مَنداب و امنیت غذایی در محیط‌های فراسیاره‌ای

تاریخ دریافت: ۱۴۰۲/۱۱/۱۱
تاریخ پذیرش: ۱۴۰۳/۰۶/۰۳

فاطمه موسوی

گروه فیزیولوژی هوافضایی، پژوهشگاه هوافضا، وزارت علوم، تحقیقات و فناوری، تهران، ایران ، moosavi@ari.ac.ir

چکیده

گیاه راکت یا منداب (*Eruca sativa*) توسط سازمان ناسا برای پرورش در فضای خارج از جو و کشت روی سطح مریخ انتخاب شده است. در پژوهش حاضر، تاثیر محیط خلا شبیه سازی شده فضا بر شاخص جوانه زنی، محتوای پروتئینی، فنل و فلاونوئید کل و فعالیت آنتی اکسیدانی بذر خشک گیاه راکت مورد مطالعه قرار گرفت. به منظور شبیه سازی شرایط خلا فضا، نمونه های بذر راکت درون محفظه شبیه ساز خلا سامانه های فضایی قرار گرفتند. نتایج افزایش معنادار شاخص جوانه زنی بذر را در بازه زمانی ۵ روز در گروه تحت تیمار خلا نشان داد. محتوای فنل کل در بذرهای تحت تیمار خلا در مقایسه با بذرهای گروه کنترل افزایش معناداری را از لحاظ آماری نشان داد. بذرهای تحت تیمار خلا محتوای پروتئین کل بالاتری را نسبت به بذرهای گروه شاهد داشتند. نیمرخ پروتئینی بذر در گروه های کنترل و خلا، ۱۰ باند پروتئینی مشخص را در محدوده وزن مولکولی ۴/۴۷ تا ۶۷/۴۶ کیلودالتون نشان داد که شدت باندها بین دو گروه متفاوت بود. افزایش محتوای پروتئینی کل و افزایش شدت باندهای پروتئینی در وضعیت خشک امر نادری می باشد که در مطالعه حاضر مشاهده شد. نتایج حاصل از مطالعه حاضر می تواند کاربردهای مهمی در زمینه امنیت غذایی و ذخیره بذر در بانک های بذر سیاره زمین و همچنین محیط های فراسیاره ای داشته باشد.

واژه‌های کلیدی: *خلا، شبیه ساز، بذر ، مریخ، فضای خارج از جو، منداب، راکت*

Eruca and food security in extra-planetary environments

Fateme Mousavi

Air and Space Physiology Research Group, Aerospace Research Institute (ARI), Ministry of Science, Research and Technology (MSRT), Tehran, Iran, moosavi@ari.ac.ir

Abstract

Rocket (Eruca sativa) has been selected by NASA for growing in outer space and farming on Mars. The present study studied the effect of the simulated vacuum environment on germination index, protein content, total phenol and flavonoid and antioxidant activity of dry rocket seed was studied. In order to simulate the vacuum conditions of space, the dry rocket seeds were placed in the vacuum simulator chamber of space systems. The results showed a significant increase in the seed germination index in the 5-day interval in the group under vacuum treatment. The content of total phenol in the seeds under vacuum treatment showed a statistically significant increase compared to the seeds of the control group. The seeds under vacuum treatment had a higher total protein content than the seeds of the control group. The seed protein profile in the control and vacuum groups showed 10 distinct protein bands in the molecular weight range of 4.47 to 67.46 kilodaltons, and the intensity of the bands was different between the two groups. The increase in total protein content and the intensity of protein bands in the dry state is rare as was observed in the present study. The results of the present study can have important applications in the field of food security and seed storage in seed banks of the Earth as well as extraterrestrial environments.

Keywords: *vacuum, simulator, seed, mars, outer space, Eruca, rocket.*

۱. مقدمه

مطالعه گیاهان تحت شرایط واقعی و شبیه سازی شده فضا کاربردهای مهمی برای تحقیقات پایه و کاربردی دارد که توسط آژانس های فضایی بین المللی مورد حمایت قرار می گیرد [۱-۴]. یافته های حاصل از تحقیقات علوم گیاهی تحت شرایط شدید فضای خارج از جو و یا شرایط محیطی شبیه سازی شده فضا روی زمین برای کشاورزی پایدار، تغییرات آب و هوایی، امنیت غذایی و ذخیره بذر روی سیاره زمین و همچنین برای پرورش مواد غذایی تازه در طی سفرهای فضایی، روی مریخ و سایر سیارات بسیار باارزش هستند [۵-۸].

در بسیاری از موجودات، از جمله بیشتر گیاهان، عبور از مراحل زندگی متوقف شده مستلزم تحمل به خشکی، توانایی زنده مانی در شرایط خشکی شدید با بیان مکانیسم های حفاظتی برای بافت ها و ماکرو مولکول های کم هیدراته در وضعیت خلا (خشکی بیش از حد)[1] همراه است [۹-۱۱]. ارگانیسم های مقاوم به خشکی (آنهیدروبیوت ها)[2] نظیر گرده ها و بذرها می توانند پس از حذف کامل آب سلولی خود زنده بمانند. علاوه بر توانایی تحمل شرایط خشکی، آن ها همچنین می توانند در وضعیت خشک برای مدت زمان طولانی زنده بمانند. طول عمر بذرها می تواند از دهه ها تا قرن ها و حتی هزاره ها متفاوت باشد [۱۲-۱۵]. پیری بذر و فقدان زیست پذیری آن زمانی اتفاق می افتد که بذرها در معرض تیمارهای زوال کنترل شده نظیر خشکی بیش از حد، فقدان اکسیژن و نوسانات دمایی روی زمین یا فضای خارج از جو قرار بگیرند. شرایط خلا و بی اکسیژنی می تواند به صورت مصنوعی در طول ذخیره سازی بذر روی سیاره زمین و یا به طور طبیعی تحت شرایط خلا محیط فضا ایجاد شود و منجر به پیری بذر و از دست دادن زیست پذیری آن گردد. به هر حال، بذرها از گونه های گیاهی مختلف سطوح تحمل متفاوتی را نسبت به شرایط خلا نشان می دهند [۱۶].

پیری بذر به دلیل اکسیداسیون ماکرومولکول ها (پروتئین ها، لیپیدها، اسیدهای نوکلئیک و غیره) ایجاد می شود و منجر به زوال تدریجی بذر می شود [۱۷]. بنابراین تغییرات پروتئومی می تواند در حالت خشک برای بذرها رخ دهد. یک مطالعه اخیر در بذرهای ذرت نشان داد که پیری مصنوعی بر پروتئوم بذرهای خشک تاثیر می گذارد و ۱۶ پروتئین افزایش بیان را نشان دادند. پیری مصنوعی موجب افزایش پروتئازها و تجزیه پروتئین های ذخیره ای، اختلال در متابولیسم و تامین انرژی و در نهایت منجر به زوال بذر می گردد [۱۸].

گونه *Eruca sativa* که با نام های منداب و یا راکت نیز شناخته می شود گیاهی یکساله از تیره Brassicaceae (Cruciferae) است که مصرف آن در سراسر جهان به طور فزاینده ای افزایش یافته است. این گونه در تمام طول سال به جز ماه های بسیار گرم یا بسیار سرد در مناطق معتدل کشت می شود. بذر آن بسیار مغذی است و شامل پروتئین های مختلف، گلوکوزینولات ها، ویتامین های A و C، فلاونوئیدها، اسیداوروسیک و محتوای روغن نسبتا بالا می باشد. روغن بذر این گونه به دلیل فعالیت آنتی اکسیدانی، ضد میکروبی و ضدسرطانی بسیار باارزش است [۱۹,۲۰]. منداب یکی از گونه های گیاهی است

1 ultra drying
2 Anhydrobiotes

که توسط سازمان ناسا برای پرورش در فضای خارج از جو و کشت روی سطح مریخ انتخاب شده است. برای مثال در سال ۲۰۱۵، مقدار ۲ کیلوگرم بذر منداب با استفاده از فضاپیمای سایوز TMA-18M به ایستگاه بین المللی فضایی فرستاده شد و شش ماه بعد به عنوان بخشی از پروژه دانش راکت[3] به زمین برگردانده شد. پس از بازگشت به زمین، آزمایشاتی برای تعیین تاثیر پرواز فضایی و محیط خشن فضا بر رویش بذرها و استقرار نهال ها انجام شد [۲۱]. بنابراین مطالعاتی که تاکنون پیرامون تاثیر شرایط فضا (ایستگاه بین المللی فضایی) بر بذرهای خشک منداب انجام شده است مرتبط با ذخیره طولانی مدت آن تحت شرایط حقیقی فضا بوده است. از آنجایی که خلا فضا از جمله مهمترین شرایط چالش برانگیز فضا برای محموله های زیستی می باشد. هدف از مطالعه حاضر با در نظر گرفتن ماموریت پژوهشگاه هوافضا در پرتاپ های آتی کپسول های زیستی و طول مدت کوتاه قرارگیری در شرایط واقعی فضا، بررسی تاثیر شرایط خلا کوتاه مدت فضا بر محتوای پروتئینی، فنل، فلاونوئید، فعالیت آنتی اکسیدانی و شاخص جوانه زنی بذر منداب بود.

۲. مواد و روش ها

به منظور شبیه سازی شرایط خلا محیط فضا، بذرهای خشک منداب درون شبیه ساز خلا سامانه های فضایی واقع در پژوهشگاه فضایی ایران (شکل ۱) قرار داده شدند. فشار داخل محفظه ۴-۱۰ میلی بار و دمای محیط در زمان اعمال خلا ۲۵+ درجه سانتی گراد بود. ابتدا فشار هوا داخل محفظه صفر بود و به تدریج به مقدار ۴-۱۰ میلی بار رسانده شد. نمونه ها به مدت یکساعت تحت شرایط خلا ایجاد شده قرار گرفتند. سپس فشار درون محفظه به تدریج به صفر رسانده شد.

شکل ۱. شبیه ساز خلا سامانه های فضایی، پژوهشگاه فضایی ایران.

برای مقایسه درصد رویش بذر در گروه های کنترل و تیمار خلا، از هر یک از گروه های بذر تعداد ۱۰۰ عدد شمارش و پس از شستشوی بذرها با آب معمولی همراه با یک تا دو قطره توئین ۲۰ و سپس سه بار شستشو با آب مقطر استریل، در پلیت های ۸ سانتی متری حاوی کاغذ صافی استریل قرار گرفته و با آب مقطر استریل آبیاری و در شرایط تاریکی در دمای ۳۲ درجه قرار داده شدند. شاخص جوانه زنی در بازه های ۳ و ۵ روزه مطابق با رابطه (۱) مورد ارزیابی قرار گرفت [۲۳].

$$Seed\ Germination = \frac{\text{Number of germinated seeds}}{\text{Number of total seeds}} \times 100 \quad (1)$$

به منظور انجام سنجش های بیوشیمیایی (سنجش ظرفیت آنتی اکسیدانی، محتوای فنل و فلاونوئید کل)، میزان ۱۰۰ میلی گرم از بذرهای خشک به یک میلی لیتر متانول اضافه و سپس

3 Rocket Science

یک دقیقه در دستگاه گریندر بر روی یخ به خوبی هموژن گردید. پس از ۶۰ دقیقه سانتریفوژ، عصاره از بقایای بذرها جدا سازی و تخلیص گردید. فعالیت آنتی اکسیدانی با استفاده از مهار رادیکال آزاد ۲و ۲- دی فنیل ۱- پیکریل هیدرازیل (DPPH) ارزیابی شد. در ابتدا مقادیر مورد نظر از عصاره توزین و سوسپانسیون همگن با کمک ورتکس تهیه گردید . پنجاه میکرولیتر از محلول تهیه شده به پلیت های ۹۶ خانه منتقل شد. آسکوربیک اسید۱۰۰ میلی مولار به عنوان آنتی اکسیدان استاندارد انتخاب و در پلیت ۹۶ خانه و به صورت جداگانه ریخته شد. سپس به هر چاهک مقدار ۱۵۰ میکرولیتر از محلول متانول- DPPH (مقدار ۲ میلی گرم از DPPH با متانول به حجم ۱۰۰ میلی لیتر رسانده می شود) اضافه شد و بعد از مخلوط کردن، جذب آن در طول موج ۵۱۷ نانومتر با استفاده از دستگاه اسپکتروفتومتر گزارش شد. با این روش، پتانسیل مهار ۵۰٪ رادیکال های آزاد عصاره با استفاده از رابطه (۲) محاسبه می شود که تحت عنوان ظرفیت آنتی اکسیدانی عصاره بیان می شود [۲۲].

$$\text{درصد مهار رادیکالی} = \frac{\text{جذب نمونه} - \text{جذب بلانک}}{\text{جذب بلانک}} \times 100 \qquad (۲)$$

سنجش فنل کل به روش فولین دنیس انجام شد که در این روش، گالیک¬اسید به عنوان استاندارد مورد استفاده قرار می گیرد. بدین منظور، به نیم میلی¬لیتر از عصاره متانولی، دو میلی¬لیتر معرف فولین دنیس ۱۰ درصد اضافه و به مخلوط حاصل بعد از پنج دقیقه دو میلی¬لیتر محلول سدیم کربنات هفت درصد اضافه گردید. یک ساعت بعد از هر نمونه مقدار ۲۰۰ میکرو لیتر به پلیت ۹۶ خانه منتقل و سپس جذب مخلوط واکنش در طول موج ۷۶۵ نانومتر توسط اسپکتروفتومتر الایزا ریدر Life BioTech گزارش شد و در نهایت مقدار فنول کل، بر اساس منحنی استاندارد گالیک‌اسید محاسبه شد [۲۳].

برای سنجش محتوای فلاونوئید کل، ۵۰۰ میکرو لیتر از همگنای حاصل پس از سانتریفوژ (rpm12000 ، به مدت ۱۵ دقیقه) با ۵۰۰ میکرو لیتر محلول ۲٪ کلرید آلومینیوم (6H2O)،(AlCl3 (۲ گرم در متانول ۸۰٪) مخلوط و به شدت به هم زده شد. پس از ۱۰ دقیقه انکوباسیون در دمای ۸۰ درجه سانتی گراد، از هر نمونه مقدار ۲۰۰ میکرو لیتر به پلیت ۹۶ خانه منتقل و سپس جذب مخلوط واکنش در طول موج ۳۶۷ نانومتر توسط اسپکتروفتومتر الایزا ریدر Life BioTech خوانده شد و مقدار فلاونویید کل با استفاده از منحنی استاندارد فلاونویید آپی ژنین محاسبه گردید [۲۴].

به منظور استخراج پروتئین ها، بذرهای خشک منداب با استفاده از یک هاون پودر شدند. حدود ۰.۱ گرم پودر بذر در یک میکروتیوپ ۱.۵ میلی لیتری ریخته و ۴۰۰ میکرولیتر بافر استخراج پروتئین به آن اضافه شد. بافر استخراج متشکل از SDS 0.2%، Tris-HCL 0.5 M، اوره ۵ مولار و ۲ مرکاپتواتانول ۱٪ بود. در نهایت نمونه ها به وسیله ورتکس به دقت مخلوط شدند و در 15000 rpm برای ۱۰ تا ۱۲ دقیقه در دمای اتاق سانتریفیوژ شدند. عصاره ها برای استفاده بعدی در ۴۰- درجه سانتی گراد ذخیره شدند [۲۵].

سنجش کمی پروتئین بذرها به روش برادفورد [۲۶] انجام شد. این روش برای اندازه گیری غلظت پروتئین کل در یک نمونه مورد استفاده

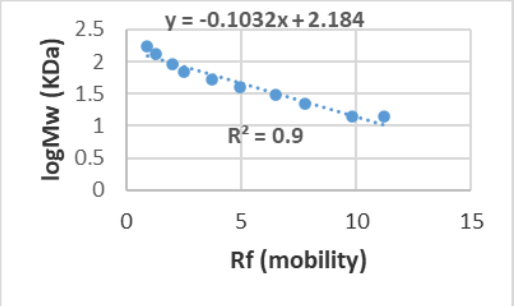
قرار می گیرد. بدین منظور، سرم آلبومین گاوی (BSA) در شش غلظت به عنوان پروتئین استاندارد تهیه شد (صفر، ۵۰، ۱۰۰، ۳۰۰، ۵۰۰ و ۷۰۰ میکروگرم بر میلی لیتر).

برای دستگاه اسپکتروفتومتر، طول موج ۵۹۵ نانومتر تعریف شد و توسط نمونه صفر (شاهد) دستگاه کالیبره شد. سپس محلول های BSA استاندارد در دستگاه قرار داده شدند و میزان جذب نور نمایش داده شده برای هر نمونه استاندارد ثبت شد. به همین ترتیب جذب نوری نمونه های پروتئینی استخراج شده در دستگاه خوانده شد. سپس با استفاده از غلظت پروتئین های استاندارد، خط رگرسیون و منحنی استاندارد رسم شد و معنادار بودن ضریب رگرسیون و عرض از مبدا این خط مورد آزمون قرار گرفت. در نهایت پس از مشخص شدن معادله نهایی خط، غلظت پروتئین در نمونه های مورد بررسی تعیین شد.

به منظور سنجش محتوای کیفی پروتئین های بذر خشک منداب، از الکتروفورز پروتئین ها به روش SDS-PAGE استفاده شد. بدین منظور SDS-PAGE در ژل آکریلامید ۱۲ درصد انجام شد. به طور خلاصه، مخلوط بافر و عصاره پروتئینی استخراج شده در ترمال سایکلر به مدت ۳ دقیقه در دمای ۹۹ درجه سانتی گراد دناتوره شد و به ازای هر نمونه، در هر چاهک ۱۲ میکرولیتر از این مخلوط (۸۰ میکرولیتر عصاره پروتئنی استخراج شده و ۲۰ میکرولیتر بافر نمونه) بارگذاری شد.

پس از رنگ آمیزی ژل توسط کوماسی بلو و سپس رنگ بری آن به منظور شدت سنجی باندهای پروتئینی برای تعیین مقدار پروتئین در هر باند، تصویر ژل با استفاده از نرم افزار پردازش تصویر image J آنالیز شد.

به منظور تعیین وزن مولکولی پروتئین های مورد نظر، با استفاده از وزن مولکولی باندهای پروتئنی نشانگر و Rf (مسافت طی شده توسط پروتئین در ژل جداکننده به مسافت طی شده توسط رنگ بروموفنول بلو در ژل) مربوط به هر کدام از پروتئین های نشانگر مولکولی، نمودار و معادله ای در برنامه Excel بدست آمد (شکل ۲) که محور افقی نمودار، Rf باندهای پروتئینی نشانگر و محور عمودی آن بیانگر لگاریتم وزن مولکولی پروتئین های آن بود. در نهایت با قرار دادن Rf باندهای پروتئینی مجهول در معادله مذکور، لگاریتم وزن مولکولی باند پروتئینی مورد نظر بدست آمد.

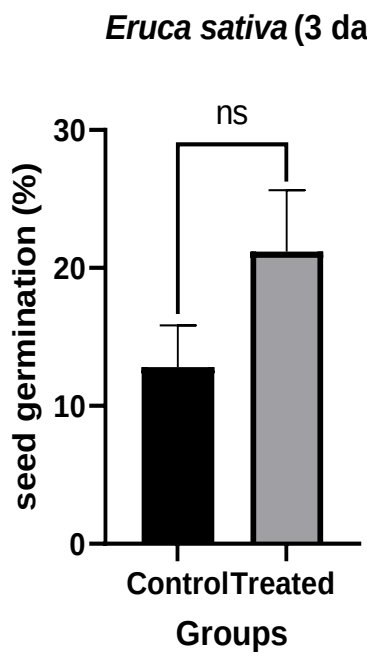


شکل ۲. نمودار Rf در مقابل لگاریتم وزن مولکولی پروتئینهای نمونهٔ استاندارد برای تعیین وزن مولکولی پروتئین ها در روش SDS-PAGE.

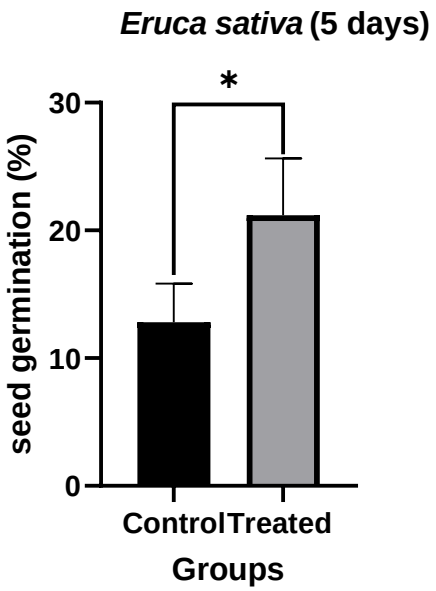
۳. نتایج و بحث

بیشتر گیاهان گلدار از طریق پرورش جنسی و تولید بذر تولیدمثل می کنند. موفقیت در جوانه زنی بذر و ایجاد یک نهال معمولی از ویژگی های تعیین کننده برای تکثیر گونه های گیاهی است که از نظر اقتصادی و اکولوژیکی اهمیت دارد [۲۷]. به دلیل آسیب پذیری بذر در برابر آسیب، بیماری و تنش های آبی و محیطی، جوانه زنی بذر و ظهور گیاهچه، مهمترین و بحرانی ترین

مراحل چرخه رشد گیاه به ویـژه در محـیط هـای فراسیاره ای محسوب می شوند [۲۸]. بنابراین در مطالعه حاضر شاخص جوانه زنـی بـذرهای تحـت تیمار خلا مورد سنجش قرار گرفت. نتـایج نشـان داد شـاخص جوانـه زنـی در بـازه ۳ روز در گـروه تیمار خلا نسبت به گروه کنتـرل افـزایش داشـت که این افزایش در سطح احتمال ۵ درصـد معنـی دار نبود. به هر حال شاخص جوانه زنـی بـذرهای منداب در بازه ۵ روز، افزایش معناداری را در گروه تحت تیمار خلا نسبت به گروه کنتـرل در سـطح احتمال ۵ درصد نشان داد (شکل های ۳ و ۴).



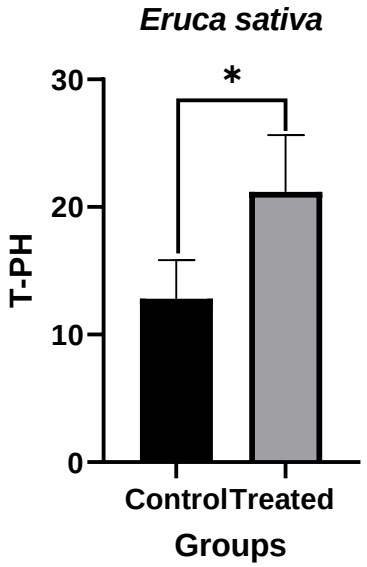
شکل ۳. مقایسه شاخص جوانه زنی بذرهای منداب در بازه ۳ روز تحت خلا شبیه سازی شده فضا (Treated) و فشار اتمسفر زمین (Control). میانگین ۵ تکرار.



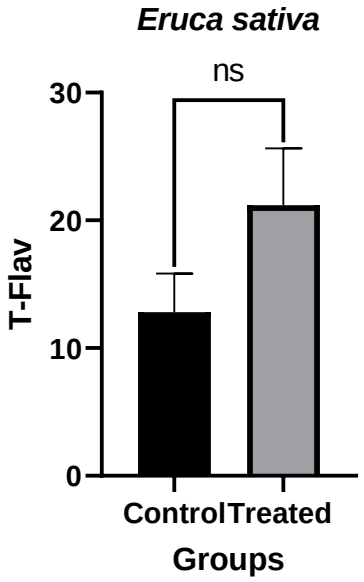
شکل ٤. مقایسه شاخص جوانه زنی بذرهای کینوا در بازه ۵ روز تحت خلا شبیه سازی شده فضا (Treated) و فشار اتمسفر زمین (Control). میانگین ۵ تکرار.

بذرهای خشک منبـع خـوبی از پـروتئین هـا، فیبرهای غذایی، مواد معـدنی و پلـی فنـول هـای فعال زیستی نظیـر آنتوسـیانین هـا، فلاونوئیـدها، ایـزوفلاون هـا، اسـیدهای فنولیـک و لیگنـان هـا هسـتند کـه سـطوح بـالایی از فعالیـت آنتـی اکسیدانی را نشان می دهند [۲۹, ۳۰]. در محیط های بسـیار خشـن، نظیـر ایسـتگاه هـای فضـایی مداری یا سکوهای سیاره ای، منابع غذایی سرشار از پلی فنول ها و به ویژه فلاونوئیدها برای تکمیـل رژیم غذایی فضانوردان و مقابله بـا بیمـاری هـای ناشی از میکروگراویتی و تشعشعات یـونیزان فضـا کمک می کننـد [۳۱] [۳۲]. هـر چنـد بـذرهای خشک نسبت به سایر بافت های گیـاهی بـالاترین مقاومت را در برابر تنش های زیستی و غیرزیستی دارند [۳۳]، با این حال به عنوان یک منبع غذایی غنی در رژیم غـذایی فضـانوردان و همچنـین بـه عنوان ذخایر ژنتیکی یا ژرم پلاسـم گیـاهی بـرای انتقال به فضا ممکن است محتوای آنتی اکسیدانی

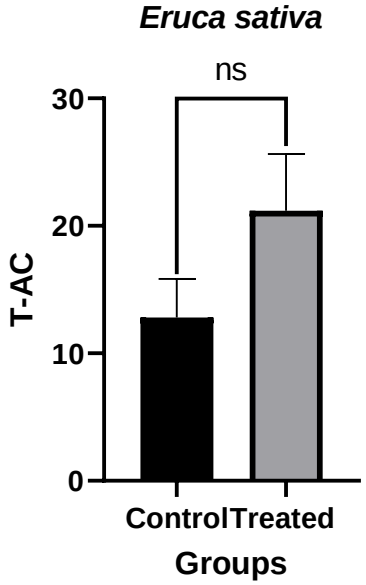
آن ها دستخوش تغییراتی شود. همچنین ظرفیت جوانه زنی بذر با محتوای فنل کل آن همبستگی مثبتی دارد. افزایش ترکیبات فنلی به دنبال پراکنش بذرها نشان دهنده نقش مهم این ترکیبات در حفظ زیست پذیری بذرها می باشد [۳۴, ۳۵]. به طوری که در برخی از بذرهای خشک زوال یافته نیز محتوای فنل کل کاهش قابل توجهی را نشان می دهد [۳۴, ۳۶]. لذا در مطالعه حاضر، محتوای فنل کل، فلاونوئید کل و فعالیت آنتی اکسیدانی بذرها نیز تحت شرایط خلا و فشار اتمسفر زمین مقایسه شد. محتوای فنل کل در بذرهای تحت تیمار خلا افزایش معنی داری را از لحاظ آماری در سطح احتمال ۵ درصد، نسبت به بذرهای گروه کنترل نشان داد (شکل ۵). به هر حال، محتوای فلاونوئید کل و فعالیت آنتی اکسیدانی بذرها در گروه تیمار خلا افزایش معناداری را از لحاظ آماری نسبت به گروه کنترل نشان ندادند (شکل های ۶ و ۷).



شکل ۵. مقایسه محتوای فنل کل در بذرهای خشک منداب تحت خلا شبیه سازی شده فضا (Treated) و فشار اتمسفر زمین (Control). میانگین ۳ تکرار.



شکل ۶. مقایسه محتوای فلاونوئید کل در بذرهای خشک منداب تحت خلا شبیه سازی شده فضا (Treated) و فشار اتمسفر زمین (Control). میانگین ۳ تکرار.



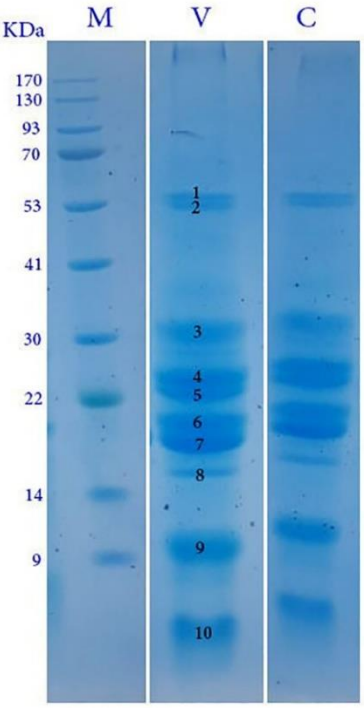
شکل ۷. مقایسه ظرفیت آنتی اکسیدانی در بذرهای خشک منداب تحت خلا شبیه سازی شده فضا (Treated) و فشار اتمسفر زمین (Control). میانگین ۳ تکرار.

پروتئین های بذر نقش اساسی را در رویش آن، رشد و نمو سلولی، ذخیره مواد مغذی، تنظیم سطوح هورمون ها و حفظ زیست پذیری بذر ایفا

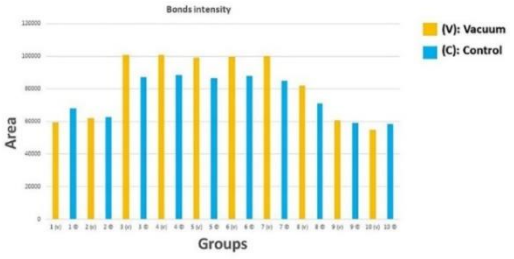
می کنند. آن ها نقش مهمی در تحمل به شرایط خشکی شدید یا شرایط شبیه به آن نظیر شرایط خلا فضا دارند [۳۷-۳۹]. خشکی شدید و آنوکسی یا بی اکسیژنی بذر گیاهان دو مشخصه مهم می باشند که قادرند در شرایط خلا فضا به صورت طبیعی و همچنین در بانک های بذر گیاهی در روی زمین به صورت مصنوعی ایجاد شوند. بنابراین در مطالعه حاضر شرایط خلا محیط فضا با استفاده از شبیه ساز خلا سامانه های فضایی شبیه سازی شد و تاثیر آن بر محتوای پروتئین های بذر خشک منداب مورد بررسی قرار گرفت.

نتایج آزمون برادفورد نشان داد بذرهای تحت تیمار خلا محتوای پروتئین کل بالاتری (۴۸ میلی گرم بر میلی لیتر) را نسبت به بذرهای گروه شاهد (۳۸ میلی گرم بر میلی لیتر) دارا می باشند. همچنین نتایج تعیین محتوای کیفی پروتئین های بذر خشک منداب به روش SDS-PAGE، ۱۰ باند پروتئینی مشخص با وزن های مولکولی۶۷/۴۶ (باند شماره ۱)، ۶۵/۷ (باند شماره ۲)، ۳۵ (باند شماره ۳)، ۲۵/۴ (باند شماره ۴)، ۲۵/۷ (باند شماره ۵)، ۲۰/۷۵ (باند شماره ۶)، ۱۸/۸۷(باند شماره ۷)، ۱۶/۷۵(باند شماره ۸)، ۱۰/۶۶ (باند شماره ۹) و ۴/۴۷ (باند شماره ۱۰) کیلودالتون را نشان داد (شکل ۸). در همین رابطه، Kaushal و همکاران [۴۰] چهار باند پروتئینی با وزن های مولکولی ۶۰، ۳۵، ۲۶/۶ و ۱۸ کیلودالتون را از بذر منداب گزارش کردند که همه آن ها به جز باند ۶۰ کیلودالتونی در مطالعه حاضر نیز مشاهده شدند و به ترتیب با باندهای پروتئینی ۳۵، ۲۵/۷ و ۱۸/۸۷ کیلودالتون در مطالعه ما تطابق دارند. تمام این ۴ باند پروتئینی، اجزا اصلی پروتئینی گلوبولین هستند که یک گلیکوپروتئین ذخیره ای مرسوم است [۴۰]. گلوبولین ها گسترده ترین گروه پروتئین های ذخیره ای بذر هستند که در تک لپه ها، دولپه ها و هاگ های سرخس وجود دارند [۴۱]. به هر حال، Shinwari و همکاران [۲۵] با مطالعه پروتئین های ذخیره ای بذر منداب، ۱۷ باند پروتئینی را در محدوده ۱۵ تا ۲۲۰ کیلودالتون گزارش نمودند. همچنین ۴ باند پروتئینی با وزن های مولکولی ۱۶، ۱۸، ۳۰ و ۵۳ کیلودالتون از بذرهای کانولا، گونه دیگری از همین تیره (Brassicaceae) گزارش شده است [۴۲]. در یک مطالعه اخیر، SDS –PAGE پروتئین های استخراج شده از بذر منداب، دوازده باند پروتئینی با وزن های مولکولی ۱۳۱/۸، ۱۰۸/۱، ۷۸/۷، ۶۹/۸، ۴۶/۹، ۴۳/۴، ۳۱/۶، ۲۸، ۲۴/۹، ۲۲/۱، ۲۱/۲ و ۱۷/۴ کیلودالتون را نشان داد [۴۳] که تا حدودی با باندهای پروتئینی مشاهده شده در مطالعه حاضر مطابقت دارند. به هر حال از آنجایی که روش استخراج پروتئین در مطالعه اخیر و مطالعه حاضر یکسان بوده است تفاوت های جزئی در وزن مولکولی باندهای پروتئینی بین دو مطالعه را می توان به درصد ژل مورد استفاده برای تفکیک پروتئین ها، تفاوت در نحوه محاسبه وزن مولکولی باندهای پروتئینی، خطای اندازه گیری و یا تفاوت در واریته مورد استفاده برای مطالعه نسبت داد [۴۴, ۴۵]. نتایج تعیین محتوای کیفی پروتئین های بذر خشک منداب به روش SDS- PAGE در مطالعه حاضر موید نتایج حاصل از سنجش محتوای کمی پروتئین های بذر به روش برادفورد بود. شکل ۳، پروفایل پروتئین های ذخیره ای بذر منداب را در دو گروه شاهد و تحت تیمار خلا شبیه سازی شده فضا نشان می دهد. در هر دو گروه، ۱۰ باند پروتئینی واضح

مشاهده شد که شدت باندها بین دو گروه متفاوت بود. باند های پروتئینی شماره ۳ تا ۹ در گروه تحت تیمار خلا شدت بیشتری داشتند که اجزا اصلی پروتئین های گلوبولین نیز در این محدوده وزن مولکولی قرار می گیرند. به هر حال، باندهای پروتئینی ۱ ، ۲ و ۱۰ در گروه شاهد شدت بیشتری را نشان دادند (شکل ۹). هر چند افزایش محتوای پروتئینی کل و افزایش شدت باندهای پروتئینی در وضعیت خشک امر نادری می باشد و گزارشات موجود تخریب پروتئین های بذر را از نظر کاهش باندها و شدت آن ها با افزایش سن بذر و یا زوال آن گزارش نموده اند [۴۶-۴۸]، اما در بذرهای خشک ذرت نیز افزایش بیان ۱۶ پروتئین به دنبال اعمال تیمارهای مرتبط با پیری تسریع شده بذر یا پیری مصنوعی گزارش شده است [۱۸] که در مطابقت با نتایج حاصل از مطالعه حاضر می باشد.



شکل ۸. نیمرخ الکتروفورزی پروتئین های ذخیره ای بذر منداب (*Eruca sativa*). M: نشانگر مولکولی. V: تیمار خلا شبیه سازی شده فضا. C: شاهد



شکل ۹. مقایسه سطح نسبی (Area) حاصل از دانسیتومتری (شدت سنجی) باندهای پروتئینی بذرهای گروه های تیمار خلا شبیه سازی شده فضا (V) و شاهد (C).

۴. جمع بندی و نتیجه‌گیری

در زمینه ماموریت های فضایی مهم است بدانیم کدام گونه ها قادرند بذرهایی را تولید کنند که بتوانند شرایط محیطی شدید فضای بیرونی را تحمل نمایند. مطالعه حاضر تاثیر مثبت محیط خلا فضا را بر شاخص جوانه زنی، محتوای فنل، فلاونوئید و فعالیت آنتی اکسیدانی بذر منداب نشان داد. افزایش محتوای پروتئین های ذخیره ای بذر خشک و همچنین افزایش بیان برخی از پروتئین ها تحت شرایط خلا شبیه سازی شده فضا مشاهده شد. نتایج حاصل از مطالعه حاضر می تواند کاربردهای مهمی در زمینه امنیت غذایی و ذخیره بذر در بانک های بذر روی سیاره زمین و بویژه محیط های فراسیاره ای داشته باشد. به هر حال، مطالعات بیشتر در آینده به ویژه در رابطه با مورفولوژی و فراساختار بذرها در شرایط خلا فضا به منظور افزایش درک ما از علت افزایش بیان پروتئینها در وضعیت خشک و به طور کلی تغییرات پروتئومی ژرم پلاسم گیاهی تحت شرایط خلا پیشنهاد می گردد.

۵. تشکر و قدردانی

نویسنده بر خود لازم می داند از زحمات کارشناسان محترم آزمایشگاه خلا حرارتی پژوهشگاه فضایی ایران برای انجام تست خلا قدردانی نماید.

۶. مآخذ

[1] M. Wang, K. Danz, V. Ly, and M. Rojas-Pierce, Microgravity enhances the phenotype of Arabidopsis zigzag-1 and reduces the Wortmannin-induced vacuole fusion in root cells, npj Microgravity, vol. 8, no. 1, p. 38, 2022.

[2] G. Clément and K. Slenzka, Fundamentals of space biology: research on cells, animals, and plants in space. Springer Science & Business Media, 2006.

[3] F. Mousavi, History of Plant Exploration Scientific Missions: Goals and Technologies, Journal of Technology in Aerospace Engineering, vol. 5, no. 2, pp. 1-9, 2021.

[4] F. Mousavi, History of Plant Exploration Scientific Missions: Goals and Technologies, Technology in Aerospace Engineering, vol. 5, no. 2, pp. 1-9, 2021.

[5] J. P. Vandenbrink and J. Z. Kiss, Space, the final frontier: A critical review of recent experiments performed in microgravity, Plant Science, vol. 243, pp. 115-119, 2016.

[6] A. L. Paul, R. M. Wheeler, H. G. Levine, and R. J. Ferl, Fundamental plant biology enabled by the space shuttle, American Journal of botany, vol. 100, no. 1, pp. 226-234, 2013.

[7] F. Mousavi, Plant germplasm and extreme conditions of outer space, Space Science and Technology, vol. 16, no. English Special Issue, pp. 65-71, 2023.

[8] F. Mousavi, The effect of extreme temperature fluctuations simulated of space on the electrophoretic profile of tomato (Lycopersicum esculentum Mill.) seed storage proteins, Space Science and Technology, vol. 16, no. 4, pp. 83-89, 2023.

[9] K. Weitbrecht, K. Müller, and G. Leubner-Metzger, First off the mark: early seed germination, Journal of experimental botany, vol. 62, no. 10, pp. 3289-3309, 2011.

[10] M. Nagel and A. Börner, The longevity of crop seeds stored under ambient conditions, Seed Science Research, vol. 20, no. 1, pp. 1-12, 2010.

[11] N. Sano, L. Rajjou, H. M. North, I. Debeaujon, A. Marion-Poll, and M. Seo, Staying alive: molecular aspects of seed longevity, Plant and Cell Physiology, vol. 57, no. 4, pp. 660-674, 2016.

[12] A. Kivilaan and R. S. Bandurski, The one hundred-year period for Dr. Beal's seed viability experiment, American Journal of Botany, vol. 68, no. 9, pp. 1290-1292, 1981.

[13] C. Walters, L. M. Wheeler, and J. M. Grotenhuis, Longevity of seeds stored in a genebank: species characteristics, Seed Science Research, vol. 15, no. 1, pp. 1-20, 2005.

[14] A. Steiner and P. Ruckenbauer, Germination of 110-year-old cereal and weed seeds, the Vienna Sample of 1877. Verification of effective ultra-dry storage at ambient temperature, Seed Science Research, vol. 5, no. 4, pp. 195-199, 1995.

[15] J. Shen-Miller, M. B. Mudgett, J. W. Schopf, S. Clarke, and R. Berger, Exceptional seed longevity and robust growth: ancient sacred lotus from China, American Journal of Botany, vol. 82, no. 11, pp. 1367-1380, 1995.

[16] A. M. Visscher, C. E. Seal, R. J. Newton, A. L. Frances, and H. W. Pritchard, Dry seeds and environmental extremes: consequences for seed lifespan and germination, Functional Plant Biology, vol. 43, no. 7, pp. 656-668, 2016.

[17] M. B. Fleming, L. M. Hill, and C. Walters, The kinetics of ageing in dry-stored seeds: a comparison of viability loss and RNA degradation in unique legacy seed collections, Annals of Botany, vol. 123, no. 7, pp. 1133-1146, 2019.

[18] X. Xin, X. H. Lin, Y. C. Zhou, X. L. Chen, X. Liu, and X. X. Lu, Proteome analysis of maize seeds: the effect of artificial ageing, Physiologia Plantarum, vol. 143, no. 2, pp. 126-138, 2011.

[19] E. Mallah *et al.*, The influence of Eruca sativa (Arugula) on pharmacokinetics of sildenafil in rats, Neuroendocrinology Letters, vol. 38, no. 4, pp. 295-300, 2017.

[20] H. Hniličková, F. Hnilička, J. Martinkova, and K. Kraus, "Effects of salt stress on water status, photosynthesis and chlorophyll fluorescence of rocket, Plant, Soil and Environment, vol. 63, no. 8, pp. 362-367, 2017.

[21] J. O. Chandler *et al.*, Rocket science: The effect of spaceflight on germination physiology, ageing, and transcriptome of Eruca sativa seeds, Life, vol. 10, no. 4, p. 49, 2020.

[22] S. Baliyan *et al.*, Determination of antioxidants by DPPH radical scavenging

of beech (Fagus sylvatica L.) seeds, Seed Science Research, vol. 17, no. 1, pp. 45-53, 2007.
[35] F. Boughalleb, M. Mahmoudi, R. Abdellaoui, B. Yahia, S. Zaidi, and N. Nasri, Effect of long-term storage on phenolic composition, antioxidant capacity, and protein profiles of Calicotome villosa subsp. intermedia seeds, Journal of food biochemistry, vol. 44, no. 1, p. e13093, 2020.
[36] R. Abdellaoui, A. Souid, D. Zayoud, and M. Neffati, Effects of natural long storage duration on seed germination characteristics of Periploca angustifolia Labill, African Journal of Biotechnology, vol. 12, no. 15, 2013.
[37] E. Businge, J. Bygdell, G. Wingsle, T. Moritz, and U. Egertsdotter, The effect of carbohydrates and osmoticum on storage reserve accumulation and germination of Norway spruce somatic embryos, Physiologia plantarum, vol. 149, no. 2, pp. 273-285, 2013.
[38] M. Nigam *et al.*, Accelerated ageing induces physiological and biochemical changes in tomato seeds involving MAPK pathways, Scientia Horticulturae, vol. 248, pp. 20-28, 2019.
[39] A. Jain, Seed Storage Protein, Functional Diversity and Association with Allergy, Allergies, vol. 3, no. 1, pp. 25-38, 2023.
[40] G. P. Kaushal, J. S. Sital, and I. S. Bhatia, Studies on Taramira seed (Eruca sativa Lam.) proteins, Journal of Agricultural and Food Chemistry, vol. 30, no. 3, pp. 431-435, 1982.
[41] T. S. Templeman, A. E. DeMaggio, and D. A. Stetler, Biochemistry of fern spore germination: Globulin storage proteins in Matteuccia struthiopteris L, Plant physiology, vol. 85, no. 2, pp. 343-349, 1987.
[42] R. E. Aluko, T. McIntosh, and M. Reaney, Comparative study of the emulsifying and foaming properties of defatted coriander (Coriandrum sativum) seed flour and protein concentrate, Food research international, vol. 34, no. 8, pp. 733-738, 2001.
[43] F. ALSalman, *Isolation and molecular and nutritional properties of proteins from Eruca sativa leaves and seeds*. McGill University (Canada), 2016.
[44] F. Mousavi, Y. Shahali, Z. Pourpak, A. Majd, and F. Ghahremaninejad, Year-to-year variation of the elemental and allergenic contents of Ailanthus altissima pollen grains: an allergomic study, activity and quantitative phytochemical analysis of Ficus religiosa, Molecules, vol. 27, no. 4, p. 1326, 2022.
[23] M. H. Sin, Total phenolic content and anti-oxidant potential of Ficus deltoidea using green and non-green solvents, Journal of Pharmaceutical Negative Results, vol. 8, no. 1, pp. 15-19, 2017.
[24] A. Djeridane, M. Yousfi, B. Nadjemi, D. Boutassouna, P. Stocker, and N. Vidal, Antioxidant activity of some Algerian medicinal plants extracts containing phenolic compounds, Food chemistry, vol. 97, no. 4, pp. 654-660, 2006.
[25] S. Shinwari, F. Akbar, M. A. Rabbani, A. S. Mumtaz, and Z. K. Shinwari, Evaluation of genetic diversity in different genotypes of Eruca sativa from Pakistan by SDS-PAGE analysis, Pakistan Journal of Botany, vol. 45, no. 4, pp. 1235-1240, 2013.
[26] M. Bradford, A rapid and sensitive method for the quantities of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein dye intetaction, Anal biochem, vol. 72, pp. 248-254, 1976.
[27] L. Rajjou *et al.*, Seed germination and vigor, Annual review of plant biology, vol. 63, pp. 507-533, 2012.
[28] F. J. Villalobos, F. Orgaz, and E. Fereres, Sowing and planting, Principles of Agronomy for Sustainable Agriculture, pp. 217-227, 2016.
[29] P.-Y. Lin and H.-M. Lai, Bioactive compounds in legumes and their germinated products, Journal of agricultural and food chemistry, vol. 54, no. 11, pp. 3807-3814, 2006.
[30] S. Aharon *et al.*, Effects of baking, roasting and frying on total polyphenols and antioxidant activity in colored chickpea seeds, *Food and* Nutrition Sciences, vol. 2012, 2012.
[31] O. Monje, G. Stutte, G. D. Goins, D. Porterfield, and G. Bingham, Farming in space: environmental and biophysical concerns, Advances in Space Research, vol. 31, no. 1, pp. 151-167, 2003.
[32] M. C. Kyriacou *et al.*, Micro-scale vegetable production and the rise of microgreens, Trends in food science & technology, vol. 57, pp. 103-115, 2016.
[33] V. De Micco, C. Amitrano, P. Vitaglione, R. Ferracane, M. Pugliese, and C. Arena, Effect of light quality and ionising radiation on morphological and nutraceutical traits of sprouts for astronauts' diet, Acta Astronautica, vol. 185, pp. 188-197, 2021.
[34] S. Pukacka and E. Ratajczak, Age-related biochemical changes during storage

Environmental monitoring and assessment, vol. 191, pp. 1-10, 2019.
[45] F. Mousavi, A. Majd, Y. Shahali, F. Ghahremaninejad, R. S. Shoormasti, and Z. Pourpak, Immunoproteomics of tree of heaven (*Ailanthus atltissima*) pollen allergens, Journal of proteomics, vol. 154, pp. 94-101, 2017.
[46] R. H. Sammour, Effect of ageing on the major reserve molecules and their related enzyme in natural aged seeds of flax, Journal of Islamic Academy of Sciences, vol. 2, no. 4, pp. 247-251, 1989.
[47] P. Coello and J. M. Vázquez-Ramos, "Maize DNA polymerase 2 (an α-type enzyme) suffers major damage after seed deterioration, Seed Science Research, vol. 6, no. 1, pp. 1-7, 1996.
[48] K. Vishwanath, K. Prasanna, R. Gowda, S. R. Prasad, S. Narayanaswammy, and H. Pallavi, "Influence of accelerated ageing on total soluble seed protein profiles of tomato, SEED RESEARCH-NEW DELHI-, vol. 35, no. 2, p. 194, 2007.

۸. پی‌نوشت

1. DPPH: 2,2-Diphenyl-1-picrylhydrazyl
2.BSA: Bovine serum albumin
3. SDS- PAGE: Sodium dodecyl-sulfate polyacrylamide gel electrophoresis