاران (۱۹۹۸) همخوانی دارد. ساکارز نقش مرکزی را در متابولیسم کربوهیدرات درگیاهان ایفا می‌کند.

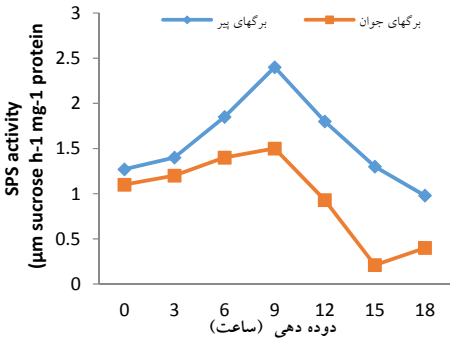
ساکارز از ترکیبات دو قندی است و شکل اصلی انتقال کربن در گیاه است که اثرات باز دارندگی روی اکثر فرایند های بیوشیمیایی ندارد و فاقد خاصیت احیا کنندگی است

مقاله پژوهشی، صفحات ۳۵۰-۳۴۲
DOI: 10.22034/jpr.2023.2323

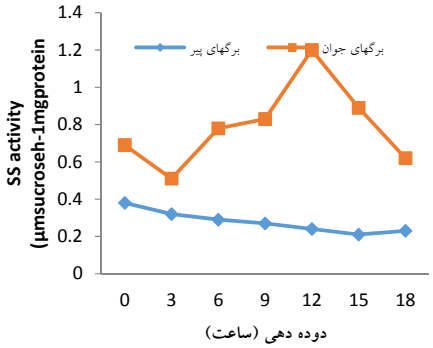
(۲۰). از طرفی رافینوز، استاکیوزو ورباسکوز بعنوان فرمهای انتقالی و ذخیره‌ای قندها نیز دارای اهمیت هستند. با مقایسه انواع دی، تری، تتراوپنتاساکارید به ترتیب ساکارز، رافینوز، استاکیوز و ورباسکوز ملاحظه شد مقدار ساکارز در منبع و مقصد و ساقه به عنوان قند انتقالی بیشتر از سایر قندها تغییر کرده که احتمالاً بخاطر تغییر در مکانیسمهای که از یک سو تولید ساکارز را در سیتوپلاسم با تهیه فراورده فتوسنتزی در کلروپلاست و از سویی دیگر با درخواستهای فرایند مقصد تنظیم می‌کنند (۱۵و ۱۷).



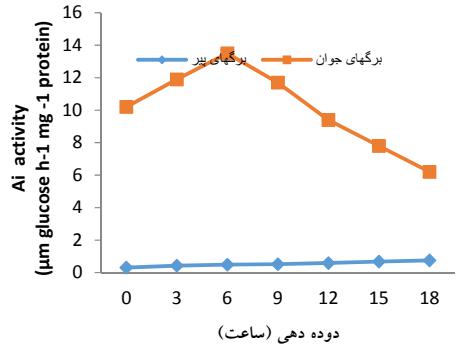
شکل ۱۱- اثر دوده دهی روی تغییرات نشاسته sd=۲.۷



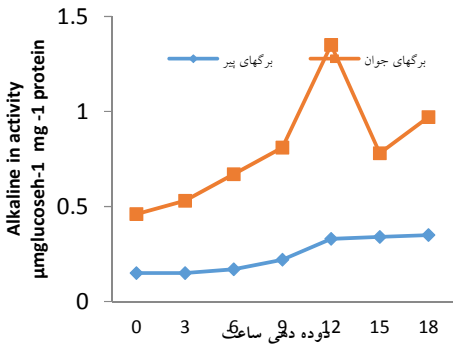
شکل۱۲. اثر دوده دهی روی فعالیت آنزیم SPS, sd=۰.۸۲



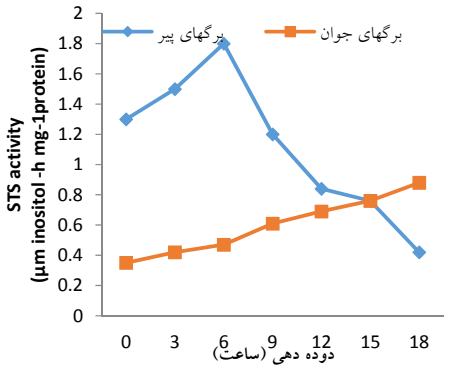
شکل-۱۳ اثر دوده دهی روی فعالیت آنزیم SS sd=۰.۰۶



شکل-۱۴ اثر دوده دهی روی فعالیت آنزیم اسید اینور تاز sd=۰.۹۵



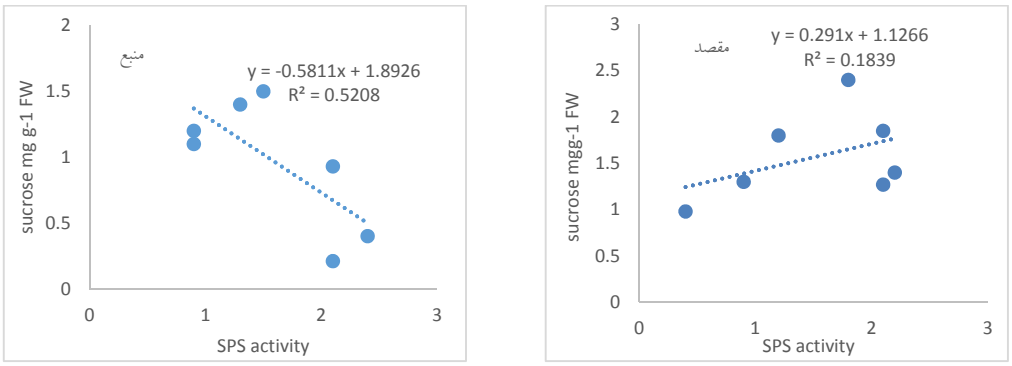
شکل ۱۵- اثر دوده دهی روی فعالیت آنزیم اینورتاز قلیایی Sd=۰.۰۸



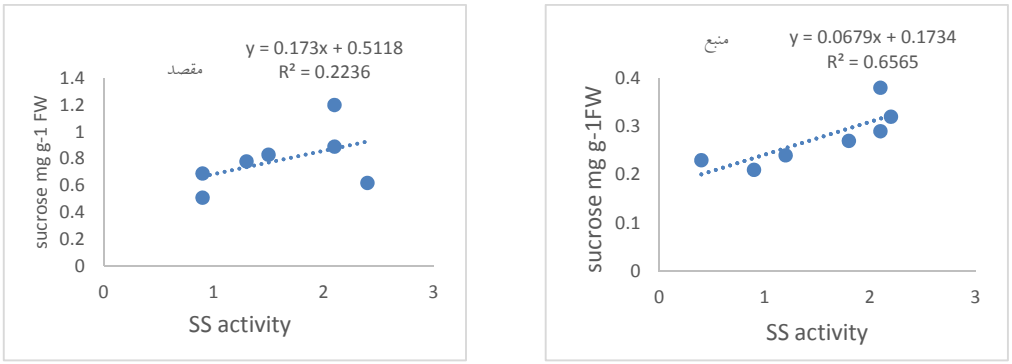
شکل ۱۶- اثر دهی روی فعالیت آنزیم STS, sd=۰.۱۲

مقاله پژوهشی، صفحات ۳۵۰-۳۴۲
DOI: 10.22034/jpr.2023.2323

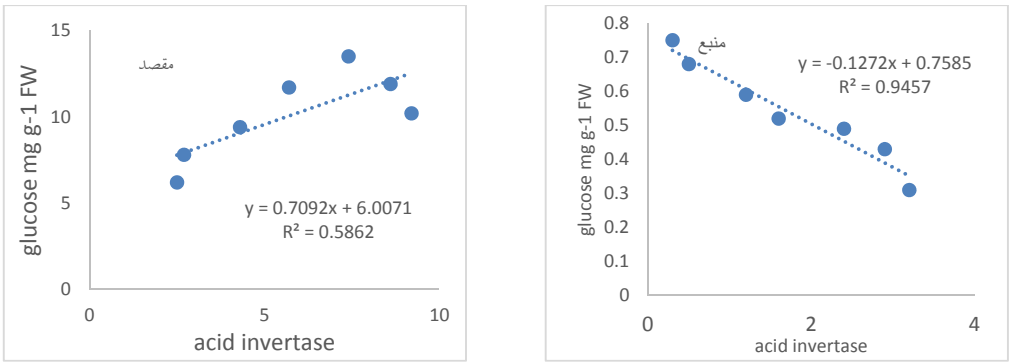
با مقایسه دی ساکاریدها مقدار ساکارز در ساقه و منبع و مقصد بسیار بیشتر از مالتوز است. بنابراین برگها به عنوان منبع تولید قندها و ساقه به عنوان مسیر انتقال قند جهت قسمت بندی کربن تثبیت شده به مقصد مانند برگها و اندامهای در حال رشد ملیس تقسیم بندی وجود دارد (۱۸). نتایج نشان داد با افزایش زمان آلودگی مقدار مالتوز در برگهای پیر در سطح معنی‌دار افزایش یافت، در صورتیکه مقدار این قند در ساقه و مقصد تغییراتی نداشت. مقدار ساکارز در ساقه بیشتر از مقصد و منبع است و با افزایش زمان آلودگی مقدار ساکارز در ساقه بسیار کاهش یافت، در منبع کاهش و در مقصد افزایش یافت.



شکل ۱۸- رگرسیون و همبستگی بین فعالیت آنزیم SPS با تغییر ساکارز در منبع و مقصد

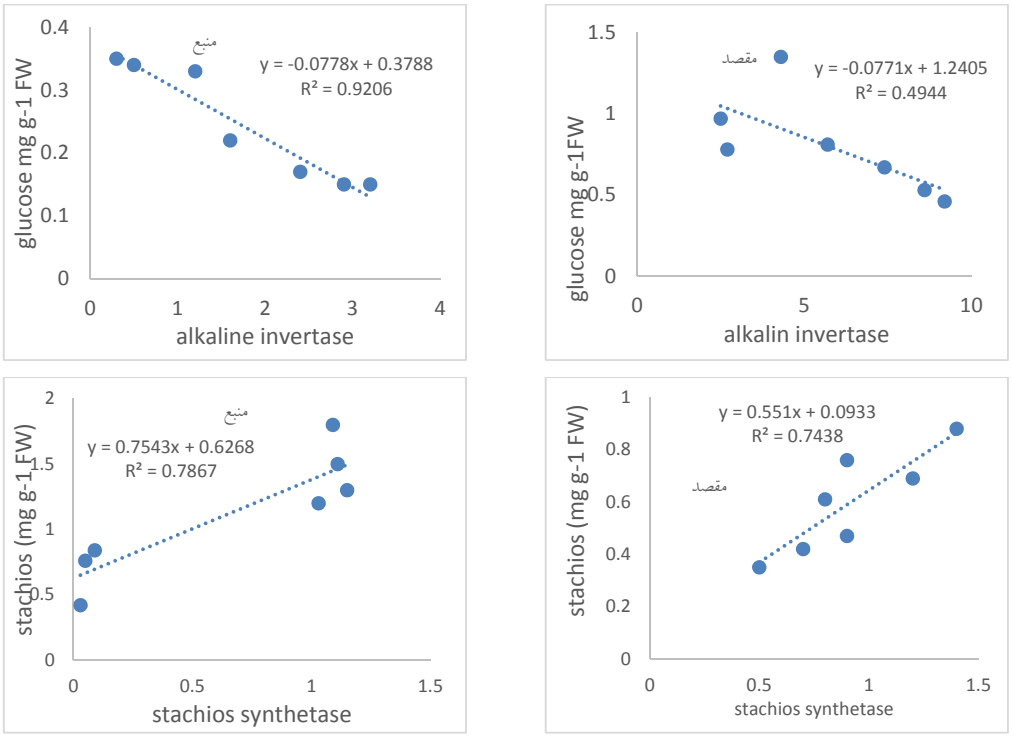


شکل۱۹- رگرسیون و همبستگی بین فعالیت آنزیمSS با تغییر ساکارز در منبع و مقصد



شکل ۲۰- رگرسیون و همبستگی بین فعالیت آنزیم acid invertase با تغییر گلوکز در منبع و مقصد

مقاله پژوهشی، صفحات ۳۵۰-۳۴۲
DOI: 10.22034/jpr.2023.2323



شکل ۲۱- رگرسیون و همبستگی بین فعالیت آنزیم alkaline invertase با تغییر گلوکز در منبع و مقصد

به نظر می رسد با افزایش زمان آلودگی تولید و بارگیری ساکارز در منبع دچار مشکل شده به همین دلیل مقدار ساکارز در برگهای پیر و ساقه کاهش یافته و یا شاید متابولیسم ساکارز در مقصد بیشترآسیب دیده است. گیاهان کربن را در فتوسنتز تثبیت می کنند و برای رشد و تنفس مصرف می کنند. حداکثر مواد رشد چه از نظر پیش ماده-های رشد ویا از نظر انرژی از فرایند گلیکولیز بویژه چرخه کربس تامین می گردد. بنابراین اگر کربن تثبیت شده بخواهد به مواد رشد تبدیل گردد، حتماً باید از چرخه گلیکولیز عبور نماید. در مقصد تنفس بیشتر از فتوسنتز آسیب دیده است که سبب تجمع ساکارز در مقصد شده است. چون گیاهان از کربن تثبیت شده برای تنفس، تولید هورمونها و برگ، ریشه و مواد ذخیره استفاده می کنند (۱۴). در مقایسه انواع قندها مقدار چهار قندی مانند استاکیوز بسیار بیشتر از رافینوزو ورباسکوزاست. استاکیوز در ساقه بیشتر از منبع و مقصد هست و به عنوان قند انتقالی با ساکارز قابل مقایسه است. مقدار ساکارز از قندهای دی ساکاریدی بیشترین مقدار در ساقه وجود دارد و در برگهای مقصد کمتر از منبع است. البته مقدار ساکارز و استاکیوز که در شیره آوندی یا ساقه به صورت جریانی بالا است و با افزایش زمان دوده دهی میزان کاهش استاکیوز بیشتر از ساکارز است. می توان گفت ساکارز بیشتر ازاستاکیوز فرم انتقالی قند در گیاه ملیس است که با نتایجSayed و همکاران (۲۰۱۴) مطابقت دارد. با افزایش زمان دوده دهی مقدار مالتوز در منبع افزایش و در مقصد بدون تغییر در صورتیکه مقدار ساکارز در مقصد افزایش و در منبع کاهش یافت. شاید میزان افزایش مالتوز در منبع با کاهش ساکارز همخوانی داشته باشد. در برگهای جوان مقدار قندهای ورباسکوز، گلوکز، فروکتوز بیشتر از برگهای پیر و ساقه است. در برگهای پیر مقدار قندهای نشاسته، رافینوزو مالتوز بیشتر از برگهای جوان و ساقه است. تعادل بین انواع قندها یا تخصیص‌های مختلف کربن برای رشد

DOI: 10.22034/jpr.2023.2323 مقاله پژوهشی، صفحات ۳۵۰-۳۴۲

توسط هورمونهای گیاهی تنظیم می شود. یکسری قندها مانند گلوکز و فروکتوز که با گروههای عاملی پروتئینها و قندهای دیگر واکنش نشان می دهند. بنابراین خاصیت احیا کنندگی دارند (۱۲و ۱۹). با در نظرگرفتن موقعیت ساکارز به عنوان قند انتقالی مکانیسم های وجود دارد که از یک سو تولید ساکارز را در سیتوپلاسم با تهیه فراورده فتوسنتزی در کلروپلاست و از سویی دیگر با درخواستهای فرایند مقصد تنظیم می‌کند (۸). اساساً روند بیوسنتزی انواع دی، تری و تتراپلی ساکارید با ایجاد پیوند گلیکوزیدی بین کربن شماره یک گلوکزیل جدید و کربن شماره چهار آخرین گلوکزیل زنجیره گلوکان بوجود می آید. با این روند مرحله به مرحله یک زنجیر بلند گلیکوزیل ساخته می‌شود و زنجیر درامتداد $C_1 \rightarrow C_4$ مرتباً طویل می‌گردد. بنابراین به ترتیب دی، تری، تترا و پنتاساکارید مانند ساکارز، رافینوز، استاکیوز و ورباسکوز تشکیل می شود (۲۱). نتایج نشان داد مقدار کل نشاسته در برگهای پیر خیلی بیشتر از برگهای جوان بود و با اعمال تیمار دوده دهی مقدار نشاسته در برگهای پیر و جوان کاهش یافت. با مقایسه روند تغییر مقدار نشاسته و ساکارز، دوده دهی میزان ساکارز را در برگهای جوان افزایش داده ولی مقدار نشاسته را کاهش داده است در واقع آلودگی دوده میزان قند بصورت محلول در مقصد افزایش یافته است (۱۴) البته انواع چند قندی‌ها در مقصد متفاوت متابولیزه شده اند و نتایج دقیقی را نمی توان تعیین کرد. ساکارز نقش مهمی در متابولیسم گیاهی دارد زیرا این مولکول در مقایسه با استاکیوز مهمترین فرم انتقالی قند در ملیس است. در تفاوت ساکارزو استاکیوز با سایر چند قندی‌های مانند مالتوز، رافینوز و ورباسکوز می‌توان گفت ساکارز و استاکیوز تغییرات بیشتری دارند و فرم انتقالی قند هستند در حالیکه رافینوز، مالتوز و ورباسکوز بیشتر فرم ذخیره ای قند هستند. با اعمال تیمار زمان دوده دهی تغییر مقدار قند رافینوز در منبع و ساقه و مقصد روندی مشابه ساکارز داشته است که با نتایج Bunce و همکاران (۱۹۹۰) مطابقت دارد. با مقایسه داده‌ها ملاحظه شد روند تغییرات قندها در منبع و مقصد متفاوت تغییر یافتند که با شرایط طبیعی متفاوت است. در سلولهای مزوفیل سنتز ساکارز به طور معمول مهمترین مسیر مصرف تریوز فسفات است. اولین واکنش برگشت پذیر سنتز ساکارز به وسیله فروکتوز ۱-۶ بیس فسفاتاز سیتوسلی کاتالیز می شود. این واکنش نقطه کنترل کننده مهمی بوده و یک دریچه ورودی است که ازطریق آن تریوزفسفات برای سنتز ساکارز برگشت داده می‌شود.

ساکارز در سیتوپلاسم از منبع هگزوز منو فسفات از طریق فعالیتهای آنزیم SPS و SS سنتزمی‌شود. در واکنش شکستن ساکارز نیز دو آنزیم دخالت دارند (۱۷). آنزیم اینورتازها هستند که ساکارز را شکسته و تولید فروکتوز و گلوکز می نمایند (۱۸).

نتایج نشان داد میزان فعالیت آنزیم SS در مقصد ابتدا افزایش سپس کاهش یافت، بطوریکه مقدار پروتئین آنزیم در شاهد 0.69 sucrose mM $h^{-1}mg^{-1}$ protein و با زمان دوده دهی تا ۱۲ ساعت به 0.79 sucrose mM h^{-1} mg^{-1} protein افزایش یافت، و در ادامه کاهش یافت. کاهش فعالیت آنزیم SS در منبع بعد از افزایش یک روند تدریجی است که با افزایش زمان دوده دهی پیش می رود. میزان فعالیت آنزیم SS در منبع بیش از فعالیت این آنزیم در مقصد است. بااین توصیف با افزایش زمان دوده دهی رگرسیون بین فعالیت آنزیم SS و سنتز ساکارز در مقصد و منبع به ترتیب R^2=۰/۲۲ R^2=۰/۶۵ همبستگی نشان داد (نمودار-۱۹). بنابراین با افزایش زمان دوده دهی میزان فعالیت آنزیم SS در برگهای پیر بیشتر از برگهای جوان آسیب دیده است.

دومین آنزیم که در مقایسه با آنزیم SS نقش بیشتری در تشکیل ساکارز دارد آنزیم (ساکارز فسفات سنتتاز) SPS (نمودار-۱۴) است. در بیشتر تحقیقات فعالیت آنزیم SPS را مسئول سنتز ساکارز در گیاهان معرفی کرده اند (۵ و

DOI: 10.22034/jpr.2023.2323
مقاله پژوهشی، صفحات ۳۵۰-۳۴۲

۱۰) میزان فعالیت این آنزیم در منبع بیشتر از مقصد است $P\leq0.05$. میزان فعالیت این آنزیم در منبع و مقصد با افزایش زمان دوده دهی ۹ ساعت افزایش یافت، بطوریکه مقدار پروتئین آنزیم در منبع از ۱/۲ به ۲/۵ sucrose mM $h^{-1}mg^{-}$ protein [1] افزایش یافت $P\leq0.05$ ، و در ادامه با افزایش زمان دوده دهی کاهش یافت $P\leq0.05$. رگرسیون بین فعالیت آنزیم SPS و سنتز ساکارز در مقصد و منبع به ترتیب R^2=۰/۵۲ و منبع R^2=۰/۱۸ همبستگی نشان داد (نمودار-۱۸). بنابراین با افزایش زمان دوده دهی میزان فعالیت آنزیم SPS در برگهای پیر بیشتر از برگهای جوان آسیب می بیند. بنابراین سنتز ساکارز در منبع اساساً دچار مشکل شده و میزان انتقال آن در ساقه کاهش یافته است. آنزیم های SPS وSS آنزیمهای هستند که در سیتوپلاسم از منبع هگزوز منو فسفات در واقع تبدیل مواد فتوسنتزی به ساکارز و رشد گیاه نقش اساسی دارند. باتوجه به تحقیقات Salerno و همکاران (۲۰۰۳) و Turgeon و همکاران (۲۰۰۹) میزان تولید ساکارز از الگویی تعادل بین میزان سنتز و مصرف آن پیروی می کند. در مقایسه آنزیم های SPS وSS، نتایج نشان داد افزایش زمان دوده دهی سبب شده میزان همبستگی بین فعالیت SPS و تولید ساکارز در منبع بیشتر از مقصد آسیب ببیند و این روند برای SS عکس هست که با نتایج Kleines و همکاران (۱۹۹۹) مطابقت دارد. نتایج نشان داد بخش بیشتر ساکارز توسط SPS تولید می شود و در منبع سنتز ساکارز دچار مشکل شده است. افزایش ساکارز در مقصد با مصرف آن ارتباط دارد. از آنجائیکه تولید ساکارز توسط آنزیم SPS با مصرف انرژی بیشتری همراه است، احتمالاً کاهش تولید انرژی در منبع سبب کاهش فعالیت SPS شده است. البته با توجه به ضرائب همبستگی فعالیت آنزیم SS وSPS در منبع و مقصد دوده دهی الگویی بین میزان سنتز و مصرف ساکارز را در منبع و مقصد تغییر داده به طوریکه فعالیت آنزیم SPS بیشتر از SS متناسب با کاهش سنتز ساکارز در منبع هست. با این تفاوت که میزان فعالیت آنزیم SS همواره بسیار کمتر از فعالیت SPS است. عوامل زیادی روی فعالیت آنزیم SS دخالت دارند. گزارشهای زیادی نشان داده فعالیت آنزیم SS در بعضی شرایط هم جهت با فعالیت SPS و در بعضی موارد برخلاف SPS فعالیت دارد (۱۲).

تحقیقات نشان داده شکستن ساکارز در واکوئل توسط انورتاز اسیدی شکسته شده که به قندهای شش کربنه می انجامد در نتیجه انواع قندهای هگزوز صادر می شوند. برخی گیاهان اسیمیلاتها را به صورت قندهای الکلی یا الیگوساکاریدهای خانواده رافینوز از منبع به اندامهای مقصد صادر می کنند (۱۸)

میزان فعالیت آنزیمهای اینورتاز قلیایی ALk و اینورتاز اسیدی AI که در کاتابولیسم ساکارز دخالت دارند در منبع و مقصد اندازه گیری شدند. میزان فعالیت آنزیم اینورتاز اسیدی AI که در تجزیه ساکارز دخالت دارد در برگهای پیر افزایش یافت، بطوریکه مقدار پروتئین آنزیم بعد از اعمال تیمار دوده دهی به ۱۰ به ۱۳ $glucose\ h^{-1}mg^{-1}$ mμ protein افزایش یافت. میزان فعالیت آنزیم اینورتاز اسیدی AI ابتدا افزایش، و در ادامه کاهش یافت بطوریکه غلظت پروتئین آنزیم از ۱۳ به ۶/۱ $glucose\ h^{-1}\ mg^{-1}$ mμ proteinm کاهش یافت.

میزان فعالیت آنزیم اینورتاز Alk که در شکستن ساکارز دخالت دارد در منبع و مقصد افزایش یافت. غلظت پروتئین آنزیم در برگهای جوان بیش از ده برابر برگهای پیر است، بطوریکه مقدار پروتئین آنزیم در برگ جوان از۰/۴۲ به ۱/۴ $\mu m\ glucose\ h^{-1}\ mg^{-1}$ protein افزایش یافت. روند افزایش فعالیت اینورتاز Alk در برگهای پیر بصورت خطی است و غلظت پروتئین آنزیم از ۰/۰۸به ۰/۳ μm $glucose\ h^{-1}\ mg^{-1}$ protein به تدریج افزایش یافت. انواع انورتاز وجود دارند فعالیت انورتاز قلیایی در غلظت بالای فروکتوز ۲۰-۳۰ mM باز داشته می‌شود پیروی می کند.

مقاله پژوهشی، صفحات ۳۵۰-۳۴۲
DOI: 10.22034/jpr.2023.2323

میزان فعالیت آنزیم استاکیوز سنتتاز STS که در تشکیل قندهای چهارتایی دخالت دارد در منبع و مقصد اندازه گیری شد. میزان فعالیت آنزیم STS در برگهای پیر بسیار بیشتر از برگهای جوان است و با افزایش دوده دهی مقدار پروتئین آنزیم از ۱/۲ به ۱/۹ mμ inositol $h^{-1}mg^{-1}$ protein افزایش یافت. و در ادامه با افزایش زمان دوده دهی کاهش یافت. میزان فعالیت آنزیم STS در برگهای جوان روند افزایشی داشت، بطوریکه غلظت پروتئین آنزیم از ۰/۴ به ۰/۹ mμ inositol h^{-1} mg^{-1} protein افزایش یافت. ذخایرقندی در گیاهان متفاوت است و در بیشتر گیاهان به صورت نشاسته،آمیلوز و انواع فروکتانها هستند (۲۰).

کربوهیدراتها حاصل از فتوسنتز از راه آوندهای آبکشی به بافت ها و اندامهای مختلف گیاه راه می یابند. در بیشتر گونه های گیاهی بیشترین قند انتقالی ساکارز است. در بعضی رافینوز و مانیتول و سوربیتول هم است. نتایج نشان داد مقدار گلوکز و فروکتوز در آوند آبکش کم بود. به نظر می‌رسد که قندهای احیائ در شرایط دوده کمتر وارد عناصر آبکش می شوند که با نتایج McLaughlin و همکاران مطابقت دارد. کربوهیدرات اصلی انتقالی در گیاه ملیس ساکارزاست. نتایج نشان داد مقدار ساکارز ازقندهای دی ساکاریدی بیشترین مقدار در ساقه وجود دارد و در برگهای مقصد کمتر از منبع است. البته مقدار ساکارز و استاکیوز که در شیره آوندی ساقه است و با افزایش دوده دهی میزان کاهش استاکیوز بیشتر از ساکارز است. می توان گفت ساکارز بیشتر ازاستاکیوز و سایر قندها فرم انتقالی قند در گیاه ملیس است. البته در برخی از گیاهان علاوه براین قند، بسته به گونه گیاهی تری و تتراساکاریدها و یا قندهای الکلی هم یافت می شوند. کربوهیدراتها بیشتر به شکل پلی‌ساکاریدهای با وزن مولکولی بالا به ویژه به صورت رافینوز، نشاسته و یا فروکتانها و همچنین به صورت الیگوساکاریدهای با وزن مولکولی پیر ذخیره شوند (۶).

نتایج نشان داد با افزایش مدت دوده دهی مقدار قندهای محلول در برگهای نوک ساقه افزایش یافت $P\leq0.05$. اساساً افزایش قندها در برگهای نوک حاصل تجمع قندهای ورباسکوز، گلوکز و فروکتوز است. تقریباً از کل قندهای محلول برگهای نوک حدوداً ۹۵ درصد آن را گلوکز و فروکتوز تشکیل می دهند و قندهای الیگوساکاریدی مانند رافینوز و ورباسکوز۵ درصد بقیه را تشکیل می دهند. فرایند تنفس که بیش از نصف کربن تثبیت شده در فتوسنتز را مصرف می کند در پاسخ به افزایش آلودگی افزایش می یابد. به نظر می رسد این افزایش تنفس فرایندهای آسیب دیده را ترمیم می‌کند. هرچند این فرایندها مقدار بیشتری از کربن تثبیت شده را مصرف می‌کند و از طرفی از انتقال کربن ساخته شده ممانعت می‌نماید (۲) آنزیم های مختلفی که در متابولیسم کربوهیدراتها نقش دارند احتمالاً اهداف مختلف آلاینده در برگها هستند.

منابع

1- Anderson, L.E., Muschinek, G., and Marques, I., 1988. Effects of SO_2 and sulfite on stromal metabolism, In *Air Pollution and Plant Metabolism*, ed. S., Schulte-Hostede, N.M., Darrall, L.W., Blank & A.R., Wellburn, Elsevier Applied Science, London and New York, PP: 134–147.

2- Azcón-Bieto, J., 1983. Inhibition of photosynthesis by carbohydrates in wheat leaves., *Plant Physiol.*, 73, PP: 681–686.

3- Bunce, J.A., 1990. Short-and long-term inhibition of respiratory carbon dioxide efflux by elevated carbon dioxide, Annals of Botany, 65, PP: 637–642.

4- Bu chi, R., Bachmann, M., and Keller, F., 1998. Carbohydrate metabolism in source leaves of sweet basil (Ocimum basilicum L.), a starch-storing and stachyose-translocating labiate., J., Plant Physiol., 153, PP: 308-315.

5- Counce, P.A., and Gravois, K.A., 2006. Sucrose Synthase Activity as a Potential Indicator of High Rice Grain Yield, Crop Science, 46, PP:1501- 1508.

مقاله پژوهشی، صفحات ۳۵۰-۳۴۲ DOI: 10.22034/jpr.2023.2323

6- Gao, Z.F., and Schaffer, A.A., 1999. A novel alkaline a-galactosidase from melon fruit with substrate preference for raffinose, Plant Physiol, 119, PP: 979–987.

7- Gobbet, F., Jackson, P., Deery, M.J., and Dupree, P., 2002. Polysaccharide analysis using carbohydrate gel electrophoresis: a method to study plant cell wall polysaccharides and polysac-charide hydrolases, Anal. Biochem, 300, PP: 53–68.

8- Ho, L.C., 1988. Metabolism and compartmentation of imported sugars in sink organs relation to sink strength. Ann. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol, 39, PP: 355–378.

9- Huber, J.L.A., Pharr, D.M., and Huber, S.C., 1990. Partial purification and characterization of stachyose synthase in leaves of Cucumis sativus and Cucumis melo: utilization of a rapid assay for myo-inositol, Plant Sci, 69, PP: 179–188.

10- Kleines, M., Elster, R.C., Rodrigo, M.J, Blervacq, A. S., Salamini, F., and Bartels, D., 1999. Isolation and Expression Analysis of Two Stress-responsive Sucrose-synthase Genes from the Resurrection Plant Crater stigma plantagineum (Hochst.), Planta 209, PP: 13–24.

11- Lorenc-Plucinska, G., 1982. Influence of SO_2 on CO_2 assimilation and carbon metabolism in photosynthetic processes in Scots pine. Arboretum Kornickie, rocznik XXVII, PP: 285–310 (In Pol.).

12- Miao, M.M., Xu, X.F., Chen, X.H., Xue, L.B., and Cao, B.S., 2007. Cucumber carbohydrate metabolism and translocation under chilling night temperature, Journal Plant Physiol.

164, 621–628.

13- McLaughlin, S.B., 1985. Effect of chronic air pollution on forests: a critical review. J, Air. Pollut. Control Assoc., 35, PP: 511–534.

14- McLaughlin, S.B., MacConathy, R.K., Dervick D., and Mann, L.K., 1982. Effects of chronic air pollution stress on photosynthesis, carbon allocation and growth of white pine trees. For. Sciences, 28, PP: 60–70.

15- Marschall, M., Proctor, M.C.F., and Smirnoff, N., 1988. Carbohydrate Composition and Invertase Activity of the Leafy Liverwort Porella platyphylla. New Phytol, 138, PP: 343–353.

16- Sayed, A.I., Rafudeen, M.S., and Golldack, D., 2014. Physiological Aspects of Raffinose Family Oligosaccharides in Plants: Protection against Abiotic Stress, Plant Biol, 16, PP: 1–8.

17- Salerno, G.L., and Curatti, L., 2003. Origin of Sucrose Metabolism in Higher Plants: When, How and Why? Trends Plant Sciences. 8, PP: 63–69. (Cross Ref).

18- Turgeon, R., and Wolf, S., 2009. Phloem Transport: Cellular Pathways and Molecular Trafficking. Annu. Rev, Plant Physiol, 60, PP: 207–221. [Cross Ref]

19- Taji, T., Ohsumi, C., Iuchi, S., Seki, M., Kasuga, M., and Kobayashi, M., 2002. Importan roles of drought- and cold-inducible genes for galactinol synthase in stress tolerance in Arabidopsis thaliana, Plant Journal. 29, PP: 417–426.

20- Winter, H., and Huber, S.C., 2000. Regulation of Sucrose Metabolism in Higher Plants: Localization and regulation of Activity of Key Enzymes, Crit. Rev, Plant Sciences 19, PP: 31–67.

21- Wang, F., Sanz, A., Brenner, M.L., and Smith, A., 1993. Sucrose synthase, starch accumulation, and tomato fruit sink strength, Plant Physiol, 101, PP: 321–327.

The effect of environmental pollution smoke on the change of carbohydrates and activity of dependent enzymes in the source Source, stem and Sink in Melissa plant (Melissa-Officinalis)

Malmir H.A. and Kaviani moghaddas E.

Biology Dept., Faculty of Science, Bu-Ali Sina University, Hamedan, I.R. of Iran

Abstract

Source and sink allocation organs play an important role in the balance between sugar production and consumption. In this experiment, the metabolism of carbohydrates and

مقاله پژوهشی، صفحات ۳۵۰-۳۴۲ DOI: 10.22034/jpr.2023.2323

the activities of enzymes related to them were investigated in young leaves (sink), old leaves (source) and stems of Melissa plant after several plants were treated with smoke. The results showed that with the increase ofsmoke time the fructose sugars in the source and sink decreased. The amount of sucrose decreased in the stem and the source and increased in the sink. The amount of verbascose, glucose, and fructose sugars increased in the source and decreased in the sink and stem. The amount of starch, raffinose, maltose increased in the sink and decreased in the source and stem. Comparing the change process of starch and sucrose, smoking increased the amount of sucrose in the destination and decreased the amount of starch. In fact, soot pollution has increased the amount of soluble sugar in the destination. The smoking has changed the amount of sucrose and stachyose more compared to polysaccharides such as maltose, raffinose and verbascose. The amount of SS enzyme activity in the source is more than the activity of this enzyme in the sink, and with the increase of smoking, the amount of SS enzyme activity in the sink and source first increased and then decreased. The regression between SS enzyme activity and sucrose synthesis in sink and source is correlated with R2=0.22 and R2=0.65 respectively. Therefore, the activity of SS enzyme in old leaves is more than that of young leaves that are damaged or due to the reduction of sucrose in the destination. The regression between SPS enzyme activity and sucrose synthesis in sink and source showed a correlation of R2=0.52 and R2=0.18, respectively. Therefore, the level of SPS enzyme activity in old leaves is higher than that of young leaves, or it is due to the lack of reduction of sucrose in the sink. Therefore, the decrease is due to the fact that the amount of sucrose production follows a pattern of balance between the amount of synthesis and its consumption. In the comparison of SPS and SS enrims, the results showed that the sooting activity of SPS has decreased more than that of SS. The activity level of AI acid invertase enzyme, which is involved in breaking down sucrose, increased in the source, also the activity level of Alk invertase enzyme, which is involved in breaking down sucrose, increased in the source and destination. By comparing SPS and SS enzymes, the results showed that the sooting activity of SPS has decreased more than that of SS. The activity level of AI acid invertase enzyme, which is involved in breaking down sucrose, increased at the source, and the activity level of Alk invertase enzyme, which is involved in breaking down sucrose, increased at the source and destination. The level of STS enzyme activity in old leaves is much higher than that of young leaves, and with the increase of soot formation, the amount of enzyme protein first increased and then decreased. Sucrose and stachyose are transfer form of sugar while raffinose, maltose and verbascose are more storage form of sugar. It seems that with the increase of pollution time, the production and loading of sucrose in the source has a problem, that is why the amount of sucrose in the source and stem decreased. Maybe the metabolism of sucrose is more damaged at the destination. In comparing the types of sugars, the amount of stachyose is more than raffinose and raffinose, and as a transition sugar it is comparable to sucrose, and with the increase of the smoking time, the amount of stachyose decrease is more than that of sucrose, $P \leq 0.05$, therefore, the increase of the smoking time balances the balance between the types of sugars or the different allocations of carbon for Growth has changed in source and sink.

Key words: pollution of smokes, source and sink relation, carbohydrate change, the sucrose metabolism enzymes