تأثیر غلظت‌های مختلف سولفات مس ($CuSO_4$) بر برخی پارامترهای فیزیولوژیک بادرنجبویه (*Melissa officinalis* L.)

صالحه نادری[1*] حمیده خواجه[2]و حسن احمدی[3]

۱- دانشجوی دکتری اصلاح نباتات، دانشکده کشاورزی، دانشگاه زابل

۲- عضو باشگاه پژوهشگران جوان و نخبگان، گروه تربیت بدنی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد زابل، ایران

۳- کارشناس پژوهشکده زیست فناوری، دانشگاه زابل، ایران

*نویسنده مسئول: Email: Salehe.naderi@gmail.com

شماره تماس: ۰۹۱۵۱۹۶۳۸۲۹

چکیده

بادرنجبویه با نام علمی *Melissa officinalis* L.گیاهی از خانواده نعناعیان (Lamiaceae) بوده و از گیاهان دارویی می‌باشد که از مهم‌ترین خواص دارویی می‌توان به آرام بخشی، تقویت اعصاب، ضد نفخ و تقویت کننده حافظه اشاره کرد. حضور فلزات سنگین یکی از مهمترین تنش‌های محیطی است که می‌تواند منجر به کاهش رشد و تولید انواع اکسیژن‌های واکنش‌گر شود. در این تحقیق اثر تیمار فلز سنگین سولفات مس ($CuSO_4$) بر روی برخی پارامترهای گیاه بادرنجبویه مورد بررسی قرار گرفت. بدین منظور این گیاه در مرحله ٦ برگی با غلظت‌های مختلف سولفات مس (۰، ۱۰، ۲۰ و ۳۰ میلی مولار) تیمار شد. سپس گیاهان ۲ هفته بعد از اعمال تیمار سولفات مس جهت سنجش محتوای مالون

دی آلدئید، فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدان پراکسیداز و گایاکول پراکسیداز و پلی فنل اکسیداز، برداشت شدند. نتایج بـه دست آمده نشان داد که با افزایش غلظت مس، فعالیت پراکسیداسیون لیپید (مالون دی آلدئید)، میزان فعالیت آنـزیم‌هـای آنتی اکسیدان نسبت به شاهد افزایش معنی‌داری داشت. به طور کلی تمامی غلظت‌های استفاده شده سولفات مس باعث ایجاد سمیت در گیاه بادرنجبویه شد که نشان دهنده حساس بودن گیاه مورد مطالعه به مقادیر بالای مس می‌باشد. هـدف از این تحقیق بررسی اثر سولفات مس بر محتوای مالون دی آلدئید، فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدان پراکسیداز و گایاکول پراکسیداز و پلی فنل اکسیداز گیاه بادرنجبویه می‌باشد.

واژه‌های کلیدی: بادرنجبویه ، مس، آنزیم‌های انتی اکسیدان و مالون دی آلدئید

مقدمه

گیاه بادرنجبویه از تیره نعناعیان، چند ساله، با ساقه چهار گوش و بی‌کرک، ریشه‌های آن استوانه‌ای شکل و خشبی و با ریشه‌های فرعی زیاد، برگ‌های آن بیضی شکل، دندانه‌دار و پوشیده از کرک، گل‌ها هرمافرودیت، کامل و به رنگ زرد، بنفش یا سفید می‌باشد. میوه آن فندقه و چهار فندقه و قهوه‌ای رنگ است. قسمت مورد استفاده آن برگ، سرشاخه‌های جوان و اسانس گیاه می‌باشد (عزتی، ۱۳۸۱؛ امیدبیگی، ۱۳۷۹). این گیاه در بهبود قولنج دوران بچگی (Weizman et al., ۱۹۹۳)، رفع تنگی نفس مزمن، زکام و تب و لرز (Agata et al., ۱۹۹۳)، از بین بردن برخی قارچ‌ها (Mikolajewicz and Filoda, ۱۹۹۸)، به عنوان مسکن (Schulz et al., ۱۹۹۸)، تقویت حافظه (Wake et al., ۲۰۰۰) و بهبود آلزایمر (Bennett, ۲۰۰۳) کاربرد فراوان دارد. یک پاسخ مهم در برابر تنش فلزات سنگین توسط سلول‌های گیاهی، تولید گونه‌های اکسیژن واکنشگر مانند رادیکال سوپر اکسید، هیدروژن پراکسید، رادیکال هیدروکسیل

و اکسیژن یکتایی می‌باشد که سمی هستند (Breusegem et al., ۲۰۰۱). اکسیژن‌های واکنشگر تولید شده در سلول-های گیاهی توسط سیستم‌های آنتی اکسیدان آنزیمی و غیر آنزیمی کنترل می‌شوند (Vranova and Breusegem, ۲۰۰۲). کنترل سطح آنتی اکسیدان‌ها بوسیله سیستم‌های آنتی‌اکسیدانی حاصل می‌شود که شامل متابولیت‌هایی چون گلوتاتیون، آسکوربات، آلفاتوکوفرول، هیدروکوئینون‌ها، بتا کاروتن، فلاونوئیدها و آنزیم‌های روبندگی اکسیژن واکنشگر مانند پراکسیداز، گایاکول پراکسیداز و پلی فنل اکسیداز می‌باشد (Vangronsveld and Clijsters, ۱۹۹٤). مس عنصر کم مصرف ضروری برای رشد گیاهان می‌باشد (Arnon and Stout, ۱۹۳۹). این عنصر در گیاهان به عنوان کوفاکتور در پلاستوسیانین، مس/ روی سوپر اکسید دیسموتاز (Cu/Zn SOD)، سیتوکروم c اکسیداز، گیرنده‌های اتیلن، اکسیدازهای آپوپلاستی از قبیل آسکوربات اکسیداز، دی آمین اکسیداز است (Marschner, ۱۹۹۵). با وجود اهمیت مس در رشد و نمو گیاهی، زمانی که مس به مقدار اضافی در اختیار گیاه قرار گیرد باعث ایجاد علائم سمیت در گیاه می‌شود. پراکسیداسیون لیپیدها، کاهش محتوی لیپیدها و تغییرات در ترکیب اسیدهای چرب غشاهای تیلاکوئید، مشاهده می‌شود، که منجر به تغییر سیالیت غشای تیلاکوئیدها می‌گردد (Quartacci et al., ۲۰۰۰). افزایش مس موجب تنش اکسیداتیو و در نتیجه ایجاد گونه‌های اکسیژن واکنش پذیر مانند رادیکال‌های سوپر اکسید، رادیکال‌های هیدروکسیل، پراکسید هیدروژن و اکسیژن منفرد، می‌گردد. گونه‌های اکسیژن واکنش پذیر ممکن است به چربی‌ها، اسیدهای نوکلئیک، پروتئین‌ها، اسیدهای آمینه، کربوهیدرات‌ها و ماکرومولکول‌های تولید شده در سلول‌ها، آسیب بزنند. گیاه دارویی بادرنجبویه از لحاظ درمان از ارزش خاصی برخوردار است بنابراین، هدف از این پژوهش تأثیر غلظت‌های مختلف سولفات مس ($CuSO_4$) بر برخی پارامترهای فیزیولوژیک گیاه بادرنجبویه است.

مواد و روش‌ها

کشت و آماده سازی بادرنجبویه

برای انجام این پژوهش بذرهای بادرنجبویه از مرکز تحقیقات کشاورزی زابل تهیه و در پائیز ماه سال ۱۳۹۳ در گلدان‌ها در خاک تقریباً سبک از مخلوط مساوی ماسه الک شده، رس، گیاخاک و کود حیوانی کشت شد. پس از کشت، گلدان ها به گلخانه منتقل شدند و در شرایط یکسان در دمای روزانه ۲۵ تا ۳۰ و شبانه ۱۸ تا ۲۰ درجه سانتی گراد تا مرحله ٦ برگی رشد کردند.

تیمار با سولفات مس ($CuSO_4$)

سولفات مس ($CuSO_4$) در غلظت‌های (۰ (شاهد)، ۱۰، ۲۰ و ۳۰ میلی مولار) تهیه شد. اعمال محلول سولفات مس در مرحله ٦ برگی به مدت ۲ هفته داده شد. سپس اندام‌های هوایی گیاه پس از ۲ هفته تیمار سولفات مس برداشت شدند. به این منظور بخش هوایی گیاهان از خاک جدا گردید و برای بررسی فعالیت آنزیم‌ها و دیگر صفات فیزیولوژیک در دمای ۲۰- درجه سانتی گراد نگهداری شدند.

سنجش مالون دی آلدئید

برای سنجش مالون دی آلدئید به عنوان شاخص لیپید پراکسیداسیون غشای سلولی از روش Heath وPacker (۱۹٦۹) استفاده شد. به منظور اندازه گیری مالون دی آلدئید میزان ۲۰۰mg از بافت گیاهی منجمد شده با ۳mL تری کلرو استیک اسید ۱۰٪ سائیده شد. نمونه ها پس از همگن سازی، سانتریفیوژ (۱۲۰۰۰rpm، به مدت ۱۵ دقیقه) شدند.

به ۱mL از نمونه های صاف شده، ۱mL تیو باربیتوریک اسید ۰/۲۵٪ اضافه گردید و به مدت نیم ساعت در دمای ۱۰۰°C قرار داده شدند. میزان مالون دی آلدئید در طول موج های ۵۳۲ nm و ٦۰۰ nm اندازه گیری شد.

اندازه‌گیری آنزیم‌های آنتی اکسیدان

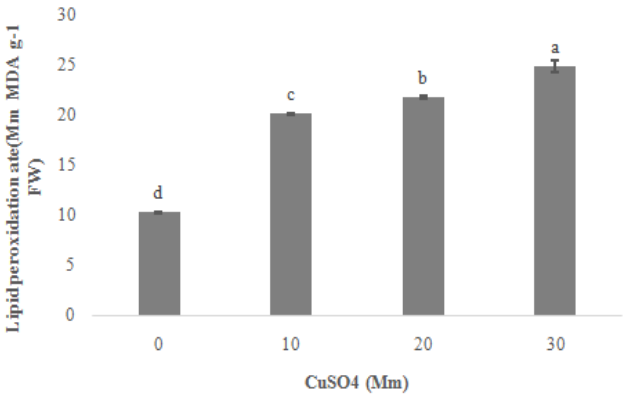
جهت اندازه‌گیری آنزیم‌ها، ۰/۲ گرم از بافت سبز برگ برداشت و با ٤ سی سی بافر پتاسیم فسفات ۱۰۰ میلی‌مولار (pH=۷) و محلول ۰/۱ EDTA mM در هاون سرد کاملاً ساییده، به صورت همگن در آورده شدند. مخلوط همگن از کاغذ صافی عبور و به مدت ۱۵ دقیقه با دور ۱٦۰۰۰ سانتریفیوژ شدند. سپس فاز بالایی به عنوان عصاره پروتئینی برای سنجش فعالیت آنزیمی استفاده شد. همه این عملیات‌ها در دمای ٤ درجه سانتی‌گراد انجام گرفت. در نهایت برای اندازه‌گیری فعالیت آنزیم پراکسیداز از روش Fielding و Hall (۱۹۷۸)، آنزیم پلی فنل اکسیداز از روش Rymond و همکاران (۱۹۹۳) و آنزیم گایاکول پراکسیداز از روش Urbanek و همکاران (۱۹۹۱) استفاده شدند.

تجزیه و تحلیل آماری

همه آزمایش ها با ۳ تکرار به صورت بلوک کامل تصادفی انجام گرفت. مقایسه میانگین ها با استفاده از نرم افزار SAS انجام شد.

تأثیر سولفات مس ($CuSO_4$) بر میزان مالون دی آلدئید

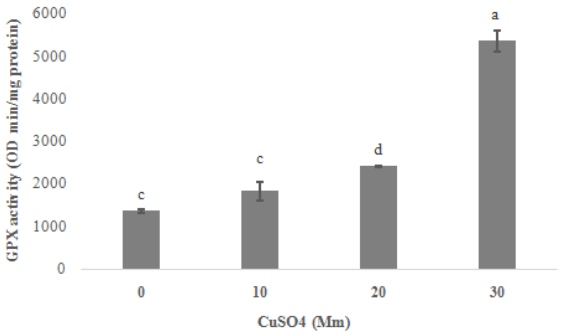
بررسی میزان مالون دی آلدئید تحت تأثیر سولفات مس نشان داد که با افزایش $CuSO_4$ از صفر (نمونه شاهد) تا ۳۰ میلی مولار، میزان مالون دی آلدئید از یک روند افزایشی پیروی می‌کند. به طوری که غلظت‌های مختلف (۱۰، ۲۰ و ۳۰ میلی مولار) $CuSO_4$ نسبت به شاهد باعث افزایش معنی‌داری میزان مالون دی آلدئید گردیده‌است (شکل ۱).



شکل۱- تأثیر غلظت‌های مختلف ($CuSO_4$) بر میزان مالون دی آلدئید

تأثیر سولفات مس ($CuSO_4$) بر میزان فعالیت آنزیم گایاکول پراکسیداز

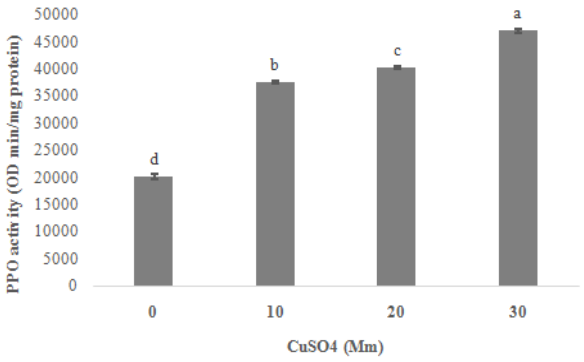
بررسی میزان فعالیت آنزیم گایاکول پراکسیداز تحت تأثیر سولفات مس نشان داد که با افزایش $CuSO_4$ از صفر (نمونه شاهد) تا ۳۰ میلی مولار، میزان فعالیت آنزیم گایاکول پراکسیداز از یک روند افزایشی پیروی می‌کند. به طوری که غلظت-های مختلف (۲۰ و ۳۰ میلی مولار) $CuSO_4$ نسبت به غلظت صفر (شاهد) باعث افزایش معنی‌داری میزان فعالیت آنزیم گایاکول پراکسیداز گردیده‌است (شکل ۲).



شکل ۲- تأثیر غلظت‌های مختلف ($CuSO_4$) بر فعالیت آنزیم گایاکول پراکسیداز

تأثیر سولفات مس ($CuSO_4$) بر میزان فعالیت آنزیم پلی فنل اکسیداز

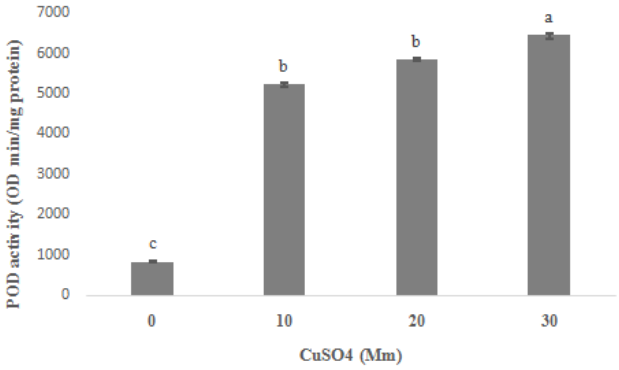
نتایج بررسی میزان فعالیت آنزیم پلی فنل اکسیداز تحت تأثیر سولفات مس نشان داد که با افزایش $CuSO_4$ از صفر (نمونه شاهد) تا ۳۰ میلی مولار، میزان فعالیت آنزیم پلی فنل اکسیداز از یک روند افزایشی پیروی می‌کند. به طوری که غلظت‌های مختلف (۱۰، ۲۰ و ۳۰ میلی مولار) $CuSO_4$ نسبت به غلظت صفر (شاهد) باعث افزایش معنی‌داری میزان فعالیت آنزیم پلی فنل اکسیداز گردیده‌است (شکل ۳).



شکل ۳- **تأثیر غلظت‌های مختلف ($CuSO_4$) بر فعالیت آنزیم پلی فنل اکسیداز**

تأثیر سولفات مس ($CuSO_4$) بر میزان فعالیت آنزیم پراکسیداز

بررسی میزان فعالیت آنزیم پراکسیداز تحت تأثیر سولفات مس نشان داد که با افزایش $CuSO_4$ از صفر (نمونه شاهد) تا ۳۰ میلی مولار، میزان فعالیت آنزیم پراکسیداز از یک روند افزایشی پیروی می‌کند. به طوری که غلظت‌های مختلف (۱۰، ۲۰ و ۳۰ میلی مولار) $CuSO_4$ نسبت به غلظت صفر (شاهد) باعث افزایش معنی‌داری میزان فعالیت آنزیم پراکسیداز گردیده‌است (شکل ٤).



شکل ٤- تأثیر غلظت‌های مختلف ($CuSO_4$) بر میزان فعالیت آنزیم پراکسیداز

بحث

گیاه بادرنجبویه در طبقه‌بندی کرونکوئست (زرگری، ۱۳٦۹) در تیره نعناعیان، جنس *Melisa* و گونه *officinalis* قرار دارد. و قسمت‌های مورد استفاده بادرنجبویه برگ و سرشاخه‌های جوان و اسانس آن می‌باشد (عزتی، ۱۳۸۱). آلودگی خاک با فلزات سنگین پدیده‌ای است که به طور گسترده در نتیجه فعالیت‌های بشر، کشاورزی و صنعت اتفاق می‌افتد (Sharma and Dubey, ۲۰۰۵). تحقیقات زیادی نشان داده‌اند که سطوح مالون دی آلدئید در گیاهان تحت تیمار با فلزات سنگین، افزایش می‌یابد (Costa and Spitz, ۱۹۹۷; Pourakbar et al., ۲۰۰۷)، که با نتایج کار ما مطابقت دارد و پژوهش حاضر نشان داد با افزایش غلظت سولفات مس میزان مالون دی آلدئید نسبت به شاهد افزایش معنی داری دارد. فلزات سنگین مانند مس می‌توانند باعث ایجاد تنش اکسیداتیو و تولید بالای ROS و به دنبال آن پاسخ‌های آنتی اکسیدانی غیر آنزیمی و آنزیمی و پراکسیداسیون لیپیدها، در گیاهان شوند (Sanita et al., ۱۹۹۹). اکسیژن واکنشگر همان اشکال مختلف اکسیژن واکنش پذیر می‌باشند که در صورت فعالیت، سبب آسیب‌های شدید به

ماکرومولکول‌ها، از جمله لیپیدهای غشایی می‌شود. گزارش شده‌است که با افزایش میزان پراکسیداسیون لیپیدها، که به دنبال سمیت با فلز سنگین و ایجاد رادیکال‌های آزاد اتفاق می‌افتد، فعالیت لیپواکسیژناز افزایش می یابد (Sanita et al., ۱۹۹۹). پاسخ آنزیم‌های آنتی اکسیدان نسبت به تنش‌های فلزی در گونه‌ها مختلف گیاهی متفاوت است و بستگی به ماهیت و ویژیگی شیمیایی فلز مربوطه دارد (Mazhoudi et al., ۱۹۹۷). توانایی گیاهان در متابولیزه کردن اکسیژن-های واکنشگر و کاهش سمیت آنها تا حد زیادی بستگی به القای فعالیت آنتی اکسیداتیو آنزیم‌های گایاکول پراکسیداز، پلی فنل اکسیداز و پراکسیداز دارد. در پژوهش حاضر نیز جهت بررسی نقش آنتی اکسیداتیو و مکانیزم‌های مربوطه در گیاه بادرنجبویه تحت تنش مس فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدان گایاکول پراکسیداز، پلی فنل اکسیداز و پراکسیداز مورد ارزیابی قرار گرفت و نتایج نشان داد تیمار سولفات مس در غلظت‌های مختلف (۱۰، ۲۰ و ۳۰ میلی مولار) باعث افزایش معنی داری میزان فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدان گایاکول پراکسیداز، پلی فنل اکسیداز و پراکسیداز در غلظت-های بالا نسبت به شاهد گردیده‌است. افزایش فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدان در نشاهای خردل *Brassica juncea* در غلظت‌های ۱۰، ۲۵، ۵۰ و ۱۰۰ میکرومولار فلز سنگین کروم گزارش شده است (Diwan et al., ۲۰۰۸). بررسی-های دیگر نشان داد سولفات مس در غلظت‌های بالا باعث افزایش مالون دی آلدئید در گیاه لوبیا شده‌است (Khavari et al., ۲۰۱۰). تحقیق حاضر نخستین گزارش تأثیر $CuSO_4$ بر میزان فعالیت آنزیم‌های آنتی‌اکسیدان ، لیپید پراکسیداسیون غشا، گیاه بادرنجبویه است. در مجموع نتایج این تحقیق نشان داد که سمیت مس گیاه بادرنجبویه را تحت تأثیر قرار می‌دهد. افزایش میزان مالون دی آلدئید و فعالیت آنزیم‌های آنتی اکسیدان (گایاکول پراکسیداز، پلی فنل اکسیداز و پراکسیداز) اثر تنشی $CuSO_4$ در غلظت‌های بالا واکنش سم‌زدایی سلول‌های گیاهی در تیمار تنشی مذکور را

نشان داد. بنابراین تمامی غلظت‌های استفاده شده سولفات مس (۰، ۱۰، ۲۰ و ۳۰ میلی مولار) باعث ایجاد سمیت در گیاه بادرنجبویه شد که نشان دهنده حساس بودن گیاه مورد مطالعه به مقادیر بالای مس می‌باشد. این اطلاعات می‌تواند گام مؤثری را در پیدا کردن آستانه تحمل گیاه بادرنجبویه در غلظت‌های مختلف مس را مطرح کند. نتایج این بررسی می‌تواند شاخص‌های مفیدی برای کشت این گیاه در مناطق آلوده فراهم آورد.

منابع

زرگری، ع. ۱۳۷٦. گیاهان دارویی. جلد سوم. انتشارات دانشگاه تهران، تهران.

۱.Alaoui-Sosse B., Genet P., Vinit-Dunand F., Toussaint A.L., Epron D. (۲۰۰٤). Effect of copper on growth in cucumber plants (Cucumis sativus) and its relationships with carbohydrate accumulation and changes in ion contents. Plant Sci. ١٦٦; ١٢١٣-١٢١٨.

۲.Alscher, R. G. Erturk, N. and Heath, L. S. (۲۰۰۲) Role of superoxide dismutase (SOD) in controlling oxidative stress in plants. Journal of Experimental Botany ۵۳: ١٣٣١-١٣٤١.

٤.Arnon, D.I., Stout, P.R. ١٩٣٩. The essentially of certain elements in minute quantity for plants with special reference to copper. Plant Physiol, ١٤: ٣٧١-٣٧٥.

٦.Backor, M., Fhselt, D. ٢٠٠٤. Free proline content is positively correlated with copper tolerance of the lichen photobiontTrebouxia erici ont Trebouxia erici ont (chlorophyta). Plant Sci. ١٦٧: ١٥١-١٥٧.

۷.Bates, L.S., Waldren, S.P., Teare, I.D. ۱۹۷۳. Rapid determination of free proline for water-stress studies. Plant soil. ۳۹: ۲۰۵-۲۰۷.

Bennett, C. ۲۰۰۳. Plant extract improves cognitive function in Alzheimer' s disease.Health-News. Co. UK. PP: ۱۷۲.

۹.Bisheh Kalaei, R. Fahimi, H. Saadatmand, S. and Satari, N. ۲۰۱۲. Effect of $cr^{+۳}$ on hydrogen peroxide and ascorbat peroxidas, super oxid dismotas, poly phenol oxidas in basil (*Ocimum basilicum L.*). Iranian, J. of Horticultural Sci. ۲۵:٤,٤۷۰-٤۷۸. (In Persian).

۱۱.Breusegem, F.V., James, F., Dat, D. and Inze, D. ۲۰۰۱. The role of active oxygen species in plant signal transduction. Plant Science. ۱٦۱:٤۲۳-٤۳۱.

۱۲.Charest, C., Phan, C.T. ۱۹۹۰. Cold accumulation of weat (*Triticum aestivum*): properties of enzymes involved in proline metabolism. Physiol. Plant. ۸۰: ۱۵۹-۱٦۸.

۱۵.Costa, G., Spitz, E. ۱۹۹۷. Influence of cadmium on soluble carbohydrates, free amino acids, protein content of in vitro cultured Lupinus albus. Plant Sci. ۱۲۸: ۱۳۱-۱٤۰.

۱٦.Diwan, H., Ahmad, A. and Iqbal, M. ۲۰۰۸. Genotypic variation in the phytoremediation potential of Indian mustard for chromium. Environmental Management. ٤۱: ۷۳٤-۷٤۱.

۱۸.Fielding, J.L., Hall, J. ۱۹۷۸. A biochemical and cytochemical study of peroxidase activity in root of pisum sativam. J. of Exp. Bot. ۲۹:۹۸۱-۹۸۹.

۲۰.Heath, R.L. and Packer, L. ۱۹٦۹. Photoperoxidation in isolated chloroplast, l. Kinetics and stoichiometry of fatty acid peroxidation. J. of Bioch. Bio. ۱۲۵: ۱۸۹-۱۹۸.

۲۳.Khavari, R. Najafi, F. and Babri banat, R. ۲۰۱۰. Effect of Zinc sulphate ($CuSO_٤$) on some physiological characterization in (*Phaseolus vulgaris* L.). Zanjan J. of Biol Sci. ٤:٤,۷۷-۸۵. (In Persian).

۲٤.Kuznetsov, V.I., Shevykova, N.I. ۱۹۹۹. Proline Under Stress: Biological role, metabolism, and regulation. Russ. J. of Plant Physiol. ٤٦; ۲۷٤-۲۸۷.

۳۰.Mazhoudi, S., Chaoui, A., Ghorbal, M.H. and Ferjani, E.E.۱۹۹۷. Response of antioxidant enzymes to excess copper in tomato (*Lycopersicom esculentum* L.). Plant Sci. ۱۲۷: ۱۲۹-۱۳۷.

Mikolajewicz, M. and Filoda, G. ۱۹۹۸. SeptoriamelissaeDesm Control on common bahu (*Melissa officinalis L.*) Herba, Poloinca. ٤٤: ۱۷۲-۱۷٤.

۳۵.Pourakbar, L., Khayami, M., Khara, J. and Farbodnia, T. ۲۰۰۷. Copper-Induse change in antioxidative system in maize (*Zea mays* L.). Pak. J. Biol. Sci, ۱۰:۳٦٦۲-۳٦٦۷.

۳٦.Quartacci, M.F., Pinzino, C., Sgherri, C.L.M., Dalla Vecchia, F. and Navari-Izzo, F. ۲۰۰۰. Growth in excess copper induces changes in the lipid composition and fluidity of PSII-enriched membranes in Wheat. Physiol. Plant. ۱۰۸:۸۷-۹۳.

۳۷.Raymond, M., Poulin, E., Boirox, V., Dupont, E. and Pasteur, N. ۱۹۹۳ Stability of insecticide resistance due to amplification of esterase genes in Cluex pipiens. Heredity. ۷۰: ۳۰۱-۳۰۷.

۳۸.Sanita, D., Toppi, L., Gabbrielli, R. ۱۹۹۹. Response to cadmium in higher plants-review. Environ. Exp. Bot. ٤۱:۱۰۵-۱۳۰.

۳۹.Sanchez, E., Lopez-Lefebre, L.R., Garcia, P.C., Rivero, R.S., Ruiz, J.M., Romero, L. ۲۰۰۱. Proline metabolism in response to highest nitrogen dosages in green bean plants Phaseolus vulgaris plants (L.cv. Strike). Plant Physiol. ۱۵۸: ۵۹۳-۵۹۸.

٤۰.Sanchez, E., Manuel, Ruiz, J., Romero, L. ۲۰۰۲. Proline metabolism in response to nitrogen toxicity in fruit of French Bean plants Phaseolus vulgaris plants (L. cv. Strike). Horticulture. Sci. ۹۳; ۲۲۵-۲۳۳.

٤۱.Schlegel, H.G. ۱۹۵٦. Die verwertung organischer sauren durch chlorella in lincht. Planta. ٤۷: ۵۱۰.

Schulz, H. Jobert, M. Hubner, W. ۱۹۹۸. The quantitative EEG as a screening instrument to identify sedative effects of single doses of Plant extracts in comparison with diazepam. Phytomedicine, ۵: ٤٤۹-٤۵۸.

٤۳.Shah, K., Kumar, R.G., Verma, S., Dubey, R.S. ۲۰۰۱. Effect of cadmium on lipid peroxidation,superoxide anion generation and activities of antioxidant enzymes in growing riceseedlings. Plant Sci. ۱٦۱:۱۱۳۵-۱۱٤٤.

٤۵ Sharma, P. and Dubey, R.S. ۲۰۰۵ Drought induces oxidative stress and enhances the activities of antioxidant enzymes in growing rice seedlings. Plant Growth Regulation. ٤٦: ۲۰۹-۲۲۱.

٤۹.Subbaro, G., Nam, N.H., Chauhan, Y.S., Johansen, C. ۲۰۰۰. Oosmotic adjustment, water relation and carbohydrate remobilization in pigeonpea under water deficits. J. Plant Physiol. ۱۵۷: ٦۵۱- ٦۵۹.

۵۰.Urbanek, H., Kuzniak-Gebarowska, E. and Herka, K. ۱۹۹۱ Elicition of defense responses in bean leaves by Botrytis cinerea polyglacturonase. J. of Physiologr Plant ۱۳: ٤۳-۵۰.

۵۳.Vangronsveld, J. and Clijsters, H. ۱۹۹٤. Toxic effects of metals. In: Plants and the Chemical Elements: Biochemistry, Uptake, Tolerance and Toxicity. Edited by M. E. Farago, Wienheim.

٥٤.Verma, S., Dubey, R.S. ٢٠٠١. Effect of cadmiumon soluble sugars and enzymes of their metabolism in rice. Biol Planta. ٤٤; ١١٧-١٢٣.

٥٥.Vranova, E., Inze, D. and Breusegem, V.F. ٢٠٠٢. Signal transduction during oxidative stress. J. of Exp Bot. ٥٣: ١٢٢٧-١٢٣٦.

Wake, G. Court, J. Pickering, A. Lewis, R. Wilkins, R.. and Perry, E. ٢٠٠٠. CNS acetylcholine receptor activity in European medicinal Plantstraditionally used to improve failing memory. J Ethno pharmaco. ٦٩: ١٠٥-١١٤.

The effect of different copper sulfate (CuSO٤) concentrations on some physiological parameters of (*Melissa officinalis* L.)

Salehe Naderi[١*], Hamideh Khajeh[٢] and Hassan Ahmadi[٣]

١. Ph. D student, Department of Plant Breeding, University of Zabol, Iran

٢. The member of young researchers and elite club, sport department, Islamic Azad University of Zabol, Iran

٣. master of Biocentre, University of Zabol, Iran

*Corresponding author, Email: Salehe.naderi@ gmail.com

Tel:٠٩١٥١٩٦٣٨٢٩

Abstract

Melissa (*Melissa offcinalis* L.), a member of a Lamiaceae family, is a medical plant. The main most important pharmacological properties can be soothin, strengthening nerve, carminative and memory booster. The presence of heavy metals is one of important environmental stresses that can reduce growth and production of types of reactive oxygen. In the present study, the effect of copper sulfate ($CuSO_4$) on some physiological parameters of melissa was examined. So melissa was treated with different concentrations of copper sulfate (۰, ۱۰, ۲۰, ۳۰ mM) in ٦-leaf stage. Then melissa was harvested after two weeks in order to examine malondialdehyde, gayacol peroxidase, peroxidase and poly phenol oxidase antioxidative enzymes activity. The results showed that when copper sulfate increased in comparison with control, the activity of lipid peroxidation (malondialdehyde) and antioxidant enzymes increased significantly. Totally, all used copper sulfate concentrations caused toxicity in melissa and it showed that the plant is sensitive to huge amount of copper. This study investigated the effect of copper sulfate on malondialdehyde, gayacol peroxidase, peroxidase and poly phenol oxidase antioxidative enzymes activity in melissa.

Keyword: antioxidative enzymes, copper, malondialdehyde and melissa