فصلنامه

زیست شناسی تکوینی

سال هفتم، شماره ۳، تابستان ۱۳۹۴

بررسی اثر نور آبی و قرمز بر بیان ژن CRY1 و HY5 در دانه رست گیاه کلزا (*Brassica napus* L.)

پگاه فرّخ تهرانی[۱*]، احمد مجد[۲]، هما محمودزاده آخرت[۳]، طاهر نژادستاری[۴]

[۱] گروه سلولی تکوینی گیاهی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد علوم و تحقیقات، تهران، ایران

[۲] گروه زیست‌شناسی، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد تهران شمال، تهران، ایران

[۳] گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد مشهد، مشهد، ایران

[۴] گروه زیست‌شناسی، دانشکده علوم پایه، دانشگاه آزاد اسلامی، واحد علوم و تحقیقات، تهران، ایران

E-mail: farokh_pegah@yahoo.com

تاریخ دریافت: ۱۳۹۳/۱۰/۲۰ تاریخ پذیرش: ۱۳۹۳/۱۲/۱۵

چکیده

در چند دهه اخیر، تحقیقات متعددی برای ارزیابی بیان ژن‌های موثر از نور آبی و قرمز، در گیاهان،انجام گرفته است. هدف از این پژوهش، بررسی اثرات نور آبی و قرمز بر میزان بیان ژن کریپتوکروم ۱ و HY5 در دانه‌رست‌های گیاه کلزا،بود. دانه‌رست‌های کلزا در شرایط یکنواخت محیطی، و سپس ۵ روز تحت تیمار نور آبی (به مدت ۲ ساعت، ۴ ساعت، ۸ ساعت) و نور قرمز (به مدت ۲ ساعت ،۴ ساعت ،۸ ساعت) قرار گرفتند و تفاوت طول هیپوکوتیل در تیمارهای مختلف، مشاهده شد و میزان بیان ژن کریپتوکروم ۱ توسط کنیک RT-PCR (Semiquantitative Reverse Transcription-Polymerase Chain Reaction) بررسی شد، همچنین میزان بیان ژن HY5 به موازات بیان ژن CRY1، توسط تکنیک qRT- (Quantitative real-time) PCR مورد بررسی قرار گرفت. نتایج بررسی‌های اثر تیمار نور آبی بر گیاهان شاهد و تحت تیمار، نشان داد که نور آبی قادر به تنظیم بیان ژن کریپتوکروم۱، و در نتیجه کنترل ریخت زایی نوری(فتومورفوژنز) در گیاه (*Brassica napus* L.) شد به طوری که در ۸ ساعت تیمار با نور آبی، بیشترین میزان بیان ژن کریپتوکروم ۱، مشاهده شد، البته سطح بیان ژن HY5 نیز در تیمار نور آبی به بالاترین حد خود رسید که نتیجه آن بیشترین میزان منع کردن از بلند شدن هیپوکوتیل در این گروه خاص بود.

کلیدواژه‌ها: کلزا، نور آبی، نور قرمز، ژن کریپتوکروم۱، ژن HY5

مقدمه

نور نه تنها منبعی از انرژی، برای فتوسنتز گیاهان سبز محسوب می‌شود، بلکه منبع غنی از اطلاعات، برای فتوپریودیسم (گیاهان قادر به درک طول شب/ طول روز هستند)، فتوتروپیسم (گیاهان قادر به درک جهت نور هستند) و فتومورفوژنز (گیاهان قادر به درک کمیت و کیفیت نور هستند) محسوب می‌گردد. نور همچنین، مهم‌ترین عامل محرک در نمو گیاهان

است، گیاهان برای پیشبرد مسیر تکاملی خود، نیاز به درک شدت، جهت و کیفیت (طول موج) نور دارند، که برای نایل آمدن به این مهم، گیاهان دارای گیرنده‌های بسیار تخصص یافته شده‌اند [٦].

نور به چهار محدودهٔ طول موجی پایه‌ای برای گیاهان تقسیم می‌شود و این چهار محدوده طول موج اصلی، قادر به ارسال پیام‌های کنترل کننده در طی فرآیندهای رشد و نمو گیاهان هستند که این چهار محدوده اصلی عبارتند از: ۱- محدوده نور فرابنفش (از ۳٤۰ تا ٤۰۰ نانومتر)، ۲- محدوده نور آبی (از ٤۰۰ تا ۵۰۰ نانومتر)، ۳- محدوده نور قرمز (از ٦۰۰ تا ۷۰۰ نانومتر)، ٤- محدوده نور مادون قرمز (از ۷۰۰ تا ۸۰۰ نانومتر). البته در گیاهان برای جذب این چهار محدوده اصلی طول موجی، سه گروه گیرنده اختصاصی وجود دارد که شامل: ۱- کریپتوکروم (جاذب نور آبی و فرابنفش)، ۲- فتوتروپین (جاذب نور آبی و فرابنفش)، ۳- فیتوکروم (جاذب نور قرمز و مادون قرمز) هستند [۲و۱۱].

نور محیطی گیاه، اگر توسط گیرنده‌های خاصی جذب شود سبب یک سیر تکاملی در حال گذر از حالت ریخت‌زایی تاریکی[1] به سمت ریخت‌زایی نوری[2] دانه‌رست‌های رشد یافته در تاریکی (dark-adapted)، دارای ریخت‌زایی تاریکی هستند که این دانه‌رست‌ها دارای فنوتیپ کوتیلدون‌های بسته، ریشه های کوتاه و هیپوکوتیل‌های بلند هستند، در حالی که بر عکس دانه رست‌های رشد یافته در معرض نور دارای تکامل از نوع light-adapted هستند که به علت القا بیان ژن‌هایی که توسط نور تحریک می‌شوند، دارای فنوتیپ کوتیلدون‌های گسترده، فتوسنتز بالا، سرکوب طویل شدگی هیپوکوتیل و ریشه‌های بلند هستند [۳۵].

در واقع نور سبب تسهیل این گذار تکاملی از ریخت‌زایی تاریکی به ریخت‌زایی نوری توسط حسگرهای گیرنده نور که بسیار تخصصی از یک‌دیگر عمل می‌کنند و قادر به جذب طول موج‌های خاصی در محدوده عمل خود هستند، می شود [۱،۱۷،۱۸].

مطالعات بر روی جهش‌یافته‌های گیرنده نور آبی، مشخص کرد که ژن کریپتوکروم ۱، جزء اولین فاکتورهای اولیه درگیر در تنظیم پاسخ‌های ریخت‌زایی نوری از جمله منع طویل شدن هیپوکوتیل، تجمع آنتوسیانین، گسترش برگ و کوتیلدون است در حالی که کریپتوکروم ۲، نقش مهمی در تنظیم زمان گل دهی، منع رشد هیپوکوتیل، گسترش کوتیلدون در شدت‌های پایین نورهای آبی دارد[٤۰].

ر این میان، کریپتوکروم ۱ با سرکوب فاکتورهای رونویسی نظیر HY5/HYH و یا HFR1 از طریق COP1/SPA1، وارد عمل شده و در نتیجه سبب مهار رشد هیپوکوتیل می‌گردد [۱۰،۲۹،۳۹]، همچنین فاکتور رونویسی LONG HYPOCOTYL 5 (HY5) نقش مهمی در بیان ژن‌های تحریک شده، توسط نور بازی می‌کنند به طوری که دیده شده جهش یافته *hy5* ویژگی های یک دانه رست رشد یافته در تاریکی را در حضور نور از خود به نمایش می‌گذارد، به این معنی که این جهش‌یافته‌ها، دیگر قادر به منع کردن از طویل شدن هیپوکوتیل نیستند[۱٤،۳۰].

از آن جا که در روشنایی و در طی فرآیند ریخت‌زایی نوری، سطح بیان ژن HY5 بالا است و در نتیجه منع کردن از بلند شدن هیپوکوتیل نیز بالا است اما در تاریکی سطح بیان ژن HY5 پایین است و منع

[1]. Skotomorphogenic
[2]. Photomorphogenic

کردن از بلند شدن هیپوکوتیل نیز پایین و نتیجه داشتن هیپوکوتیل‌های بلند، در تاریکی است [۱۳].

با مشخص شدن خصوصیات گیرنده کریپتوکروم‌ها (Cryptochromes) در گونه‌های گیاهی پیشرفته از قبیل: برنج، گوجه‌فرنگی، نخود و کلزا (*Brassica*)، محققین توانستند راه جدیدی برای به کارگیری از گیرنده کریپتوکروم‌ها به نفع و پیشرفت غلات و محصولات کشاورزی مهم، قدمی بلند بردارند چرا که توسط کنترل ژن تولید گیرنده کریپتوکروم، می‌توان ارتفاع گیاه و کنترل زمان گل‌دهی را تحت کنترل محققین، قرار داد [۱۷،۱۸].

در غلات مهم از نظر کشاورزی، کوتولگی (dwarfism)، نقش حیاتی در برابر مقابله با water louding و در نتیجه داشتن حجم بالای برداشت محصول دارد [۱۹] و همان‌طور که می‌دانیم گیاه کلزا (*Brassica napus*)، یک گیاه دانه روغنی[1] مهم است که بسیار بلند بوده، که آن را بیشتر حساس به از دست دادن دانه در گیاه مرتفع در حین برداشت مکانیکی می‌کند، از این رو می‌توان با کنترل بر بیان ژن کریپتوکروم۱ به گیاهان کوتاه تری دست یافت [۲۶].

ژن CRY1 سبب کنترل طول هیپوکتیل و ریشه اولیه در (*B.napus*) می‌گردد که این عمل از طریق ایجاد تغییر در بیان ژن HY5 که خود فاکتور رونویسی است و سبب خاموش و روشن شدن بسیاری از ژن‌های دیگر متأثر از نور می‌گردد، صورت می پذیرد [۲۷].

نتایج بررسی حال حاضر نشان داد که ژن کریپتوکروم۱ سبب تنظیم رشد و نمو طول هیپوکوتیل دانه‌رست های(*Brassica napus* L.)از طریق ایجاد تغییر در بیان فاکتور رونویسی HY5 می‌گردد.

[1]. Oilseed

مواد و روش‌ها

کلزا با نام علمی (*Brassica napus* L.)، گیاهی دولپه و دانه روغنی از تیره چلیپاییان بوده و دارای ارزش تغذیه‌ای است. بذرهای تهیه شده از مرکز تحقیقات کشاورزی و منابع طبیعی استان خراسان (بخش دانه‌های روغنی)، رقم بذرهای کلزا پاییزه (Modena)، مقاوم به سرما، به مدت ۱۰ دقیقه در محلول ۱۰٪ هیپوکلریت سدیم ضدعفونی شده ،سپس در پتری دیش‌های استریل حاوی کاغذ صافی استریل گذاشته شدند و دانه رست‌ها در اتاق کشت با دوره نوری ١٤ ساعت روشنایی و ۱۰ ساعت تاریکی به مدت ۵ روز رشد یافتند، سپس دانه‌رست‌های شاهد، همین رژیم نوری تاریکی و روشنایی را ادامه دادند و دانه‌رست‌های تحت تیمار نور آبی(۲ ساعت، ٤ ساعت، ۸ ساعت) و تحت نور قرمز (۲ ساعت، ٤ ساعت و ۸ ساعت) قرارگرفتند، همچنین منبع نورهای آبی و قرمز دارای صفحه‌ای به ابعاد ۱۲۰×۱۲۰ سانتی متر و حاوی لامپ (LED)light-emitting dioded با شدت نور خروجی ۷۵۰ لوکس از فاصله ۵۰cm اعمال شدند. این آزمایش‌ها در ۷ گروه و برای هر گروه ۱۲ بذر کشت شد (در ۳ تکرار)، برای هر گروه تیمار نور آبی و قرمز به طور مجزا اعمال شد و اندازه‌گیری طول هیپوکوتیل بررسی شد.

استخراج Total RNA

بعد از برداشت نمونه (دانه‌رست) و توزین آن، نمونه‌ها در هاون چینی توسط ازت مایع، کاملاً پودر شد و RNA ها توسط کیت RNeasy Plant Mini Kit محصول شرکت کیاژن و از نمونه‌های شاهد (رشد یافته با نور طبیعی محیط) و سپس از نمونه‌های (۲ ساعت، ٤ ساعت، ۸ ساعت) تیمار با نور آبی و (۲

ساعت، ٤ ساعت، ٨ ساعت) تیمار با نور قرمز در حد دانه‌رست، استخراج RNA ،جهت بررسی میزان بیان ژن کریپتوکروم ۱ و HY5 انجام شد و سریعاً به cDNA تبدیل و در ازت مایع نگه‌داری شدند. میزان cDNA های مربوط به تیمارهای مختلف توسط نانو دراپ مشخص شد (جدول ۱) و پس از حاصل کردن اطمینان از وجود cDNA و میزان آن RT-PCR و Real time PCR انجام شد.

جدول۱: نانودراپ cDNA های گروه شاهد و تیمارهای مختلف

Plots | Report | Test type: Nucleic Acid | 11/17/2014 10:29 | Exit

Report Name | Max Buffer Size 200 | Buffer Mode: Save Report & Clear

Sample ID	User ID	Date	Time	ng/ul	A260	A280	260/280	260/230	Constant	Cursor Pos.	Cursor abs.	340 raw
1	Default	11/17/2014	9:48 AM	1550.39	31.008	16.553	1.87	1.51	50.00	260	31.008	0.629
2	Default	11/17/2014	9:52 AM	1538.70	30.774	16.620	1.85	1.70	50.00	260	30.774	0.221
3	Default	11/17/2014	9:54 AM	1700.39	34.008	18.483	1.84	1.72	50.00	260	34.008	0.255
4	Default	11/17/2014	9:57 AM	410.51	8.210	4.756	1.73	1.55	50.00	260	8.210	0.068
4	Default	11/17/2014	9:59 AM	408.05	8.161	4.865	1.68	1.56	50.00	260	8.161	-0.195
5	Default	11/17/2014	10:02 AM	-18.80	-0.376	-0.148	2.54	0.53	50.00	260	-0.376	-0.122
6	Default	11/17/2014	10:05 AM	88.18	1.764	0.985	1.79	1.61	50.00	260	1.764	-1.221
7	Default	11/17/2014	10:07 AM	400.40	8.008	4.512	1.78	1.42	50.00	260	8.008	0.060

از آن جا که برای مقایسه بیان ژن اختصاصی در نمونه‌هایی با تیمارهای مختلف، نیاز به یک ژن همیشه بیان (House Keeping gene) در نمونه‌های مورد بررسی بود که House Keeping gene مورد استفاده در این بررسی β-actin بود که برای بسیاری از گیاهان دولپه طراحی شده و طول قطعه‌ای برابر با ۱۰۱ bp دارد که توالی پرایمرها عبارت بودند از:

Name	BnCRY1
Forward Primer sequence 5’-3’	GTG.GAG.AAA.GGA.ACG. AGG.TTG.TGG.CAC.TG
Reverce Primer sequence 5’-3’	CAT.GAG.GCA.CTC.TCG.C AG.ATG.TGG.CAA.C

Name	β -Actin
Forward Primer sequence 5’-3’	GCT.TCC.CGA.TCA.AGT.C A
Reverce Primer sequence 5’-3’	GGA.TTC.CAG.CTG.CTT.C CA.TTC

واکنش RT-PCR برای ژن BnCRY1

ژن BnCRY1 با Accession nom: AJ 344565 دارا داشتن منطقه‌ای ٤٣٤٩bp در موقعیت مکانی ۲/۲٦۹ تا ۲/۲۷٤ bp در سطح DNA می‌باشد و در سطح cDNA با پرایمرهای اختصاصی، دارای طول قطعه ۷٦۰ bp، می‌باشد. پرایمرها برای ژن اختصاصی BnCRY1 و β-Actin به شرکت آرین ژن گستر سفارش داده شد و توالی این پرایمرها عبارت بودند از:

واکنش برای ژن BnCRY1 انجام و مقایسه بیان نیمه کمی آن با نرم‌افزار Kodak صورت گرفت.

واکنش Quantitative real time PCR برای ژن فاکتور رونویسی HY5

در این بررسی از master آماده SYBR Green که خود حاوی فلورسانت است و به محصولات cDNA اجازه می‌دهد تا دستگاه بتواند غلظت cDNA را به صورت کیفی در هر سیکل اندازه‌گیری نماید و در قالب نمودار، ارائه دهد.

در نمودارها، نمونه‌هایی را به صورت رندوم

انتخاب و سپس cDNA این نمونه‌ها را با یک دیگر مخلوط و به عنوان Standard curve تعریف و سپس هر یک از نمونه‌ها cDNA مورد بررسی خود را (HY5)، با Standard curve مقایسه کرده تا میزان بیان ژن موردنظر(HY5) در مقایسه با منحنی استاندارد به صورت کمّی بیان شود.

برای بررسی بیان کمّی ژن HY5 با استفاده از روش SYBR Green، که SYBR Green از شرکت Takara با کد RR٤٢٠ ، تهیه شد.

برای cDNAهای HY5 و β–Actin به طور مجزا qPCR، طبق برنامه زیر انجام شد:

	۳۰min	۹۵˚C
٤٥ cycle PCR amplification	٥ min	۹۵˚C
	۳۰ min	٦۰˚C

پس از انجام تکنیک، می‌توان هر یک از نمودارهای داده شده از گروه‌های مختلف برای بررسی ژن HY5 و β– Actin را با Standard curve مقایسه کرده و برای آنالیز گروه کنترل و تیمار به روش $^{\Delta\Delta}$CT، عمل شد.

روش‌های آماری تحقیق

تجزیه و تحلیل داده‌ها با استفاده از طرح تصادفی در سه تکرار توسط نرم‌افزار SPSS انجام گرفت. هم‌چنین مقایسه میانگین‌ها براساس آزمون ANOVA و تست Duncan صورت گرفت و رسم نمودارها به کمک نرم‌افزار Excel انجام شد.

نتایج

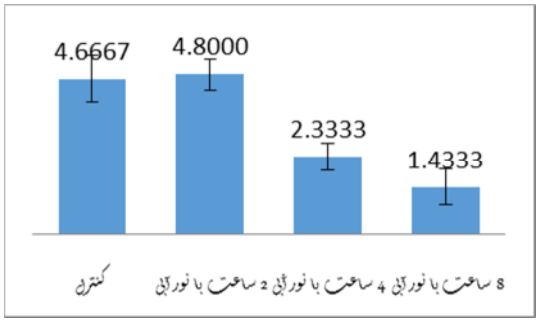
بررسی اثر نور قرمز و آبی بر طول هیپوکوتیل

با توجه به داده‌های موجود در (جدول ۲)، طول هیپوکوتیل دانه‌رست‌های کلزا تحت تیمارهای مختلف نور قرمز، کاهش معنی‌داری را در مقایسه با گروه شاهد، نشان داد (شکل ۲) که کم‌ترین طول هیپوکوتیل مربوط به تیمار ۸ ساعت نور قرمز بود. اعداد منفی شاخص پاسخ اثر بازدارندگی تیمارهای فوق را نشان می‌دهد. تأثیر نور آبی بر طول هیپوکوتیل متفاوت بود. به طوری که تیمار ۲ ساعت نور آبی موجب افزایش طول هیپوکوتیل در مقایسه با گروه شاهد شد گرچه این افزایش از نظر آماری معنی‌دار نبود. تیمارهای ٤ و ۸ ساعت نور آبی موجب کاهش طول هیپوکوتیل شدند که این کاهش در مقایسه با شاهد و تیمار ۲ ساعت نور آبی معنی‌دار، بود (جدول ۲، شکل ۱و۲و۳).

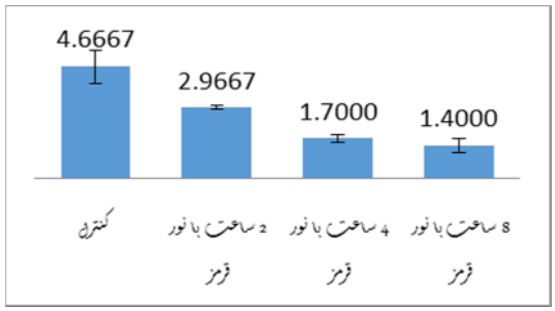
جدول۲: اثر نور قرمز و آبی بر طول هیپوکوتیل و ریشه اولیه دانه-رست‌های کلزا

تیمارها	طول هیپوکوتیل(cm)	شاخص پاسخ
شاهد	٤/٦^{a}	-
نور قرمز (ساعت)		
۲	۲/۹٦^{b}	-۳٥
٤	۱/۷^{c}	-٦۳
۸	۱/٤^{d}	-٦۹
نورآبی (ساعت)		
۲	٤/۸^{a}	٤/۳
٤	۲/۳^{b}	-٥۰
۸	۱/٤^{d}	-٦۹

وجود حداقل یک حرف مشترک در هر ستون نشان دهنده عدم وجود اختلاف معنی‌دار در سطح p<۰/۰٥ می‌باشد



شکل ۱: مقایسه متوسط طول هیپوکوتیل دانه رست کلزا تحت نور آبی



شکل ۲: مقایسه متوسط طول هیپوکوتیل دانه رست کلزا تحت نور قرمز

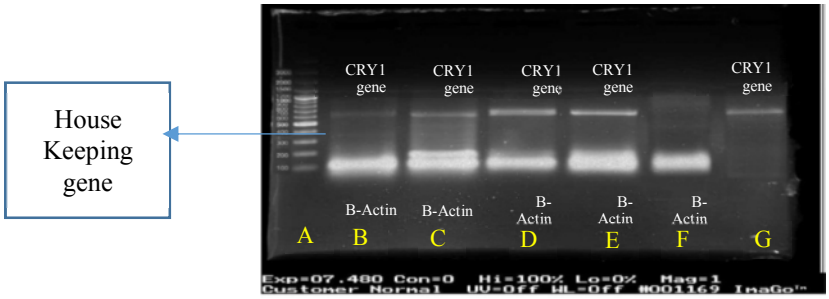
شکل ۳: مقایسه متوسط طول هیپوکوتیل دانه رست گیاه کلزا در دو گروه تحت تیمار با نور قرمز و آبی با یک‌دیگر

میزان بیان ژن های کریپتوکروم۱ و HY5 در دانه‌رست‌های کلزا تحت تیمار نور قرمز و آبی

در الکتروفورز مربوط به ژن CRY1، ضخامت باندهای تشکیل شده، نشان دهنده میزان بیان ژن است. در این حالت به صورت کیفی، میزان بیان ژن را در تیمارهای مختلف مقایسه کرده(شکل ٤و٥) و برای بررسی دقیق‌تر میزان بیان ژن و بیان نتایج به صورت کمّی، از نرم افزار Kodak استفاده شد که این نرم‌افزار ضخامت باندهای مربوط به بیان ژن را به صورت عددی بیان می‌کند. با توجه به (شکل ٦)، مشخص گردید که میزان بیان ژن CRY1 در تیمارهای ۲، ٤ و ۸ ساعت نور آبی، به ترتیب ۰/۲، ۰/۸٤ و ۲/۰٦ بوده است. بنابراین با افزایش مدت زمان تیمار نور آبی، میزان بیان این ژن افزایش یافت. در حالی که میزان بیان ژن CRY1 در تیمارهای ۲، ٤ و ۸ ساعت نور قرمز، به ترتیب ۰/۱۵، ۰/۲۳، ۰/۲۳ بوده است (شکل ۱، ۳). نتایج حاصل با نتایج مربوط به کاهش طول هیپوکوتیل در تیمار ٤ و ۸ ساعت نور آبی (جدول ۲) هم‌خوانی دارد.

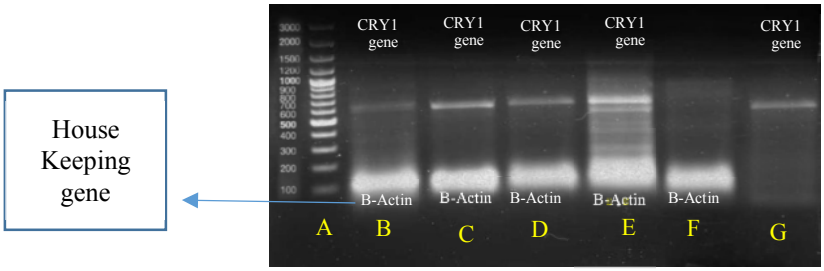
برای بررسی ژن HY5 با توجه به (شکل ۷ و ۸)، پس از رسم Amplification Standard Curve برای ژن مورد نظر HY5 و B-Actin توسط دستگاه Rotor Gene، سپس رسم Standard Curve به طور جداگانه برای ژن اصلی(HY5) و β–Actin به عنوان House keeping gene انجام شد (شکل ۹ و۱۰).

CTهای خوانده شده برای تیمارهای مختلف ژن HY5 و β –Actin توسط دستگاه رسم شد (شکل ۱۱ و ۱۲).



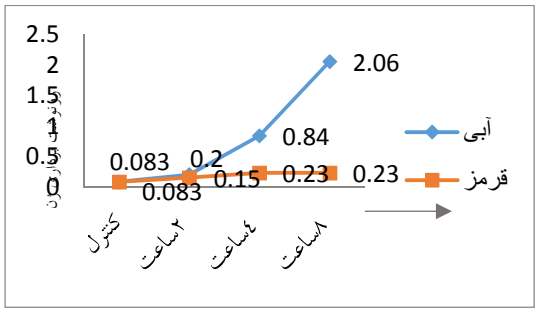
شکل ٤: الکتروگرام مربوط به بیان ژن کریپتوکروم در دانه‌رست‌های کلزا تحت تیمار نور آبی

به ترتیب از چپ به راست: A: لدر، B: شاهد، C:۲ساعت آبی، D:٤ساعت آبی، E:۸ساعت آبی، F:کنترل منفی، G:کنترل مثبت

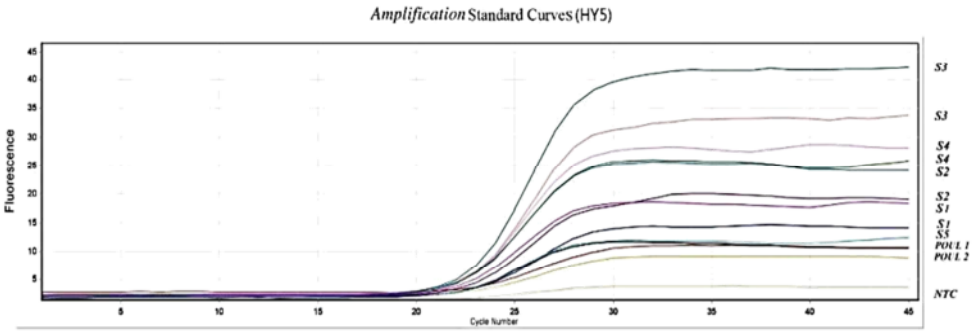


شکل ۵: الکتروگرام مربوط به بیان ژن کریپتوکروم در دانه‌رست‌های کلزا تحت تیمار نور قرمز

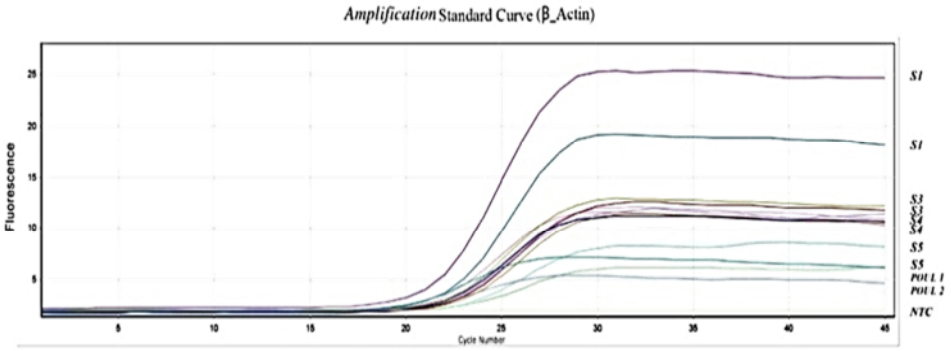
به ترتیب از چپ به راست: A: لدر، B: شاهد، C:۲ساعت قرمز، D:٤ساعت قرمز،E:۸ساعت قرمز،F:کنترل منفی، G:کنترل مثبت



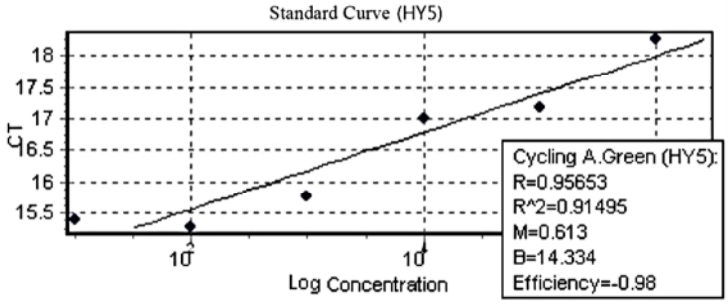
شکل ۶: مقایسه میزان بیان ژن کریپتوکروم تحت تیمار نور آبی و قرمز در دانه‌رست‌های کلزا



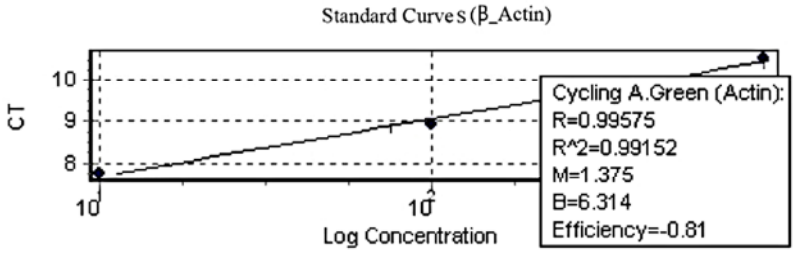
شکل ۷: CT های بدست آمده از منحنی بیان استاندارد (HY5)



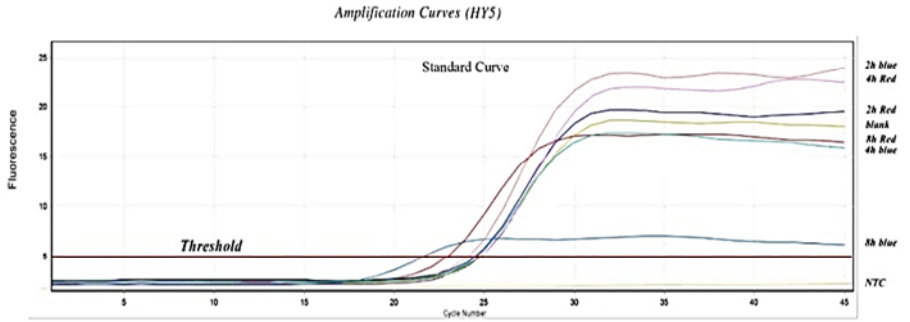
شکل ۸: CT های بدست آمده از منحنی بیان استاندارد β- Actin



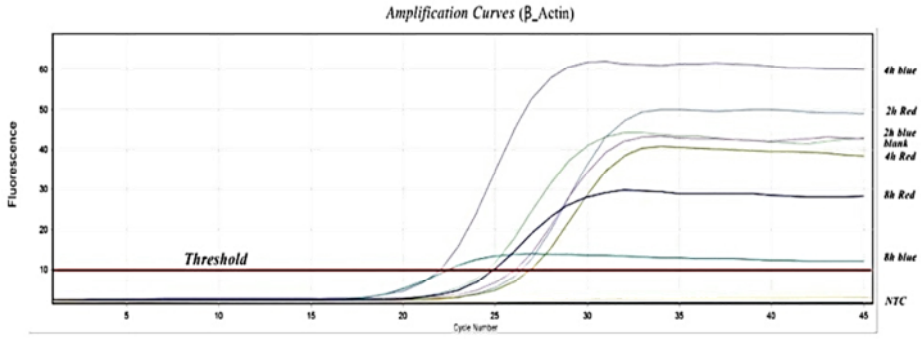
شکل ۹: منحنی استاندارد(HY5)



شکل ۱۰: منحنی استانداردβ- Actin

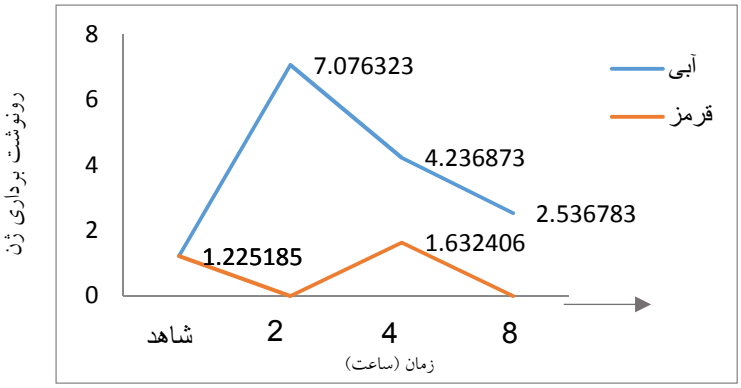


شکل ۱۱: منحنی بیان ژن (HY5)



شکل ۱۲: منحنی بیان ژن β-Actin

هم‌چنین (شکل۱۳) نشان می‌دهد که میزان بیان ژن HY5 در تیمار ۲ساعت نور آبی بیش‌تر از ۲ساعت نور قرمز بود. در تیمار ٤ ساعت نور آبی و قرمز، تقریباً بیان ژن فوق مشابه و در تیمار ۸ ساعت نور قرمز، میزان بیان ژن بیش‌تری نسبت به تیمار نور آبی، مشاهده گردید. به طور کلی میزان بیان ژن HY5 تحت تیمار نور آبی نسبت به نور قرمز تغییرات کم‌تری نشان داد.



شکل ۱۳: مقایسه میزان بیان ژن HY5 تحت نور آبی و قرمز در دانه‌رست‌های کلزا

بحث و نتیجه‌گیری

امروزه هدف از بررسی یک ژن، مشخص کردن تاثیر و عملکرد آن ژن می باشد و ز آن جا که گیاهان، مدلی ساده و مناسب برای بررسی عملکرد ژن خاصی هستند، می توان به کمک آن‌ها بررسی‌های عمیق نموی را بهتر دنبال کرد. ژن کریپتوکروم ها نقش ضروری در نمو ایفا می‌کنند، اما این به این معنا نیست ک طیف عمل مربوطه انحصارا توسط گیرنده‌های کریپتوکروم اعمال شود، که این مبحث به همپوشانی گیرنده‌های نوری بر می‌گردد. در بررسی اثر نور آبی و قرمز بر گیاه کلزا منع از بلند شدن هیپوکوتیل، تحت اثر نور آبی مشاهده شد و این نتیجه، با بررسی بر روی گیاه خیار، مطابقت داشت [٤،٧].

مهار افزایش طول هیپوکوتیل، در پاسخ به نور، یکی از قابل سنجش ترین فاکتورهای کمّی در روند تکامل است و تا حد زیادی سبب درک بهتر ما از اجزای نظارتی تنظیم کننده در این راستا شده است [۲۱،۲۳،۳٦ ،۵،۱۲].

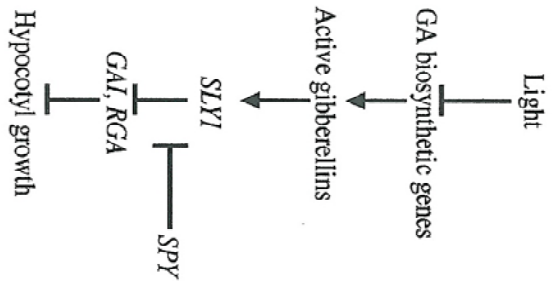
مهار افزایش طول محور زیر لپه توسط طول موج نور آبی، نشان دهنده وابستگی پیچیده بین طول موج و میزان کوتاه ماندن هیپوکوتیل را نشان می‌دهد [۹،۱۵،۲۸،۳۷]. البته هنوز نمی‌توان چرایی تنوع میزان کمی رشد هیپوکوتیل و اختلاف حساسیت در گونه‌های مختلف گیاهی، به طیف طول موج آبی، را به راحتی توضیح داد [۲٤] اما می‌توان به این نکته اشاره کرد که گیرنده‌های متعدد، می‌توانند طول محور زیر لپه را کنترل کنند، به نحوی که در آرابیدوپسیس فیتوکروم A، B و گیرنده نور آبی کریپتوکروم به منظور کمک به مهار کردن هیپوکوتیل با هم همکاری می‌کنند [۳۸]. به نحوی که در آرابیدوپسیس با موتانت فیتوکروم B ،هیپوکوتیل بلند [۳۲ و ۳٤] و با موتانت فیتوکروم A، هیپوکوتیل بلند [۸] و حالت هیپوکوتیل بسیار بلند، در جهش یافته مضاعف مشاهده شده است [۳۱]. البته در گیاه Sinapis alba خلاف این واقعه اتفاق می‌افتد و این گیاه بیش‌تر به طول موج قرمز و مادون قرمز برای منبع طول هیپوکوتیل وابسته است

[۳].

در چند سال اخیر علت کوتاه ماندن هیپوکوتیل را منوط به تغییراتی که نور بر سیستم هورمونی گیاه ایجاد می‌کند، مرتبط دانسته‌اند. از آن جا که Brassinostroidها هورمونی است که برای رشد گیاهان ضروری هستند، و در سایر ارگانیسم‌ها شناسایی نشده‌اند و این امر باعث می‌شود این دسته از استروئیدها به فیتوهورمونی منحصر به فرد تبدیل شوند. گونه‌های آرابیدوپسیس جهش یافته دارای نقص در بیوسنتز هورمون brassinostroide حتی با دریافت نورهای آبی و قرمز توسط گیرنده‌ها، دارای هیپوکوتیل کوتاه هستند. این امر نشان می‌دهد که brassinostroideها برای بلند شدن هیپوکوتیل لازم و ضروری می‌باشند.

از دیگر هورمون‌های مؤثر، می‌توان به اتیلن اشاره کرد که امتداد یافتن هیپوکوتیل جوانه‌های رشد کرده در تاریکی در گیاه آرابیدوپسیس را افزایش می‌دهد [۲۵].

البته جیبرلین نیز قادر است طول هیپوکوتیل را کنترل کند به طوری که در خیار و برنج این ارتباط بررسی شده است.تحقیقات اندکی نیز از تاثیر نور آبی بر تغییر سطح و فعالیت جیبرلین گزارش شده است [۲۲]. البته گزارشاتی نیز مبنی بر اثر تغییر سطح فیتوکروم بر میزان جیبرلین،در تنباکو [۱۶] و کلزا [۳۳] وجود دارد (شکل ۱٤).



شکل ۱٤: اثر مهاری نور بر رشد هیپوکوتیل

تشکر و قدردانی

بدین وسیله از جناب آقای دکتر توکل افشاری سرپرست محترم بخش ایمونوژنتیک پژوهشکده بوعلی مشهد جهت فراهم‌سازی بستر مناسب در این پژوهش و زحمات بی‌دریغ ایشان صمیمانه سپاسگذاری می‌نماید. از سرکار خانم مهندس گنجعلی به خاطر همیاری صمیمانه ایشان در این پژوهش و همچنین آقایان دکتر ایمان اخلاقی، آقای دکتر امیررضا رحمانی و مهندس پوریا فرخ جهت طراحی منابع نوری وآقای دکتر عزیزی جهت فراهم کردن دانه های کلزا از بخش دانه‌های روغنی موسسه تحقیقات کشاورزی استان خراسان رضوی تشکر و قدردانی می‌گردد.

منابع

[1] Bae G; Choi G; 2008Decoding of light signals by plant phytochromes and their interacting proteins. Annual Review Of Plant Biology. 59: 281-311.

[2] Barrero J; Downie A; Xu Q; Gubler F; 2014; A role for barley cryptochrome1 in light regulation of grain dormancy and germination. Plant Cell. 26: 1094–1104.

[3] Beggs C; Wellmann E; 1994; Photocontrol of flavonoid biosynthesis. Photomorphogenesis In Plant. 78: 733–52.

[4] Blum D; Elzenga J; Linnemeyer P; 1992; Stimulation of growth and ion uptake in bean leaves by red and blue light.Plant Physiol. 100: 1968–75.

[5] Boylan M; Quail P; 1983; Oat phytochrome is biologically active in transgenic tomatoes. Plant Cell.1:765–73.

[6] Chen M; Chory J; Fankhauser C; 2004; Light signal transduction in higher plants. Anna Rev Genet. 38: 87-117.

[7] Cosgrove D; 1994; Photomodulation of growth. Photobiology in plants. 78: 631–58

[8] Dehesh K; Franci C; Parks B; Seeley K; Short T; 1993; Arabidopsis HY8 locus encodes phytochrome A. Plant Cell. 5: 1081–88.

[9] Downs R; 1995; Photoreversibility of leaf and hypocotyl elongation of dark grown red kidney bean seedlings. Plant Physiol. 30: 468–73.

[10] Duek P; Elmer M; Oosten V; Fankhauser C; 2004; The degradation of HFR1, a putatire bHLH class transcription factor involved in light signaling, is regulated by phosphorylation and requires, cop1. Current Biology. 14: 2296-2301.

[11] Fankhauserl C., Ulm R; 2011; Light-regulated interactions with SPA proteins underlie cryptochrome-mediated gene expression. Gene and Development. 25: 1004–1009.

[12] Goto N; Yamamoto K; Watanabe M; 1993; Action spectra for inhibition of hypocotyl growth of wild-type plants and of the hy2 long-hypocotyl mutant of Arabidopsis thaliana L. Photochem. Photobiol. 57: 867–71.

[13] Gyula P; Schäfer E; Nagy F; 2003; Light perception and signalling in higher plants. Current Opinion in Plant Biology. 6: 446-452.

[14] Holm M; Mal G; Qu L; Deng X; 2002; Two interacting bZIP proteins are direct targets of COP1-mediated control of light dependent gene expression in Arabidopsis. Gene Dev. 16: 1247-1259.

[15] Jing, Y., Zhang, D.(2013). Arabidopsis chromatin remodeling factor pickle interacts with transcription factor HY5 to regulate hypocotyl cell elongation. The Plant Cell. 25: 1 242-256.

[16] Jordan E; Hatfield P; Hondred D; Talon M; Zeevaart J; Vierstra R; 1995; Phytochrome A overexpression in transgenic tobacco: correlation of dwarf phenotype with high concentrations of phytochrome in vascular tissue and attenuated gibberellin levels. Plant Physiol. 107: 797–805.

[17] Khurana J; Dasgupta V; Laxmi A; Kumar D; Paul L; 2004; Light control of plant development by phytchromes. Proccedings of The India National Science Academy. 70: 370-411.

[18] Khurana J; Chattergee M; Sharma P; Kumar D; 2009; Blue light sensing cryptochromes: structure-function perspective and their genetic manipulation in plants. Proceedings of the Indian National science Academy. 79: 81-103.

[19] Khush G; 2001; Green vevolution: the way forward. Nature Reviews Genetics. 2: 815-822.

[20] Koornneef M; Cone J; Dekens R; Herne E; Spruit C; Kendrick R; 1985; Photomorphogenic responses of long hypocotyl mutants of tomato.J. Plant Physiol. 120: 153–65.

[21] Koornneef M; Rolf E; Spruit C; 1980; Genetic control of light inhibited hypocotyl elongation in Arabidopsis thaliana (L.) Heynh. Z. Plant Physiol. 100: 147–60.

[22] Lopez E; Kobayashi M; Sakurai A; Kamiya Y; Kendrick R; 1995; Phytochrome, giberellins, and hypocotyl growth. Plant Physiol. 107: 131–40.

[23] Lumsden P; 1991; Circadian rhythms and phytochrome. Plant Mol. Biol. 42: 351–71.

[24] Mancinelli A; 1994; The physiology of phytochrome action. Photomorphogenesis in Plants. 78: 211–70.

[25] Nemhauser J; Mockler T; Chory J; 2004; Interdependency of brassinosteroid and auxin signaling in Arabidopsis. PLOS Biology. 16: 144-156.

[26] Muangprom A; Osborn T; 2004; Characterization of dwarf gene in Brassica rapa, including the identification of a candidate gere. Theoretical and Applied Genetic. 108: 1378-1384.

[27] Nemhauser J; Mockler T; Chory J; 2004; Interdependency of brassinosteroid and auxin signaling in Arabidopsis. Plos Biology. 16: 144-156.

[28] Oelze H; Schopfer P; 1971; Demonstration of a threshold regulation by phytochrome in the photomodulation of longitudinal growth of the hypocotyl of mustard seedlings (Sinapis alba L.). Planta. 100: 167–75.

[29] Osterlund M; Hardtke C; Deng X; 2000; Targeted destabilization of HY5 during light-regulated development of Arabidopsis. Nature. 405: 462-466.

[30] Oyam T; Shimura Y; Okada K; 1997; The Arabidopsis HY5 gene encodes a bZIP protein that regulates stimulus- induced development of root and hypocotyl. Gene Dev. 11: 2983-2995.

[31] Reed J; Nagatani A; Elich T; Fagan M; Chory J; 1991; Phytochrome A and

phytochrome B have overlapping but distinct functions in Arabidopsis development. Photobiol. 66: 732-741.

[32] Reed J; Nagpal P; Chory J; 1992; Searching for phytochrome mutants. Photochem.Photobiol. 56: 833–38.

[33] Ross J; Willis C; Gaskin P; Reid J; 1992; Shoot elongation in Lathyrus elongates L.: giberellin levels in light and darkgrown tall and dwarf seedlings. Planta. 187: 10–13.

[34] Somers D; Sharrock R; Tepperman J; Quail P; 1991; The hy3 long hypocotyl mutant of Arabidopsis is deficient in phytochrome B. Plant Cell 3: 1263–74

[35] Sullivan J; Deny X; 2003; From seed to seed: the role of photoreceptors in Arabidopsis development. Developmental Biology. 260: 289-297.

[36] Wall J; Johnson C; 1983; An analysis of phytochrome action in the ‘high irradiance response. Planta. 159: 387–97.

[37] Wang H; Gen L; Zhao H; Deng X; 2001; Direct interaction of Arabidopsis cryptochromes with COP1 in light control development. Science 294:154-158.

[38] Whitelam G; Harberd P; 1994; Action and function of phytochrome family members revealed through the study of mutant and transgenic plants. Plant Cell Environ. 17: 615–25.

[39] Yang H; Wu Y; Tang R; Liu D; Cashmore A; 2000; The C Termini of Arabidopsis Cryptochromes Mediate a Constitutive Light Response. Plant Cell. 5: 815–827.

[40] Yu X; Liu H; Klejnot J; Lin C; 2010; The cryptochrome blue light receptors in the Arabidopsis. The American Society of Plant Biologists. 10:27-39.