نشریه فیزیولوژی محیطی گیاهی، سال دهم، شماره ۳۸، تابستان ۱۳۹۴ / صفحات: ۶۷-۵۷

بررسی تغییرات فصلی دو اسمولیت پرولین و گلیسین بتائین در ۳ گونه *Nepeta persica* Boiss. و *Salvia leriifolia* BENTH. و *Teucrium polium* L. از رویشگاه طبیعی استان خراسان رضوی

مه‌لقا قربانلی*[۱]، فاطمه اسدالهی[۲]

[۱] استاد، گروه زیست‌شناسی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد گرگان، گرگان

[۲] کارشناس‌ارشد، گروه زیست‌شناسی، دانشگاه آزاد اسلامی واحد گرگان، گرگان

تاریخ دریافت: ۹٤/۲/۲۲ تاریخ پذیرش: ۹٤/۵/۸

چکیده

انباشته شدن اسمولیت‌ها در تنش‌های محیطی مانند شوری، خشکی، فلزات سنگین، سرما و گرما به‌طور گسترده مورد مطالعه قرار گرفته است. در این پژوهش انباشته شدن دو اسمولیت پرولین و گلیسین بتائین در ۳ گونه دارویی *Nepeta persica* Boiss. و *Salvia leriifolia* BENTH و *Teucrium polium* L. متعلق به تیره Lamiaceae از منطقه معدن مس تکنار در شهرستان بردسکن در دو فصل بهار و تابستان مورد ارزیابی قرار گرفت. نتایج حاصل از این بررسی نشان داد که به‌طورکلی این دو اسمولیت در اندام هوایی بیشتر از ریشه تجمع می یابند و همینطور گونه *Teucrium polium* در بهار هر دو اسمولیت را و در تابستان گلیسین بتائین را و گونه *Nepeta persica* در تابستان پرولین را بیشتر از سایر گونه‌ها در خود انباشته می‌کنند. همچنین در گونه *Nepeta persica* این اسمولیت‌ها در تابستان بیشتر از بهار و در گونه *Teucrium polium* در بهار بیشتر انباشته می‌شوند و گونه *Salvia leriifolia* نسبت به دو گونه دیگر از هر دو اسمولیت به میزان کمتری استفاده می‌کند.

واژه‌های کلیدی: بردسکن، تغییرات فصلی، پرولین، گلیسین بتائین، معدن مس تکنار

مقدمه

گونه دارویی *Nepeta persica* گونه‌ای بوته‌ای، سبز فام، چندین ساقه‌ای، دارای ساقه‌ای با طول ۲۰ تا ٤۰ سانتی‌متر، بومی ایران و متعلق به تیره Lamiaceae می‌باشد. گونه‌های *Nepeta* به‌طور وسیعی در طب سنتی استفاده می‌شوند زیرا آنها خاصیت ضدگرفتگی عضلات، خلط آور، مدر، تب بر، ضدعفونت، ضدآسم دارند (Rabbani et al., 2007).

در زبان فارسی، گونه دارویی *Salvia leriifolia* نوروزک، چبله، چپله، ممیزه، نخود کوهی و مریم گلی مشهدی نامیده می‌شود. چون دانه این گیاه حاوی روغن است اخیراً اهلی نمودن و کشت آن مورد توجه قرار گرفته است (ماه وان، ۱۳۸۱). گونه‌ای چند ساله که از نظر جغرافیایی در جنوب و منطقه گرمسیری استان‌های خراسان، سمنان در ایران رشد می‌کند (Hossein zadeh et al., 2007).

Teucrium polium L. که اسم فارسی آن کلپوره یا مریم نخودی می‌باشد. گلهای متفاوت به رنگ‌های سفید، سفید مایل به زرد و یا زرد و حتی ارغوانی دارد. زمان گل دادن آن به تناسب شرایط محیط زندگی بین خرداد و مرداد است. محل رویش آن در نواحی مختلف شمال، غرب، جنوب و مرکز ایران،

*نویسنده مسئول: mahlagha.ghorbanli@yahoo.com

منطقه البرز، اطراف تهران خصوصاً در نواحی نیمه بایر و کوهستان‌های نیمه خشک می‌باشد (زرگری، ۱۳۷۱).

پرولین مولکولی است که در زمینه پاسخ‌های گیاه به استرس‌های محیطی به‌طور وسیعی مورد بررسی قرار گرفته است. بسیاری از گیاهان این اسمولیت را تحت استرس‌هایی نظیر خشکی (Aspinall and Paleg, 1981)، شوری (Ashraf and Harris, 2004)، دمای پایین (Naidu et al., 1991) و دمای بالا نباشته می‌کنند. تجمع بالای پرولین اغلب در گیاهان تحت شرایط استرس فلزات سنگین نیز پیش می‌آید (Sharma and Dietz, 2006)، توانایی تولید پرولین در برابر فلزات مختلف متفاوت می‌باشد. مثلاً در شدت سمیت مساوی، پرولین در برابر Cd کمتر از Zn و سپس کمتر از Cu تجمع یافت (Schat et al., 1997). ثابت شده است که Cu و Cd القاگران قوی پرولین در سایر گونه‌های گیاهی نیز می‌باشند (Bassi and Alia, 1991; Sharma, 1993). اغلب افزایش در میزان پرولین در اندام‌های هوایی بالاتر از ریشه‌هاست، قسمت عمده‌ی پرولین ایجاد شده در برابر فلزات در *S.vulgaris* محدود به برگ‌ها می‌شد (Schat et al., 1997)، در گونه *Armeria maritima* که گونه بسیار مقاوم به مس است، گزارش شده است که در یک باتلاق محتوای مس بالا در Wales بالاترین میزان پرولین در ریشه‌ها بود و در مقابل گیاهان که در محل فاقد مس بودند، پرولین زیادی را نشان ندادند (Farago and Mullen, 1979). عنوان شده است پرولین احتمالاً درهمبند شدن یون‌های فلزی نقش دارد (Sharma et al., 1998). در مورد اهمیت هم‌بند شدن پرولین با فلزات در محیط طبیعی مشاهده شد که مس در ریشه‌های گیاه مقاوم به مس *A. maritima* به‌صورت کمپلکس پرولین ـ مس وجود داشت (Farago and Mullen, 1979). Pang و همکاران (۲۰۰۳) نیز ضمن مطالعه اثر فلزات سنگین بر علف خس ملاحظه نمودند که فلزات سنگین موجب القاء انباشتگی پرولین در ریشه و برگها می‌گردد و انباشتگی پرولین در ریشه معنی‌دار است .همچنین Shah و Dubey (۱۹۹۸) اظهار داشتند که مکانیسم اکثر گیاهان و جلبک‌ها در پاسخ به فلزات سنگین تولید پرولین می‌باشد. Siripornadulsil و همکاران (۲۰۰۲) ضمن مطالعه اثر سمیت فلز سنگین بر جلبک کلامیدوموناس و مکانیسمهای مولکولی پرولین برای مقاومت جلبک در برابر فلزات سنگین بیان کردند که پرولین تنش فلز سنگین را به وسیله سرکوبی رادیکال‌های آزادی که تحت‌تأثیر فلز سنگین تولید می‌شود، کاهش می‌دهد. در این رابطه عنوان شده است فلز سنگین با پرولین آزاد باند نمی‌شود، در این حالت ممکن است پرولین آزاد به‌عنوان آنتی اکسیدان در سلول‌های در معرض تنش فلز سنگین عمل کند و موجب افزایش گلوتاتیون و در نهایت سنتز فیتوکلاتین و جداسازی فلز سنگین شود. Smirnoff و Cumbes (۱۹۸۹) گزارش کردند که جاروکردن رادیکال هیدروکسیل (OH°) یکی از خواص پرولین است ولی اثری روی رادیکال‌های سوپراکسید ندارد.

مکانیسم‌های از بین بردن اکسیژن‌های واکنشگر اکسیژن (ROS) توسط پرولین اخیراً توسط Matysik و همکاران (۲۰۰۲) بررسی شده است. در این راستا اعلام شده است پرولین رادیکال آزاد از جمله اکسیژن فعال و رادیکال‌های هیدروکسیل (OH°) را کاهش می‌دهد (Alia et al., 2001).

گلیسین بتائین از جمله مولکول‌های کوچک شناخته شده است که در زمره ترکیبات چهارگانه آمونیومی از طبقه اسمولیت‌های سازشی آلی قرار می‌گیرد، گلیسین بتائین، پرولین بتائین، بتاآلانین بتائین و کولین –O– سولفات از جمله اسمولیت‌های آلی می‌باشند (Naoki et al., Nuccio et al., 1999

;2000). این ترکیبات از پیش‌سازهای اسید آمینه‌ای مشتق شده‌اند. از خواص مشترک این ترکیبات، آن است که در pH خنثی فاقد بار و در آب بسیار محلول هستند (Ballanthyne and Chmberlin, 1994) و در غلظت‌های بالا، اثرات مخرب بر واکنش‌های ماکرومولکول ندارند. گلیسین بتائین موجب افزایش فعالیت فتوسنتزی از طریق افزایش تجمع کلروفیل‌ها، افزایش جذب CO_2، تسهیل انتقال الکترون، محافظت از فعالیت پروتئین‌ها و لیپیدهای غشاء تیلاکوئیدی در فتوسیستم ۲ می‌شود (William et al., 1992) و در شرایط تنش از منابع مهم نیتروژن در گیاه محسوب می‌شود (Grattan and Griere, 1985). گلیسین بتائین به‌طور عمومی یک اسمولیت است که در گیاهان تحت شرایط استرس شوری و خشکی (Köhl, 1996) و همچنین تحت شرایط استرس فلزات سنگین (Sharma and Dietz, 2006) انباشته می‌شود.

در این مطالعه به بررسی تغییرات فصلی دو اسمولیت پرولین و گلیسین بتائین در ۳ گونه *Nepeta persica* BOISS. و *Salvia leriifolia* BENTH. و *Teucrium polium* L. متعلق به تیره Lamiaceae در معدن مس تکنار در شهرستان بردسکن (خراسان رضوی) پرداخته شد تا الگوی رفتاری این سه گونه از نظر انباشته کردن پرولین وگلیسین بتایین درشرایط رویش در زمین معدن که محتوی فلزات سنگین است مشخص گردد.

مواد و روش‌ها

محدوده مطالعاتی معدن مس تکنار واقع در ارتفاعات قلعه توت در ۱۲ کیلومتری شمال غربی انابد و ۳۷ کیلومتری شمال غربی شهرستان بردسکن واقع شده است و ارتفاع منطقه از سطح دریا بین ۱۳۵۰ تا ۱۴۵۰ می‌باشد. در این مطالعه گیاهانی که کنار هم روییده بودند از منطقه معدن مس تکنار به‌طور تصادفی در دو فصل بهار و تابستان از میان جمعیت‌های موجود در محل معدن برداشت شدند.

اندازه‌گیری مقدار پرولین: ۰/۵ گرم ماده تر گیاهی (برگ و ریشه) گیاه موردنظر را توزین و در ۱۰ میلی‌لیتر محلول ۳ درصد اسیدسولفوسالیسیلیک سائیده و مخلوط همگنی تهیه شد. مخلوط حاصل با استفاده از کاغذ واتمن شماره ۲ صاف و از هر کدام از محلول‌های حاصل ۲ میلی‌لیتر برداشته و در لوله‌های آزمایش ریخته شد، سپس به هر یک از لوله‌های محتوی عصاره گیاهی ۲ میلی‌لیتر معرف اسید نینهیدرین و ۲ میلی‌لیتر اسیداستیک خالص افزوده شد. در مرحله بعد کلیه لوله‌ها در بن‌ماری با دمای ۱۰۰ درجه سانتی‌گراد قرار داده شد و بعد از یک ساعت لوله‌ها جهت قطع انجام واکنش‌ها لوله‌ها را در حمام یخ قرار گرفت، سپس به هر لوله ٤ میلی‌لیتر تولوئن اضافه و لوله‌ها را به شدت تکان داده شد . در مرحله بعد با ثبات نگه داشتن لوله‌ها به مدت ۲۰ ثانیه دو لایه کاملاً مجزا تشکیل شد. از لایه رنگی فوقانی که حاوی تولوئن و پرولین بود جهت اندازه‌گیری غلظت پرولین استفاده شد. مقدار معینی از این بخش جدا شده و جذب آن در دستگاه اسپکتروفتومتر در طول موج ۵۲۰ نانومتر قرائت شد. مقدار پرولین موجود در هر نمونه با استفاده از منحنی استاندارد پرولین بر اساس وزن تر محاسبه و در نهایت به‌صورت میکرومول بر گرم وزن تر ارزیابی گردید (Bates et al., 1973).

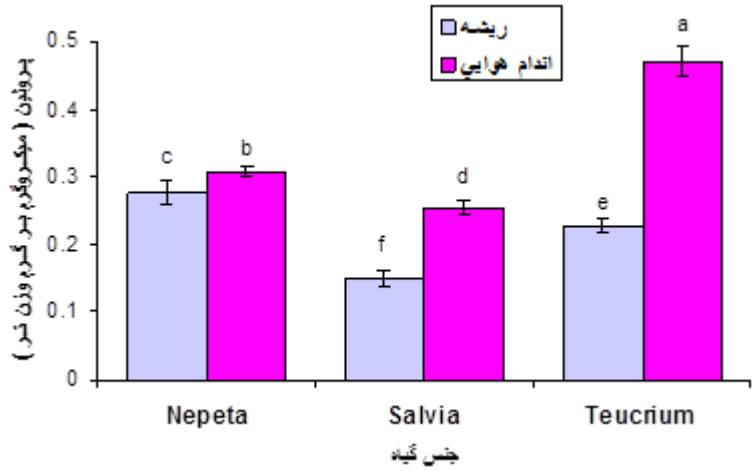
اندازه‌گیری مقدار گلیسین بتائین: ۰/۵ گرم از پودر خشک شده برگ و ریشه گیاه مورد نظر در ۲۰ میلی‌لیتر آب دوبار تقطیر حل و در دمای ۲۰ درجه سانتی‌گراد تکان داده شدند. نمونه از کاغذ صافی عبور و تا زمان شروع آنالیز بعدی در فریزر قرار داده شدند. در مرحله بعد نمونه از فریزر خارج و پس از ذوب شدن یخ آن، به نسبت ۱ : ۱ با اسید سولفوریک 2N

رقیق گردیدند. سپس ۰/۵ میلی‌لیتر از آن جدا شده در داخل لوله آزمایش و در آب یخ به مدت یک ساعت نگهداری شدند و به آنها ۰/۲ میلی لیتر از معرف یدید ـ یدین پتاسیم سرد اضافه به آهستگی توسط ورتکس مخلوط شدند. محلول‌ها به مدت ۱۶ ساعت در دمای یخچال (صفر تا ٤ درجه سانتی‌گراد) قرار داده شدند. سپس نمونه‌ها در دمای صفر درجه سانتی‌گراد به مدت ۱۵ دقیقه در ۱۰۰۰۰rpm سانتریفوژ شدند. ۱ میلی‌لیتر از فاز بالایی با میکروپیپت جدا شده و با ۹ میلی‌لیتر ۱، ۲ دی کلرو اتان (به‌عنوان معرف) حل شد، سپس شدیداً ورتکس شده و بعد از ۲/۵ ساعت جذب آن در طول موج ۳٦۵ نانومتر با دستگاه اسپکترو فتومتر خوانده شد. مقدار گلیسین بتایین با استفاده ازمنحنی استاندارد گلیسین بتایین محاسبه وبر اساس وزن تر به صورت میکرومول بر گرم وزن تر تعیین گر دید (Sairam and Strivastava, 2002).

تجزیه و تحلیل داده‌ها از طریق واریانس دو عاملی و میانگین انجام گرفت. همچنین مقایسه بین تیمارها براساس آزمون دانکن توسط برنامه آماری SPSS برای چهار تکرار صورت گرفت و رسم نمودارها با کمک نرم‌افزار Excel انجام شد. نمودارها نشانگر میانگین± SE می‌باشد.

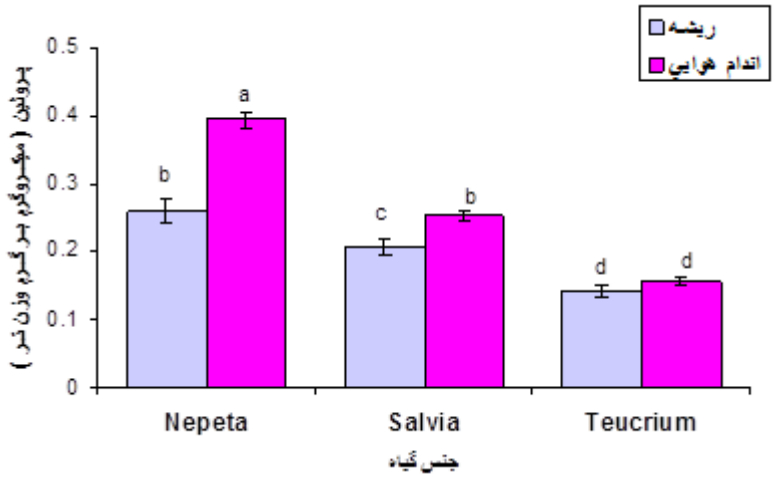
نتایج

بررسی پرولین در ریشه و اندام هوایی سه گونه در فصول بهار و تابستان در معدن مس: در هر دو فصل میزان پرولین بیشتری در اندام هوایی نسبت به ریشه وجود داشت. مقایسه میزان پرولین در ریشه و اندام هوایی سه گونه *T. polium* و *N. persica* و *S. leriifolia* در فصل بهار اختلاف معنی‌داری در سطح ۰/۰۵ درصد را نشان داد. همچنین مشخص شد که در فصل بهار میزان پرولین در اندام هوایی گونه *T. polium* دارای بیشترین مقدار و در ریشه گونه *S. leriifolia* دارای کمترین مقدار می‌باشد (شکل ۱).



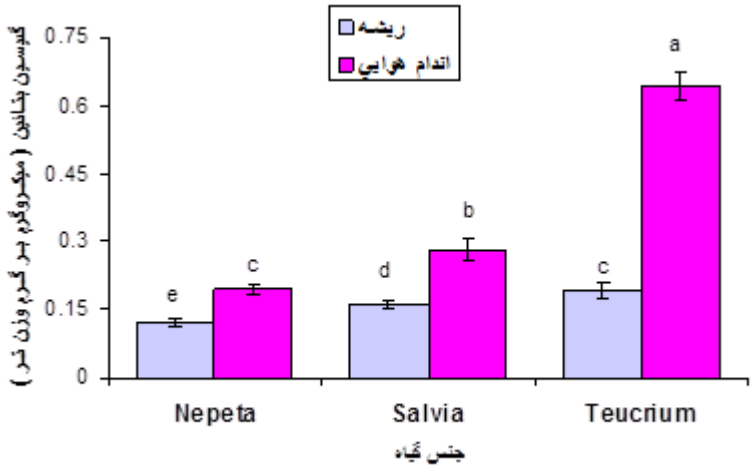
شکل ۱: مقایسه میزان پرولین در ریشه و اندام هوایی سه گونه *T. polium* و *N. persica* و *S. leriifolia* در فصل بهار

مقایسه میزان پرولین در ریشه و اندام هوایی دو گونه *N. persica* و *S. leriifolia* در فصل تابستان اختلاف معنی‌داری در سطح ۰/۰۵ درصد را نشان داد. همچنین طبق نتایج بدست آمده در فصل تابستان میزان پرولین در اندام هوایی گونه *N. persica* دارای بیشترین مقدار و در ریشه و اندام هوایی گونه *T. polium* دارای کمترین مقدار بود. (شکل ۲).



شکل ۲: مقایسه میزان پرولین در ریشه و اندام هوایی
سه گونه *T. polium* و *N. persica* و *S. leriifolia* در فصل تابستان

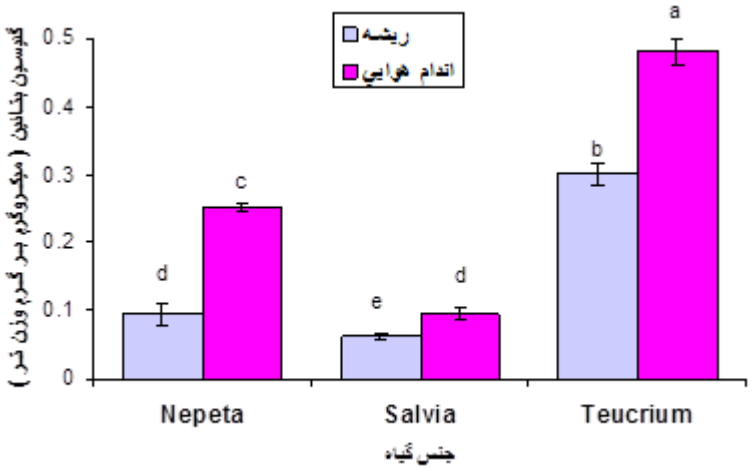
بررسی میزان گلیسین بتائین در ریشه و اندام هوایی سه گونه در فصول بهار و تابستان در معدن مس: چنانچه در شکل ۳ مشاهده می‌شود در هر دو فصل میزان گلیسین بتائین بیشتری در اندام هوایی نسبت به ریشه وجود داشت. مقایسه میزان گلیسین بتائین در ریشه و اندام هوایی سه گونه *T. polium* و *N. persica* و *S. Leriifolia* در فصل بهار اختلاف معنی داری در سطح ۰/۰۵ درصد را نشان داد. همچنین در فصل بهار میزان گلیسین بتائین در اندام هوایی گونه *T. polium* دارای بیشترین مقدار و در ریشه گونه *N. persica* دارای کمترین مقدار بود (شکل۳).



شکل ۳: مقایسه میزان گلیسین بتائین در ریشه و اندام هوایی
سه گونه *Teucrium polium* و *Nepeta persica* و *Salvia leriifolia* در فصل بهار

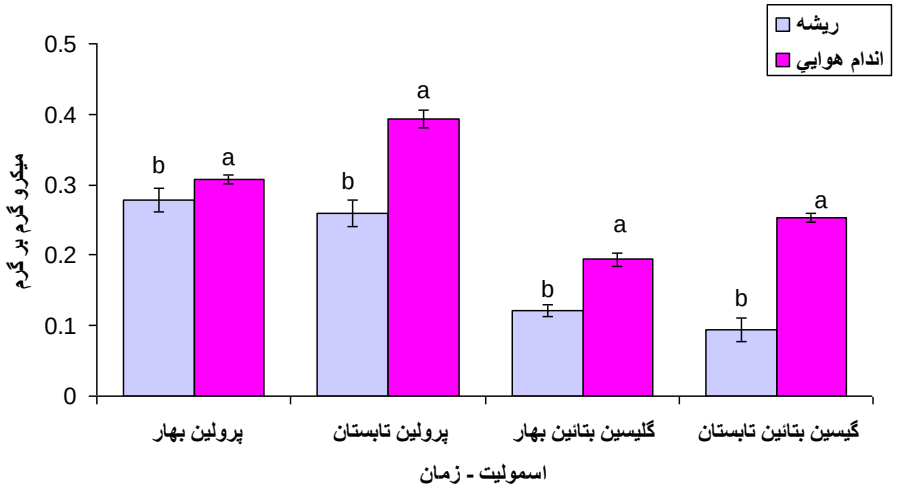
طبق نتایج بدست آمده مقایسه میزان گلیسین بتائین در ریشه و اندام هوایی سه گونه *T.polium* و *N. persica* و *S. leriifolia* در فصل تابستان اختلاف معنی‌داری را نشان داد. همچنین در فصل تابستان

میزان گلیسین بتائین در اندام هوایی گونـه *T. polium* از بـالاترین مقـدار و در ریشـه گونـه *S. leriifolia* از کمترین مقدار برخودار بود (شکل٤).



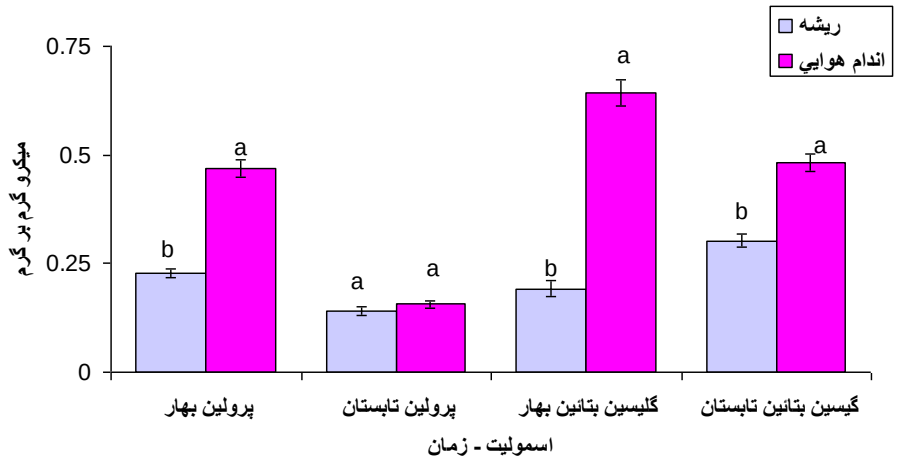
شکل ٤: مقایسه میزان گلیسین بتائین در ریشه و اندام هوایی سه گونه *Teucrium polium* و *Nepeta persica* و *Salvia leriifolia* در فصل تابستان

.مقایسه میزان پرولین و گلیسین بتـائین در ریشـه و اندام هوایی در هر کدام از گونه‌ها در فصل بهـار و تابستان: میزان پـرولین و گلیسـین بتـائین در ریشـه و اندام هوایی گونه *N. persica* در فصل بهار و تابسـتان دارای اخـتلاف معنـی‌دار بـود. طبـق شـکل ۵ میـزان پرولین و گلیسین بتائین در دو فصل بهار و تابستان در اندام هوایی این گونه بیشتر از ریشه بود.



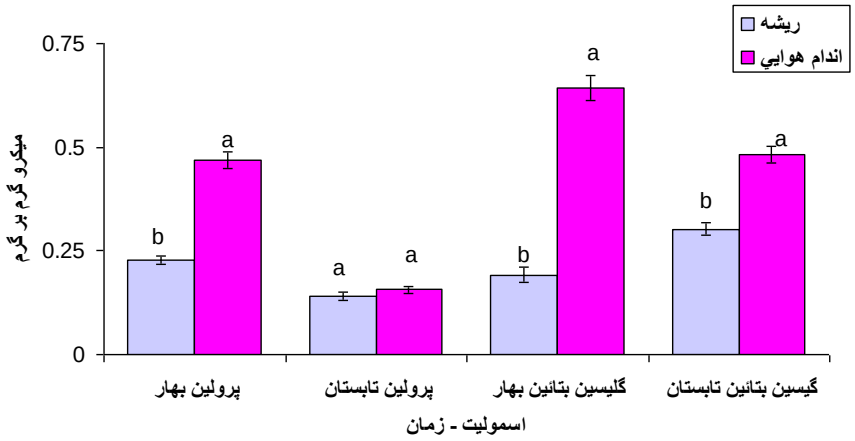
شکل ۵ : مقایسه میزان پرولین و گلیسین بتائین در ریشه و اندام هوایی گونه *N. persica* در فصل بهار و تابستان

میزان پرولین و گلیسین بتائین در ریشه و اندام هوایی گونه *Salvia leriifolia* در فصل بهار و تابستان اختلاف معنی‌داری را به نمایش گذاشت. نتایج نشان داد که میزان پرولین و گلیسین بتائین دردو فصل بهار و تابستان در اندام هوایی این گونه بیشتراز مقدار آن در ریشه بود (شکل ٦).



شکل ٦: مقایسه میزان پرولین و گلیسین بتائین در ریشه و اندام هوایی گونه *Salvia leriifolia* در فصل بهار و تابستان

میزان گلیسین بتائین در ریشه و اندام هوایی گونه *T. polium* در فصل بهار و تابستان و میزان پرولین در ریشه واندام هوایی در فصل بهار اختلاف معنی‌داری در سطح ۵ درصد نشان داد. طبق نتایج بدست آمده میزان گلیسین بتائین در دو فصل بهار و تابستان در اندام هوایی این گونه بیشتر از مقدار آن در ریشه بود و میزان پرولین در فصل بهار در اندام هوایی این گونه بیشتراز مقدار آن در ریشه می‌باشد (شکل ۷).



شکل۷: مقایسه میزان پرولین و گلیسین بتائین در ریشه و اندام هوایی گونه *T. polium* در فصل بهار و تابستان

بحث

گلیسین بتائین و پرولین دو اسمولیت آلی مهم هستند که در انواع گونه‌های گیاهی در پاسخ به تنش‌های محیطی مانند خشکی، شوری، دمای بالا و پایین،UV و فلزات سنگین انباشته می‌شوند (Ashraf and Foolad, 2007). نتایج پژوهش حاضر نشان داد که اولاً هر سه گونه گیاهی که در روی معدن مس تکنار در برخورد با تنش فلزات سنگین هستند از این دو اسمولیت برای مقابله با شرایط محیطی استفاده می‌کنند ولی نحوه استفاده متفاوت بود و در فصول بهار و تابستان تغییر کرد.

در این پژوهش مشاهده شد بیشترین میزان پرولین در بهار مربوط به اندام هوایی *T. polium* و کمترین میزان مربوط به ریشه گیاه *S. leriifolia* بود. همچنین بیشترین میزان پرولین تابستان مربوط به اندام هوایی *N. persica* و کمترین آن مربوط به ریشه و اندام هوایی *T. poluim* می‌باشد.

میزان گلیسین بتائین در بهار در اندام هوایی *T. polium* بیشترین و در ریشه *N.persica* کمترین مقدار و در تابستان بیشترین و در ریشه *N. persica* کمترین و در تابستان بیشترین میزان گلیسین بتائین مربوط به ریشه و اندام هوایی *T. poluim* وکمترین مقدار مربوط به ریشه گیاه *S. leriifolia* بود. همچنین طبق نتایج آمده گیاه *T. poluim* در بهار از پرولین بیشتری نسبت به تابستان استفاده می‌کند. به‌طورکلی این گیاه هم در بهار و هم در تابستان از گلیسین بتائین بیشتر از پرولین استفاده می‌کند که با نتایج Mukherjee و Dalal (۲۰۱٤) مطابقت دارد. همچنین این گونه در بهار هم میزان پرولین و هم گلیسین بتائین کمتری را در ریشه نسبت به اندام هوایی انباشته می‌کند که نشانگر این واقعیت است که ریشه از مکانیزم دیگری جهت افزایش بردباری بهره گرفته است.

در گیاه *N. persica* میزان پرولین و گلیسین بتائین در تابستان بیشتر از بهار بود. همچنین این گیاه به‌طورکلی از پرولین بیشتر از گلیسین بتائین استفاده می‌کند. مطابق با نظر Kazuko (۲۰۰۱) سنتز پرولین تحت تنش‌های محیطی مانند خشکی و شوری بالا، دمای بالا،یخ زدگی و تابش UV افزایش می‌یابد. بنابراین نتایج بدست آمده در این گیاه که در تابستان با افزایش خشکی پرولین افزایش می یابد با نتایج Kazukoهمخوانی دارد. همچنین پرولین تحت تنش فلزات سنگین نیز افزایش می‌یابد (Alia and 2014; Theriappan, Mohanty, 1991). در گونه *S. leriifolia* میزان پرولین در بهار و تابستان تفاوتی را نشان نمی دهد ولی میزان گلیسین بتائین در بهار بیشتر از تابستان است این گونه در بهار از گلیسین بتائین بیشتر و در تابستان از پرولین بیشتر استفاده می‌کند.

به‌طورکلی در هر ۳ گیاه مورد مطالعه میزان پرولین و گلیسین بتائین در هر دو فصل در اندام هوایی بیشتر از ریشه بود. طبق نظر Schat و همکاران (۱۹۹۷) افزایش در میزان پرولین در اندام هوایی بیشتر از ریشه‌هاست که این مطلب با نتایج ما همخوانی دارد. تحقیقات نشان داده است که پرولین احتمالاً در همبند شدن یونهای فلزی نقش دارد (Sharma et al., 1998) همبند شدن پرولین با فلزات سنگین در محیط طبیعی قابل توجه است چون گیاهان مورد آزمایش نیز بر روی معدن مس روییده‌اند. مس در ریشه‌های گیاه مقاوم به مس *A. maritima* به صورت کمپلکس پرولین- مس مشاهده می شود (Farago and Mullen, 1979)

گلیسین بتائین یک محلول سازگار است که قادر است تعادل اسمزی را در سلول‌های زنده برقرار کند و سنتز و انباشته شدن آن پاسخی برای استرسهای غیرزیستی است.گلیسین بتائین مقاومت به استرس‌های شوری، سرماو فلزات سنگین را به وسیله حفظ پروتئین‌های فتوسنتزی (Holmstrom, 2000) و کاهش پراکسیداسیون سلول‌های غشاء (Dahir et al., 2012; Chen et al., 2000) افزایش می‌دهد. Bergmann و همکاران (۲۰۰۱) نشان دادند که افزایش غلظت‌های Cd، Pb و Zn و سایر فلزات در گیاه جو انباشته شدن بتائین، پوترسین و اسپرمین را افزایش می‌دهد.

گونه‌های گیاهی بسیاری گلیسین بتائین را در منطقه خشک و شور در پاسخ به استرس شوری و خشکی و فلزات سنگین انباشته می‌کنند (Rhodes and Hanson, 1993; Mukherjee and Dalal, 2014)

.همچنین نشان داده شده است گلیسین بتائین در پاسخ به استرس دمای پایین و یا بالا در گیاهان عالی انباشته می‌شود که در حفاظت غشاء و پروتئین‌ها نقش دارد (Zhao et al., 1992; Yang et al., 1996). به‌طورکلی انباشتن متابولیت‌هایی مانند گلیسین بتایین ممکن است به عنوان یک وسیله ایمنی برای تنظیمات اکسید واحیا در طول استرس به کار گرفته شود (Shen et al., 1999; Kuzunetsov and Shevy, 1999).

گزارش شده است انباشتگی پرولین در شرایط استرس در گیاهان باعث کاهش تخریب در غشاء و پروتئین‌ها می‌شود (Verma, 1999; Alia et al., 1997; Shah and Dubey, 1998). همچنین در تحقیقی مشخص شد پرولین مقاومت طبیعی رویان را در گیاه کرفس در برابر کم شدن آب افزایش می‌دهد (Saranga et al., 1992; Okuma et al., 2000).

نتیجه‌گیری نهایی

نظر به اینکه هر سه گیاه مورد آزمایش در محل معدن مس کنار هم روییده‌اند و به‌طور طبیعی در معرض تنش فلز سنگین هستند، برای حفظ تعادل اسمزی و افزایش فعالیت آنتی‌اکسیدانی، گیاهان دو اسمولیت پرولین و گلیسین بتایین را سنتز کردند. در عین حال میزان این دو اسمولیت در فصل بهار و تابستان متفاوت بود. همچنین واکنش سه گونه گیاه مورد آزمایش در تغییر این اسمولیت‌ها در فصول یکسان نبود به‌عنوان مثال گیاه *Nepeta persica* در تابستان که تنش گرما هم اثر گذار است بر میزان پرولین در حالی که *Teucrium polium* در تابستان بر میزان گلیسین بتایین خود افزود. نتایج نشان داد که در شرایط یکسان محیط زیست الگوی رفتاری این گیاهان از نقطه نظر میزان دو اسمولیت پرولین وگلیسین بتایین یکسان نبود.

منابع

زرگری، علی. (۱۳۷۱). گیاهان دارویی (جلد اول تا چهارم). انتشارات دانشگاه تهران.

ماه وان، (۱۳۸۱). فرهنگ گیاهان ایران. انتشارات دفتر جغرافیایی و ماهواران ماه نشر). صفحه ۵۹۱.

Alia, P. and Matysik, J. (2001). Effect of proline on the production of singlet oxygen. Amino Acids. 21: 195-200.

Alia, P. (1991). Proline accumulation under heavy metal stress. Journal of Plant Physiology. 138: 504–508.

Alia, P. and Mohanty, P. (1997). Involvement of proline in protecting thylakoid membranes against free radical-induced photodamage. Journal of Photochemistry and Photobiology B. 38:253–257.

Ashraf, M. and Harris, PJC. (2004). Potential biochemical indicators of salinity tolerance in plants. Plant Science. 166: 3–16.

Ashraf, M. and Foolad, MR. (2007). Role of glycine betaine and proline in improving plant abiotic stress resistance. Environmental and Experimental Botany. 59(2): 206-216

Aspinall, D. and Paleg, LG. (1981). Proline accumulation: physiological aspects. In: Paleg LG, Aspinall D, eds. The physiology and biochemistry of drought resistance in plants. Australia: Academic Press. 205–240.

Ballanthyne, J.S. and Chambcrlin, M.E. (1994). Regulation of cellular amino acid levels. In cellular and molecular physiology of cell Volume regulation. (K strang ed), CRS Press, Boca Raton, Pp. 111-122.

Bassi, R. and Sharma, SS. (1993). Changes in proline content accompanying the uptake of zinc and copper by Lemna minor. Annals of Botany. 72:151–154.

Bates, L.S., Waldern, R.P. and Teare, I.D. (1973). Rapid determination of free proline for water stress studies. Plant Soil. 39: 205-207.

Bergmann, H., Machelett, B., Lippmann, B. and Friedrich, Y. (2001). Influence of heavy metals on the accumulation of trimethylglycine, putrescine and spermine in food plants. Amino Acids. 20(3): 325-329.

Chen, W.P., Li, P.H. and Chen, T.H.H. (2000). Glycinebetaine increases chilling tolerance and reduces chilling-induced lipid peroxidation in *Zea mays* L. Plant Cell and Environment. 23:609-618.

Dahir, B., Nasim, S., Samantary, S. and Srivastava, N. (2012). Assement of

of plant for osmotic stress resistance. Current Opinion in Plant Biology. 2:128-134.

Okuma, E., Soeda, K., Tada, M. and Murata, Y. (2000). Exogenous proline mitigates the inhibition of growth of *Nicotiana tabacum* cultured cells under saline conditions. Soil Science and Plant Nutrition. 46:257–263.

Pang, J., Chan, G.S.Y., Zhang, J., Liang, J. and Wong, MH. (2003). Physiological. aspects of vetiver grass for rehabilitation in abandoned metalliferous mine wastes. Chemosphere, 52: 1559-1570.

Rabbai, M., Sajjadi, S.E. and Mohammadi, A. (2007). Evaluation of the anxiolytic effect of *Nepeta persica* Boiss. in mice. ECAM Advance Access. 1-6.

Rhodes, D. and Hanson, AD. (1993). Quaternary ammonium and tertiary sulfonium compounds in higher plants. Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology. 44:357–384.

Sairam, P.K. and Srivastava, G.C., (2002). Changes in antioxidant activity in sub-cellular fraction of tolerant and susceptible wheat genotypes to long term salt stress. Plant Science. 162: 897-904.

Saranga, Y., Rhodes, D. and Janick, J. (1992). Changes in amino acid composition associated with tolerance to partial desiccation of celery somatic embryos. Journal of the American Society for Horticultural Science. 117:337–341.

Schat, H., Sharma, SS. and Vooijs, R. (1997). Heavy metal-induced accumulation of free proline in a metal-tolerant and a non-tolerant ecotype of *Silene vulgaris*. Physiologia Plantarum. 101 :477–482.

Shah, K. and Dubey, R.S. (1998). Effect of cadmium on proline accumulation and ribonuclease activity in rice seedlings: Role of proline as a possible enzyme protectant. Plant Biology. 40:121–130.

Sharma, SS., Schat, H. and Vooijs, R. (1998). In vitro alleviation of heavy metal-induced enzyme inhibition by proline. Phytochemistry. 49:1531–1535.

Sharma, S.S. and Dietz, K.J. (2006). The significance of amino acids and amino acid-derived molecules in plant responses and adaptation to heavy metal stress. Journal of Experimental Botany. 57(4):711-726.

Shen, B., Hohmann, S., Jensen, R.G. and Bohnert, H.J. (1999). Roles of sugar alcohols in osmotic stress adaptation. Replacement of glycerol by mannitol and sorbitol in yeast. Plant Physiology. 121:45-52.

osmolyte accumulation in heavy metal exposed *Salvia natans*. International Journal of Botany 8(3):153-158.

Farago, M.E. and Mullen, W.A. (1979). Plants which accumulate metals. IV. A possible copper–proline complex from the roots of *Armeria maritima*. Inorganica Chemica Acta. 32:L93–L94.

Grattan, S.R. and Griere, C.M. (1985). Betaine status in relation to nitrogen stress and transient stress. Plant and Soil. 85: 3-9.

Holmström, K.O., Somersalo, S., Mandal, A., Palva, T.E. and Welin, B. (2000). Improved tolerance to salinity and low temperature in transgenic tobacco producing glycine betaine. Journal Experimental of Botany. 51:177-185.

Hosseinzadeh, H., Hosseini, A., Nassiri-Asl, M. and Sadeghnia, H.R. (2007). Effect of *Salvia leriifolia* Benth. Root extracts on ischemia–reperfusion in rat skeletal muscle BMC, Complementary and Alternative Medicine. 7: 7-23.

Kazuko, Y.S. (2001). Biological function of proline in osmotolerance revealed in Antisense transgenic Plants. JIRCAS, New Letter. 27.

Köhl, K. (1996). Population-specific traits and their implication for the evolution of a drought-adapted ecotype in *Armeria maritima*. Botanica Acta. 109**:**206–215.

Kuznetsov, V.V. and Shevyakova, N.I. (1999). Proline under stress: Biological role, metabolism, and regulation. Russian Journal of Plant Physiology. 46:274-287.

Matysik, J., Ali, A., Bhalu, B. and Mohanty, P. (2002). Molecular mechanisms of quenching of reactive oxygen species by proline under stress in plants. Current Science. 82:525–532.

Mukherjee, M. and Dalal, T. (2014). Early seedling growth and accumulation of proline and phenol in *Trigonella foenum-graecum* under heavy metal stress. International Journal of Science and Research. 3(8): 1271-1273.

Naidu, BP., Paleg, LG., Aspinall, D., Jennings, AC. and Jones, GP. (1991). Amino acid and glycine-betaine accumulation in cold stressed seedlings. Photochemistry. 30: 407–409.

Naoki, N., Jinaghua, Z., Mitsura, A., Akira, D. and Sunao, Y. (2000). Application of capillary electrophoresis to simultaneous determination of betaines in plants. Annals Science. 17:103-106.

Nuccio, M.L., Rhodes, D., Me Neil, S.D. and Hanson, A., (1999). Metabolic engineering

Landers), pp. 153–168.

William, W.P., Brain, A.P.R. and Dominy, P.J. (1992). Induction of non-bilayer lipid phase separation in chloroplast thylakoid membranes by compatible solutes and its relation to the thermal stability of photosystem II. Biochemistry and Biophysic Acta. 1099: 137.141.

Yang, G., Rhodes, D. and Joly, RJ. (1996). Effects of high temperature on membrane stability and chlorophyll fluorescence in glycine betaine-deficient and glycine betaine-containing maize lines. Australian Journal of Plant Physiology. 23:437–443.

Zhao, Y., Aspinall, D. and Paleg, LG. (1992). Protection of membrane integrity in *Medicago sativa* L. by glycine betaine against the effects of freezing. Journal of Plant Physiology. 140:541–543.

Siripornadulsil, S., Traina, S., Verma, DPS. and Sayre, RT. (2002). Molecular mechanisms of proline-mediated tolerance to toxic heavy metals in transgenic microalgae. The Plant Cell. 14: 2837–2847.

Smirnoff, N. and Cumbes, QJ. (1989). Hydroxyl radical scavenging activity of compatible solutes. Phytochemistry. 28:1057–1060.

Theriappan, P., Gapta, A.K. and Dhasarathan, P. (2014). Accumulation of proline under salinity and heavy metal stress in cauliflower seedling. Journal Applied Science Environmental. 15(2): 251-255.

Verma, D.P.S. (1999). Osmotic stress tolerance in plants: Role of proline and sulfur metabolisms. In molecular responses to cold, drought, heat and salt stress in higher plants, Shinozaki, K. and Yamaguchi-Shinozaki, K. Eds. (Austin, TX: R.G.